

翠云草中 1 个新的双黄酮类化合物

邹辉¹, 徐康平², 易美玲¹, 盛习锋¹, 谭桂山^{2,3*}

1. 湖南师范大学医学院, 湖南 长沙 410013

2. 中南大学药学院, 湖南 长沙 410013

3. 中南大学湘雅医院, 湖南 长沙 410006

摘要: 目的 研究翠云草 *Selaginella uncinata* 全草的化学成分。方法 采用大孔吸附树脂、硅胶、Sephadex LH-20、高效液相色谱等柱色谱方法进行分离纯化, 通过 NMR、HR-ESI-MS 等技术鉴定化合物的结构。结果 从翠云草全草 75%乙醇水提取物中分离得到 1 个新的双黄酮类化合物, 鉴定为 4',7"-二甲氧基-2",3"-二氢南方贝壳杉双黄酮 (1)。结论 化合物 1 为新的南方贝壳杉型的双黄酮类化合物, 命名为翠云草双黄酮。

关键词: 翠云草; 卷柏属; 4',7"-二甲氧基-2",3"-二氢南方贝壳杉双黄酮; 翠云草双黄酮; 双黄酮

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)09-1477-03

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.09.004

A new biflavonoid from *Selaginella uncinata*

ZOU Hui¹, XU Kang-ping², YI Mei-ling¹, SHENG Xi-feng¹, TAN Gui-shan^{2,3}

1. Medical College, Hunan Normal University, Changsha 410013, China

2. School of Pharmaceutical Sciences, Central South University, Changsha 410013, China

3. Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410006, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents from the whole plants of *Selaginella uncinata*. **Methods** The compound was isolated and purified by macroporous resin, silica gel, and Sephadex LH-20 column chromatography, as well as preparative HPLC. Its structure was identified on the basis of spectroscopic techniques including UV, IR, 1D-, 2D-NMR, and HR-ESI-MS. **Results** One biflavonoid was isolated from the 75% ethanol aqueous extract and identified as 4',7"-di-*O*-methyl-2",3"-dihydrorobustaflavone (1). **Conclusion** Compound 1 is a new biflavonoid named uncibiflavone.

Key words: *Selaginella uncinata* (Desv.) Spring; *Selaginella* P. Beauv.; 4',7"-di-*O*-methyl-2",3"-dihydrorobusta-flavone; uncibiflavone; biflavonoid

翠云草 *Selaginella uncinata* (Desv.) Spring 为卷柏科 (Belaginellaceae) 卷柏属 *Selaginella* P. Beauv. 植物翠云草的全草, 又名蓝地柏、绿绒草, 主要分布于我国中部、南部各省份, 是一种在民间被广泛使用的中草药, 具有清热利湿、解毒、消痰及止血的功效^[1]。现代药理研究发现翠云草具有抗菌^[2]、抗病毒^[3]、抗缺氧^[4]及抗肿瘤^[5]等作用, 植物化学研究证实翠云草中的主要活性成分为黄酮类化合物^[6-8]。本实验从翠云草 75%乙醇水提取物中分离得到 1 个新的双黄酮类化合物, 鉴定为 4',7"-二甲氧基-2",3"-二氢南方贝壳杉双黄酮 (4',7"-di-*O*-methyl-2",3"-

dihydrorobustaflavone, 1), 命名为翠云草双黄酮。

1 仪器与材料

Bruker 傅里叶变换红外光谱仪 (德国 Bruker 公司); UV Probe-2450 型紫外分光光度计 (日本岛津公司); Bruker AV-500 MHz 超导核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); Finnigan LCQ-Advantage 型质谱仪 (美国 ThermoFinnigan 公司); D101 大孔吸附树脂 (安徽三星树脂科技有限公司); 薄层色谱硅胶 GF₂₅₄ 和柱色谱硅胶 (200~300 目) 均为青岛海洋化工厂生产; 聚酰胺 (100~200 目, 国药集团); Agilent 1100 型液相色谱仪; 依利特 Sinochrom

收稿日期: 2016-01-19

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31370370)

作者简介: 邹辉, 讲师, 硕士生导师。Tel: (0731)88912473 E-mail: zouhui308@163.com

*通信作者 谭桂山, 教授, 博士生导师。Tel: (0731)82650395 E-mail: tgs395@csu.edu.cn

ODS-BP 色谱柱 (250 mm×10 mm, 10 μm); Sephadex LH-20(日本 TOYOPEARL TOSOH 公司); 乙醇、三氯甲烷、甲醇均为分析纯, 乙腈为色谱纯, 纯水机自制超纯水。

翠云草药材于 2009 年 7 月采自湖南省怀化中方县, 由厦门大学李政基教授鉴定为卷柏属植物翠云草 *Selaginella uncinata* (Desv.) Spring 的全草, 标本 (No. 20090710) 保存于中南大学药学院。

2 提取与分离

翠云草全草 (20 kg) 粉碎后用 75%乙醇水回流提取 (2×2 h), 合并提取液, 浓缩、真空干燥后得提取物 2.5 kg。提取物拌样上大孔吸附树脂 D101 柱, 分别以水及 40%、70%、95%乙醇梯度洗脱得 4 个部位; 70%乙醇部位经正相硅胶柱色谱, 以三氯甲烷-甲醇 (100:0→0:100) 梯度洗脱, TLC 检测后合并得到 7 个流分 (A~G), 流分 B 经聚酰胺柱色谱, 以乙醇-水梯度洗脱, 得到 50 个流分 (Fr. B1~B50); Fr. B23~B25 (乙醇-水 50:50) 经 Sephadex LH-20 柱色谱和半制备 HPLC (45%乙腈-水), 得化合物 **1** (13 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 淡黄色无定形粉末, 盐酸-镁粉反应呈阳性; UV 光谱显示在 268、293、334 nm 有最大吸收; IR 谱提示含有共轭羰基 (1 645, 1 635 cm⁻¹) 和苯环 (1 601, 1 575, 1 488 cm⁻¹), 以上信息提示化合物 **1** 为黄酮类化合物。HR-ESI-MS *m/z* 567.129 8 [M-H]⁻ (计算值为 567.129 1), 推断该化合物的分子式为 C₃₂H₂₄O₁₀。

化合物 **1** 的 ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) 谱在低场区显示 13 个氢信号, δ_H 12.95 (1H, s, 5-OH), 12.19 (1H, s, 5''-OH) 为黄酮类化合物 5-OH 的特征信号, δ_H 8.07 (1H, dd, *J* = 8.5, 2.5 Hz, H-6'), 7.77 (1H, d, *J* = 2.5 Hz, H-2'), 7.22 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-5') 为 1 组 AMX 偶合系统的芳香氢信号, 提示该化合物中含有 1 个 1,3,4-三取代苯环的结构片段; δ_H 7.38 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-2''', 6'''), 6.83 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-3''', 5''') 为 1 组 AA'XX' 偶合系统的芳香氢信号, 提示该化合物中含有 1 个对位取代苯环的结构片段; δ_H 6.20 (1H, brs, H-6), 6.50 (1H, brs, H-8) 为黄酮单元中 A 环间位取代芳香氢信号, δ_H 6.87 (1H, s) 为黄酮单元 H-3 的信号; δ_H 6.33 (1H, s) 为二氢黄酮单元 H-8 的信号, δ_H 5.62~5.54 (1H, m) 为二氢黄酮单元 H-2 的信号; 高场区给出 2 个甲氧基

信号 δ_H 3.79 (3H, s), 3.72 (3H, s); 此外, δ_H 3.46~3.37 (1H, m), 2.80~2.74 (1H, m) 为二氢黄酮单元 2 个 H-3 的信号。¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) 谱共显示 32 个碳信号, 结合 HSQC 谱确定其中包括 1 组黄酮单元碳信号、1 组二氢黄酮单元碳信号以及 2 个甲氧基碳信号 (δ_C 56.4, 56.7)。上述谱学数据表明化合物 **1** 是由 1 分子黄酮单元 (I) 和 1 分子二氢黄酮单元 (II) 连接而成的双黄酮类化合物。

在 HMBC 谱 (图 1) 中, H-2'' 与 C-2''', 6''' 远程相关, H-2''', 6''' 与 C-2'' 远程相关, H-3'' 与 C-1''' 远程相关, 提示结构单元 II 为二氢黄酮单元; H-8'' 与 C-6'', C-7'', C-9'' 远程相关, H-2' 与 C-6'' 的远程相关, 提示单元 I 和单元 II 通过 C-3'-C-6'' 的连接方式相连, 即属于 robustaflavone 型的双黄酮^[8]; 4'-OMe, H-2', H-6' 与 C-4' 远程相关, 提示一个甲氧基 (δ_H 3.79/3.78) 连在 C-4' 位; 7''-OMe, H-8'' 与 C-7'' 的远程相关提示另一甲氧基 (δ_H 3.72) 应连在 C-7'', 由此确定化合物 **1** 的平面结构。此外, 由 C-4' 和 C-7'' 的 2 个甲氧基引起旋转异构现象, 使得化合物 **1** 的谱图信号出现多重性^[9], 由此推断化合物 **1** 为一对旋转异构体。

综合以上解析, 鉴定化合物 **1** 为 4',7''-二甲氧基-2'',3''-二氢南方贝壳杉双黄酮, 结构如图 2 所示, 该化合物是未见报道的新化合物, 命名为翠云草双黄酮。结合 ¹H-NMR、¹³C-NMR、¹H-¹H COSY、HSQC 及 HMBC 谱对该化合物的碳氢信号进行归属, ¹H-NMR、¹³C-NMR 数据见表 1。

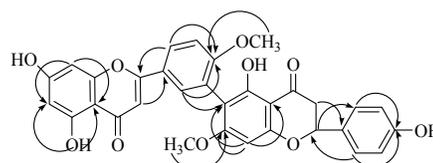


图 1 化合物 **1** 的关键 HMBC 相关图

Fig. 1 Key HMBC of compound **1**

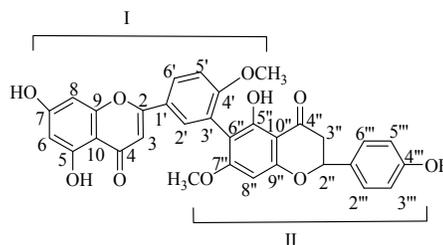


图 2 化合物 **1** 的结构式

Fig. 2 Chemical structure of compound **1**

表 1 化合物 1 的 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据 (500/125 MHz, DMSO-d₆)
Table 1 ¹H-NMR and ¹³C-NMR spectral data of compound 1 (500/125 MHz, DMSO-d₆)

碳位	δ _H	δ _C	碳位	δ _H	δ _C
2		163.8	2''	5.62~5.54 (1H, m)	79.3, 79.2
3	6.87 (1H, s)	104.0	3''	3.46~3.37 (1H, m)	42.4, 42.5
4		182.2		2.80~2.74 (1H, m)	
5		161.9	4''		197.6
6	6.20 (1H, brs)	99.4	5''		160.1
7		164.8	6''		106.7, 106.6
8	6.50 (1H, brs)	94.6	7''		165.5, 165.4
9		157.9	8''	6.33 (1H, s)	92.0
10		104.2	9''		163.4, 163.3
1'		122.9	10''		102.9, 102.8
2'	7.77 (1H, d, J = 2.5 Hz)	130.8, 130.7	1'''		129.2, 129.1
3'		122.8	2'''/6'''	7.38 (2H, d, J = 8.5 Hz)	128.8
4'		161.1, 161.2	3'''/5'''	6.83 (2H, d, J = 8.5 Hz)	115.6
5'	7.22 (1H, d, J = 8.5 Hz)	112.2	4'''		158.3
6'	8.07 (1H, dd, J = 8.5, 2.5 Hz)	128.2	7''-OMe	3.72 (1H, s)	66.7
4'-OMe	3.79/3.78 (3H, s)	66.4	5''-OH	12.19 (1H, s)	
5-OH	12.95 (1H, s)				

4 讨论

本实验对翠云草进行了化学成分研究, 发现了 1 个新的双黄酮类化合物, 该化合物属于南方贝壳杉型的黄酮类化合物, 这一类型的化合物目前报道具有抗缺氧^[7]、抗肿瘤^[10]等药理作用, 研究表明翠云草中的活性成分主要为黄酮类化合物, 本实验报道的翠云草双黄酮(1)可能是翠云草发挥药效的又一物质基础, 其药理活性值得进一步研究。

参考文献

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2001.
- [2] Ma L Y, Ma S C, Wei F, *et al.* Uncinoside A and B, two new antiviral chromone glycosides from *Selaginella uncinata* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2003, 51(11): 1264-1267.
- [3] 江海燕, 吴思超, 朱家杰, 等. 几种瑶药的体外抗病毒活性初步研究 [J]. 暨南大学学报: 自然科学版, 2008, 29(5): 500-504.
- [4] Zheng J X, Zheng Y, Zhi H, *et al.* New 3', 8''-linked biflavonoids from *Selaginella uncinata* [J]. *Molecules*, 2011, 16(8): 6206-6214.
- [5] 孙颖帆, 陈科力, 刘震. 翠云草总黄酮对结肠癌 HT-29 细胞 COX-2 mRNA 表达的抑制作用 [J]. 中国药师, 2010, 13(2): 163-164.
- [6] Zou H, Xu K P, Li F S, *et al.* Unciflavones A-F, six novel flavonoids from *Selaginella uncinata* (Desv.) Spring [J]. *Fitoterapia*, 2004, 99: 328-333.
- [7] Zheng J X, Wang N L, Liu H W, *et al.* Four new biflavonoids from *Selaginella uncinata* and their anti-anoxic effect [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2008, 10(10): 945-952.
- [8] Zou H, Xu K P, Zou Z X, *et al.* A new flavonoid with 6-phenyl substituent from *Selaginella uncinata* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2013, 15(1): 84-88.
- [9] Moawad A, Hetta M, Zjawiony J K, *et al.* Phytochemical investigation of *cycas circinalis* and *cycas revoluta* leaflets: moderately active antibacterial biflavonoids [J]. *Planta Med*, 2010, 76(8): 796-802.
- [10] Chen J J, Duh C Y, Chen J F. New cytotoxic biflavonoids from *Selaginella delicatula* [J]. *Planta Med*, 2005, 71(7): 659-665.