

• 化学成分 •

红花中 2 个倍半萜的分离和鉴定

李晓锋¹, 胡晓茹², 戴忠², 张燕³, 梁宏⁴, 林瑞超^{2*}

1. 上海中医药大学 中药研究所, 上海 201203

2. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050

3. 太原华卫药业有限公司, 山西 太原 030006

4. 山西省食品药品检验所, 山西 太原 030001

摘要: 目的 研究菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* 的化学成分。方法 通过大孔吸附树脂、硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 色谱以及制备 HPLC 等方法进行分离纯化, 并鉴定化合物的结构。结果 从红花水提部分得到 2 个倍半萜类化合物, 通过波谱学方法分别鉴定为 (-)-methyl dihydrophaseate (1) 和 (-)-(9E)-methyl dihydrophaseate (2)。结论 其中化合物 2 为新化合物, 命名为红花酯 A。

关键词: 红花; 菊科; 红花酯 A; (-)-(9E)-methyl dihydrophaseate; (-)-methyl dihydrophaseate; 倍半萜

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)09-1685-03

Isolation and identification of two sesquiterpenes from flowers of *Carthamus tinctorius*

LI Xiao-feng¹, HU Xiao-ru², DAI Zhong², ZHANG Yan³, LIANG Hong⁴, LIN Rui-chao²

1. Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

2. National Institute for Food and Drug Control, Beijing 100050, China

3. Taiyuan Huawei Pharmaceutical Limited Company, Taiyuan 030006, China

4. Shanxi Institute for Food and Drug Control, Taiyuan 030001, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents from the flowers of *Carthamus tinctorius*. **Methods** Two sesquiterpenes were isolated and purified by macroporous resin, silica gel, Sephadex LH-20, and preparative HPLC. **Results** Two sesquiterpenes were isolated from the water extract in the flowers of *C. tinctorius* and identified as (-)-methyl dihydrophaseate (1) and (-)-(9E)-methyl dihydrophaseate (2). **Conclusion** Compound 2 is a new compound named carthamate A.

Key words: flowers of *Carthamus tinctorius* L.; Compositae; carthamate A; (-)-(9E)-methyl dihydrophaseate; (-)-methyl dihydrophaseate; sesquiterpene

红花为菊科 (Compositae) 植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花。其性温、味辛, 归心、肝经, 具有活血通经, 散瘀止痛之疗效, 临床上主要用于治疗经闭、痛经、恶露不行、癥瘕痞块、胸痹心痛、瘀滞腹痛、胸胁刺痛、跌扑损伤、疮疡肿痛^[1], 是一种常用的活血化瘀类中药。其化学成分主要为黄酮类、木脂素类、多炔类、生物碱类、有机酸类、甾醇类、多糖、氨基酸等^[2-7]。红花主要有降压、抗炎、抗氧化、镇痛、抗凝等方面的药理作用^[8-10]。本实验从红花水提部分分离得到 1 对构型异构的倍半萜类化合物, 通过波谱分析和与文献对照分别鉴定为

(-)-methyl dihydrophaseate (1) 和 (-)-(9E)-methyl dihydrophaseate (2), 其中化合物 2 为新化合物, 命名为红花酯 A, 结构见图 1。

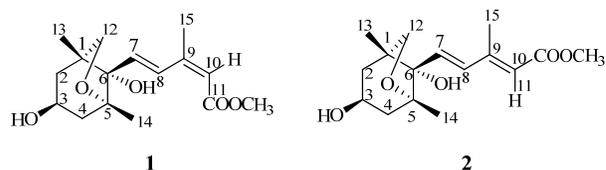


图 1 化合物 1 和 2 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1 and 2

收稿日期: 2012-06-25

作者简介: 李晓锋 (1983—), 男, 上海中医药大学 09 级博士生, 主要从事中药化学物质基础、质量控制方法等方面的研究。

E-mail: lixiaofeng830218@163.com

*通讯作者 林瑞超 Tel: (010)67095307 E-mail: Linrch307@sina.com

1 仪器与试剂

INOVA—600 型核磁共振仪 (Varian 公司); Waters 2695 型高效液相色谱单元, 配 Waters 2996 型二极管阵列 DAD 检测器 (美国 Waters 公司); P230 梯度制备液相色谱仪, 配 UV230+ 紫外/可见检测器 (大连依利特分析仪器有限公司); Camag Reprostar 3 成相系统 (瑞士卡玛公司); Milli—Q Academic 超纯水器 (美国 Millipore 公司); PE Model 343 旋光仪 (美国 PE 公司); 美国热电公司 (Thermo) 傅里叶变化红外光谱仪: Nicolet 5700 (显微镜透射法); Sephadex LH-20 凝胶 (美国 GE 公司); 柱色谱、薄层色谱所用硅胶 G 为青岛海洋化工厂产品; 所用试剂均为分析纯。

实验材料由太原华卫药业有限公司提供, 由中国食品药品检定研究院标本馆张继研究员鉴定为红花 *Carthamus tinctorius* L.。

2 提取与分离

取红花药材 20 kg, 煎煮 3 次, 每次加 10 倍量 (200 L) 水, 第 1 次 1 h, 第 2 次 50 min, 第 3 次 30 min。合并煎液, 滤过, 滤液浓缩至相对密度为 1.16~1.26 (50~60 °C), 加乙醇使含醇量达 70%, 冷藏, 静置 48 h 以上, 滤过, 滤液回收乙醇并浓缩至相对密度为 1.10~1.14 (50~60 °C), 再加乙醇使含醇量达 80%, 冷藏, 静置 48 h 以上, 滤过, 减

压蒸馏至无醇味 (20 L), 经大孔吸附树脂 (AB-8) 分离, 依次用去离子水、30%、60%乙醇洗脱, 其中 60%乙醇洗脱部分 (100 g) 经硅胶柱色谱 (200~300 目), 二氯甲烷-甲醇 (100:1→5:1) 梯度洗脱, TLC 监测分成 10 个馏份 (Fr. 1~10), 其中 Fr. 2 (2.47 g) 经硅胶柱 (200~400 目) 色谱分离, 石油醚-醋酸乙酯洗脱, 得到 10 个馏份 (Fr. 2a~2j), Fr. 2g (0.5 g) 经 Sephadex LH-20 柱色谱, 甲醇洗脱, 再经制备液相纯化得化合物 **1** (31 mg) 和 **2** (4 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 无色晶体, $[\alpha]_D^{20}$ -18.8 (*c* 0.096, CH₃OH), ESI-MS 给出准分子离子峰 *m/z*: 314.2 [M+NH₄]⁺。结合 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 谱, 确定分子式为 C₁₆H₂₄O₅, 不饱和度为 5。将化合物 **1** 的波谱数据 (表 1) 与文献报道对比结果一致^[11-12], 故鉴定化合物 **1** 为 (-)-methyl dihydrophascate。

化合物 **2**: 无色油状物, $[\alpha]_D^{20}$ -10 (*c* 0.11, CH₃OH); HR-ESI-MS 给出准分子离子峰 *m/z*: 297.170 9 [M+H]⁺, 推知分子式为 C₁₆H₂₄O₅ (计算值 297.170 2), 不饱和度为 5; IR ν_{\max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 405 (-OH), 1 715 (C=O) 和 1 612 (C=C), 提示此化合物具有 -OH 和 α, β -不饱和酯; 化合物 **2** 的氢谱 (表 1) 位于高场处有 3 个甲基单峰 [δ_{H} 0.84 (3H, s, H-13), 1.05 (3H, s, H-14), 2.28 (3H, brs, H-15)], δ_{H} 3.64 为

表 1 化合物 **1** 和 **2** 的 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据 (600/150 MHz, CD₃OD)
Table 1 ¹H-NMR and ¹³C-NMR data for compounds **1** and **2** (600/150 MHz, CD₃OD)

碳位	化合物 1		化合物 2	
	δ_{H}	δ_{C} (DEPT)	δ_{H}	δ_{C} (DEPT)
1		49.4 (qC)		49.6 (qC)
2	1.80 (1H, dd, <i>J</i> = 13.8, 7.2 Hz), 1.60 (1H, m)	44.5 (CH ₂)	1.80 (1H, dd, <i>J</i> = 13.2, 7.2 Hz), 1.60 (1H, m)	44.5 (CH ₂)
3	4.06 (1H, m)	66.0 (CH)	4.06 (1H, m)	66.0 (CH)
4	1.98 (1H, dd, <i>J</i> = 13.8, 7.2 Hz) 1.67 (1H, dd, <i>J</i> = 13.8, 7.2 Hz)	46.0 (CH ₂)	1.98 (1H, dd, <i>J</i> = 13.8, 7.2 Hz) 1.67 (1H, dd, <i>J</i> = 13.8, 7.2 Hz)	46.0 (CH ₂)
5		87.8 (qC)		87.8 (qC)
6		83.2 (qC)		83.4 (qC)
7	6.49 (1H, d, <i>J</i> = 15.6 Hz)	135.7 (CH)	6.51 (1H, d, <i>J</i> = 15.6 Hz)	134.4 (CH)
8	7.95 (1H, d, <i>J</i> = 15.6 Hz)	131.7 (CH)	6.60 (1H, d, <i>J</i> = 15.6 Hz)	137.5 (CH)
9		152.0 (qC)		153.3 (qC)
10	5.72 (1H, brs)	118.3 (CH)	5.83 (1H, brs)	120.3 (CH)
11		168.1 (qC)		169.0 (qC)
12	3.76 (1H, dd, <i>J</i> = 7.2, 1.8 Hz) 3.66 (1H, d, <i>J</i> = 7.2 Hz)	77.2 (CH ₂)	3.75 (1H, dd, <i>J</i> = 7.2, 1.2 Hz) 3.66 (1H, d, <i>J</i> = 7.2 Hz)	77.3 (CH ₂)
13	0.87 (3H, s)	16.4 (CH ₃)	0.84 (3H, s)	16.3 (CH ₃)
14	1.09 (3H, s)	19.7 (CH ₃)	1.05 (3H, s)	19.6 (CH ₃)
15	2.03 (3H, brs)	21.2 (CH ₃)	2.28 (3H, brs)	14.1 (CH ₃)
-OCH	3.64 (3H, s)	51.6 (CH ₃)	3.64 (3H, s)	51.5 (CH ₃)

甲氧基峰, 低场处有 3 组烯氢质子, 由耦合常数可以判断 δ_{H} 6.51 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-7) 和 δ_{H} 6.60 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-8) 为位于同一双键的反式位置。通过碳谱可知化合物 **2** 共有 16 个碳信号, 由 DEPT 谱确定化合物 **2** 具有 4 个甲基, 3 个亚甲基, 4 个次甲基和 5 个季碳, 结合化合物 **2** 的 DEPT 谱和分子式可知化合物 **2** 具有 2 个环, 其中 1 个应为含氧杂环。通过 HSQC 谱对碳氢信号进行了归属, 并进一步对 ^1H - ^1H COSY 谱和 HMBC 谱 (图 2) 解析, 在 ^1H - ^1H COSY 谱中可见 H-2 (δ_{H} 1.60, 1.80) 与 H-3 (δ_{H} 4.06), H-3 (δ_{H} 4.06) 与 H-4 (δ_{H} 1.98, 1.67), H-7 (δ_{H} 6.51) 与 H-8 (δ_{H} 6.60), H-10 (δ_{H} 5.83) 与 H-15 (δ_{H} 2.28) 相互耦合。HMBC 谱中, 甲氧基氢 (δ_{H} 3.64) 与 C-11 (δ_{C} 169.0) 远程相关, 说明该甲氧基连于 C-11 (δ_{C} 169.0) 的羰基碳上, H-12 (δ_{H} 3.75, 3.66) 与 C-5 (δ_{C} 87.8) 相关, 说明 C-12 (δ_{C} 77.3) 与 C-5 (δ_{C} 87.8) 通过氧桥相连, 同时可见 H-12 (δ_{H} 3.75, 3.66) 与 C-1 (δ_{C} 49.6)、C-2 (δ_{C} 44.5)、C-6 (δ_{C} 83.4)、C-13 (δ_{C} 16.3) 远程相关, 另外可见 H-14 (δ_{H} 1.05) 与 C-4 (δ_{C} 46.0)、C-5 (δ_{C} 87.8)、C-6 (δ_{C} 83.4) 远程相关, H-13 (δ_{H} 0.84) 与 C-1 (δ_{C} 49.6)、C-2 (δ_{C} 44.5)、C-6 (δ_{C} 83.4)、C-12 (δ_{C} 77.3) 远程相关, 同时可见 H-15 (δ_{H} 2.28) 与 C-8 (δ_{C} 137.5)、C-10 (δ_{C} 120.3) 相关, H-8 (δ_{H} 6.60) 与 C-6 (δ_{C} 83.4)、C-7 (δ_{C} 134.4)、C-9 (δ_{C} 153.3)、C-10 (δ_{C} 120.3)、C-15 (δ_{C} 14.1) 相关, 以及 H-10 (δ_{H} 5.83) 与 C-8 (δ_{C} 137.5)、C-9 (δ_{C} 153.3)、C-11 (δ_{C} 169.0)、C-15 (δ_{C} 14.1) 的远程相关。综上所述可推出该化合物平面结构, 通过波谱数据对比, 发现化合物 **2** 与化合物 **1** 的波谱数据非常相似, 不同之处为化合物 **2** 的 8、9、10 和 11 位碳信号分别向低场位移 5.8、1.3、2.0 和 0.9, 而 15 位的甲基碳信号向高场位移 7.1, 因此推测化合物 **2** 与化合物 **1** 只有 9、10 位的双键构型不同, 其余位置构型一致。

为了确定化合物 **2** 的 9、10 位的双键构型, 并进一步验证化合物 **1** 的 9、10 位的双键构型, 分别对化合物 **1** 和 **2** 做选择性 NOE 照射, 通过选择性



图 2 化合物 **2** 主要 HMBC 及 ^1H - ^1H COSY 相关
Fig. 2 Main key HMBC and ^1H - ^1H COSY correlations of compound **2**

NOE 谱发现, 当对化合物 **1** 的 15 位甲基氢照射时, 可见 10 位氢信号增强, 当对化合物 **1** 的 10 位氢照射时, 亦可见 15 位甲基上的氢信号增强, 因此可确认化合物 **1** 的 9、10 位双键为顺式双键; 而通过选择性 NOE 谱发现, 当对化合物 **2** 的 15 位甲基氢照射时, 未发现 10 位氢信号增强, 当对化合物 **2** 的 10 位氢照射时, 同样也未发现 15 位甲基上的氢信号增强, 由此确认, 化合物 **2** 的 10 位氢与 15 位甲基并不在双键的同侧, 其 9、10 位双键为反式双键。与化合物 **1** 不同, 得到的化合物 **2** 单体为油状物而化合物 **1** 为晶体, 可能是由于化合物 **1** 中较大的两个基团位于 9、10 位双键的顺式同侧位, 因而有利于分子间的彼此靠近而形成有序排列, 同时在化合物 **2** 中, C-8 化学位移向低场移动可能也与 C-11 与 C-8 位于 9、10 位双键的反式位置而造成更明显的吸电子作用有关。综上所述, 化合物 **2** 的结构确认为 (-)-(9E)-methyl dihydrophaseate, 命名为红花酯 A。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 徐如英, 童树洪. 红花的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国药业, 2010, 19(20): 86-87.
- [3] 姜建双, 夏鹏飞, 冯子明, 等. 红花化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(24): 2911-2913.
- [4] He J, Shen Y, Jiang J S, *et al.* New polyacetylene glucosides from the flowers of *Carthamus tinctorius* and their weak anti-inflammatory activities [J]. *Carbohydr Res*, 2011(346): 1903-1908.
- [5] 霍 贤, 梁忠岩, 张雅君, 等. 红花水溶性多糖的分离、纯化及初步研究 [J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(8): 620-622.
- [6] 王慧琴, 谢明勇, 杨妙峰, 等. 不同产地红花中微量元素的因子分析和聚类分析 [J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2006, 45(1): 72-75.
- [7] 王 磊, 谭 勇, 王 恒, 等. 新疆不同产地红花中氨基酸的含量测定 [J]. 食品科技, 2011, 36(8): 277-278.
- [8] 肖文英, 金 珠, 陈蓉芳, 等. 红花黄色素对犬心肌缺血的保护作用及作用机制 [J]. 中草药, 2006, 37(增刊): 273-276.
- [9] 刘伊娜, 朱健华, 吴 翔, 等. 羟基红花黄色素 A 对心肌缺血再灌注损伤的作用及机制的探讨 [J]. 交通医学, 2009, 23(5): 482-487.
- [10] 臧宝霞, 金 鸣, 李金荣. 羟基红花黄色素 A 抗凝作用的研究 [J]. 中草药, 2007, 38(5): 741-743.
- [11] Zhang Z, Zhang W, Ji Y P, *et al.* Gynostemosides A—E, megastigmane glycosides from *Gynostemma pentaphyllum* [J]. *Phytochemistry*, 2010, 71(5/6): 693-700.
- [12] Cui B L, Nakamura M, Kinjo J, *et al.* Chemical constituents of *Astragali Semen* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1993, 41(1): 178-182.