

• 化学 •

冷水七的化学成分研究

张建超¹, 贺文军², 刘焱文^{3*}, 谭宁华^{2*}

(1. 湖北中医药大学 药学院, 湖北 武汉 430065;

2. 中国科学院 昆明植物研究所 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650201;

3. 湖北省中药资源与中药化学重点实验室, 湖北 武汉 430061)

[摘要] 通过正丁醇萃取、硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 以及 HPLC 等色谱手段对凤仙花科凤仙花属植物冷水七的 50% 乙醇提取物进行分离纯化, 并结合 1D-NMR、2D-NMR、HRESI-MS 等数据进行结构鉴定。共分离鉴定 8 个化合物, **1** 为新化合物, 命名为 2,6-二甲基-2-乙烯-2,3,4,7-四氢喹啉 (**1**), 其余 7 个为已知化合物, 分别是 1,3,6-三羟基-7-甲基-蒽醌 (**2**), 4-羟基苯甲醛 (**3**), 4-(3-甲氧基-4-羟基苯基)-2-丁酮 (**4**), podophyllotoxin (**5**), scopoletin (**6**), α -spinasterol (**7**) 和 3-O- β -D-葡萄糖吡喃糖基- α -spinasterol (**8**)。以上已知化合物均为首次从该植物中分离得到。

[关键词] 冷水七; 化学成分; 2,6-二甲基-2-乙烯-2,3,4,7-四氢喹啉

Chemical constituents from *Impatiens pritzllii* var. *hupehensis*ZHANG Jian-chao¹, HE Wen-jun², LIU Yan-wen^{3*}, TAN Ning-hua^{2*}

(1. Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430065, China;

2. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China;

3. Key Laboratory of Resource Science and Chemistry in Chinese Medicine, Wuhan 430061, China)

[Abstract] Eight compounds were isolated from the 50% ethanol extract of *Impatiens pritzllii* var. *hupehensis* through various column chromatography methods including silica gel, Sephadex LH-20, and preparative HPLC. Their structures were elucidated as 2,6-dimethyl-2-vinyl-2,3,4,7-tetrahydroquinoline (**1**), 1,3,6-trihydroxy-7-methyl-anthraquinone (**2**), 4-hydroxybenzaldehyde (**3**), 4-(3-methoxy-4-hydroxyphenyl)-2-butanone (**4**), podophyllotoxin (**5**), scopoletin (**6**), α -spinasterol (**7**) and 3-O- β -D-glucopyranosyl- α -spinasterol (**8**) based on the NMR and MS spectral data. Compound **1** is new compound and compounds **2-8** are isolated from this plant for the first time.

[Key words] *Impatiens pritzllii* var. *hupehensis*; chemical constituents; 2,6-dimethyl-2-vinyl-2,3,4,7-tetrahydroquinoline

doi: 10.4268/cjcm20160116

民族药冷水七 *Impatiens pritzllii* Hook. f. var. *hupehensis* Hook. f. 是凤仙花科凤仙花属植物, 药用部位为其根茎。主要分布于湖北省西部的恩施自治

州、宜昌市的宜昌、宜都、长阳、五峰、建始、秭归等县以及神农架林区; 另外重庆的万县也有分布^[1]。具有祛风除湿、散瘀消肿、镇痛止血、清热解毒之功

[收稿日期] 2015-09-09

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2011ZX09307-002-02); 云南省自然科学基金项目(2012GA003)

[通信作者] * 谭宁华, 研究员, 主要从事植物环肽的资源、化学、生物学、化学生物学和新药研究, Tel: (0871) 65223800, E-mail: nhtan@mail.kib.ac.cn; * 刘焱文, 教授, 主要从事植物资源、化学、生物学、化学生物学和新药研究, E-mail: ywliu2008@163.com

[作者简介] 张建超, 博士研究生, 主要从事天然药物化学与中药药效物质基础研究, E-mail: smartvally@163.com

• 83 •

效^[2]。用于风湿疼痛、四肢麻木、关节肿大、急性腓腹疼痛。目前已经从冷水七中分离报道了30个化合物,其中包括5个以刺囊酸为苷元的五环三萜皂苷^[3]。同时,以筛选抗类风湿性关节炎活性成分为目的,考察了从冷水七正丁醇部位中分离得到的若干单体化合物的相关活性,涉及抗炎、镇痛、免疫抑制等方面。实验结果显示从冷水七中分离得到的一些三萜皂苷化合物对二甲苯诱导的小鼠耳肿胀有明显抗炎作用,对醋酸诱发小鼠扭体有明显抑制作用,对T淋巴细胞增殖有抑制作用,对B淋巴细胞增殖有抑制作用,对小鼠血清溶血值 HC_{50} 有抑制作用,对LPS诱导人PBMCs产生的IL-18有明显的抑制活性^[4-5]。为进一步阐明冷水七药效的物质基础,本文对冷水七中的正丁醇萃取部位化学成分深入研究,共分离鉴定了8个化合物,其中1个为新化合物。

1 材料

Jasco P-1020 全自动数字旋光仪(日本分光公司); Shimadzu UV-2401A 紫外分光光度仪(日本,岛津); BRUKER Tensor-27 傅立叶变换中红外光谱仪(德国,布鲁克); API QSTAR Pulsar 液相四级杆飞行时间质谱仪(美国应用系统公司); Bruker AV-600/400 超导核磁共振仪(TMS为内标)(德国,布鲁克); 柱色谱用硅胶(100~200目,200~300目)和薄层色谱硅胶GF₂₅₄为青岛裕民源硅胶试剂厂产品; HPLC分析及制备仪器型号为岛津 Shimadzu AB 仪器,分析柱: Zorbax SB-C₁₈ 4.6 mm × 150 mm,制备柱: Zorbax ODS 21.2 mm × 250 mm。

冷水七于2014年4月购买于湖北中药材总公司,由湖北中医药大学药学院张林碧教授鉴定为冷水七 *I. pritzllii* var. *hupehensis* 的根茎,标本保存于湖北中医药大学标本馆(No. 201404065)。

2 提取与分离

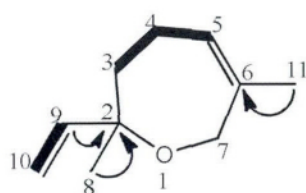
将20 kg干燥的冷水七根茎粉碎后用50%乙醇提取3次,每次100 L/4 h,回收溶剂后得到乙醇浸膏4 kg。将此浸膏用水混悬后,依次用石油醚和正丁醇萃取3次,每次4 L,分别回收石油醚和正丁醇萃取液,得到石油醚浸膏57 g和正丁醇浸膏363 g。正丁醇浸膏用甲醇溶解,硅胶拌样后,用硅胶柱色谱分离(氯仿-甲醇梯度洗脱,100:0,100:1,50:1,20:1,10:1,5:1,2:1,1:1,0:100),得到9个流分(Fr 1~9)。Fr 1用硅胶柱色谱进一步分离得到

Fr 1-1 ~ Fr 1-12共12个组分,其中Fr 1-7直接析出白色沉淀即得化合物7(172 mg)。Fr 2用硅胶柱色谱进一步分离得到Fr 2-1 ~ Fr 2-8共8个组分,其中Fr 2-2用Sephadex LH-20纯化(CHCl₃洗脱,流速为0.25 mL · min⁻¹)得到化合物2(36 mg)。Fr 3用硅胶柱色谱进一步分离得到Fr 3-1 ~ Fr 3-17共17个组分,其中Fr 3-12用硅胶柱色谱进一步分离得到Fr 3-12-4,再经HPLC纯化(68%乙腈-水,流速为8 mL · min⁻¹)得到化合物3(26 mg)。Fr 4用硅胶柱色谱进一步分离得到Fr 4-1 ~ Fr 4-9共9个组分,其中Fr 4-5再经HPLC纯化(14%乙腈-水,流速为8 mL · min⁻¹)得到化合物4(17 mg)和5(42 mg)。Fr 5用硅胶柱色谱进一步分离得到Fr 5-1 ~ Fr 5-16共16个组分,其中Fr 5-10再经HPLC纯化(55%乙腈-水,流速为8 mL · min⁻¹)得到化合物1(11 mg)和6(38 mg)。Fr 6用硅胶柱色谱进一步分离得到Fr 6-1 ~ Fr 6-5共5个组分,Fr 6-3经吡啶重结晶得到化合物8(247 mg)。

3 结构鉴定

化合物1为无色液体,HR-ESI-MS显示其准分子离子峰 m/z 153.127 4 [M + H]⁺(计算值为153.127 9),分子式为C₁₀H₁₆O,不饱和度 $\Omega=3$ 。其红外光谱在3 376, 2 970, 2 932, 2 877 cm⁻¹等处有较强吸收,显示其含有双键基团。除去2组双键碳信号(δ_C 128.2, 134.4和111.7, 144.9)的2个不饱和度,还余1个不饱和度,得出结构中可能成环。 δ_C 73.4与61.1, 2个含氧碳信号,其中73.4是季碳,61.1是连2个氢的仲碳,推测可能通过氧原子相连。通过H-H COSY谱得出-CH₂CH₂CH=(C-3~C-5 δ_H 1.51/2.07/5.25),表明3, 4, 5位碳相连。在HMBC谱中3位氢 δ_H 1.51与2位碳 δ_C 73.4相关,表明2, 3位是相连;5位烯氢 δ_H 5.25和11位甲基氢 δ_H 1.74与7位碳 δ_C 61.1相关,表明7位仲碳是与6位烯碳相连。再经HMBC谱发现8, 11位甲基氢及10位烯氢 δ_H 1.24, 1.74, 5.85分别和碳信号 δ_C 73.4, 134.4, 73.4相关,表明8位甲基,10位烯键和2位碳(δ_C 73.4)相连,11位甲基和6位碳(δ_C 134.4)相连。综上分析化合物1的结构鉴定为2,6-dimethyl-2-vinyl-2,3,4,7-tetrahydrooxepine。其结构见图1。

化合物1 无色液体, $[\alpha]_D^{20.7} - 23.7$ (c 0.39, MeOH), HR-ESI-MS m/z 153.127 4 [M + H]⁺(计算



—表示 HMBC 相关; 〰表示 COSY 相关。

图 1 化合物 1 的结构及其主要二维核磁(COSY 和 HMBC) 相关

Fig. 1 Chemical structure of compound 1 and its main 2D-NMR (COSY and HMBC) spectrum correlation

值为 153.127 9), 分子式为 $C_{10}H_{16}O$ 。IR (KBr): 3 376 2 970 2 932 2 877 1 453 1 411 1 372 1 000, 920 cm^{-1} 。 1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ : 1.51 (2H, m, H-3) 2.07 (2H, m, H-4) 5.25 (1H, t, $J=7.0$ Hz, H-5) 4.02 (1H, d, $J=11.8$ Hz, H-7 α) 4.07 (1H, d, $J=11.8$ Hz, H-7 β) 1.24 (3H, s, H-8) 5.85 (1H, dd, $J=10.8, 17.0$ Hz, H-9), 5.01 (1H, d, $J=10.8$ Hz, H-10 α) 5.17 (1H, d, $J=17.0$ Hz, H-10 β) 1.74 (1H, s, H-11)。 ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ : 73.4 (C-2) 42.0 (C-3) 22.2 (C-4) 128.2 (C-5) 134.4 (C-6) 61.1 (C-7) 27.8 (C-8) 111.7 (C-9) 144.9 (C-10) 21.5 (C-11)。

化合物 2 黄色粉末,ESI-MS m/z 269 $[M - H]^-$, 分子式为 $C_{15}H_{10}O_5$ 。 1H -NMR (CD_3OD , 600 MHz) δ : 6.55 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-2) 7.17 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-4) 7.08 (1H, s, H-5) 7.55 (1H, s, H-8) 2.42 (3H, s, 7- CH_3)。 ^{13}C -NMR (CD_3OD , 150 MHz) δ : 167.2 (C-1) 109.0 (C-2) 166.6 (C-3) 110.0 (C-4) 149.7 (C-4a) 121.8 (C-5) 134.7 (C-6) 163.6 (C-7) 125.2 (C-8) 115.0 (C-8a) 192.0 (C-9) 110.5 (C-9a) 183.2 (C-10) 136.9 (C-10a) 22.0 (7- CH_3)。根据 ESI-MS, 1H -NMR, ^{13}C -NMR 数据 并与文献报道^[6]对比, 化合物 2 为 1,3,7-trihydroxy-6-methyl-anthraquinone。

化合物 3 白色固体,ESI-MS m/z 121 $[M - H]^-$, 分子式为 $C_7H_6O_2$ 。 1H -NMR ($DMSO-d_6$, 600 MHz) δ : 9.76 (1H, s, -CHO) 7.74 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-2, 6) 6.90 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-3, 5)。 ^{13}C -NMR ($DMSO-d_6$, 150 MHz) δ : 128.3 (C-1) 132.2 (C-2, 6) 115.9 (C-3, 5) 163.7 (C-4) 190.9 (-CHO)。根据 ESI-MS, 1H -NMR, ^{13}C -NMR 数据 并与文献报道^[7]对比, 化合物 3 为 4-hydroxybenzaldehyde。

hyde。

化合物 4 白色粉末, 1H -NMR (D_2O , 600 MHz) δ : 3.19 (3H, s, H-1) 3.09 (2H, t, $J=6.0$ Hz, H-3), 3.82 (2H, t, $J=6.0$ Hz, H-4) 7.39 (1H, d, $J=1.9$ Hz, H-2') 6.78 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5') 7.47 (1H, dd, $J=1.9, 8.4$ Hz, H-6') 3.75 (3H, s, -OCH₃)。 ^{13}C -NMR (D_2O , 150 MHz) δ : 48.7 (C-1) 201.5 (C-2) 57.4 (C-3) 39.9 (C-4) 128.4 (C-1') 115.1 (C-2') 147.6 (C-3') 152.2 (C-4') 111.2 (C-5') 124.4 (C-6') 55.6 (-OCH₃)。根据 1H -NMR, ^{13}C -NMR 数据 并与文献报道^[8]对比, 化合物 4 为 4-(3-methoxy-4-hydroxyphenyl)-2-butanone。

化合物 5 白色固体,ESI-MS m/z 437 $[M + Na]^+$, 分子式为 $C_{22}H_{22}O_8$ 。 1H -NMR (CD_3OD , 600 MHz) δ : 4.74 (1H, d, $J=13.0$ Hz, H-1) 3.08 (1H, dd, $J=5.4, 13.0$ Hz, H-2) 2.75 (1H, m, H-3) 4.58 (1H, d, $J=5.4$ Hz, H-4) 6.45 (1H, s, H-5) 7.12 (1H, s, H-8) 4.55 (1H, dd, $J=7.4, 8.6$ Hz, H-11 α) 4.14 (1H, dd, $J=10.6, 8.6$ Hz, H-11 β) 6.44 (2H, s, H-2', 6') 5.93 (1H, d, $J=12.0$ Hz, OCH₂O) 5.95 (1H, d, $J=12.0$ Hz, OCH₂O) 3.73 (6H, s, 3', 5'-OCH₃) 3.72 (3H, s, 4'-OCH₃)。 ^{13}C -NMR (CD_3OD , 150 MHz) δ : 45.6 (C-1) 46.3 (C-2) 42.1 (C-3) 73.1 (C-4) 107.5 (C-5) 149.0 (C-6, 7) 110.6 (C-8) 132.6 (C-9) 135.6 (C-10) 72.9 (C-11) 177.3 (C-12) 138.2 (C-1') 109.7 (C-2', 6') 153.9 (C-3', 5') 138.1 (C-4') 102.8 (OCH₂O) 56.7 (3', 5'-OCH₃) 61.2 (4'-OCH₃)。根据 ESI-MS, 1H -NMR, ^{13}C -NMR 数据 并与文献报道^[9]对比, 化合物 5 为 podophyllotoxin。

化合物 6 淡黄色粉末,ESI-MS m/z 193 $[M + H]^+$, 分子式为 $C_{10}H_8O_4$ 。 1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ : 6.22 (1H, d, $J=9.4$ Hz, H-3) 7.59 (1H, d, $J=9.4$ Hz, H-4) 6.82 (1H, s, H-5) 6.85 (1H, s, H-8) 3.90 (3H, s, -OCH₃)。 ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ : 162.5 (C-2) 103.1 (C-3) 144.1 (C-4) 111.1 (C-4a) 112.1 (C-5) 145.2 (C-6) 150.8 (C-7) 107.9 (C-8) 149.9 (C-8a) 56.1 (-OCH₃)。根据 ESI-MS, 1H -NMR, ^{13}C -NMR 数据 并与文献报道^[10]对比, 化合物 6 为 scopoletin。

化合物 7 白色针晶,EI-MS m/z 412 $[M]^+$, 分子式为 $C_{29}H_{48}O$ 。 1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ : 3.58

(1H, m, H-3), 5.15 (1H, overlapped, H-7), 0.55 (3H, s, 18-H), 0.80 (3H, overlapped, H-19), 1.02 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-21), 5.02 (1H, dd, $J = 8.6, 15.2$ Hz, H-22), 5.15 (1H, overlapped, H-23), 0.85 (3H, overlapped, H-26), 0.82 (3H, overlapped, H-27), 0.81 (3H, overlapped, H-29)。¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ : 37.5 (C-1), 31.9 (C-2), 71.5 (C-3), 38.4 (C-4), 40.7 (C-5), 30.0 (C-6), 117.9 (C-7), 140.0 (C-8), 49.8 (C-9), 34.6 (C-10), 21.9 (C-11), 39.9 (C-12), 43.7 (C-13), 55.5 (C-14), 23.4 (C-15), 28.9 (C-16), 56.3 (C-17), 12.5 (C-18), 13.5 (C-19), 41.3 (C-20), 21.5 (C-21), 138.6 (C-22), 129.8 (C-23), 51.7 (C-24), 32.3 (C-25), 21.8 (C-26), 19.4 (C-27), 25.8 (C-28), 12.7 (C-29)。根据 EI-MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR 数据, 并与文献报道^[11]对比, 化合物7为 α -spinasterol。

化合物8 白色结晶, ESI-MS m/z 287 [M]²⁺, 分子式为 C₃₅H₅₈O₆, ¹H-NMR (C₅D₅N, 400 MHz) δ : 3.58 (1H, m, H-3), 5.15 (1H, overlapped, H-7), 0.55 (3H, s, 18-H), 0.69 (3H, s, H-19), 1.02 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-21), 5.17 (1H, dd, $J = 8.6, 15.2$ Hz, H-22), 5.13 (1H, overlapped, H-23), 0.85 (3H, overlapped, H-26), 0.82 (3H, overlapped, H-27), 0.81 (3H, overlapped, H-29)。¹³C-NMR (C₅D₅N, 100MHz) δ : 37.9 (C-1), 30.1 (C-2), 77.5 (C-3), 34.9 (C-4), 40.7 (C-5), 30.0 (C-6), 117.9 (C-7), 139.9 (C-8), 49.8 (C-9), 34.6 (C-10), 21.9 (C-11), 39.9 (C-12), 43.7 (C-13), 55.5 (C-14), 23.4 (C-15), 28.9 (C-16), 56.3 (C-17), 12.5 (C-18), 13.5 (C-19), 41.3 (C-20), 21.5 (C-21), 138.6 (C-22), 129.8 (C-23), 51.7 (C-24), 32.3 (C-25), 21.8 (C-26), 19.4 (C-

27), 25.8 (C-28), 12.7 (C-29), β -D-Glu: 102.5 (C-1'), 75.4 (C-2'), 78.7 (C-3'), 72.1 (C-4'), 78.3 (C-5'), 63.1 (C-6')。根据 ESI-MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR 数据, 并与文献报道^[12]对比, 化合物8为 3-O- β -D-glucopyranosyl- α -spinasterol。

【参考文献】

- [1] 万定荣, 李安娟, 冯海龙. 冷水七的生药研究[J]. 中药材, 1989, 12(4): 18.
- [2] 万定荣, 冯海龙, 冯颂桥, 等. 湖北药材志[M]. 武汉: 湖北科技出版社, 2001: 273.
- [3] Zhou X F, Zhao X Y, Tang L, et al. Three new triterpenoid saponins from the rhizomes of *Impatiens pritzellii* var. *hupehensis* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2007, 9: 379.
- [4] Zhou X, Zhao X Y, Tang L, et al. Immunomodulatory activity of the rhizomes of *Impatiens pritzellii* var. *hupehensis* on collagen-induced arthritis mice [J]. J Ethnopharmacol, 2007, 109(3): 505.
- [5] Zhou X F, Tang L, Zhang P, et al. The interleukin-18 inhibitory activities of echinocystic acid and its saponins from *Impatiens pritzellii* var. *hupehensis* [J]. Z Naturforsch C, 2009, 64(5/6): 369.
- [6] 孙玉林, 陈茵, 徐新亚, 等. 海洋真菌 *Penicillium oxalicum* SCS-GAF 0023 的次生产物及其抗污损和酶抑制活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25(1): 1.
- [7] 沈瑞芳, 杨叶昆, 魏玉玲, 等. 滇刺枣的化学成分研究[J]. 云南大学学报, 2013, 35(s2): 332.
- [8] 郭晓宇, 王乃利, 姚新生. 云南石仙桃的化学成分[J]. 沈阳药科大学学报, 2006, 23(4): 205.
- [9] 张杰, 周春山, 刘韶, 等. 小八角莲化学成分研究[J]. 中草药, 2007, 38(4): 517.
- [10] 李建绪, 王红程, 高美华, 等. 枸橼果实的香豆素和黄酮类成分研究[J]. 药学研究, 2013, 32(4): 187.
- [11] 王玉萍, 杨峻山, 张聿梅, 等. 远志的化学成分研究[J]. 中草药, 2005, 36(9): 1291.
- [12] 韦松, 梁鸿, 赵玉英. 怀牛膝中化合物的分离鉴定[J]. 中国中药杂志, 1997, 22(5): 293.

【责任编辑 丁广治】