

· 有效成分 ·

风毛菊中木脂素苷结构确定和碳化学位移的取代位移效应规律

师彦平, 马 骥*

(中国科学院兰州化学物理研究所 西北天然药物研究发展中心, 甘肃 兰州 730000)

摘要: 目的 研究风毛菊 *Saussurea japonica* 植物的化学成分, 以及羟化和苷化位移效应规律。方法 利用普通硅胶柱层析和反相硅胶 HPLC 分离、纯化, 并经超导核磁共振 (NMR) 和质谱 (MS) 等波谱技术确定其结构; 通过与已报道类似物 (I, II, IV, V, VII, X) 碳谱数值比较, 得到了双环氧木脂素类化合物 C-1 位被羟基取代的远程位移效应规律, 以及双环氧木脂素和单环氧木脂素类 (落叶松脂素) 酚羟基苷化位移效应规律。结果 从风毛菊全草的乙醇 (75%) 室温提取物中分得 3 个木脂素苷类化合物, 其结构被确定为: (+)-1-hydroxypinoresinol-4''- β -D-glucopyranoside (VI), (+)-lariciresinol-4 β -D-glucopyranoside (VIII) 和 (+)-1-lariciresinol-4'- β -D-glucopyranoside (IX); 双环氧木脂素类的化合物 C-1 位被羟基取代的远程位移效应 $\Delta\delta = \delta_{C1'} - \delta_{C1}$ (未取代) - $\delta_{C1'}$ (羟基取代) = -4.2, 双环氧木脂素和单环氧木脂素类酚羟基苷化位移效应规律为对位碳低场位移约 $\Delta\delta \approx 3.0$ 。结论 木脂素苷 VI, VIII 和 IX 为首次从该属植物中获得; 位移效应规律为以后两类天然木脂素结构的确定, 尤其糖的连接位置的指定, 提供了一定的判断依据。

关键词: 风毛菊; 木脂素苷; 位移效应

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)09-0772-04

Lignan glycosides from *Saussurea japonica* and rules for substituted effects on ^{13}C NMR chemical shifts of (+)-pinoresinol and (+)-lariciresinol

SHI Yan-ping, MA Ji

(Northwest R&D Center of Natural Drugs, Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China)

Abstract **Object** To isolate and identify the chemical constituents of *Saussurea japonica* (Thunb.) DC. and to obtain some rules of chemical shift effects on hydroxylation and O-glycosylation. **Methods** The constituents were isolated by silica gel column chromatography and HPLC (RP-18), and their structures were elucidated through spectroscopic analysis (NMR and FABMS). The rules were obtained by comparison with those of known analogous lignans. **Results** Three lignan glycosides were isolated and identified as (+)-1-hydroxypinoresinol-4''- β -D-glucopyranoside (VI), (+)-lariciresinol-4 β -D-glucopyranoside (VIII), and (+)-1-lariciresinol-4'- β -D-glucopyranoside (IX), as well as the rules for effects of the hydroxy group at C-1 (upshift about $\Delta\delta \approx 4.2$) and O-glucosylation (downshift about $\Delta\delta \approx 3.0$) on ^{13}C NMR chemical shifts of (+)-pinoresinol and (+)-lariciresinol. **Conclusion** All these compounds were obtained from the plants of *Saussurea* DC. for the first time and the rules should be as some important evidences to assign the position of hydroxylation and glycosylation.

Key words *Saussurea japonica* (Thunb.) DC.; lignan glycosides; substituted effects

风毛菊 *Saussurea japonica* (Thunb.) DC. 系菊科风毛菊属两年生草本植物, 生长在海拔 1 300~1 800 m 的山坡、草地、路旁和田埂, 广布于我国的东北、华北、华南和华东等省区^[1], 是常用草药之一,

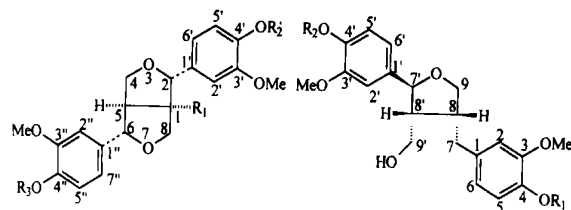
在我国传统医药中主治风湿痹痛, 跌打损伤和麻风等^[2]。风毛菊属植物, 尤其药用风毛菊属植物化学成分的研究报道较多, 其中倍半萜类 (愈创木内酯型) 是其主导成分, 愈创木内酯型倍半萜在风毛菊属植

* 收稿日期: 2001-11-20

基金项目: 中国科学院“百人计划”基金项目和中国科学院创新重大基础性研究基金项目

作者简介: 师彦平 (1965-), 男, 研究员, 博士生导师, 西北师范大学获学士学位, 兰州大学化学系获理学硕士和博士, 兰州大学生物学系和美国波多黎各大学博士后研究人员, 获中国科学院 2000 年度“百人计划”基金资助, 于 2001 年 4 月回国, 主要从事天然药用植物中活性成分和合成方法的发展, 以及现代分离分析方法和技术在天然药物研究中的应用, 曾主持和参加过多项科研项目, 发表论文 40 多篇。Tel (0931) 8277591 E-mail shiyp@ns.lzb.ac.cn

物的生化代谢和化学分类学的研究中有一定参考价值。然而,风毛菊属植物中的黄酮、香豆素、醌类和木脂素类等成分,也是该属植物种间差异的重要活性成分。风毛菊植物化学成分的研究已见报道^[3-6],在此基础上,我们对风毛菊大极性部分进行了目标于木脂素苷类活性成分的分离,结果获得了3个木脂素苷类化合物,其结构分别被确定为:(+)-1-hydroxypinoresinol-4'- β -D-glucopyranoside (VI), (+)-lariciresinol-4 β -D-glucopyranoside (VIII)和(+)-1-lariciresinol-4'- β -D-glucopyranoside (IX)在结构确定过程中,经与已知的类似化合物(I, II, IV, V, VII, X)的碳谱数值比较^[7-11],得到了双环氧木脂素类(I-VI)中C-1位被羟基取代的远程效应规律 $[\delta_C - \delta_{C-1'}(\text{未取代}) - \delta_{C-1'}(\text{羟基取代}) = -4.2]$,以及双环氧木脂素(I-VI)和单环氧木脂素类(VII-X,落叶松脂素)酚羟基苷化位移效应规律(见表1-3)。此规律为以后两类天然木脂素结构的确定,尤其糖的连接位置的指定,提供了一定的判断依据。化合物VI, VIII, IX的化学结构式见图1



VI $R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{H}$, $R_3 = \beta\text{-D-Glc}$

VIII $R_1 = \beta\text{-D-Glc}$, $R_2 = \text{H}$

IX $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \beta\text{-D-Glc}$

图1 化合物VI, VIII, IX的化学结构式

化合物VI: 无定形粉末。FAB-MS给出准分子离子峰 $[M + \text{Na}]^+ m/z = 559$,对应分子式为 $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{O}_{12}$,不饱和度为11。氢谱和碳谱表明化合物VI的分子中存在1个葡萄糖基,2个连接在芳环上的甲氧基和1个酚羟基。除上述取代基外,¹³CNMR中12个不饱和碳和6个脂肪族碳信号(表1)的特征(C 6-3-3-6)表明VI为木脂素类。仔细审查碳谱时发现一个连氧原子的季碳($\delta_{91.0}$)特征信号提示化合物VI为1-hydroxypinoresinol类木脂素(双环氧木脂素)。经详细的文献查阅,发现已知化合物V和它的碳谱数据仅 $\delta_{C-1'}$ 和 $\delta_{C-1''}$ 有差别。在V中: $\delta_{C-1'} = 131.1$ 和 $\delta_{C-1''} = 132.3$;在VI中: $\delta_{C-1'} = 128.0$ 和 $\delta_{C-1''} = 135.3$,表明化合物VI和V为葡萄糖连接位置不同的同分异构体。化合物VI被确定为(+)-1-hydroxypinoresinol-4'- β -D-glucopyranoside,其¹³CNMR数据首次报道

化合物VIII: 淡黄色无定形粉末。FABMS给出准分子离子峰 $[M + \text{Na}]^+ m/z = 545$, $[M + \text{Li}]^+ m/z = 529$,分子式 $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{O}_{11}$,不饱和度为10。氢谱和碳谱表明分子中存在1个葡萄糖基,2个连接在芳环上的甲氧基和1个酚羟基。除取代基外,还剩12个不饱和碳和6个脂肪族碳(表2)。类似化合物VI,初步显示VIII为木脂素类。与类似的木脂素类化合物(VII, X),详细地比较¹³CNMR数据,确定VIII为落叶松脂素类,为VII的葡萄糖苷。为了确定糖基的连接位置,进一步仔细地比较二者的碳谱发现, δ_{C-1} 和 $\delta_{C-1'}$ 有规律性的位移差,即 $\Delta\delta_{C-1}(\text{VIII-VII}) = +2.5$, $\Delta\delta_{C-1'}(\text{VIII-VII}) = 0$,表明在化合物VIII中葡萄糖基连接到芳环的4位。结果,化合物VIII的结构被确定为(+)-lariciresinol-4 β -D-glucopyranoside

化合物IX: 无定形粉末。FABMS给出准分子离子峰 $[M + \text{Na}]^+ m/z = 545$, $[M + \text{Li}]^+ m/z = 529$,分子式 $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{O}_{11}$ 。化合物IX与化合物VII, VIII, X有非常相似的¹HNMR和¹³CNMR谱,从而确定IX为落叶松脂素类的木脂素苷。化合物IX和VIII具有相同的分子式,其差别仅在糖基的连接位置上。仔细地观察IX和VII的碳谱数据,并发现 $\Delta\delta_{C-1}(\text{IX-VII}) = -0.4$, $\Delta\delta_{C-1'}(\text{IX-VII}) = +3.1$ 。C-1'化学位移差表明在化合物IX中葡萄糖基连接到芳环的4'位。为此,化合物IX的结构被确定为(+)-1-lariciresinol-4'- β -D-glucopyranoside。进一步文献查阅发现,化合物IX已由Masatalca Sugiyama从其他植物中获得,并报道在氘代甲醇作溶剂的NMR波谱数据(表3)^[10]。

1 材料和仪器

JASCO-20C自动记录旋光光谱仪; Nicolet 170SX FT-IR红外光谱仪; VG ZAB-HS质谱仪(EIMS, FABMS); Bruker AM-400 FT-NMR超导核磁共振仪(DMSO- d_6 , TMS);日本岛津UV-240紫外光谱仪; GILSON-HPLC(法国)高效液相色谱仪;硅胶柱层析(200~300目)和薄层层析(GF₂₅₄)用青岛海洋化工厂产品;风毛菊植物药材采自甘肃天祝(1999年),植物标本由马骥教授鉴定。

2 提取和分离

阴干风毛菊1.5 kg,粉碎后用医用酒精(73%)室温浸提4次,减压浓缩至无醇味,加蒸馏水稀释至1000 mL,过滤,滤液分别用乙酸乙酯和正丁醇萃取。正丁醇萃取部分,浓缩除去溶剂后得37 g浸膏,氯仿-甲醇(5:1)洗脱,硅胶柱层析(200~300目,400 g)得到几个部分,其主要部分(氯仿-甲醇,5:1)被进一步用HPLC(反相RP-18, MeOH-H₂O=

表 1 化合物I ~ VI的¹³CNMR(100 MHz)的波谱数据 (δ, DMSO-d₆, TMS)

No.	I	IV	Δδ(IV-I)	II	Δδ(II-I)	V	Δδ(V-IV)	VI	Δδ(VI-IV)
1	53.6	91.0	+ 37.4	53.5		91.1		91.0	
2	85.2	87.1		84.8		86.8		85.1	
4	70.9	70.2		71.0		70.2		70.3	
5	53.6	60.8		53.5		60.8		60.9	
6	85.2	85.4		85.1		85.4		87.2	
8	70.9	74.7		71.0		74.7		74.7	
1'	132.3	128.1	- 4.2	135.3	+ 3.0	131.1	+ 3.0	128.0	
1''	132.3	132.3		132.2		132.3		135.3	+ 3.0
2'	110.5	112.3	+ 1.8	110.5		112.6		112.9	
2''	110.5	110.8		110.5		110.8		110.9	
3'	147.6	146.9	- 0.7	149.0	+ 1.4	148.3	+ 1.4	146.9	
3''	147.6	147.5		147.5		147.5		148.9	+ 1.4
4'	145.9	145.9		145.9		146.0		145.9	
4''	145.9	145.9		145.9		146.0		145.9	
5'	115.2	114.5	- 0.7	115.1		114.6		114.6	
5''	115.2	115.1		115.1		115.1		115.2	
6'	118.6	120.2	+ 1.6	118.1		119.7		120.2	
6''	118.6	118.8		118.6		118.8		118.4	

注: I ~ V 中甲氧基和葡萄糖基化学位移见文献 [7,8]; VI 中葡萄糖基化学位移为: 100.1(C-1), 73.2(C-1), 76.9(C-3), 69.7(C-4), 77.0(C-5), 60.7(C-6)

6: 4)分离纯化,最终获得化合物VI,VIII,IX 纯品.

3 结构鉴定

化合物VI: 无定形粉末; UV: λ_{max}^{MeOH} = 278, 208 nm; FAB-MS m/z = 559 [M+ Na]⁺, 543 [M+ Li]⁺; IR ν_{max}^{film} = 3 405(OH), 1 598, 1 512 cm⁻¹ (芳环, C=C); ¹HNMR 8.84, (OH-4',可被 D₂O 交换), 7.07(H-5'', d, J= 8.4 Hz), 7.01(H-2'', d, J= 1.5 Hz), 6.94(H-2', d, J= 1.5 Hz), 6.91(H-6'', dd, J= 8.4, 1.5 Hz), 6.76(H-5', d, J= 8.2 Hz), 6.71(H-6', dd, J= 8.2 Hz), 4.89(Glc-1, d, J= 7.2 Hz), 4.80(H-6, d, J= 5.0 Hz), 3.75(OMe, s), 3.74(OMe, s), 2.90(H-5, m); ¹³CNMR(表 1)

化合物VIII: 淡黄色无定形粉末; UV: λ_{max}^{MeOH} = 278, 210 nm; FAB-MS m/z = 545 [M+ Na]⁺, 529 [M+ Li]⁺; ¹HNMR 8.84, (OH-4', brs,可被 D₂O 交换), 6.98(H-5, d, J= 8.3 Hz), 6.80(2H-2, 2', brs), 6.68(3H-6, 5', 6', brs), 4.84(Glc-1, d, J= 7.2 Hz), 4.64(H-7', d, J= 6.2 Hz), 3.86(H-9, t, J= 6.9 Hz), 3.73(OMe-3', s), 3.32(OMe-9', s), 2.86(H-7, dd, J= 13.3, 4.4 Hz), 2.45(H-7, dd, J= 13.3, 11.2 Hz), 2.60(H-8, m), 2.15(H-8', m); ¹³CNMR(表 2)

化合物IX: 无定形粉末; [α]_D²⁰ = - 20.4° (MeOH, c, 0.52); UV: λ_{max}^{MeOH} = 282, 209 nm; FAB-MS m/z = 545 [M+ Na]⁺, 529 [M+ Li]⁺; EI-MS m/z = 360 (M-Glc), 345, 329, 311, 236, 219, 206, 194, 180, 151, 137, 122, 103, 93, 73, 60, 43; ¹HNMR

8.71, (OH-4, brs,可被 D₂O 交换), 7.00(H-5', d, J= 8.3 Hz), 6.86(H-2', d, J= 1.4 Hz), 6.77(3H-6', bdd, J= 8.3, 1.4 Hz), 6.73(H-2, d, J= 1.4 Hz), 6.65(H-5, d, J= 8.0 Hz), 6.55(H-6, dd, J= 8.0, 1.4 Hz), 4.86(Glc-1, d, J= 7.2 Hz), 4.70(H-7', d, J= 6.1 Hz), 3.88(H-9, dd, J= 7.7, 7.1 Hz), 3.73(OMe-3, s), 3.72(OMe-3', s), 2.77(H-7, dd, J= 13.2, 4.6 Hz), 2.40(H-7, dd, J= 13.2, 11.2 Hz), 2.55(H-8, m), 2.65(H-8', m); ¹³CNMR(表 2)

表 2 化合物VII~ IX的¹³CNMR(100 MHz)数据 (δ, CDCl₃ 或 DMSO-d₆, TMS)

No.	VII, CDCl ₃	VIII, DMSO-d ₆	Δδ(VIII-VII)	IX, DMSO-d ₆	Δδ(IX-VII)
1	132.1	134.6	+ 2.5	131.7	- 0.4
2	111.1	113.0		112.7	
3	146.4	147.8	+ 1.4	147.4	
4	143.9	144.8		144.6	
5	114.3	115.3		115.1	
6	121.1	120.3		120.6	
7	33.2	32.2		32.1	
8	43.3	41.8		41.9	
9	72.8	71.8		71.9	
1'	134.6	134.6	0	137.7	+ 3.1
2'	108.2	109.9		110.2	
3'	146.5	147.4		148.8	+ 1.2
4'	144.9	145.5		145.5	
5'	114.0	115.0		115.4	
6'	118.6	118.2		117.8	
7'	82.7	81.7		81.6	
8'	52.5	52.4		52.5	
9'	60.8	58.6		58.6	

注: VII中甲氧基化学位移见文献 [9]; VIII, IX 甲氧基和葡萄糖基化学位移同表 1 中V, VI

表 3 化合物Ⅶ~Ⅸ的¹³CNMR(100 MHz)数据 (δ, C₃D₃N或 CD₃OD, TMS)

No.	Ⅶ, C ₅ D ₅ N	Ⅷ, CD ₃ OD	Δ δ(Ⅷ-Ⅶ)	Ⅸ, CD ₃ OD	Δ δ(Ⅸ-Ⅶ)	X, C ₅ D ₅ N	Δ δ(X-Ⅶ)
1	132.7	137.2	+ 4.5	133.5	+ 0.8	136.7	+ 4.0
2	113.5	114.4		113.4		113.8	
3	146.3	150.9	+ 4.6	149.1		145.7	
4	148.6	146.4		145.9		149.9	
5	116.5	118.3	+ 1.8	116.2		118.7	+ 2.2
6	119.4	122.3		122.2		119.1	
7	35.5	33.7		33.7		33.4	
8	43.3	43.8		43.8		43.0	
9	73.2	73.5		73.7		73.2	
1'	136.0	135.7	- 0.3	139.5	+ 3.5	139.9	+ 3.9
2'	110.9	110.7		114.4		111.1	
3'	147.3	149.1		150.9	+ 3.6	145.0	
4'	148.6	147.1		147.3		151.2	
5'	116.3	116.0		117.9	+ 1.6	118.9	+ 2.6
6'	121.8	119.8		119.6		121.2	
7'	83.5	84.1		83.9		83.2	
8'	53.7	54.1		54.2		53.6	
9'	60.2	60.5		60.5		60.1	

注: 甲氧基和糖基的化学位移见文献 [10,11]

4 羟化和苷化位移效应规律

在风毛菊木脂素苷类(Ⅵ,Ⅷ,Ⅸ)结构确定中,主要采用与已知化合物的碳谱数据相比较的方法,在双环氧木脂素中,当 C-1被羟基(OH)取代时,除 C-1位由次甲基 CH(δ53.6)变为季碳 C(δ91.0),化学位移低场位移 Δδ37.4外, C-1'由于远程取代效应特征性的高场位移,从 δ132.3到 δ128.1(Δδ= - 4.2,表 1)。C-1'位由于 C-1羟基取代所引起明显的远程位移效应,在双环氧木脂素类中普遍存在,因此可以作为双环氧木脂素是否 C-1位被羟基取代的判断规律。另外,在双环氧木脂素中,由于 C-4'或 C-4''位的苷化,其相应的芳环上对位 C-1'或 C-1''位发生较大的低场位移(Δδ= + 3.0),邻位 C-3'或 C-3''出现较小的低场位移(Δδ= + 1.4),这一规律的普遍存在,可以作为双环氧木脂素类苷化时糖基连接位置的判断依据。如:比较化合物Ⅱ和Ⅰ及Ⅴ和Ⅳ,当糖基连接在 C-4'位时, C-1'和 C-3'均低场位移,且 Δδ(C-1')= + 3.0,Δδ(C-3')= + 1.4,比较化合物Ⅵ和Ⅳ,当糖基连接在 C-4''位时, C-1''和 C-3''皆低场位移 3.0和 1.4(表 1)。上述苷化位移规律同样在单环氧木脂素(落叶松脂素)中也存在。在 NMR技术迅速发展的今天,用于确定化合物分子在溶液状态下结构的多种 2D-NMR技术不断被发现,但是在众多复杂的天然产物结构确定中,由于羟基的取代和苷化等所引起的¹³CNMR特征性位移效应规律,在天然产物分子的结构确定中仍然发挥着重要的作用。

致谢:兰州大学应用有机国家重点实验室给予样品测试方面的极大帮助;中国科学院寒区旱区环境与工程研究所沙坡头开放研究站马骥教授鉴定植物标本,中国科学院“百人计划”项目基金和中国科学院创新重大基础性研究项目基金资助。

参考文献:

[1] 陕西建委会西北植物研究所. 黄土高原植物志 [M]. 第五卷. 北京: 科学技术文献出版社, 1989.
[2] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海人民出版社, 1997.
[3] 石建功, 贾忠建, 李 瑜. 风毛菊化学成分研究 [J]. 高等学校化学学报, 1991, 12(7): 906-909.
[4] 贾忠建, 李 瑜, 石建功, 等. 一个新愈创木内酯及其苷的化学结构 [J]. 化学学报, 1991, 49(11): 1136-1141.
[5] 陈能煜, 翟建国, 潘惠平, 等. 三种风毛菊属植物精油化学成分研究 [J]. 云南植物研究, 1992, 14(2): 203-210.
[6] Kuo Y H, Way S T, Wu C H. A new triterpene and a new lignan from *Saussurea japonica* [J]. J Nat Prod, 1996, 59(6): 622-624.
[7] Hiroki T, Sueo H, Sansei N. Lignans from bark of *Fraxinus mandshurica* var. *japonica* and *F. japonica* [J]. Chem Pharm Bull, 1984, 32(11): 4482-4489.
[8] Sansei N, Hiroki T, Sueo H. Effects of *O*-methylation and *O*-glucosylation on carbon-13 nuclear magnetic resonance chemical shifts of matairesinol, (+)-pinoresinol and (+)-epipinoresinol [J]. Chem Pharm Bull, 1984, 32(11): 4653-4657.
[9] Duh C Y, Charles H P J, Pezzuto J M, et al. Plant anti-cancer agents. XLII. Cytotoxic constituents from *Wikstroemia elliptica* [J]. J Nat Prod, 1986, 49(4): 706-709.
[10] Masataka S, Masao K. Characterization of laiciresinol glucosides from *Osmanthus asiaticus* [J]. Heterocycles, 1993, 36(1): 117-121.
[11] Abe F, Yamauchi T. Lignans glycosides from *Parsonsia laevigata* [J]. Phytochemistry, 1989, 28(6): 1737-1741.