

It is identified by comparison with reference data^[8].

References:

- [1] Ma Y L, Han G Q. Studies on the lignans from *Magnolia biondii* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1995, 20(2): 102-104.
- [2] Ma Y L, Huang Q L, Han G Q. A neolignan and lignans from *Magnolia biondii* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 41(1): 287-289.
- [3] Guo Q, Su W. Experimental study on antibacteria of *Magnolia biondii* [J]. *Chin J Tradit Med Sci Tech* (中国中医药科技), 1999, 6(1): 18.
- [4] Zhang Y Z, Li X L. Studies on effects of anti-inflammation and antiallergy of CH₂Cl₂ extract from *Magnolia biondii* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(9): 811-813.
- [5] Barata L E S, Baker P M, Gottlieb O R, et al. Neolignans of *Virola surinamensis* [J]. *Phytochemistry*, 1978, 17: 783-786.
- [6] Kakisawa H, Chen Y P, Hsu H Y. Lignans in flower buds of *Magnolia fargesii* [J]. *Phytochemistry*, 1972, 11: 2289-2293.
- [7] Miyazawa M, Kasahara H, Kameoka H. Phenolic lignans from flower buds of *Magnolia fargesii* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(10): 3666-3668.
- [8] Iida T, Tchino K, Ito K. Neolignans from *Magnolia denudata* [J]. *Phytochemistry*, 1982, 21(12): 2939-2941.

人工种植高山红景天中抑制脯酰肽内切酶的化学成分

李俊¹, 范文哲², 门田重利², 义祥辉^{1*}

(1. 广西师范大学 资源与环境学系, 广西 桂林 541004; 2. 日本富山医科药科大学和汉药研究所, 日本 富山 2630)

摘要: 目的 研究人工种植高山红景天中具有较强的脯酰肽内切酶(prolyl endopeptidase, PEP)抑制活性的化学成分。方法 人工种植高山红景天用甲醇提取, 不同极性溶剂分级萃取, 分别用硅胶和 Sephadex LH-20 柱色谱分离, 测定化合物的理化常数和波谱数据, 鉴定化合物结构。结果 从人工种植高山红景天甲醇提取物的醋酸乙酯萃取部分分离得到8个单体化合物: 没食子酸(I)、红景天苷(II)、7-O-β-D-葡萄糖-3, 4, 5, 8-四羟基黄酮(III)、红景天黄酮苷(IV)、表儿茶素(V)、表儿茶素没食子酸(VI)、红景天氰苷A(VII)、β-D-葡萄糖-3, 7-二甲基-4-羟基-2, 6-辛二烯(VIII)。结论 首次从人工种植红景天分离出显示较强的PEP抑制活性组份中分离出8个单体化合物。

关键词: 高山红景天; 脯酰肽内切酶; 红景天苷

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2004)08-0852-03

Chemical constituent as inhibitor to prolyl endopeptidase from underground part of cultivated *Rhodiola sachalinensis*

LI Jun¹, FAN Wen-zhe², KADOTA Shigetoshi², YI Xiang-hui¹

(1. Department of Resources and Environmental Science of Guangxi Normal University, Guilin 541004, China;

2. Research Institute for Wakan-Yaku (Traditional Sino-Japanese Medicines), Toyama Medical and Pharmaceutical University, Toyama, 2630 Japan)

Abstract: Object To study the chemical constituents as inhibitors to prolyl endopeptidase from the underground part of cultivated *Rhodiola sachalinensis* A. Bor. **Methods** The compounds were isolated on silica gel column and purified by Sephadex LH-20, and identified by spectral data and physicochemical properties. **Results**

Eight compounds were obtained from EtOAc extract and identified as gallic acid (I), salidroside (II), 3, 4-trihydroxyflavone-7-O-β-D-glucopyranoside (III), rhodiolfavonoside (IV), epigallocatechin (V), epigallocatechin gallate (VI), rhodiocyanoside A (VII), 3, 7-dimethyl-4-hydroxy-2, 6-octadien-3-O-β-D-glucoside (VIII).

Conclusion The compounds are first isolated as inhibitors to prolyl endopeptidase from the underground part of cultivated *R. sachalinensis*.

Key words: *Rhodiola sachalinensis* A. Bor.; prolyl endopeptidase (PEP); salidroside

高山红景天 *Rhodiola sachalinensis* A. Bor. 为 红景天科多年生草本植物, 具有很高的药用价值。

* 收稿日期: 2003-10-15

基金项目: 教育部重点基金资助项目(0194); 广西省自然科学基金资助项目(桂科基 0144025)

作者简介: 李俊(1964-), 男, 广西浦北人, 广西师范大学资源与环境学系高级工程师, 硕士生导师, 主要从事天然产物的化学成分及其生物活性研究。 Tel: (0773) 5846201 E-mail: lijun9593@tom.com

其免疫作用强于人参和刺五加而无人参的过度兴奋和刺五加的致便秘作用,具有抗疲劳、抗衰老、抗缺氧、抗辐射、益智之功效,可治疗多种疾病,有巨大的经济价值和广阔的开发前景^[1,2],从而也成为研究者关注的热点^[3,4]。全世界有90多种高山红景天,中国有70多种,进行过化学研究的有20多种。但是,对人工栽培的高山红景天的成分研究未见报道,笔者发现人工栽培的高山红景天的甲醇提取物有较强的脯氨酸内切酶(prolyl endopeptidase, PEP)抑制活性,而PEP与老年性痴呆有关^[5]。为此,对其地下部分的甲醇提取物化学成分进行了研究,从其甲醇提取物显示较强的PEP抑制活性的醋酸乙酯萃取部分得到8个单体化合物,经理化数据对照和波谱分析鉴定,它们分别是:没食子酸(gallic acid, I)、红景天苷(salidroside, II)、3, 4', 5-trihydroxyflavone-7-O-β-D-glucopyranoside (III)、rhodiolfavonoside (IV)、表儿茶素(epigallocatechin, V)、表儿茶素没食子酸(epigallocatechin gallate, VI)、rhodiocyanoside A (VII)、3, 7-dimethyl-4-hydroxy-2, 6-octadien-8-O-β-D-glucoside (VIII)。

1 仪器与试剂

Kofler-type 熔点测定仪(温度计未校正); JASCO DIP-4 旋光度测定仪; JEOL GX-400 核磁共振仪, TMS 为内标; Shimadzu IR-408 红外光谱仪; 色谱用硅胶, TLC, RP-TLC 薄层色谱硅胶板是 Merck 公司产品; Sephadex LH-20 为瑞典 Pharmacia 公司生产,所使用的试剂均为分析纯。实验样品人工种植高山红景天为2000年门田重利教授购于河北,经富山医科药科大学药研究室鉴定。

2 提取与分离

取人工种植的高山红景天地上部分3 kg,切碎,甲醇回流提取3次,每次甲醇量为6 L,每次提取2 h,回收甲醇,得到提取物210 g。把甲醇提取物悬浮于水,依次用氯仿(300 mL × 2)、醋酸乙酯(300 mL × 2)和正丁醇(300 mL × 2)进行萃取,干燥各萃取物及水层,得到氯仿萃取物53 g,醋酸乙酯萃取物13 g,正丁醇萃取物75 g,水溶物67 g。其中,醋酸乙酯萃取物和正丁醇萃取物显示出显著的抑制PEP活性,我们对醋酸乙酯萃取物进行分离。取12 g 醋酸乙酯萃取物在600 g 的硅胶柱上进行柱色谱,用 MeOH-CHCl₃(5: 95 → 30: 70) 进行洗脱,每流份100 mL,共收集98份。经薄层色谱检识合并相同流份,得到10个组份: Fr. 1 200 mg; Fr. 2 3.3 g; Fr. 3 486 mg; Fr. 4 2.5 g; Fr. 5 290 mg; Fr. 6 88 mg;

Fr. 7 167 mg; Fr. 8 95 mg; Fr. 9 370 mg; Fr. 10 100 mg。其中 Fr. 2 经甲醇反复重结晶得到化合物 I (2.6 g)。取 Fr. 4 组份2.5 g,在 Sephadex LH-20 上进行分离,用 H₂O-MeOH(100: 0 → 70: 30) 进行洗脱,得到 III(28.4 mg)、VI(14.5 mg); 取 Fr. 4 已经过 Sephadex LH-20 分离所得的一组份1.25 g 过硅胶柱,用 MeOH-CHCl₃(5: 95 → 25: 75) 进行洗脱,得到 II(53.4 mg)、VII(78.4 mg)、VIII(181.0 mg)。组份 Fr. 5 以 CHCl₃-MeOH(2: 1) 为展开剂,经硅胶薄层色谱分离,得到化合物 IV(67 mg)。组份 Fr. 6 以 MeOH-H₂O(2: 3) 为展开剂,经硅胶反相薄层色谱分离,得到化合物 V(14.5 mg)。

3 鉴定

化合物 I: 无色结晶, mp 225 ~ 250 °C。¹H-NMR 光谱数据与文献^[6]对照,确定为没食子酸。

化合物 II: 无定型粉末, mp 161 ~ 163 °C。IR、¹H-NMR、¹³C-NMR 数据与文献^[7]报道的红景天苷一致。

化合物 III 淡黄色粉末, [α]_D²⁵ - 41.5 (c, 0.4, MeOH)。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 390, 1 655, 1 077。¹H-NMR(CD₃OD, TMS) δ: 8.02(2H, d, J = 9.0 Hz), 6.89(2H, d, J = 9.0 Hz), 6.18(1H, d, J = 2.0 Hz), 5.22(1H, d, J = 7.6 Hz), 3.62(1H, dd, J = 11.9, 5.0 Hz), 3.40(3H, m), 3.12(1H, dd, J = 7.8, 7.6 Hz), 1.26(3H, d, J = 6.1 Hz)。¹³C-NMR(CD₃OD, TMS) δ: 177.8(G-4), 160.7(G-4'), 153.7(G-9), 151.0(G-5), 148.8(G-7), 146.0(G-2), 137.3(G-3), 131.1(2 × C, G-2', 6'), 123.1(G-1'), 116.3(2C, G-3', 5'), 105.7(G-10), 100.6(G-6), 97.2(G-1''), 82.4(G-2''), 72.4(G-4''), 71.1(G-5''), 70.8(G-2''), 18.1(G-6''), 以上数据与文献^[8]报道的 7-O-β-D 葡萄糖 3,4',5,8-四羟基黄酮一致。

化合物 IV: 淡黄色粉末, [α]_D²⁵ - 50.9 (c, 0.4, MeOH)。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 385, 1 650, 1 072。¹H-NMR(CD₃OD, TMS) δ: 8.20(2H, dd, J = 9.0, 1.7 Hz), 6.90(2H, dd, J = 9.0, 1.7 Hz), 6.65(1H, s), 5.56(1H, s), 3.79(1H, dd, J = 11.9 Hz), 3.62(1H, dd, J = 11.9, 5.0 Hz), 3.40(3H, m), 3.12(1H, dd, J = 7.8, 7.6 Hz), 3.79(1H, dd, J = 11.9 Hz), 3.62(1H, dd, J = 11.9, 5.0 Hz), 3.40(3H, m), 3.12(1H, dd, J = 7.8, 7.6 Hz), 1.26(6H, d, J = 6.1 Hz)。¹³C-NMR(CD₃OD, TMS) δ: 177.8(G-4), 160.7(G-4'), 153.7(G-9), 151.0(G-5), 148.8(G-7), 146.0(G-2), 137.3(G-3), 131.1(2C, G-2', 6'),

123.1(G-1'), 116.3(2C, G-3', 5'), 105.7(G-10), 100.6(G-6), 97.2(G-1''), 82.4(G-2''), 72.4(G-4''), 71.1(G-5''), 70.8(G-2''), 18.1(G-6''), 106.2(G-1'''), 77.9(G-3'''), 77.8(G-5'''), 75.4(G-2'''), 71.2(G-4'''), 62.4(G-6'''), 以上数据与文献^[9]报道的红景天黄酮苷一致。

化合物 V: 无色针状晶体, mp 173~175℃, $[\alpha]_D^{25} - 14.9$ (c, 1.0, MeOH)。¹H-NMR、¹³C-NMR 光谱数据与文献^[10]报道的表儿茶素一致。

化合物 VI 白色无定型粉末, $[\alpha]_D^{25} - 13.9$ (c, 0.4, MeOH), ¹H-NMR、¹³C-NMR 光谱数据与文献^[10]报道的表儿茶素没食子酸一致。

化合物 VII 白色粉末, $[\alpha]_D^{25} - 16.1$ (c, 0.2, MeOH), IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 410, 2 220, 1 653, 1 077。¹H-NMR(CD₃OD, TMS) δ : 6.46(1H, qdd, $J = 6.9, 6.4, 1.6$ Hz), 4.56(1H, ddd, $J = 13.5, 6.4, 1.3$ Hz), 4.44(1H, ddd, $J = 13.5, 6.9, 1.3$ Hz), 4.30(1H, d, $J = 7.9$ Hz), 3.84(1H, dd, $J = 12.0, 2.0$ Hz), 3.68(1H, dd, $J = 12.0, 5.0$ Hz), 3.30(3H, m), 3.18(1H, dd, $J = 8.8, 7.9$ Hz), 1.97(3H, dd, $J = 2.8, 1.2$ Hz)。¹³C-NMR(CD₃OD, TMS) δ : 118.2(G-1), 112.5(G-2), 145.0(G-3), 68.4(G-4), 20.2(G-5), 104.0(G-1'), 74.8(G-2'), 77.9(G-3'), 71.4(G-4'), 78.0(G-5'), 62.5(G-6'), 以上数据与文献^[11]报道的红景天黄酮苷 A 一致。

化合物 VIII 淡黄色油状物, $[\alpha]_D^{25} - 16.8$ (c, 0.4, MeOH)。¹H-NMR(CD₃OD, TMS) δ : 5.57(1H, m), 5.10(1H, m), 4.36(1H, dd, $J = 11.5, 6.5$ Hz), 4.32(1H, dd, $J = 11.5, 6.5$ Hz), 4.30(1H, d, $J = 7.8$ Hz), 3.96(1H, t, $J = 6.8$ Hz), 3.85(1H, dd, $J = 11.7, 2.1$ Hz), 3.67(1H, dd, $J = 11.7, 5.1$ Hz), 3.20-3.30(3H, m), 3.18(1H, dd, $J = 7.8, 7.5$ Hz), 2.24(2H, t, $J = 6.8$ Hz), 1.68(3H, s), 1.66(3H, s), 1.62(3H, s)。¹³C-NMR(CD₃OD, TMS) δ :

66.1(G-1), 122.9(G-2), 143.0(G-3), 78.0(G-4), 34.8(G-5), 121.6(G-6), 134.0(G-7), 18.0(G-8), 26.0(G-9), 12.0(G-10), 102.8(G-1'), 75.0(G-2'), 78.1(2C, G-3', 5'), 71.6(G-4'), 62.8(G-6'), 以上数据与文献^[12]报道的 1-O- β -D-葡萄糖-3,7-二甲基-4-羟基-2,6-辛二烯一致。

References:

- [1] Xu J F. The advance on application and development of *Rhodiola sachalinensis* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1998, 29(1): 202-205.
- [2] Zhang X. Medical value of *Rhodiola* [J]. *Chin Wild Plant Res* (中国野生植物资源), 1993(1): 33-35.
- [3] Yan T F, Yan X F, Zhou F J. Study on the Distribution and Differentiation of Multifunction Point of *Rhodiola sachalinensis* RAPD Augment-segment (红景天的 RAPD 的多样性的分布和鉴别) [M]. Beijing: Higher Education Publishing House, 1999.
- [4] Zhao W, Jiang X, Bian Q R. The advance on the bioactivity of *Rhodiola* plant [J]. *J Health Toxicol* (卫生毒理学杂志), 2001, 15(1): 55-58.
- [5] Yoshimoto T, Simmons W H, Nishimura T, et al. Postproline cleaving enzyme (prolyl endopeptidase) from bovine brain [J]. *J Biochem*, 1983, 94: 1179-1190.
- [6] Ming H Q, Xia G C, Zhang R D. The advance on the study of *Rhodiola* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1988, 19(5): 37-42.
- [7] Lalonde R T, Wong C, Mei A I. Polyglucosidic metabolites of oleaceae, the chain sequence of oleoside aglucon, tyrosol, and glucose unit in three metabolites from *Fraxinus americana* [J]. *J Am Chem Soc*, 1976, 98(10): 3007-3013.
- [8] Zapeschnaya G G, Kurkin V A. Flavonoids of *Phodiola rosea* rhizomes II, flavonolignan and herbacetyl glycosides [J]. *Khim Prirod Soedin*, 1983(1): 23-32.
- [9] Yu W S, Chen X M, Li H. Polyphenols from *Rhodiola crenulata* [J]. *Planta Med*, 1993, 59: 80-82.
- [10] Lee M W, Satoshi M, Nonaka G I. Flavon-3-ol, gallates and proanthocyanidins from *Pithecellobium lobatum* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(6): 2117-2120.
- [11] Yoshikawa M, Shimada H, Shimoda H. Bioactive constituents of Chinese natural medicines. II. *Rhodiola Radix*. (1). Chemical structures and antiallergic activity of rhodiocyanosides A and B from the underground part of *Rhodiola quadrifida* (Pall.) Fisch. et Mey. (Crassulaceae) [J]. *Chem Pharm Bull*, 1996, 44(11): 2086-2091.
- [12] Fan W Z, Tezuka Y, Ni K M. Prolyl endopeptidase inhibitors from the underground part of *Rhodiola sachalinensis* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2001, 49(4): 396-401.

声 明

为适应我国信息化建设需要,扩大作者学术交流渠道,本刊已加入《中国学术期刊(光盘版)》和“中国期刊网”。如作者不同意将文章编入光盘及网络数据库,请在来稿时声明,本刊将作适当处理。本刊所付稿酬包含刊物内容编入数据库服务报酬,不再另付。

《中草药》杂志编辑部