

苦皮藤根皮的¹H NMR 指纹图解析

秦海林^{1*}, 赵天增², 尚玉俊², 王峥涛¹

(1. 中国药科大学学生药学研究室, 江苏 南京 210038; 2. 河南省科学院化学研究所, 河南 郑州 450002)

摘要: 目的 对苦皮藤的¹H NMR 指纹图进行解析。方法 用硅胶柱色谱法分离苦皮藤根皮 CGE A 的化学成分, 鉴定单体化合物的结构并对其进行¹H NMR 研究, 从而实现苦皮藤根皮的¹H NMR 指纹图解析。结果 不同来源的苦皮藤样品, 其¹H NMR 指纹图有很好的重现性和高度的特征性。从其 CGE A 中分得 3 个主要成分, 经光谱分析鉴定其结构, 分别为: angulatin A (1), angulatin B (2) 和 angulatin C (3)。结论 苦皮藤根皮的¹H NMR 指纹图可用于其基源鉴定, 并主要显示了以上 3 个化合物的特征共振信号; 化合物 3 为新化合物, 化合物 2 为首次从苦皮藤分离得到。

关键词: 苦皮藤; ¹H NMR 指纹图; angulatin C

中图分类号: R965; R965

文献标识码: A

文章编号: 0513 - 4870(2001)06 - 0462 - 05

前文^[1-3]报道了用¹H NMR 指纹法鉴定植物中药的方法学研究及其在几种常用中药基源鉴定方面的应用。本文继续报道该方法在苦皮藤基源鉴定方面的应用。

苦皮藤 *Celastrus angulatus* Maxim. 系卫矛科南蛇藤属植物, 在我国分布很广。其根皮有清热利湿、杀虫功能, 民间用其治疗风湿、黄水疮、头痛、骨折肿痛^[4]等。按前文^[1]方法, 获取苦皮藤根皮特征总提取物 (CGE) A 和 B (CGE A and CGE B), 采用 FT-NMR 波谱仪测定了多个不同来源的苦皮藤根皮 CGE A 和 CGE B 的¹H NMR 图谱, 得到了能用于苦皮藤基源鉴定的特征¹H NMR 共振峰。在进一步的¹H NMR 指纹图解析研究中, 从苦皮藤根皮 CGE A 中分得其 3 个主要成分, 经光谱分析鉴定其均为 β-二氢沉香呋喃型倍半萜多酯类化合物, 分别为 angulatin A (1), angulatin B (2) 和 angulatin C (3), 其中, 3 为新化合物, 2 为首次自该植物中分得, 1 为 angulatin A^[5] (见下图)。在对这些化合物的¹H NMR 研究基础上, 完成了苦皮藤根皮 CGE A 的¹H NMR 指纹图解析。

实验部分

IR 谱用 Shimadzu FTIR-8700 红外光谱仪测定

收稿日期: 2000-09-18.

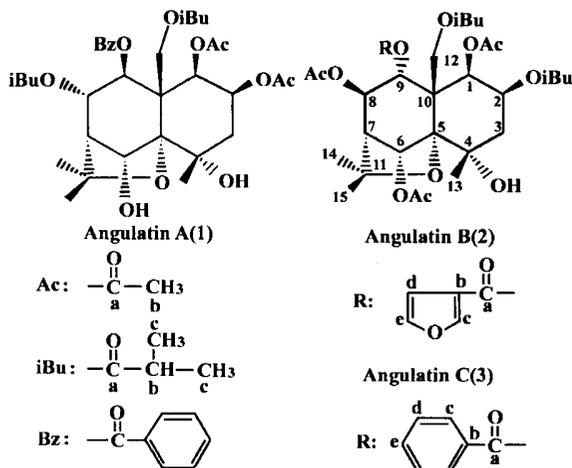
基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (29572040).

作者简介: 秦海林, 男, 助理研究员, 理学博士.

* Tel: (025) 5311264 - 556, Fax: (025) 5309639,

E-mail: hlqin@hotmail.com

本文在 2000 年中国博士后学术大会医药学与生物学会交流



KBr 压片。NMR 谱用 JEOL-FX60Q 和 Bruker DPX400 NMR 波谱仪测定, TMS 为内标, CDCl₃ (CGEA) 和 DMSO-d₆ (CGE B) 为溶剂。MS: EI 源, 70 eV。实验所用苦皮藤样品系采自各产地 (表 3)。并经生药学方法鉴定学名。

1 CGE 的获取和 NMR 谱的测定

取生药样品各 50 g, 加 95% EtOH 100 mL, 按前文^[1]方法, 获取各样品 CGE A 和 CGE B, 并测定其¹H NMR 图谱。

2 CGE A 化学成分的分离

取苦皮藤根皮粗粉 3 kg, 按前文^[1]方法获取 A 和 B 两部分粗提物, 取 A 部分 20 g, 经硅胶柱色谱分离, 以 petrole-EtOAc (4:1) 洗脱, 分段收集, 得 angulatin A (1) 簇晶 (230 mg) 及 angulatin B 和 angulatin C 的混合物, 后者再经硅胶柱色谱分离, 以

petrol butyl acetate (7:3) 洗脱, 得 angulatin B (2) (43 mg) 和 angulatin C (3) (35 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1 无色簇晶。其理化性质及光谱数据与 angulatin A 完全一致^[5], 薄层色谱分析 Rf 值相同, 因此鉴定为 angulatin A。

化合物 2 无定形粉末。光谱数据与文献^[6]完全一致。¹H NMR 数据见表 1; ¹³C NMR 数据见表 2。鉴定其结构为 1 β , 6 α , 8 β -三乙酰氧基-2 β , 12-二异丁酰氧基-9 α -(β -呋喃甲酰氧基)-4 α -羟基- β -二氢沉香呋喃。该化合物为首次自苦皮藤中分得, 命名为 angulatin B。

化合物 3 无定形粉末。IR (KBr) cm^{-1} : 3506, 2976, 2937, 1743, 1575, 1369, 1231; MS m/z : 704.3019 [M]⁺ (计算值 C₃₆H₄₈O₁₄: 704.3044), 689, 644, 630, 616, 574, 556, 496, 453, 436, 202, 105, 71, 43; ¹H NMR 数据见表 1; ¹³C NMR 数据见表 2。

Tab 1 ¹H NMR spectral data for angulatin B and C (in CDCl₃)

H	Angulatin B		Angulatin C	
	δ	J (Hz)	δ	J (Hz)
1	5.56 m ^a		5.54 d	3.6
2	5.27 dd	6.4, 3.2	5.29 dd	6.8, 3.6
3	1.99 m		2.00 m	
	2.21 m		2.23 m	
6	6.24 s		6.28 s	
7	2.36 d	4.0	2.37 d	3.6
8	5.56 m ^a		5.62 d	3.6
9	5.58 s		5.70 s	
12	4.77 d	12.8	4.80 d	12.8
	4.90 d	12.8	4.91 d	12.8
13	1.61 s		1.61 s	
14	1.57 s		1.56 s	
15	1.49 s		1.47 s	
C ₄ -OH	2.35 br s		2.64 br s	
Acetates	1.65 s		1.64 s	
	2.09 s		2.08 s	
	2.11 s		2.12 s	
Isobutyrate	2.66 m	6.8	2.59 m	6.8
	2.75 m	6.8	2.67 m	6.8
	1.25 d ^b	6.8	1.25 d ^b	6.8
	1.26 d ^b	6.8	1.26 d ^b	6.8
Benzoate			8.01 m	
			7.46 m	
			7.60 m	
Furolate	8.00 br s			
	6.72 br s			
	7.44 br s			

a. Two signals coincided; b. Signals containing six protons

Tab 2 ¹³C NMR spectral data for angulatin B and C

	Angulatin B	Angulatin C	
1, 2, 6, 8, 9	68.1, 70.7, 72.1, 75.6, 76.1	67.9, 70.9, 72.4, 75.3, 76.2	
3	42.1	41.4	
4	69.9	69.9	
5	91.5	91.2	
7	53.1	53.0	
10	54.0	54.3	
11	83.5	83.8	
12	65.4	65.5	
13, 14, 15	24.5, 25.6, 30.1	23.9, 26.3, 29.6	
Acetates			
	a	169.3, 169.5, 169.6	169.4, 169.6, 169.7
	b	20.5, 21.1, 21.4	20.3, 21.0, 21.4
Isobutyrate			
	a	175.6, 176.7	175.2, 176.4
	b	33.9, 34.0	33.9, 34.1
	c	18.84, 18.95, 18.97, 19.01	18.68, 18.85, 18.71, 19.01
Benzoate			
	a		164.5
	b		130.1
	c		128.4
	d		129.4
	e		133.7
Furolate			
	a	160.8	
	b	117.9	
	c	148.9	
	d	109.6	
	e	143.9	

结果与讨论

化合物 3 经光谱分析鉴定其结构为 1 β , 6 α , 8 β -三乙酰氧基-2 β , 12-二异丁酰氧基-9 α -苯甲酰氧基-4 α -羟基- β -二氢沉香呋喃。其高分辨 MS 给出分子式 C₃₆H₄₈O₁₄。IR 吸收峰 (ν 3506 和 1743 cm^{-1}) 表明含有游离羟基和酯羰基。NMR 和 MS 数据表明含有 1 个苯甲酸酯基、两个异丁酸酯基和 3 个乙酸酯基。¹H NMR 给出母核上与酯基相连的碳原子上质子的共振信号 δ 5.54 (1 H, d, J = 3.6 Hz, 1 α -H), 5.29 (1 H, dd, J = 6.8, 3.6 Hz, 2 α -H), 6.28 (1 H, s, 6 β -H), 5.62 (1 H, d, J = 3.6 Hz, 8 α -H), 5.70 (1 H, s, 9 β -H), 以及 δ 4.80, 4.91 (2 H, ABq, J = 12.8 Hz, 12-H₂)。应用 ¹H-¹H COSY 谱对 1-H, 2-H 和 3-H₂ (δ 2.00, 2.23) 以及 7-H (δ 2.37) 和 8-H 进行了归属, 剩余的两个信号 δ 5.70(s) 和 6.28(s) 则分别被归属于 9-H 和 6-H, 因为, 当 6 位羟基被酯化后, 6-H 的 ¹H NMR 化学位移值总是大于或接近 δ 6.00^[7]。此外, 3 的 ¹H NMR 谱还显示 3 个甲基质子的单峰 δ

1.47, 1.56, 1.61 (13, 14, 15- H₃) 。

化合物 3 母体部分的¹³C NMR 数据与 1, 2, 4, 6, 8, 9, 12-七取代的 β-二氢沉香呋喃衍生物极为相似^[5, 6], 说明 3 含该类型的倍半萜母体。由分子式组成可知, 3 还含有 1 个游离羟基, 该羟基被确定在 C-4 位^[8]。6 个酯基分别被确定在 C-1, C-2, C-6, C-8, C-9 和 C-12 位上。

借助各自旋体系的偶合常数, 确定了 1-H, 2-H, 6-H, 8-H 和 9-H 的相对立体化学^[7, 9]。根据 3 的一个乙酰氧基的甲基的¹H NMR 化学位移为 δ 1.65, 以及 MS 中 m/z 202 的碎片离子峰, 确定苯甲酰氧基位于 C-9, 而一个乙酰氧基位于 C-1^[9]。此外, 根据 MS 中连续失去 1 个异丁酸和 3 个乙酸的麦氏重排峰: m/z 616 [M - C₃H₇CO₂H]⁺ (6), 556 [616 - HOAc]⁺ (3), 496 [556 - HOAc]⁺ (3), 436 [496 - HOAc]⁺ (4), 及 m/z 616 的碎片离子具有较强的丰度, 确定两个异丁酰氧基分别位于 C-2 和 C-12 位, 剩余两个乙酰氧基分别位于 C-6 和 C-8^[8]。

化合物 3 为新化合物, 命名为 angulatin C。初步的药理实验表明, 该化合物具有较强的抗炎活性。

所研究的不同产地苦皮藤样品的¹H NMR 指纹图(图 1) 有很好的-一致性(表 3, 表 4)。苦皮藤根皮 CGE A 的¹H NMR 指纹图主要显示 angulatin A, angulatin B 和 angulatin C 的特征信号: δ 0.91 (d, J = 7 Hz), 0.94 (d, J = 7 Hz) 分别为 angulatin A 中 C-8 位异丁酰氧基的两个甲基的共振峰; δ 1.26 (d, J = 6.8 Hz) 为 angulatin B 和 angulatin C 中 C-2 和 C-12 位异丁酰氧基的甲基共振峰的叠加, 在所用仪器的条件下可观察到以上信号的裂分情况。δ 1.39 的信号与 angulatin A 中 C-12 位异丁酰氧基的甲基共振

Tab 3 ¹H NMR data of the root bark of *Celastrus angulatus* (CGE A) (59.75 MHz, CDCl₃)

Data of fingerprint/δ	Henan, Xixia	Henan, Xichuan	Henan, Songxian	Henan, Lushi	Shaanxi, Shangnan	Shaanxi, Shangluo	Types of proton
0.86	+	+	+	+	+	+	CH ₃
0.89	+	+	+	+	+	+	
0.97	+	+	+	+	+	+	
1.00	+	+	+	+	+	+	
1.09	-	+	-	-	+	-	
1.20	+	+	+	+	+	+	
1.31	+	+	+	+	+	+	
1.40	+	+	+	+	+	+	
1.47	-	+	-	-	+	-	
1.50	+	+	+	+	+	+	
1.56	+	+	+	+	+	+	
1.61	+	-	-	-	-	-	
1.64	+	+	+	+	+	+	
1.71	+	+	+	+	+	+	
1.78	+	+	+	+	+	+	
2.08	-	-	-	+	-	-	
2.11	+	+	+	+	+	+	
4.52	+	+	+	+	+	+	CH ₂ O
4.75	+	+	+	+	+	+	
4.85	+	+	+	+	+	+	
5.23	+	-	-	-	-	-	CHO
5.27	+	+	+	+	+	+	
5.47	+	+	+	+	+	+	
5.54	+	+	+	+	+	+	
5.58	+	+	+	+	+	+	
5.70	+	+	+	+	+	+	
6.00	+	+	+	+	+	+	
6.24	+	+	+	+	+	+	
6.28	+	+	+	+	+	+	
6.71	-	-	-	+	-	+	ArH
6.73	+	+	+	+	+	+	
7.44	+	+	+	+	+	+	
7.46	+	+	+	+	+	+	
7.50	+	+	+	+	+	+	
7.54	+	+	+	+	+	+	
7.78	+	+	+	+	+	+	
7.94	+	+	+	+	+	+	
8.01	+	+	+	+	+	+	

峰 δ 1.33 (d, J = 7 Hz) 的低场一侧的裂分信号一致, 其高场一侧的裂分信号被掩盖在 δ 1.26 的信号中。δ 1.50 - 1.78 区的多个共振峰主要是 angulatin A, angulatin B 和 angulatin C 中 C-13, 14, 15 位甲基共振信号的叠加, 当然, 3 个化合物分子中 C-1 位乙酰氧基的甲基共振信号也位于此区域。δ 2.11 的强峰则为 3 个化合物分子中其余乙酰氧基的甲基共振信号的贡献。δ 4.52 - 6.28 区的共振峰为 angulatin A, angulatin B 和 angulatin C 母核上与羟基和酯基相连的亚甲基和次甲基的信号叠加, 其中, δ 4.52

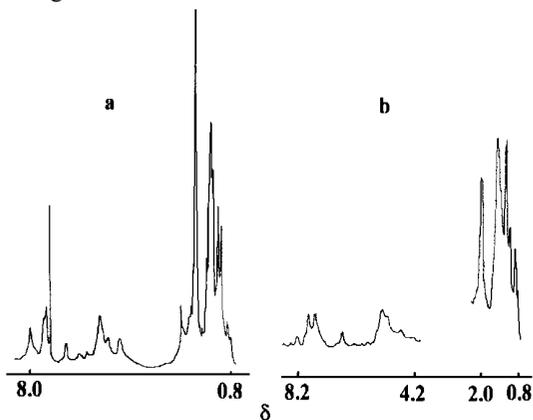


Fig 1 ¹H NMR spectra of the root bark of *Celastrus angulatus* (59.75 MHz)
a. CGE A; b. CGE B

- 4.85 主要为 3 个化合物中 C-12 位亚甲基的两个质子的 AB_q 峰的叠加, δ 6.00, 6.24 和 6.28 的 3 个信号分别与 angulatin A 的 9 位质子, angulatin B 的 6 位质子和 angulatin C 的 6 位质子的化学位移一致。 δ 6.71 - 8.01 的各个共振信号为 3 个化合物中苯甲酰氧基和 β -呋喃甲酰氧基的贡献, 在所用仪器条件下, 较清楚的峰是 δ 6.71 - 6.73, 为 β -呋喃甲酰氧基上 d 位质子的信号, δ 7.44 - 7.54 的信号为苯环上 d, e 位质子和呋喃环上 e 位质子的信号的叠加, 而 δ 8.01 的较宽峰则为苯环中 c 位质子和呋喃环中 c 位质子的信号叠加。以上信号的归属均是通过分离出单体的 angulatin A, angulatin B 和 angulatin C 后的 ¹H NMR 研究完成。

Tab 4 ¹H NMR data of the root bark of *Celastrus angulatus* (CGE B) (59.75 MHz, DMSO-d₆)

Data of fingerprint/ δ	Henan, Xixia	Henan, Xichuan	Henan, Songxian	Henan, Lushi	Shaanxi, Shangnan	Shaanxi, Shangluo
0.86	+	+	+	+	+	+
0.91	+	+	+	+	+	+
1.09	+	+	+	+	+	+
1.22	+	+	+	+	+	+
1.39	+	-	-	-	-	-
1.50	+	+	+	+	+	+
2.01	+	+	+	+	+	+
2.05	+	+	+	+	+	+
4.69	+	-	+	+	+	+
5.15	+	+	+	+	+	+
5.38	+	+	+	+	+	+
6.69	+	+	+	+	+	+
7.62	+	+	+	+	+	+
7.83	+	+	+	+	+	+
8.23	+	+	+	+	+	+

研究结果表明, 在苦皮藤根皮 CGE A 中还含有其他 β -二氢沉香呋喃类倍半萜衍生物, 其特征信号也包含在上述各区域内, 但是, 由于 angulatin A, angulatin B 和 angulatin C 为 CGE A 中的主要成分, 因此, 其 ¹H NMR 指纹图上主要显示这 3 种化合物的特征信号。

与 ¹H NMR 相似, 苦皮藤根皮 CGE A 的 ¹³C NMR 谱也具有高度的重现性, 并与 angulatin A, angulatin B 和 angulatin C 的结构相对应, 在此不详

述。

所研究的不同产地苦皮藤样品 CGE B 的 ¹H NMR 指纹图也具有很好的重现性和特征性, 可作为 ¹H NMR 指纹法鉴定苦皮藤基源的另一参照, 其化学成分研究结果将另文报道。

综上所述, 我们认为, 苦皮藤根皮 CGE A 的 ¹H NMR 指纹图谱和数据能准确地反映苦皮藤根皮特征性化学成分的存在及其结构, 可作为苦皮藤基源鉴定的相对标准图谱和数据。

REFERENCES:

- [1] Qin HL, Zhao TZ. Studies on the identification of traditional Chinese herbal medicines by ¹H NMR [J]. *Acta Pharm Sin* (in Chinese), 1999, **34**(1): 58 - 62.
- [2] Qin HL, Zhao TZ, Yuan WM, et al. Assignments of the ¹H NMR fingerprints of the roots of *Polygonum cuspidatum*, *Polygonum multiflorum*, *Rheum palmatum* and *Rheum tanguticum* [J]. *Acta Pharm Sin* (in Chinese), 1999, **34**(11): 828 - 834.
- [3] Qin HL, Shang YJ, Zhao W, et al. Identification of Chinese Goldthread (*Coptis chinensis*) by ¹H NMR [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (in Chinese), 2000, **31**(1): 48 - 50.
- [4] Compilation group of Collection of National Chinese Herbal Medicines. *Collection of National Chinese Herbal Medicines* [M]. Beijing: People's Health Press, 1978. 359.
- [5] Wang MT, Qin HL, Kong M, et al. Insecticidal sesquiterpene polyol ester from *Celastrus angulatus* [J]. *Phytochemistry*, 1991, **30**(12): 3931 - 3933.
- [6] Tu YQ, Wu DG, Zhou J, et al. Sesquiterpenoids from two species of *Celastraceae* [J]. *Phytochemistry*, 1992, **31**(4): 1281 - 1283.
- [7] Bruning R, Wagner H. Übersicht über die Celastraceen-Inhaltsstoffe: Chemie, Chemotaxonomie, Biosynthese, Pharmakologie [J]. *Phytochemistry*, 1978, **17**(11): 1821 - 1858.
- [8] Tu YQ, Chen YZ, Wu DG, et al. Studies on sesquiterpene constituents from *Celastrus gemmatus* [J]. *Acta Chim Sin* (in Chinese), 1991, **49**(10): 1014 - 1017.
- [9] Wakabayashi N, Wu WJ, Waters RM, et al. Celangulin: A nonalkaloidal insect antifeedant from Chinese bitterweet, *Celastrus angulatus* [J]. *J Nat Prod*, 1988, **51**(3): 537 - 542.

ASSIGNMENTS OF ¹H NMR FINGERPRINT OF THE ROOT BARK OF *CELASTRUS ANGULATUS*

QIN Hai-lin¹, ZHAO Tian-zeng², SHANG Yu-jun², WANG Zheng-tao¹

(1. Department of Pharmacognosy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038, China;
2. Institute of Chemistry, Henan Academy of Sciences, Zhengzhou 450002, China)

ABSTRACT: **AIM** To assign the ¹H NMR fingerprint of the root bark of *Celastrus angulatus*. **METHODS** Silica gel column chromatography was used to separate the chemical constituents of CGE A of the root bark of *C. angulatus*. The characteristic signals of the ¹H NMR fingerprint were assigned after determining the structures of the compounds isolated from CGE A. **RESULTS** ¹H NMR fingerprints of the samples of *C. angulatus* collected from different regions showed highly characteristic features and reproducibility. Three compounds predominant in CGE A were isolated and their structures were determined by spectral analysis as: angulatin A (**1**), angulatin B (**2**) and angulatin C (**3**). **CONCLUSION** Compound **3** is a new compound. Compound **2** was isolated from *C. angulatus* for the first time. The ¹H NMR fingerprint of CGE A of the root bark of *C. angulatus* showed mainly the characteristic signals of the above three compounds and might be utilized for the original authentication of this plant.

KEY WORDS: *Celastrus angulatus*; ¹H NMR fingerprint; angulatin C