

一支箭中抗胃溃疡的倍半萜内酯苷

吴少华, 罗晓东*, 马云保, 郝小江, 吴大刚

(中国科学院昆明植物研究所植物化学开放研究实验室, 云南 昆明 650204)

摘要: 目的 研究一支箭(*Crepis napifera* (Franch.) Babç.) 根中抗胃溃疡的活性成分。方法 采用柱色谱方法进行分离纯化, 得到 2 个化合物, 用 NMR, MS, UV, IR 光谱技术和化学方法进行鉴定; 测定化合物 1 对大鼠体内由阿司匹林导致胃损伤的影响和对胃酸分泌的作用。结果 分离得到 2 个倍半萜内酯苷类化合物, taraxinic acid-1'-O-β-D-glucopyranoside (1) 和 11,13-dihydro taraxinic acid-1'-O-β-D-glucopyranoside (2)。化合物 1 以 80 mg·kg⁻¹ 的剂量 ig 给药, 可以有效地抑制鼠体内由于阿司匹林导致的胃损伤, 并以 70 mg·kg⁻¹ 的剂量 iv 不会影响鼠体内由组胺刺激产生的胃酸分泌物。结论 化合物 1 为保护胃粘膜, 抗胃溃疡的活性成分。

关键词: 一支箭; 倍半萜内酯苷; 胃粘膜; 胃溃疡; 阿司匹林; 组胺

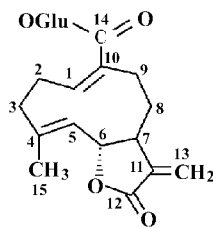
中图分类号: R284.1; R284.2; R285.5

文献标识码: A

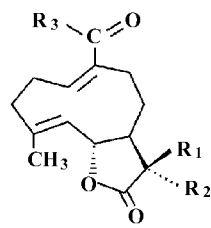
文章编号: 0513-4870(2002)01-0033-04

一支箭 *Crepis napifera* (Franch.) Babç. 为菊科还阳参属植物, 分布于云南、四川、贵州和西藏。其味苦、性凉, 有润肺止咳、消炎生肌的功能。用于咽喉肿痛、支气管炎、百日咳、夜盲症、乳腺炎、毒蛇咬伤和小儿疳积等症。兰茂著《滇南本草》第 1 卷载: “大一支箭有滋阴润肺, 止肺热咳嗽, 除虚劳发烧, 攻疮毒, 利小便, 止咳之功效”。在丽江地区, 一支箭的根是一种治疗胃溃疡的民间药物, 且疗效很好。而国内外对此植物的化学成分研究甚少, 只报道过其根含有三萜化合物^[1]和 2 个倍半萜成分^[2]。作者^[3]曾研究该植物叶的化学成分, 为寻找该植物根中抗胃溃疡的活性成分, 我们对其根的乙醇提取物进行了化学成分研究, 分离得到 2 个倍半萜内酯苷, taraxinic acid-1'-O-β-D-glucopyranoside (1) 和 11,13-dihydro taraxinic acid-1'-O-β-D-glucopyranoside (2)。通过测定化合物 1 对大鼠体内由阿司匹林导致胃损伤的影响和对胃酸分泌的作用, 证明化合物 1 有保护胃粘膜, 抗胃溃疡的活性。

化合物 1 负离子 FAB-MS 示其准分子离子峰为 [M-1]⁻ m/z 423, 结合 NMR 谱, 推断其分子式为 C₂₁H₂₈O₉。红外光谱中有羟基吸收峰 3393 cm⁻¹, 不饱和 γ-内酯吸收峰 1762 cm⁻¹ 及 α,β-不饱和酯吸收峰 1726 cm⁻¹。质谱出现 m/z 261 [M-C₆H₁₁O₃]⁺ 的



1



	R ₁	R ₂	R ₃
2	H	CH ₃	OGlu
1a	CH ₂ OCH ₃	H	OCH ₃
2a	H	CH ₃	OCH ₃

碎片离子, 结合 NMR 谱推断其含有 1 个葡萄糖基。除去葡萄糖基的 6 个碳原子外, 还有 15 个碳原子, 推测 1 为倍半萜苷。氢谱在 δ_H 5.60 (1H, d, J = 3.3 Hz) 和 δ_H 6.09 (1H, d, J = 3.6 Hz) 有两个二重峰, 为 α,β-不饱和 γ-内酯环外双键的两个质子信号, 对应于碳谱中 δ_C 120.67 (CH₂)。在 ¹H-¹H COSY 谱中, 可观察到烯质子 5-H [δ 5.01 (1H, dd, J = 10.2, 1.4 Hz)] 与 6-H [δ 4.69 (1H, dd, J = 10.1, 10.2 Hz)] 偶合, 并且与甲基质子 15-H [δ 1.61 (3H, d, J = 1.4 Hz)] 有一很小的偶合。另外, 在 δ_H 5.88 (1H, dd, J = 12.8, 3.7 Hz) 的 1 个烯质子为 α,β-不饱和酯的 β 质子 (1-H), 碳谱中 δ_C 166.97 (C) 为 α,β-不饱和酯基信号。1 经甲醇钠加成后的产物 1a, EI-MS 示有 [M]⁺ m/z 308 的分子离子峰, 其 NMR 谱与 1 比较, 可见 1 中的葡萄糖基被甲氧基取代, 形成甲酯, 并且不饱和 γ-内酯的环外双键也发生了加成反应, 甲氧基加成在 α,β-不饱和内酯的 β 位上。综上推断 1 为酯苷, 与文献^[4,5]值对照, 其结构为 taraxinic acid-1'-O-β-D-glucopyranoside。

收稿日期: 2001-06-05。

作者简介: 吴少华 (1975-), 女, 博士研究生;

吴大刚 (1939-), 男, 研究员, 博士生导师。

* 通讯作者 Tel.: (0871) 5223421, Fax: (0871) 5150227,

E-mail: wdgykp@163.com

化合物 2 负离子 FAB-MS 示其分子量为 426, 其 NMR 谱与 1 非常相似, 区别在没有不饱和 γ -内酯环外双键的信号, 而在高场多了 1 个甲基的信号, 故 2 的 C-11 位上为一甲基取代, 甲醇钠加成得化合物 2a, 故结构被确定为 11, 13-dihydro-taraxinic acid-1'- O - β -D-glucopyranoside。该化合物中不对称碳原子 C-11 的构型在文献^[4,5]中没有明确报道, 为了确定它的构型, 作者用 X 晶体衍射的方法证明甲基处于 α 位(图 1)。

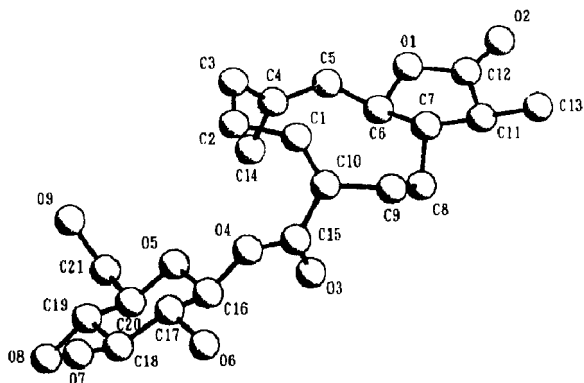


Figure 1 Crystal structure of compound 2

实验部分

熔点用四川大学科仪厂生产的 XRC-1 型显微熔点仪测定, 温度未校正; 旋光用 SEPA-300 仪测定; 红外在 Bio Rad FTS-135 红外光谱仪上测定; 紫外在 UV-210A 紫外光谱仪上测定; ¹H, ¹³CNMR 谱用 Bruker AM-400 MHz 核磁共振仪测定, TMS 为内标, 二维核磁共振谱在 DRX-500 MHz 核磁共振仪上测定; 质谱用 VG Auto Spec-3000 型质谱仪测定; X 晶体衍射在 MAC DIP-2030K 衍射计上完成。薄层色谱硅胶和柱色谱硅胶均购自青岛海洋化工厂。

一支箭样品于 1997 年 7 月采集于云南省丽江地区, 标本由中国科学院昆明植物研究所吕正伟老师鉴定。

1 提取分离

一支箭根(干重 2 kg), 经风干粉碎后, 用 MeOH 冷浸提取 3 次, 回收 MeOH, 将浓缩的提取物溶于水, 依次用 CHCl₃, EtOAc 和 n-BuOH 萃取。n-BuOH 部分(28 g)经硅胶柱色谱, 以 CHCl₃-MeOH 溶剂系统梯度洗脱, 得到 5 个组分。其中组分 2 再经硅胶柱色谱, 以 CHCl₃-MeOH(9:1)洗脱, 在 EtOH-Et₂O 中重结晶得到一个混晶(1.0 g), 再经 Rp-18 柱色谱, 以 MeOH-H₂O(4:6)洗脱, 在 EtOH-Et₂O 中重结晶得到

化合物 1(380 mg)和 2(105 mg)。

2 鉴定

化合物 1 无色针晶(EtOH-Et₂O), mp 186 ~ 188 °C; [α]_D²⁵ - 57.7° (CH₃OH, c 0.45); FAB-MS (negative) m/z (%): 423 [M - H]⁺ (35), 261 [M - C₆H₁₁O₃]⁺ (50); UV (MeOH) λ_{max} nm: 209.5 (4.14); IR (KBr) cm⁻¹: 3393 (br), 2930, 1762, 1726, 1665, 1380, 1293, 1249, 1141, 1098, 1075, 1017, 971; ¹HNMR (400 MHz, CD₃COCD₃) δ_H : 1.61 (3H, d, J = 1.4 Hz, 15-H), 2.13 (1H, m, 9 α -H), 2.20 (2H, m, 8-H), 2.28 (1H, m, 2 α -H), 2.32 (2H, m, 3-H), 2.71 (1H, m, 7-H), 2.89 (1H, d, J = 12.6 Hz, 9 β -H), 3.39 (3H, m, 2, 3, 4-H_{GU}), 3.43 (1H, m, 2 β -H), 3.46 (1H, m, 5-H_{GU}), 3.66 (1H, dd, J = 4.3, 11.7 Hz, 6 α -H_{GU}), 3.81 (1H, dd, J = 1.6, 11.7 Hz, 6 β -H_{GU}), 4.69 (1H, dd, J = 10.1, 10.2 Hz, 6-H), 5.01 (1H, dd, J = 10.2, 1.4 Hz, 5-H), 5.58 (1H, d, J = 6.3 Hz, 1-H_{GU}), 5.60 (1H, d, J = 3.3 Hz, 13 α -H), 5.88 (1H, dd, J = 12.8, 3.7 Hz, 1-H), 6.09 (1H, d, J = 3.6 Hz, 13 β -H); ¹³CNMR 数据见表 1。

甲醇钠加成物 1a 化合物 1(70 mg)溶解于 10 mL MeOH 中, 逐滴加入 5 mL 含 0.1 mol·L⁻¹ NaOCH₃ 的 MeOH 溶液, 在室温下放置 5 h, 用 TLC 跟踪反应进程。待反应完全后, 反应混合物用 HCl 酸化至中性, 再用 CHCl₃ 萃取, CHCl₃ 层用 H₂O 洗, 经无水 Na₂SO₄ 干燥后, 蒸干溶剂。反应混合物经硅胶柱色谱, 用环己烷-EtOAc(6:1)洗脱得化合物 1a(32 mg)。无色油状物; EI-MS(70 eV) m/z (%): 308 [M]⁺ (29), 293 [M - CH₃]⁺ (5), 276 [M - CH₃OH]⁺ (50), 263 [M - CO₂H]⁺ (62), 248 [M - HCOOCH₃]⁺ (34), 216 (47), 203 (63), 171 (49), 145 (87), 105 (67), 80 (100); UV (MeOH) λ_{max} nm: 206 (3.89), 234 (3.41), 246 (3.14); IR (KBr) cm⁻¹: 3624, 3530, 2930, 2865, 1712, 1669, 1442, 1380, 1244, 1190, 960, 778; ¹HNMR (400 MHz, CDCl₃) δ_H : 1.56 (3H, s, 15-H), 2.00 (1H, m, 9 α -H), 2.20 (1H, m, 11-H), 2.77 (1H, m, 7-H), 3.20 (1H, m, 9 β -H), 3.37 (3H, s, OCH₃), 3.70 (3H, s, COOCH₃), 3.75 (2H, d, J = 10 Hz, 13-H), 4.60 (1H, t, J = 9.7 Hz, 6-H), 4.88 (1H, d, J = 10.2 Hz, 5-H), 5.63 (1H, dd, J = 12.8, 4.3 Hz, 1-H); ¹³CNMR 数据见表 1。

化合物 2 无色针晶(EtOH-Et₂O), mp 175 ~ 177 °C; [α]_D²¹ - 52.0° (CH₃OH, c 0.50); FAB-MS (negative) m/z (%): 425 [M - H]⁻ (35), 263 [M -

$C_6H_{11}O_3J^+$ (61); UV(MeOH) λ_{max} nm: 207.5 (3.97), 221.5 (3.75); IR(KBr) cm^{-1} : 3463, 3397, 2917, 1755, 1731, 1673, 1377, 1311, 1242, 1163, 1070, 1007, 963; 1H NMR(400 MHz, CD_3COCD_3) δ_H : 1.16 (3H, d, $J = 8.6$ Hz, 13-H), 1.60 (3H, d, $J = 1.4$ Hz, 15-H), 1.75 (1H, m, 7-H), 1.94 (1H, m, 8 α -H), 2.06 (1H, m, 9 α -H), 2.25 (1H, m, 11-H), 2.28 (1H, m, 2 α -H), 2.30 (2H, m, 3-H), 2.76 (1H, m, 8 β -H), 2.89 (1H, d, $J = 13.0$ Hz, 9 β -H), 3.38 (2H, m, 2, 4- H_{Gu}), 3.41 (1H, m, 3- H_{Gu}), 3.43 (1H, m, 2 β -H), 3.46 (1H, m, 5- H_{Gu}), 3.66 (1H, dd, $J = 4.1, 11.8$ Hz, 6 α - H_{Gu}), 3.80 (1H, dd, $J = 1.6, 11.8$ Hz, 6 β - H_{Gu}), 4.67 (1H, dd, $J = 9.3, 9.7$ Hz, 6-H), 4.89 (1H, dd, $J = 10.1, 1.4$ Hz, 5-H), 5.58 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, 1- H_{Gu}), 5.84 (1H, dd, $J = 12.3, 3.3$ Hz, 1-H); ^{13}C NMR数据见表1。

甲醇钠加成物 2a 化合物 2 (50 mg) 溶解于 10 mL 甲醇中, 用上述相同的方法处理得到反应产物 2a (21 mg)。无色油状物; EI-MS (70 eV) m/z (%): 278 [M]⁺ (69), 263 [M - CH₃]⁺ (54), 246 [M - CH₃OH]⁺ (67), 218 [M - HCOOCH₃]⁺ (56), 203 (53), 173 (62), 145 (100), 107 (71), 80 (89); UV(MeOH) λ_{max} nm: 206.5 (3.95), 242 (3.38); IR(KBr) cm^{-1} : 3024, 2939, 2862, 1769, 1716, 1635, 1445, 1376, 1342, 1245, 1194, 1111, 964; 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 1.12 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, 13-H), 1.43 (3H, s, 15-H), 1.55 (1H, dd, $J = 3.3, 12.3$ Hz, 8 α -H), 1.81 (1H, m, 9 α -H), 2.19 (1H, m, 11-H), 2.21 (1H, m, 8 β -H), 2.68 (1H, m, 7-H), 3.09 (1H, m, 9 β -H), 3.57 (3H, s, COOCH₃), 4.46 (1H, t, $J = 9.7$ Hz, 6-H), 4.69 (1H, d, $J = 10.1$ Hz, 5-H), 5.49 (1H, dd, $J = 12.8, 4.3$ Hz, 1-H); ^{13}C NMR数据见表1。

3 化合物 1 保护胃粘膜 抗胃溃疡的活性

抗药物导致的胃损伤作用实验 体重 100 ~ 150 g Wistar ♀ 鼠, 在实验前禁食 18 h。在幽门结扎后给药, 30 min 后, 用阿司匹林 30 mg·kg⁻¹ 刺激胃粘膜。再过 1 h, 处死动物, 立即取出胃, 并沿胃大弯切开, 用立体显微镜检查胃。Ln (lesions) 计为损伤值, 测出受损伤总面积 La (total lesion area, mm²), 每一组动物受损伤的百分率为 Lup (the percentage of animals per group having lesions), 可求出损伤指数 Li (lesion index) = Ln + La。药物用 1 悬浮于 1% 羧甲基纤维素溶液中, 剂量为 1 mL·kg⁻¹ 的动物体重^[6,7]。

Table 1 ^{13}C NMR spectral data of compounds 1 and 2 in CD_3COCD_3 , 1a and 2a in $CDCl_3$ (100 MHz)

C	1	2	1a	2a
1	148.88 d	148.85 d	145.73 d	145.64 d
2	27.25 t	27.15 t	26.50 t	26.10 t
3	39.70 t	39.76 t	39.18 t	38.81 t
4	143.37 s	142.00 s	141.46 s	140.99 s
5	127.47 d	127.66 d	126.23 d	125.88 d
6	82.49 d	81.75 d	81.30 d	80.96 d
7	50.72 d	42.79 d	48.33 d	41.91 d
8	31.09 t	31.08 t	30.27 t	29.92 t
9	37.06 t	37.17 t	36.56 t	36.32 t
10	131.86 s	131.82 s	131.03 s	130.56 s
11	141.98 s	55.11 d	48.33 d	54.11 d
12	170.52 s	178.63 s	175.75 s	177.93 s
13	120.67 t	13.43 q	68.51 t	12.74 q
14	166.97 s	166.97 s	168.30 s	167.93 s
15	17.14 q	17.02 q	16.61 q	16.29 q
16			59.18 q	50.74 q
17			50.97 q	
Glu-1	95.18 d	95.15 d		
2	73.76 d	73.76 d		
3	78.17 d	78.14 d		
4	71.38 d	71.36 d		
5	78.38 d	78.36 d		
6	62.60 t	62.58 t		

Table 2 Effect of compound 1 at a *po* dose of 80 mg·kg⁻¹ on aspirin induced gastric lesions in female Wistar rats

Treatment	dose/ mg·kg ⁻¹	number	Ln	La/mm ²	Lup/%	Li
Control	-	18	1.9 ± 1.5	0.54 ± 0.59	93	2.44
Compound 1	80	7	1.0 ± 1.0	0.50 ± 0.74	43*	1.50

* $P < 0.05$, Ln (Lesions); La (total lesion area); Lup (percentage of animals per group having lesions); Li (lesion index)

实验结果表明, 1 以 80 mg·kg⁻¹ 的剂量 *ig* 给药, 可有效地抑制鼠体内由于阿司匹林导致的胃损伤。损伤面积只有少量的影响, 但受损伤的数量有明显降低, 近半数的动物可以完全得到保护。

对鼠体胃腔内胃酸分泌的影响 体重 300 ~ 350 g Sprague-Dawley ♂ 鼠, 麻醉后, 用不同的动物标本来测定其胃酸分泌物^[8,9]。动物在实验前禁食 18 h, 自由摄水。用 30% 乌拉坦 (urethane) 以 5 mL·kg⁻¹ 的剂量 *im* 将动物麻醉, 切开气管。在腹部切开后, 结扎食管和幽门, 将一双腔环流的套管插入胃内并固定在胃前部。用 37℃ 的温盐水以 1 mL·min⁻¹ 的速度连续灌入胃内, 每隔 15 min 收集 1 次灌注液, 灌注液的酸浓度用 NaOH 滴定至 pH 7 进行测定。以此法

同时研究 5 只鼠体内的胃酸分泌物。用 iv 的方法以 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}/\text{h}$ 的剂量注射组胺促分泌素, 90 min 后, 当胃酸的输出量稳定后以 iv 给药。

Table 3 Effect of compound 1 at an iv dose of $70 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ on histamine-stimulated gastric acid secretion measured by titration against NaOH in male Sprague Dawley rats

Treatment	Time/min	Acid output/ $\mu\text{mol H}^+/15 \text{ min}$
Control	15	7 ± 2
	30	7 ± 2
	45	25 ± 5
Histamine	60	49 ± 7
	75	70 ± 15
	90	79 ± 17
	105	78 ± 16
Compound 1	120	86 ± 13
	135	86 ± 14
	150	77 ± 12
	165	67 ± 14
	180	58 ± 10

实验结果表明, 1 以 $70 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的剂量 iv 不会影响鼠体内由组胺刺激产生的胃酸分泌物。

致谢: 昆明植物研究所植物化学开放研究实验室仪器组测试各种波谱, 中国医学科学院药物研究所郑启泰教授和吕扬教授测定晶体衍射, 德国 Hoechst Aktiengesellschaft Parma-Synthese 公司 Prof. Dr. Wilhelm Bartmann, Dr. Bickel, Dr. Herling 测试生物活性。

ANTI-GASTRIC ULCER SESQUITERPENE LACTONE GLYCOSIDES FROM *CREPIS NAPIFERA*

WU Shaohua, LUO Xiaodong, MA Yunbao, HAO Xiaojiang, WU Dergang

(Laboratory of Phytochemistry, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China)

ABSTRACT: AIM The anti-gastric ulcer constituents from the roots of *Crepis napifera* (Franch) Babc (Compositae) were studied. **METHODS** Solvent partition, Si gel and Rp-18 column chromatography, crystallization and spectral methods were used to extract, isolate and identify two compounds. The activity of compound 1 was tested on the mouse stomach by determining the effect on aspirin-induced gastric lesions and on histamine-stimulated gastric acid secretion. **RESULTS** Two sesquiterpene lactone glycosides, taraxinic acid-1'- O - β -D-glucopyranoside (1) and 11,13-dihydro taraxinic acid-1'- O - β -D-glucopyranoside (2) were obtained. Compound 1 at the dose of $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ po inhibited significantly the development of aspirin-induced gastric lesions in the rat and at an iv dose of $70 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ did not affect histamine-stimulated gastric acid secretion in the lumen-perfused rat stomach. **CONCLUSION** Compound 1 is the active component of the plant which protects gastric mucosa and exhibits anti-gastric ulcer action.

KEY WORDS: *Crepis napifera*; sesquiterpene lactone glycoside; gastric mucosal; gastric ulcer; aspirin; histamine

REFERENCES:

- [1] Liang JZ, Chen YQ. A triterpenoid from *Crepis napifera*. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药) [J], 1982, **13**(7): 8 - 10.
- [2] Zhao AH, Peng XY, Tang CJ, et al. Isolation and identification of sesquiterpenes from *Crepis napifera*. *Acta Pharm Sin* (药理学报) [J], 2000, **35**(6): 442 - 444.
- [3] Wu SH, Luo XD, Ma YB, et al. A new ursene type triterpenoid from *Crepis napifera*. *Chin Chem Lett* [J], 2000, **11**(8): 711 - 712.
- [4] Hånsel R, Kartarhardja M, Huang JT, et al. Sesquiterpenlactone β -D-glucopyranoside sowie ein neues eudesmanolid aus *Taraxacum officinale*. *Phytochemistry* [J], 1980, **19**(4): 857 - 861.
- [5] Miyase T, Fukushima S. Sesquiterpene lactones from *Ainsliaea acerifolia* SCH. Bip. and *A. Dissecta* Franch. Et SAV. *Chem Pharm Bull* [J], 1984, **32**(8): 3043 - 3046.
- [6] Konturek SJ, Piastucki I, Brzowski T, et al. Role of prostaglandins in the formation of aspirin-induced gastric ulcer. *Gastroenterology* [J], 1982, **80**(1): 4 - 6.
- [7] Djahanguiri B. The production of acute gastric ulceration by indometacin in the rat. *Scand J Gastroenterol* [J], 1969, **4**(2): 265 - 267.
- [8] Barrett AM. Specific stimulation of gastric acid secretion by a pentapeptide derivative of gastrin. *J Pharm Pharmacol* [J], 1966, **18**(2): 633 - 639.
- [9] Herling AW, Bickel M. The stimulatory effect of forskolin on gastric acid secretion in rats. *Eur J Pharmacol* [J], 1986, **125**(1): 233 - 239.