

• 化学成分 •

金毛狗脊中的一个新酚苷

许 枏¹, 石亚因², 谢 雪¹, 章 琪¹, 曹 跃¹, 贾天柱^{1*}

1. 辽宁中医药大学, 辽宁 大连 116600

2. 大连市食品药品检验所, 辽宁 大连 116101

摘要: 目的 研究金毛狗脊 *Cibotium barometz* 的化学成分。方法 采用柱色谱和高效液相色谱法分离纯化金毛狗脊中的化学成分, 并采用光谱法鉴定其结构。结果 从金毛狗脊中分离得到的 6 个化合物分别鉴定为 6-*O*-原儿茶酰基-*D*-葡萄糖(1)、3-*O*-咖啡酰基-*D*-葡萄糖(2)、1-*O*-咖啡酰基- β -*D*-葡萄糖(3)、咖啡酸(4)、原儿茶酸(5)、对羟基苯甲酸(6)。结论 其中化合物 1~3、6 均为首次从金毛狗脊中分离得到, 化合物 1 为新的酚苷, 命名为金毛狗脊苷 D。

关键词: 金毛狗脊; 6-*O*-原儿茶酰基-*D*-葡萄糖; 金毛狗脊苷 D; 酚苷; 1-*O*-咖啡酰基- β -*D*-葡萄糖

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)04-0383-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.04.002

A novel phenolic glycoside from *Cibotium barometz*XU Nan¹, SHI Ya-nan², XIE Xue¹, ZHANG Qi¹, CAO Yue¹, JIA Tian-zhu¹

1. College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China

2. Dalian Institute for Drug Control, Dalian 116101, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from *Cibotium barometz* continuously. **Methods** Column chromatography and HPLC were carried out to isolate and purify the chemical compounds in the ethanol extract from *C. barometz*, and their structures were elucidated on the basis of spectroscopy. **Results** Six compounds isolated from *C. barometz* were identified as 6-*O*-protocatechuoyl-*D*-glucopyranose (1), 3-*O*-caffeoyl-*D*-glucopyranose (2), 1-*O*-caffeoyl- β -*D*-glucopyranose (3), caffeic acid (4), protocatechuic acid (5), and *p*-hydroxybenzoic acid (6). **Conclusion** Compounds 1—3 and 6 are isolated from *C. barometz* for the first time, and compound 1 is a novel phenolic glucoside named cibotiumbaroside D.

Key words: *Cibotium barometz* (L.) J. Sm.; 6-*O*-protocatechuoyl-*D*-glucopyranose; cibotiumbaroside D; phenolic glucoside; 1-*O*-caffeoyl- β -*D*-glucopyranose

金毛狗脊 *Cibotii Rhizoma* 有数千年的临床应用历史, 古医籍和现代中药书籍中均有记载, 由于其疗效明确, 目前仍是较常用的中药之一。市场上使用的金毛狗脊片是植物金毛狗脊 *Cibotium barometz* (L.) J. Sm. 的干燥根茎的切片。金毛狗脊根茎较硬, 外被很多金色绒毛, 因此被称为“金毛狗脊”或者“黄狗头”^[1]。金毛狗脊除了在中国有分布, 在亚洲的其他国家如韩国、越南、马来西亚等地也有广泛分布^[1]。金毛狗脊具有补肝肾、健骨强筋、利关节等功效, 用于肝肾阴虚的风湿病、项背疼痛、脚软无力, 遗尿等症, 其外被绒毛也被用于治疗外伤出

血^[2]。由于金毛狗脊的生理活性较强, 目前其相关研究也在持续进行^[3-4]。

金毛狗脊根茎大约含有 30% 的淀粉, 另外还含有植物甾醇、萜素、酚酸^[5]、糠醛^[6]、糖^[7]、脂肪酸、酚苷^[8]等成分。基于课题组的金毛狗脊炮制前后化学成分和抗骨质疏松活性研究^[9], 本实验对金毛狗脊的化学成分进行了进一步的深入研究, 从其根茎中分离得到 6 个化合物, 分别鉴定为 6-*O*-原儿茶酰基-*D*-葡萄糖 (6-*O*-protocatechuoyl-*D*-glucopyranose, 1)、3-*O*-咖啡酰基-*D*-葡萄糖 (3-*O*-caffeoyl-*D*-glucopyranose, 2)、1-*O*-咖啡酰基- β -*D*-葡萄糖 (1-*O*-caffeoyl-

收稿日期: 2012-11-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30825047)

作者简介: 许 枏, 女, 副教授, 研究方向为中药有效成分。Tel: (0411)87586014 E-mail: xudanbs@163.com

*通信作者 贾天柱 Tel: (0411)87586499 E-mail: jiatz@lnutcm.edu.cn

β -D-glucopyranose, **3**)、咖啡酸 (caffeic acid, **4**)、原儿茶酸 (protocatechuic acid, **5**)、对羟基苯甲酸 (*p*-hydroxybenzoic acid, **6**)。其中化合物 **1**~**3**、**6** 均为首次从金毛狗脊中分离得到, 化合物 **1** 为新的酚苷, 命名为金毛狗脊苷 D。

1 仪器与材料

Bruker Avance 600—NMR 核磁谱仪 (德国布鲁克公司), HPLC (Shimadzu LC—10Avp, 日本岛津公司); HR-FAB-MS Micros Mass Autospec-UltimaE TOF 质谱仪 (USA); 反相硅胶 Fuji RP₁₈ (日本富士化学有限公司); Sephadex LH-20 (美国玛法西亚公司); MCI CHP20P (日本三菱公司)。所用色谱纯试剂为美国天地公司, 分析纯为天津科密欧化学试剂有限公司。

狗脊药材购于湖南省怀化市, 由辽宁中医药大学贾天柱教授鉴定为金毛狗脊 *Cibotium barometz* (L.) J. Sm. 的干燥根茎。

2 提取与分离

取干燥的金毛狗脊根茎 15 kg, 粉碎, 加 80% 乙醇提取 3 次 (3×30 L), 每次 1 h, 得浸膏 1 000 g。取上述浸膏 900 g, 混悬于水中 (15 L), 依次用三氯甲烷、醋酸乙酯、正丁醇萃取 (3×15 L), 回收溶剂, 得到相应的提取物。其中正丁醇提取物 (310 g) 经 MCI CHP20P 凝胶柱色谱, 以甲醇-水 (0:10、5:10、5:5、10:0) 梯度洗脱, 得到 4 个组分 (X1~X4)。组分 X2 (5 g) 经反相 ODS 柱色谱, 以 80% 甲醇洗脱, 得到 4 个组分 (X2A~X2D)。组份 X2D 经 HPLC 制备, 以 80% 甲醇洗脱, 得化合物 **1** (30 mg)、**2** (15 mg)、**3** (5 mg)。组分 X2B (10 g) 经 Sephadex LH-20 柱色谱, 以甲醇洗脱得组分 X2B1~X2B4 和化合物 **4** (10 mg)。其中组分 X2B1 经反相 OSD 柱色谱, 以 80% 甲醇洗脱, 得化合物 **5** (100 mg)。组分 X2B3 经反相 ODS 柱色谱, 以 80% 甲醇洗脱, 得化合物 **6** (30 mg)。

取化合物 **1** (2 mg) 溶于 1 mol/L HCl (二氧六烷-水, 1:1, 1 mL) 中在水浴 (80 °C) 中, 加热 3 h。中和酸水液, 加入三氯甲烷萃取, 水层浓缩后用氮气干燥。残渣用 0.1 mL 吡啶溶解, 加入 *L*-半胱氨酸乙酯盐酸盐的吡啶溶液 (0.06 mol/L, 0.1 mL)。反应物在 60 °C 条件下干燥 2 h, 加入 0.1 mL *N*-三甲基硅基咪唑, 继续干燥 (60 °C) 1.5 h。干燥物混悬于水中, 用环己烷萃取, 有机相采用气相色谱分析, 色谱柱为 SPB-1 (30.0 m×0.25 mm), 检测器为 FID, 柱温

210 °C, 进样温度 270 °C, 检测温度 300 °C, 载气 He, 体积流量为 2 mL/min。与葡萄糖对照品衍化物对照, 分别检出 β -D-葡萄糖和 α -D-葡萄糖的相应衍化物 (图 1)。

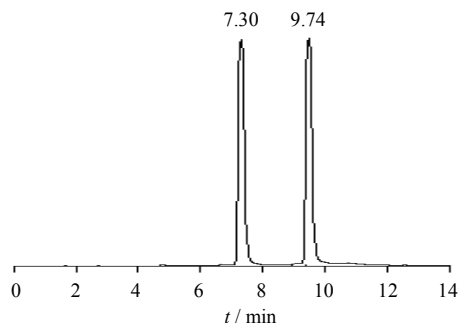


图 1 化合物 **1** 酸水解后制备糖衍化物的气相色谱图

Fig. 1 GC chromatogram of compound **1** after acid hydrolysis for preparing sugar derivative

3 结构鉴定

化合物 **1**: 无色固体物 (甲醇)。与 5% FeCl₃ 乙醇液反应呈蓝色, 薄层色谱中喷以 5% 香草醛硫酸试液, 加热后呈樱红色斑点。[α]_D²⁰+25.5 (*c* 1.00, MeOH)。ESI-MS *m/z*: 315 [M-H]⁻, 297 [M-H-H₂O]⁻; 分子式为 C₁₃H₁₆O₉。¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据见表 1。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) 中观察到一对 α/β 构型糖的端基质子信号 δ 5.10 (1H, d, *J* = 3.7 Hz), 4.51 (1H, d, *J* = 7.8 Hz), 提示该化合物结构中连有一个葡萄糖, 且其端基上的羟基未被苷化。氢谱低场处的 δ 7.44 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz), 7.45 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 6.80 (1H, d, *J* = 8.0 Hz) 形成 AMX 耦合芳香质子信号, 提示该化合物结构中有 1 个 1, 2, 4-三取代苯环。该化合物的 ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) 给出 20 个碳信号, 低场处的芳香碳信号 δ 123.8, 117.5, 146.2, 151.8, 115.8, 122.7, 168.3 结合该化合物的苯环取代方式, 提示该化合物的苷元部分为原儿茶酰基。通过 HSQC 谱对部分碳信号进行归属。在 HMBC 谱中 (图 2), 观察到 *D*-葡萄糖的 6 位质子 δ 4.40 (1H, dd, *J* = 12.0, 5.1 Hz), 4.37 (1H, dd, *J* = 12.0, 5.1 Hz), 4.56 (1H, dd, *J* = 12.0, 1.9 Hz), 4.50 (1H, dd, *J* = 12.0, 1.9 Hz) 与苷元上的羧基碳 δ 168.3, 168.2 相关, 推定结构中的原儿茶酰基连接在葡萄糖的 6 位。碳谱中葡萄糖上的 6 位碳信号向低场位移至 δ 64.9, 进一步确定了上述推断。糖的组成和苷元由酸水解进一步证实。综上分析, 确定化合物 **1** 的结构为 6-*O*-原儿茶酰基-*D*-葡萄糖,

表1 化合物1的氢谱和碳谱数据 (CD₃OD)
Table 1 ¹H-NMR and ¹³C-NMR data of compound 1 (CD₃OD)

碳位	δ _H	δ _C	HMBC (H→C)
1	5.10 (1H, d, <i>J</i> = 3.7 Hz), 4.51 (1H, d, <i>J</i> = 7.8 Hz)	94.0, 98.1	C-3, C-5
2	3.58 (1H, m), 3.40 (1H, m)	73.8, 74.8	
3	3.70 (1H, t, <i>J</i> = 8.0 Hz), 3.50 (1H, m)	75.6, 78.0	
4	3.36~3.40 (2H, m)	70.9, 71.8	
5	4.07 (1H, m), 3.16 (1H, t, <i>J</i> = 8.0 Hz)	72.0, 76.3	
6	4.56 (1H, dd, <i>J</i> = 12.0, 1.9 Hz), 4.37 (1H, dd, <i>J</i> = 12.0, 5.1 Hz), 4.50 (1H, dd, <i>J</i> = 12.0, 1.9 Hz), 4.40 (1H, dd, <i>J</i> = 12.0, 5.1 Hz)	64.9, 65.0	C-7', C-4
protocatechuoyl			
1'		122.7	
2'	7.45 (1H, d, <i>J</i> = 2.0 Hz)	117.5	C-4', C-6', C-7'
3'		146.2	
4'		151.8	
5'	6.80 (1H, d, <i>J</i> = 8.0 Hz)	115.8	C-3', C-1'
6'	7.44 (1H, dd, <i>J</i> = 8.0, 2.0 Hz)	123.8	C-2', C-4', C-7'
7'		168.3, 168.2	

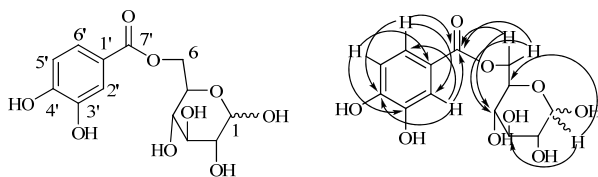


图2 化合物1的结构和重要HMBC相关

Fig. 2 Structure and key HMBC correlations of compound 1

命名为金毛狗脊苷D。

化合物2: 无色油状物, 三氯化铁显蓝色。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ: 7.58 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-7), 7.05 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2), 6.95 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz, H-5), 6.77 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-6), 6.34 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-8), 5.32 (1H, t, *J* = 9.6 Hz, β-Glc-H-3), 5.16 (1H, d, *J* = 3.8 Hz, α-Glc-H-1), 5.03 (1H, t, *J* = 9.6 Hz, α-Glc-H-3), 4.59 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, β-Glc-H-1); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ: caffeoyl: 169.4 (-COOH), 169.1 (-COOH), 149.5 (C-7), 146.9 (C-3), 146.8 (C-3), 146.7 (C-4), 127.9 (C-1), 122.8 (C-6), 116.5 (C-5), 115.7 (C-2), 115.5 (C-8), 115.1 (C-8); α-Glc: 94.0 (C-1), 77.0 (C-3), 72.9 (C-2), 72.3 (C-5), 69.9 (C-4), 62.4 (C-6); β-Glc: 98.1 (C-1), 79.1 (C-3), 77.9 (C-5), 74.7 (C-2), 70.0 (C-4), 62.6 (C-6)。上述数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物2为3-*O*-咖啡酰基-*D*-葡萄糖。

化合物3: 淡黄色油状物, 三氯化铁显蓝色。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ: 7.65 (1H, d, *J* = 15.8 Hz, H-7), 7.05 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2), 6.96 (1H, dd,

J = 8.0, 2.0 Hz, H-5), 6.78 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-6), 6.30 (1H, d, *J* = 15.8 Hz, H-8), 5.56 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, Glc-H-1), 3.38~3.85 (5H, m, Glc-H-2~6); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ: 168.8 (C-9), 150.9 (C-7), 149.4 (C-3), 147.9 (C-4), 128.7 (C-1), 124.3 (C-6), 117.6 (C-5), 116.4 (C-2), 115.3 (C-8), 96.9 (Glc-C-1), 79.9 (Glc-C-3), 79.1 (Glc-C-5), 75.1 (Glc-C-2), 72.3 (Glc-C-4), 63.4 (Glc-C-6)。上述数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物3为1-*O*-咖啡酰基-β-*D*-葡萄糖。

化合物4: 淡黄色粉末, 三氯化铁显蓝色。ESI-MS和NMR数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物4为咖啡酸。

化合物5: 白色粉末, 三氯化铁显蓝色。ESI-MS和NMR数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物5为原儿茶酸。

化合物6: 浅黄色粉末, 三氯化铁显铁锈红色。ESI-MS *m/z*: 137 [M-H]⁻。¹H-NMR (600 MHz, pyridine-*d*₅) δ: 8.44 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-2, 6), 7.24 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-3, 5); ¹³C-NMR (150 MHz, pyridine-*d*₅) δ: 173.7 (-COOH), 163.1 (C-4), 132.7 (C-2, 6), 123.3 (C-1), 116.0 (C-3, 5)。上述数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物6为对羟基苯甲酸。

参考文献

[1] Zhao X, Wu Z X, Zhang Y, et al. Anti-osteoporosis activity of *Cibotium barometz* extract on ovariectomy-

- induced bone loss in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 137(3): 1083-1088.
- [2] Nguyen T O. The red list of medicinal plants of Viet Nam-2006 [in Vietnamese] [J]. *J Med Mater*, 2006, 11(3): 97-105.
- [3] Mai W Q, Chen D F, Li X C, *et al*. Antioxidant activity of *Rhizoma Cibotii* *in vitro* [J]. *Adv Pharm Bull*, 2012, 2(1): 107-114.
- [4] Wu Q, Yang X W. The constituents of *Cibotium barometz* and their permeability in the human Caco-2 monolayer cell model [J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 125(3): 417-422.
- [5] 吴琦, 杨秀伟, 杨世海, 等. 狗脊的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(2): 240-243.
- [6] 张春玲, 王喆星. 狗脊的化学成分分离与鉴定 [J]. 中国药物化学杂志, 2001, 11(5): 279-280.
- [7] 程启厚, 杨中林, 胡永美. 狗脊的化学成分研究 [J]. 药学进展, 2003, 27(5): 298-299.
- [8] Cuong N X, van Minh C, van Kiem P, *et al*. Inhibitors of osteoclast formation from rhizomes of *Cibotium barometz* [J]. *J Nat Prod*, 2009, 72(9): 1673-1677.
- [9] 步显坤. 烫狗脊的炮制机理研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2010.
- [10] Jiang Z H, Hirose Y, Iwata H, *et al*. Caffeoyl, coumaroyl, galloyl, and hexahydroxydiphenoyl glucoses from *Balanophora japonica* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2001, 49(7): 887-892.
- [11] 藤荣伟, 王祖德, 杨崇仁. 蛇菰的化学成分 [J]. 云南植物研究, 2000, 22(2): 225-233.
- [12] 胡彦武, 于俊林. 中药狗脊的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(2): 275-276.
- [13] 佟小静, 陈重, 李夏, 等. 油茶根化学成分的研究 [J]. 中草药, 2011, 42(10): 1936-1938.
- [14] 甘茂罗, 欧阳胜, 谢平, 等. 白桂木的化学成分研究 [J]. 中草药, 2005, 36(7): 988-989.