

竹荪中一种新倍半萜化合物的分离与鉴定*

车宗伶¹ G. Vidari² P. Vita-Finzi²

(1 福建省测试技术研究所 福州 350003)

(2 帕维亚大学有机化学系 帕维亚 意大利)

[摘要]本文叙述了从食用茵竹荪(*D. Indusiata*)中分离与鉴定一种新倍半萜化合物的过程。

关键词:竹荪 分离 鉴定 核磁共振谱 质谱 倍半萜

1 引言

竹荪(*D. Indusiata*)是分布于中国南方诸省的一种食用菌。竹荪不仅有丰富的营养,而且有特殊的医疗作用。近年来,人们发现由竹荪中提取的多糖具有抗癌活性^[1]。本文作者曾就竹荪中弱极性 & 非极性有机物的提取、分离和鉴定进行了详尽的探讨^[2]。除了鉴定出常见的萜烯类化合物、甘油三醇、多种脂肪酸、酚类化合物、麦角甾醇等以外,还发现了一个新化合物——油酸萜品醇酯。本文继上述工作之后,对另一个新化合物——新倍半萜的鉴定做了一些工作,通过对纯品化合物的核磁共振谱(¹H 谱及¹³C 谱)及质谱(EI 谱及 CI 谱)测定,并由分子模型计算法论证,最终确定了该倍半萜化合物的结构。

2 实验部分

2.1 仪器设备及实验条件

核磁共振谱仪:BRUKER 250 MHz,样品溶于 CDCl₃ 中,以 TMS 为内标。

质谱仪:Finnigan MAT 8222 型双聚焦磁式质谱仪。

EI 电离方式:电子能量 70 eV,发射电流 1 mA。

CI 电离方式:电子能量 200 eV,发射电流 0.2 mA,反应气为 NH₃。

硅胶色层柱:硅胶 Merck Kieselgel 60(0.040 ~ 0.063 mm),淋洗溶剂均为 A. R. 级。

2.2 萃取与分离过程

如前文^[2]所述,将竹荪干品约 1 kg 浸于乙酸乙酯中。24 小时后,取出溶液,抽去溶剂,得到棕色油状物约 5 g。然后经硅胶柱分离,先后用不同比例的己烷/乙酸乙酯及丙酮等洗涤,并收集提取液。按照 TLC 分析结果,合并相同组份,分为 13 组。各组成份分别采用 GC 和 GC/MS 法分析。遇有难挥发成份,经柱色层分离后,再经 IR、NMR 及 MS 法鉴定。

本文提及的化合物为上述第 10 组洗提物。经小柱分离得 10A 和 10B 两个成份。前者经红外分析提示为脂肪酸酯,后经水解得脂肪酸部分,再经甲酯化后以 GC/MS 及 GC(标样对照)鉴定。而水解后的醇部分则以 NMR 及 MS 法鉴定^[2],本文不再重复。

1997-11-25 收

* 第七届北京国际分析测试学术报告会(1997)论文

至于 10B 组份,经转盘式色层分离仪(Chromatron)分离,得到纯样。再由 NMR 及 MS 技术鉴定其结构。

3 结果与讨论

3.1 核磁共振 ^1H 谱及 $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY 谱(图 1、图 2)

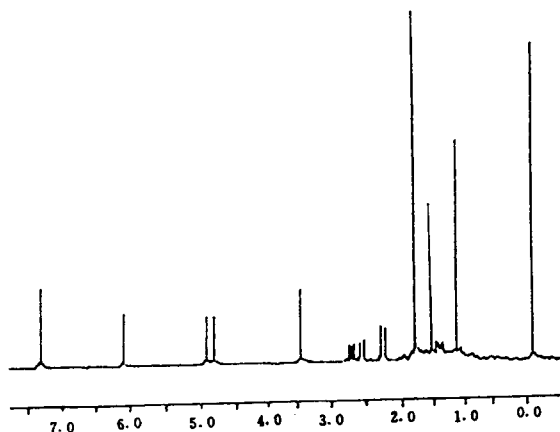


图 1 化合物 10B 的氢谱

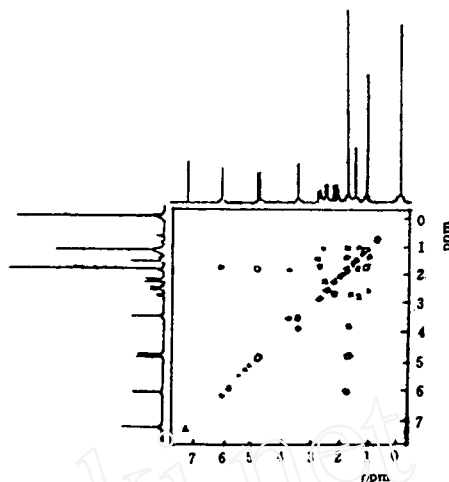


图 2 化合物 10B 的 $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY 谱

3.1.1 在双键 $-\text{CH}=\text{CH}-$ 中, ^1H 谱的标准范围应在 4.6~6 ppm 左右。因而可以认为在 6.07 ppm 处的峰为 H_A ,而 $\delta = 4.8 \sim 4.9$ ppm 均两个峰,则分别为 H_B 和 $\text{H}_{B'}$ 。

3.1.2 从 COSY 谱上可见,与 H_A 相关的应为 $^{12}\text{CH}_3$ 上的甲基 H,对应点在 1.8 ppm。而与 $\text{H}_B, \text{H}_{B'}$ 对应的 $^{14}\text{CH}_3$ 甲基 H 也在 1.8 ppm。所以该处的氢峰最强。从常规分析得知 $\text{CH}_3-\text{C}=\text{C}$ 中的甲基 H 应处在 1.6~2.0 ppm 之间,这完全与上述结果相符。 $^{12}\text{CH}_3$ 和 $^{14}\text{CH}_3$ 上氢信号重叠,说明它们所处环境相同。

3.1.3 在 $-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2-$ 上的氢 H_E 及 $\text{H}_{E'}$ 为同碳氢,其信号应在 2.05~2.5 ppm 之间。它们的 H 峰积分面积均表明只有一个氢,而且 J_1 和 J_1' 的 δ 值与标准值相近,且 J 值相同。其裂分数为 2。在 COSY 谱上 2.2~2.6 ppm 范围内亦可见很强的相关信号。

3.1.4 $-\text{CH}-\text{O}-$ 上的 H 信号应处在 3.7~5.3 ppm 之间。因此, $\delta = 3.55$ 的峰是与 ^{13}C 相连的 H_C 。为区别 H_A 与 H_C ,曾采用在 $\delta = 6.1$ 处辐照的方法得知 H_C 为单线峰。

3.1.5 关于 H_D ,它与 H_F 及 $\text{H}_{F'}$ 相关。而 $\text{H}_{F'}$ 与 $\text{H}_D, \text{H}_F, \text{H}_I, \text{H}_{I'}$ 都相关。因此 $\text{H}_{F'}$ 是四组峰。 H_F 和 $\text{H}_{I'}$ 重合。 H_I 则与 $^{12}\text{CH}_3$ 及 $^{14}\text{CH}_3$ 相混。

3.2 碳谱及 DEPT 谱(图 3、图 4)

3.2.1 在碳谱上, $-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-$ 、 $-\text{CH}-$ 、 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_3$ 的碳峰均能出现。但由于

—C— 上无 H 连接, C 核在核磁共振中驰豫时间延长。所以一般图上信号明显小于 C 上连接有 H 的碳原子信号。

3.2.2 在 DEPT 谱上, CH₂ 的碳峰向下而 CH、CH₃ 的碳峰向上。且 CH 的 C 峰比 CH₃ 的 C 峰出现在更低场, 即更大的 ppm 值之处。而 —C— 的碳峰则不出现。

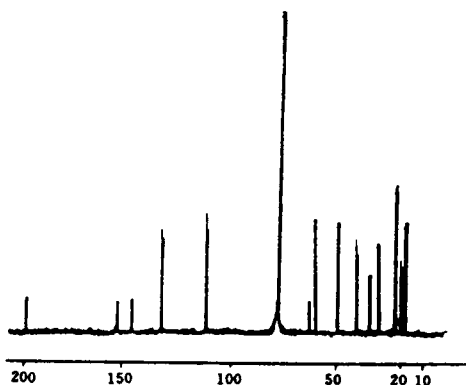


图 3 化合物 10B 的碳谱

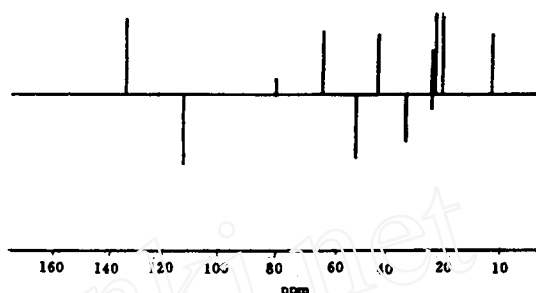


图 4 化合物 10B 的 DEPT 谱

3.2.3 结合碳谱与 DEPT 谱的数据, 按碳谱上标定的顺序, 将各信号归属列于表 1。

表 1 碳谱数据及归属

δ (ppm)	归属
196.360	C=O
154.243, 147.189, 63.168, 49.446	—C—
131.663, 61.120, 41.481	—CH—
111.159, 49.446, 31.438, 21.910	CH ₂
21.910(与 CH ₂ 的重叠峰), 21.219, 15.710	—CH ₃

由碳谱与 DEPT 谱共同分析结果, 共确认了 15 个碳原子的归属, 与目标化合物一致。

3.2.4 根据碳谱及 DEPT 谱以及其它光谱数据, 可假定 10B 化合物结构如式(1)。

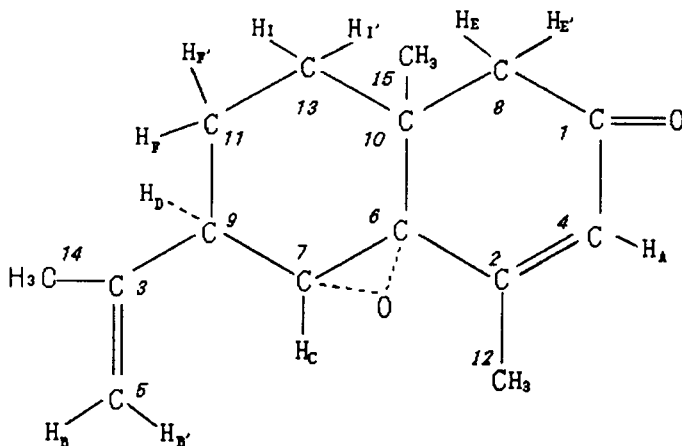
式中各碳原子的位置的判断, 可以简述如下:

a) $\delta = 196.360$ ppm 处是该谱的最低场处, 应为 C=O, 令为 ¹C。

b) $\sigma = 15.710$ ppm 是最高场处, 即受吸电子环境影响最小, 此处的碳为 CH₃ 中的 ¹⁵C。

c) ¹³C 和 ¹⁴C 均为 CH₂ 中的碳原子。两者均为 21 ppm 左右, 相差甚小, 说明两者所处环境相似。只是 ¹³C 所处环境中的电子云浓度更稀一些, 而 ¹²C 则比 ¹⁴C 离氧原子及吸电子基团 —C=O 更近一些。¹⁵C 与这两个 C 原子虽均属 CH₃ 中的 C 原子, 但它在最高场, 处

于与 ^{12}C 、 ^{14}C 相差很大的环境中。



式(1)

d) ^{10}C 为最高场的季碳原子 $\begin{array}{c} | \\ -\text{C}- \\ | \end{array}$, 即最远离于吸电子因素的季碳, 因此取现图上的位置。

e)由于和氧直接相连的季碳即 $\begin{array}{c} | \\ -\text{C}-\text{O} \\ | \end{array}$ 的 δ 值一般在85~70 ppm之间。而双键碳

$\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C}=\text{C} \\ \diagdown \end{array}$ 在150~110 ppm范围内, 因此可判断 ^6C 为 $\begin{array}{c} | \\ -\text{C}-\text{O}- \\ | \end{array}$, 而 ^2C (154.243 ppm)及 ^3C (147.189 ppm)为 $\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C}=\text{C} \\ \diagdown \end{array}$ 上的季碳。同样, 根据与吸电子原子氧和吸电子基团 $\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C}=\text{O} \\ \diagdown \end{array}$ 的距离亦可判断出 ^2C 和 ^3C 的相对位置。两种判断结果一致。

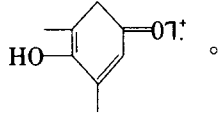
f)至于 $\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C}-\text{H} \\ \diagdown \end{array}$ 和 $\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C}-\text{H}_2 \\ \diagdown \end{array}$ 的区别, 主要决定于与吸电子基团的距离, 前者处于更低场, 即更高 ppm处(131.663)。

g) ^7C (61.120 ppm)和 ^9C (41.481 ppm)符合一般规律, 即 $\begin{array}{c} \diagup \\ \text{CH}-\text{O}- \\ \diagdown \end{array}$ 应在75~60 ppm 而 $\begin{array}{c} \diagup \\ \text{CH}-\text{C} \\ \diagdown \end{array}$ 则在60~30 ppm。

h)还有3个 CH_2 的判断如下: $\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C}-\text{H}_2 \\ \diagdown \end{array}$ 的 δ 值为49.446 ppm, 是三个 CH_2 中最大的, 应该与吸电子基团 $\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C}=\text{O} \\ \diagdown \end{array}$ 相连。而 $^{11}\text{CH}_2$ (31.438 ppm)通过 ^9CH 与吸电子的乙烯基双键相连, $^{13}\text{CH}_2$ (21.910 ppm)与 ^{10}C 相连, 而与 ^{10}C 相近的 CH_3 等(31.438 ppm)都是推电子的, 故 ^{11}C 应在较低场位置上, 与 ^{13}C 相比应在较高 ppm处。

总之,由碳谱及 DEPT 谱的数据及分析结果,与现假设的结构是相符的。

3.3 电子轰击(EI)和化学电离(CI-NH₃)质谱

由 EI 质谱图(图 5)中可见到分子离子峰 m/z 232,而碎片离子 m/z 138 是由分子离子经氧桥断裂及环 I 裂解后伴随麦氏重排裂解而产生的。其结构式为 。

该离子在丢失羰基后生成 m/z 110,而在失去甲基后则为 m/z 123。前者再失去一个甲基及后者丢失一个羰基后,均可生成 m/z 95 离子。

为了确认分子量,曾进行了化学电离(以 NH₃ 为反应气)质谱测定(CI-NH₃)。在 CI 谱中,可以明显地见到 m/z 250 峰,此为 $[M + NH_4^+]$ 离子。由此可知分子量为 $250 - 18 = 232$ 。同样,由质谱峰 m/z 267 = $[M + NH_3 \cdot NH_4^+]$ 和 m/z 284 = $[M + (NH_3)_2 \cdot NH_4^+]$,也可确定其分子量为 232。总之,CI-CH₃ 质谱(图 6)与 EI 谱相结合,为分子量的确认提供了充分的依据。

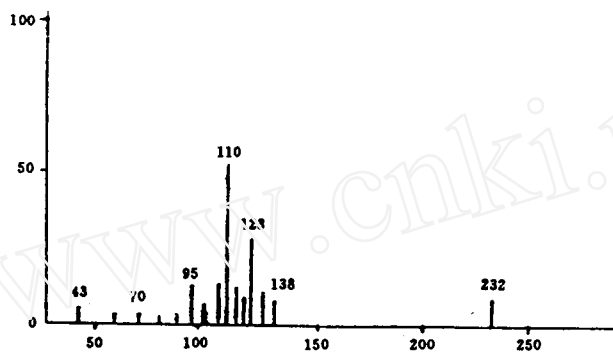


图 5 化合物 10B 的 EI 谱

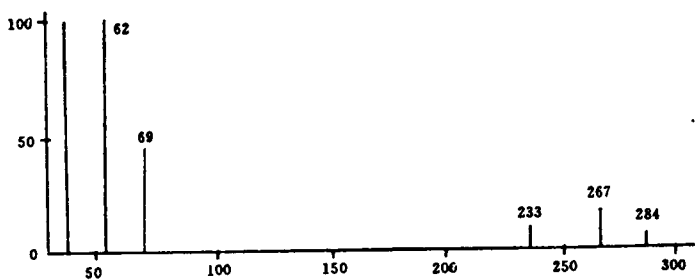
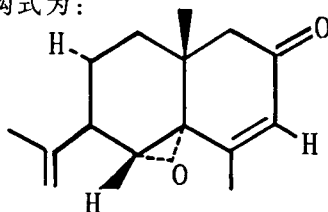


图 6 化合物 10B 的 CI-NH₃ 质谱

3.4 结论

通过柱层分离以及 NMR、MS 等方法,由竹荪中提取并鉴定了一种新的倍半萜。该化合物的分子量为 232,其结构式为:



此结构式经分子模型计算得到进一步证实。

致谢:中国医学科学院丛浦珠教授在裂解途径的解释中给予热心指导以及帕维亚大学 Lucio Toma 教授为本化合物进行了分子模型计算,证实了该化合物的结构,特表谢意。

参 考 文 献

- 1 日本特许公报,2(4) - 39(267),45738 - 45799,1977.
- 2 车宗伶等.Proc of Int 6th Beijing Conf and Exhib on Instrum Analysis, 1995, B51

A New Sesquiterpene from the Mushroom D. Indusiata Fisch

Che Zongling

(Fujian Institute of Testing Technology, Fuzhou 350003, China)

Giovanni Vidari, Paola Vita-Finzi

(Dipartimento di Chimica Organica, Università di Pavia,

Viale Taramelli 10, 27100 Pavia, Italy)

Received 1997-11-25

Abstract

The separation and identification of a new sesquiterpene from the mushroom D. Indusiata Fisch were reported.

Key Words: Dictyophore Indusiata Fisch, separation, identification, NMR, MS, sesquiterpene