

· 化学成分 ·

天麻化学成分研究()

王 莉, 肖红斌*, 梁鑫淼

(中国科学院大连化学物理研究所, 辽宁 大连 116023)

摘要:目的 研究天麻中的强极性成分。方法 大孔吸附树脂柱结合制备液相色谱分离、光谱分析及理化常数比较鉴定结构。结果 从天麻大孔吸附树脂水洗脱部位及 20%乙醇洗脱部位分离并鉴定了 10 个化合物, 分别为柠檬酸单乙酯()、尿苷()、腺嘌呤()、肿根糖 A(dactylose A,)、尿嘧啶()、酪氨酸()、 N^2 -(对羟基苯基)-鸟苷()、1-异阿魏酸- D -吡喃葡萄糖苷()、4-(D -吡喃葡萄糖氧)苯甲醛()、对羟基苯甲酸()。结论 化合物 为新化合物, 命名为天麻核苷(gastronucleoside), 其他 9 个化合物均为天麻首次报道成分。

关键词:天麻; 兰科; 天麻核苷; N^2 -(对羟基苯基)-鸟苷

中图分类号:R284.1 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2009)08-1186-04

Chemical constituents from *Gastrodia elata* ()

WANG Li, XIAO Hong-bin, LIANG Xin-miao

(Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China)

Abstract : Objective To study the high polar constituents of *Gastrodia elata*. **Methods** The constituents were isolated by macroporous resin column chromatography combined with preparative HPLC and identified by spectral analyses and physico-chemical properties comparisons. **Results** Ten compounds were isolated from H₂O and 20% EtOH fractions eluted from resin column and their structures were identified as citric acid mono-ethyl ester (), uridine (), adenine (), dactylose A (), uracil (), tyrosine (), N^2 -(*p*-hydroxybenzyl) guanosine (), 1-isoferuloyl- D -glucopyranoside (), 4-(D -glucopyranosyloxy) benzaldehyde (), and *p*-hydroxyl benzoic acid (). **Conclusion** Compound is a new compound named gastronucleoside. Other nine compounds are isolated from *G. elata* for the first time.

Key words : *Gastrodia elata* Blume; Orchidaceae; gastronucleoside; N^2 -(*p*-hydroxybenzyl) guanosine

天麻为兰科天麻属植物天麻 *Gastrodia elata* Blume 的干燥块茎, 为传统名贵中药, 主治头痛眩晕、肢体麻木、癫痫抽搐等症^[1], 文献报道其有效成分为天麻素、对羟基苯甲醇等酚类成分^[2]。笔者前期工作中已完成天麻弱极性部位、极性部位的化学成分研究^[3,4], 为全面阐明天麻的化学成分, 本实验继续研究天麻强极性化学成分的分离及结构鉴定。天麻的 70%乙醇提取物, 过大孔吸附树脂柱, 从其水洗脱部位及 20%乙醇洗脱部位分离鉴定了 10 个化合物, 分别为柠檬酸单乙酯(citric acid mono-ethyl ester,)、尿苷(uridine,)、腺嘌呤(adenine,)、肿根糖 A(dactylose A,)、尿嘧啶(uracil,)、酪氨酸(tyrosine,)、 N^2 -(对羟基苯基)-鸟苷

[N^2 -(*p*-hydroxybenzyl) guanosine,], 1-异阿魏酸- D -吡喃葡萄糖苷()、4-(D -吡喃葡萄糖氧)苯甲醛()、对羟基苯甲酸()。化合物 为首次分离得到的新化合物, 命名为天麻核苷(gastronucleoside), 笔者前期工作曾经应用 LC-MS 推断天麻醇提物含有该成分^[5], 本实验通过进一步分离纯化研究, 成功分离得到该化合物并应用 2D-NMR 对其结构进行了确证研究。其他 9 个化合物均为天麻首次报道成分。

化合物 : 白色粉末。该化合物的 ¹³C-NMR 中, 128.9, 129.1(2C), 115.1(2C), 156.6, 43.7 为二取代羟基苯基的信号, 86.0, 73.5, 70.4, 85.2, 61.5 为核糖的信号; 结合该化合物的 HR-FT-MS:

* 收稿日期: 2009-02-20

基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向性项目(KGCX2-SW-213)

作者简介: 王 莉(1975—), 女, 博士, 研究方向为中药活性成分的分析、分离研究。

Tel: (0411) 84379907 E-mail: wlhws@dicp.ac.cn

* 通讯作者 肖红斌

m/z 390. 141 082 0 $[M + H]^+$ ($C_{17}H_{20}O_6N_5$ requires 390. 140 809 8), 推测该化合物可能为核苷的羟苄基衍生物。经与已知核苷化合物比对, 确定 152. 5, 150. 8, 117. 0, 156. 7, 136. 1 为鸟苷中嘌呤杂环上的碳信号。 1H -NMR 中也同样显示了二取代羟苄基信号 7. 17 (2H, d, $J = 7. 8$ Hz), 6. 72 (2H, d, $J = 7. 8$ Hz), 4. 35 (2H, s); 鸟嘌呤氮氢信号 6. 95 (br. s) 及 H-8 信号 7. 93 (s); 核糖信号 5. 73 ~ 3. 51。 1H - 1H COSY 显示苄基氢 4. 35 (2H, s) 与鸟苷的 N^2 -氢相关, 说明羟苄基通过 N^2 -位和鸟苷相连(图 1), HMBC 的相关信号也符合上述推断。由于连接位点为氮氢, 用来确证羟苄基和鸟苷的连接位置的相关信号较少, 进一步比较了目标化合物与 N^1 -、 N^2 -甲氧基类似物的氢谱数据^[6](图 2), 结果表明羟苄基 N^1 -取代物 (a) 中苄基的化学位移为 5. 17, 位于较高场; 而 N^2 -取代物 (b) 中苄基的化学位移为 4. 47, 与实际数据更接近。因此, 该化合物最终被确定为 N^2 -(对羟苄基)-鸟苷。该化合物为一新化合物命名为天麻核苷 (gastronucleoside)。

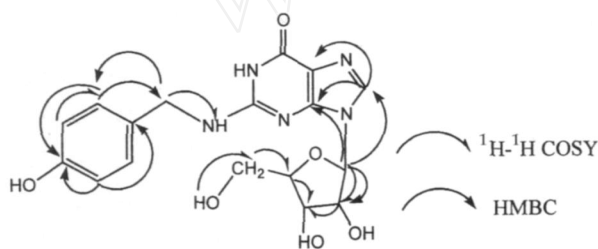


图 1 化合物 VII 中主要的 HMBC 相关和氢氢相关信号
Fig. 1 Key HMBC and 1H - 1H COSY correlation of compound VII

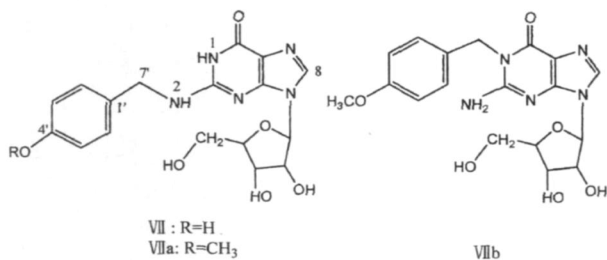


图 2 化合物 VII、VIIa 和 VIIb 的结构

Fig. 2 Structures of compound VII, VIIa, and VIIb

1 仪器、试剂与材料

Bruker DRX-400 核磁共振仪 (TMS 为内标); Thermo Finnigan TSQ 质谱仪, 电喷雾离子源 (ESI); Waters DP-4000 制备液相色谱, Waters Prep Nova-Pak C_{18} 径向加压柱 (300 mm \times 20 mm, 6 μ m); 硅胶为青岛海洋化工厂生产。分析纯乙醇、

甲醇等(沈阳试剂厂); 色谱级甲醇(山东禹王); 色谱级醋酸(美国 Tedia); Milli-Q 超纯水(美国 Millipore)。Diaion HP-20 大孔吸附树脂(日本三菱公司)。

实验用天麻产于陕西汉中, 由大连市药品检验所陈代贤主任药师鉴定为兰科植物天麻 *Gastrodia elata* Blume。

2 提取和分离

天麻 5 kg 用 70% 乙醇加热回流提取, 减压浓缩物用石油醚萃取脱脂后上大孔吸附树脂柱 (Diaion), 乙醇水溶液梯度洗脱。水洗脱部位首先用正丁醇萃取, 正丁醇萃取液用高效液相制备色谱进行初分离, 10% 甲醇-水洗脱, 按时间段收集 4 个流份 F1 ~ F4。F1 上硅胶色谱柱, 醋酸乙酯-甲醇 (9 : 1) 以及醋酸乙酯-甲醇-水 (9 : 1 : 0.5, 7 : 3 : 1) 洗脱, 每 20 mL 收集 1 份, 流份 Fr. 31 ~ 54 经高效液相制备色谱纯化得到化合物 (5.5 mg) 和 (2 mg); 流份 Fr. 61 ~ 80 经高效液相制备色谱纯化得到化合物 (0.7 mg); 流份 Fr. 93 ~ 103 经高效液相制备色谱纯化得到化合物 (0.8 mg); F3 和 F4 通过高效液相制备色谱纯化分别得到化合物 (10 mg) 和 (10 mg)。

20% 乙醇洗脱部位经高效液相制备色谱进行初步分离, 22% 甲醇-0.5% 醋酸水洗脱, 按时间段收集 5 个流份 F1 ~ F5。F1 经高效液相制备色谱进一步纯化 (10% 甲醇-0.5% 醋酸水) 得化合物 (10 mg)。F2 经高效液相制备色谱进一步纯化 (10% 甲醇-0.5% 醋酸水) 分别得到化合物 (7 mg)、(7 mg)、(7 mg)。

3 结构鉴定

化合物 : 白色粉末。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) : 2. 60, 2. 72 (各 2H, d, $J = 15. 2$ Hz, 2 \times $-CH_2-COOR$), 1. 17 (3H, t, $J = 7. 2, 7. 2$ Hz, CH_3), 4. 08 (2H, q, $J = 6. 8, 7. 2, 7. 2$ Hz, $-CH_2$)。 ^{13}C -NMR (100 MHz, D_2O) : 176. 8 (2C, $-COOR_1, -COOR_3$), 177. 8 ($-COOR_2$), 76. 3 (C-2), 46. 5 (2C, C-1, 3), 65. 8 ($-CH_2$), 15. 9 ($-CH_3$)。根据以上数据鉴定该化合物为柠檬酸单乙酯。

化合物 : 白色粉末, 易溶于甲醇-水的混合液。UV $^{MeOH/H_2O}_{max}$: 210, 259。ESI-MS m/z : 245 $[M + H]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) : 5. 64 (1H, d, $J = 8. 1$ Hz, H-5), 7. 89 (1H, d, $J = 8. 1$ Hz, H-6), 5. 78 (1H, d, $J = 5. 4$ Hz, H-1), 4. 01 (1H, q, $J = 5. 4, 5. 4, 5. 4$ Hz, H-2), 3. 96 (1H, q, $J = 4. 7, 4. 3, 4. 9$ Hz, H-3), 3. 84 (1H, m, H-4), 3. 55 (1H,

m, H-5a), 3.61 (1H, m, H-5b), 5.38 (1H, d, $J = 5.7$ Hz, 2-OH), 5.14 (1H, d, $J = 5.8$ Hz, 3-OH), 5.10 (1H, d, $J = 5.3$ Hz, 5-OH)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6): 150.7 (C-2), 163.1 (C-4), 101.7 (C-5), 140.7 (C-6), 87.7 (ribose-C-1), 73.5 (ribose-C-2), 69.8 (ribose-C-3), 84.8 (ribose-C-4), 60.8 (ribose-C-5)。以上数据与文献报道^[7]对照, 鉴定该化合物为尿苷。

化合物: 白色粉末。UV $\text{MeOH}^{\text{H}_2\text{O}}_{\text{max}}$: 198, 248。ESI-MS m/z : 136 [M + H]⁺。其保留时间、UV、MS 均与腺嘌呤对照品一致, 故鉴定该化合物为腺嘌呤。

化合物: 白色粉末, 易溶于水。UV $\text{MeOH}^{\text{H}_2\text{O}}_{\text{max}}$: 222, 274。ESI-MS m/z : 255 [M - H]⁻。 $^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 400 MHz): 7.21 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2, 6), 6.87 (2H, d, $J = 8$ Hz, H-3, 5), 3.68 ~ 3.56 (3H, m, H-3, 5 a, 5 b), 3.48 (1H, m, H-4), 3.26 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-2), 3.03 (1H, d, $J = 14.0$ Hz, H-7a), 2.97 (1H, d, $J = 14.0$ Hz, H-7b)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (D_2O , 100 MHz): 157.0 (C-4), 134.7 (C-2, 6), 129.6 (C-1), 117.8 (C-3, 5), 101.2 (C-1), 76.7 (C-3), 75.3 (C-2), 72.0 (C-4), 64.4 (C-5), 44.9 (C-7)。以上数据与文献报道 dactylose A 的数据基本一致^[8], 故鉴定该化合物为肿根糖 A。

化合物: 白色粉末, 易溶于甲醇-水混合液。UV $\text{MeOH}^{\text{H}_2\text{O}}_{\text{max}}$: 260。ESI-MS m/z : 113 [M + H]⁺。其保留时间、UV、MS 均与尿嘧啶对照品一致, 故鉴定该化合物为尿嘧啶。

化合物: 白色粉末, 微溶于水, 不易溶于常用溶剂。UV $\text{MeOH}^{\text{H}_2\text{O}}_{\text{max}}$: 222, 274。ESI-MS m/z : 182 [M + H]⁺。其保留时间、UV、MS 均与酪氨酸对照品一致, 故推断该化合物为酪氨酸。

化合物: 白色粉末。UV $\text{MeOH}^{\text{HAc}^{\text{H}_2\text{O}}}_{\text{max}}$: 255, 278 (sh)。HR-FT-MS: m/z 390.1410820 [M + H]⁺ ($\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_6\text{N}_5$ requires 390.1408098)。ESI-MS m/z : 390 [M + H]⁺。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): 6.95 (1H, br. s, $\text{N}^2\text{-H}$), 7.93 (1H, s, H-8), 7.17 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, H-2, 6), 6.72 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, H-3, 5), 4.35 (2H, s, 7- CH_2), 5.73 (1H, d, $J = 5.6$ Hz, ribose-H₁), 4.49 (1H, s, ribose-H₂), 4.11 (1H, s, ribose-H₃), 3.87 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, ribose-H₄), 3.61 (1H, d, $J = 12$ Hz, ribose-H_{5a}), 3.51 (1H, d, $J = 5.4$ Hz, ribose-H_{5b}), 4.96 (1H, br. s, ribose-H₅-OH)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6): 152.5 (C-2), 150.8 (C-4), 117.0 (C-

5), 156.7 (C-6), 136.1 (C-8), 128.9 (C-1), 129.1 (C-2, 6), 115.1 (C-3, 5), 156.6 (C-4), 43.7 (C-7), 86.0 (ribose-C-1), 73.5 (ribose-C-2), 70.4 (ribose-C-3), 85.2 (ribose-C-4), 61.5 (ribose-C-5)。

化合物: 白色粉末, UV $\text{MeOH}^{\text{HAc}^{\text{H}_2\text{O}}}_{\text{max}}$: 215, 288, 312。ESI-MS m/z : 355 [M - H]⁻。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): 7.78 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2, 6), 6.82 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3, 5)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6): 167.2 (COOH), 121.4 (C-1), 131.5 (C-2, 6), 115.1 (C-3, 5), 161.6 (C-4)。以上数据与文献报道 1-异阿魏酸-D-吡喃葡萄糖苷基本一致^[9], 故鉴定该化合物为 1-异阿魏酸-D-吡喃葡萄糖苷。

化合物: 白色粉末, 易溶于水。UV $\text{MeOH}^{\text{HAc}^{\text{H}_2\text{O}}}_{\text{max}}$: 215, 269。ESI-MS m/z : 283 [M - H]⁻。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): 9.77 (1H, s, CHO), 7.90 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2, 6), 7.23 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3, 5), 5.24 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, glur-H₁), 3.61 ~ 3.62 (2H, m, glur-H_{2,5}), 3.67 (1H, m, glur-H₃), 3.50 (1H, m, glur-H₄), 3.74 (1H, dd, $J = 12.3, 5.6$ Hz, glur-H_{6a}), 3.92 (1H, d, $J = 12.3$ Hz, glur-H_{6b})。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, D_2O): 197.6 (CHO), 133.4 (C-1), 135.2 (C-2, 6), 119.2 (C-3, 5), 164.5 (C-4), 101.9 (glur-C-1), 75.4 (glur-C-2), 78.8 (glur-C-3), 71.9 (glur-C-4), 78.0 (glur-C-5), 63.0 (glur-C-6)。由以上数据鉴定该化合物为 4-($-D$ -吡喃葡萄糖氧)苯甲醛。

化合物: 白色粉末; UV $\text{MeOH}^{\text{HAc}^{\text{H}_2\text{O}}}_{\text{max}}$: 255。ESI-MS m/z : 137。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): 7.78 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2, 6), 6.82 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3, 5)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6): 167.2 (COOH), 121.4 (C-1), 131.5 (C-2, 6), 115.1 (C-3, 5), 161.6 (C-4)。由以上数据鉴定该化合物为对羟基苯甲酸。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005.
- [2] 宋振玉. 中草药现代研究[M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1995.
- [3] 王莉, 肖红斌, 梁鑫淼. 天麻化学成分研究() [J]. 中草药, 2003, 34(7): 584-585.
- [4] 王莉, 王艳萍, 肖红斌, 等. 天麻化学成分研究() [J]. 中草药, 2006, 37(11): 1635-1637.
- [5] Wang L, Xiao H B, Liang X M, et al. Identification of phenolics and nucleoside derivatives in *Gastrodia elata* by HPLC-UV-ESI/MS [J]. *J Sep Sci*, 2007, 30: 1488-1495.
- [6] Tondeur Y, Moschel R C, Dipple A, et al. Fast atom bombardment and collisional activation mass spectrometry as

- probes for the identification of positional isomers in a series of benzylated guanosines [J]. *Anal Chem*, 1986, 58: 1316-1324.
- [7] 邹忠杰, 杨峻山. 九节菖蒲化学成分研究 [J]. 中药材, 2008, 31(1): 49-51.
- [8] Kizu H, Kaneko E I, Tomimori T. Chemical constituents of panch aunle, the roots of *Dactylorhiza hatagirea* D. Don [J]. *Chem Pharm Bull*, 1999, 47(11): 1618-1625.
- [9] Marin F R, Ortuno A, Benavente-Garcia O, et al. Distribution of flavone glycoside diosmin in *Hyssopus officinalis* plants: changes during growth [J]. *Planta Med*, 1998 (64): 181-182.

华东唐松草中两个新的三萜皂苷类化合物

张现涛¹, 李艳², 张雷红¹, 王英³, 叶文才^{2,3*}

(1. 广东省中药研究所, 广东 广州 510520; 2. 中国药科大学中药学院, 江苏 南京 210038;
3. 暨南大学中药及天然药物研究所, 广东 广州 510632)

摘要:目的 研究华东唐松草 *Thalictrum fortunei* 化学成分。方法 利用各种柱色谱方法对华东唐松草乙醇提取物的正丁醇部位进行分析, 用 UV、IR、MS、1D-和 2D-NMR 等光谱技术鉴定化合物结构。结果 分离鉴定了 2 个新化合物, 分别为华东唐松草苷 I [thaliforoside I, (22*S*, 24*Z*)-cycloart-24-en-3, 22, 26-triol 26-*O*-*D*-glucopyranoside,] 和华东唐松草苷 J [thaliforoside J, 3-*O*-*D*-glucopyranosyl-(1-6)-*D*-glucopyranosyl (22*S*, 24*Z*)-cycloart-24-en-3, 22, 26-triol 26-*O*-*D*-glucopyranoside,]。结论 化合物、均为新化合物, 命名为华东唐松草苷 I 和华东唐松草苷 J。

关键词:唐松草属; 毛茛科; 华东唐松草苷 I; 华东唐松草苷 J

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2009)08-1189-04

Two new cycloartane glycosides from *Thalictrum fortunei*

ZHANG Xian-tao¹, LI Yan², ZHANG Lei-hong¹, WANG Ying³, YE Wen-cai^{2,3}

(1. Guangdong Research Institute of Chinese Materia Medica, Guangzhou 510520, China; 2. College of Chinese Materia Medica, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038; 3. Institute of Traditional Chinese Medicine and Natural Products, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract : Objective To study new chemical constituents of *Thalictrum fortunei*. **Methods** Various column chromatographic methods were carried out for the isolation and purification of the compounds from the EtOH extract of *T. fortunei*. Their structures were elucidated by 1D- and 2D-NMR methods, HR-ESI-MS, UV, IR and hydrolysis. **Results** Two new cycloartane glycosides were isolated, and their structures were elucidated as thaliforoside I [(22*S*, 24*Z*)-cycloart-24-en-3, 22, 26-triol 26-*O*-*D*-glucopyranoside] (), and thaliforoside J [3-*O*-*D*-glucopyranosyl-(1-6)-*D*-glucopyranosyl (22*S*, 24*Z*)-cycloart-24-en-3, 22, 26-triol 26-*O*-*D*-glucopyranoside] (). **Conclusion** Compounds and are new compounds named thaliforoside I and thaliforoside J.

Key words : *Thalictrum* L.; Ranunculaceae; thaliforoside I; thaliforoside J

华东唐松草 *Thalictrum fortunei* S. Moore 为毛茛科唐松草属多年生草本植物, 分布于江西北部、安徽南部、江苏南部和浙江。全草及根入药, 能清湿热、消肿解毒、杀虫, 治疗急性结膜炎、热痢、黄疸、蛔虫等症, 在安徽南部用根来代替黄连^[1-3]。对唐松草属的化学成分研究表明, 其主要次生代谢产物为

生物碱, 亦含有少量的三萜和黄酮类化合物^[4,5]。本课题组前期从华东唐松草乙醇提取物的正丁醇部位得到 8 个新的环菠萝蜜烷型三萜皂苷^[6,7], 本研究分离鉴定了另外两个新化合物, 华东唐松草苷 I [thaliforoside I, (22*S*, 24*Z*)-cycloart-24-en-3, 22, 26-triol 26-*O*-*D*-glucopyranoside,] 和华东唐松

* 收稿日期: 2009-03-18

作者简介: 张现涛 (1978—), 博士, 广东省中药研究所副所长, 从事天然药物化学的研究和新药开发。

Tel: (020) 37216184 E-mail: zxtcpu@yahoo.com.cn

* 通讯作者: 叶文才 Tel: (020) 88579676 E-mail: chywc@yahoo.com.cn