

• 化学成分 •

小桃儿七中的 1 个新化合物

王 盈^{1,3}, 苏艳芳^{1,2*}, 杨凤英¹, 颜世伦¹, 张 肖¹

1. 天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072
2. 天津中医药大学 天津市中药化学与分析重点实验室, 天津 300193
3. 天津生物工程职业技术学院, 天津 300462

摘要: 目的 研究小桃儿七 *Helleborus thibetanus* 的化学成分。方法 运用硅胶柱色谱及重结晶等方法进行分离纯化, 根据理化性质和核磁共振波谱对化合物进行结构鉴定。结果 从小桃儿七乙醇提取物中分离得到 1 个新化合物, 鉴定为 14β-羟基-3β-[(β-D-葡萄糖吡喃糖基) 氧]-5α-蟾酥甙-20, 22-二烯 (1)。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为铁筷子苷 A, 属于蟾蜍二烯羟酸内酯类强心苷类化合物。

关键词: 小桃儿七; 14β-羟基-3β-[(β-D-葡萄糖吡喃糖基) 氧]-5α-蟾酥甙-20, 22-二烯; 铁筷子苷 A; 蟾蜍二烯羟酸内酯; 强心苷

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)13-1713-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.13.002

A new compound from roots and rhizomes of *Helleborus thibetanus*WANG Ying^{1,3}, SU Yan-fang^{1,2}, YANG Feng-ying¹, YAN Shi-lun¹, ZHANG Xiao¹

1. School of Pharmaceutical Science and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China
2. Laboratory of Chemistry and Analysis of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China
3. Tianjin Vocational College of Bioengineering, Tianjin 300462, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents in the ethanol extract from the roots and rhizomes of *Helleborus thibetanus*.

Methods The compounds were isolated and purified by silica gel column chromatography and recrystallization. The structures of the compounds were identified on the basis of chemical and spectral methods. **Results** A new compound was isolated from the ethanol extract in the roots and rhizomes of *H. thibetanus* and identified as 14β-hydroxy-3β-[(β-D-glucopyranosyl)oxy]-5α-bufa-20, 22-dienolide (1). **Conclusion** Compound 1 is a new compound named as hellebococside A, which belongs to bufadienolide of cardiac glycosides.

Key words: roots and rhizomes of *Helleborus thibetanus*; 14β-hydroxy-3β-[(β-D-glucopyranosyl)oxy]-5α-bufa-20, 22-dienolide; hellebococside A; bufadienolide; cardiac glycoside

小桃儿七为毛茛科铁筷子属植物铁筷子 *Helleborus thibetanus* Franch. 的干燥根及根茎, 又名铁筷子、黑毛七、小山桃儿七、九百棒、嚏根草、黑桃儿七等, 为陕西七药的一种, 主产于陕西、四川、甘肃等地。其性凉味苦, 有小毒, 具有清热解毒、活血散瘀、消肿止痛的功效, 用于治疗膀胱炎、尿道炎、跌打损伤及疮疖肿毒等症^[1]。国内外关于小桃儿七的化学成分的报道很少, 铁筷子属的特征

性化学成分包括蟾蜍二烯羟酸内酯类、植源性蜕皮甾酮类和螺甾烷类甾体皂苷^[2-4]。本实验从小桃儿七中分离得到 1 个新化合物, 鉴定为 14β-羟基-3β-[(β-D-葡萄糖吡喃糖基) 氧]-5α-蟾酥甙-20, 22-二烯 (1), 为新化合物, 命名为铁筷子苷 A, 属于蟾蜍二烯羟酸内酯类强心苷类化合物。

1 仪器与材料

Bruker Avance DRX—500 MHz 超导傅里叶变

收稿日期: 2013-03-09

基金项目: 教育部新世纪优秀人才支持计划资助项目 (NCET-09-0589)

作者简介: 王 盈 (1981—), 女, 辽宁锦州市人, 天津大学在职硕士研究生, 研究方向为天然药物化学成分研究。

*通信作者 苏艳芳 Tel: (022)27402885 E-mail: yfsuphd@yahoo.com

网络出版时间: 2013-06-13 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20130613.0905.002.html>

换液体核磁共振谱仪、Bruker Tensor 27 光红外谱仪(德国 Bruker 公司), Varian Ion Spec FT 7.0T 质谱仪(美国 Varian 公司)。Rudolph Research Analysis Autopol II 型自动旋光度测定仪(美国 Rudolph 公司), 柱色谱硅胶(100~200、200~300 目, 青岛海洋化工厂), 所有试剂均为分析纯。

药材小桃儿七于 2007 年 9 月采集于陕西省, 由西北农林科技大学吴振海教授鉴定为毛茛科铁筷子属植物铁筷子 *Helleborus thibetanus* Franch. 的干燥根茎。标本(S200609002)存于天津大学药物科学与技术学院实验室。

2 提取与分离

取小桃儿七干燥药材约 8 kg, 粉碎后, 用 95% 乙醇约 10 L 浸泡 2 周后, 收集提取液; 然后将药材用 95% 乙醇约 10 L 热回流提取 (2 h×2), 再用 60% 乙醇约 10 L 热回流提取 (2 h×2), 减压浓缩, 将浓缩液合并, 加入蒸馏水约 5 L 制成混悬液, 依次用石油醚、氯仿、醋酸乙酯和正丁醇萃取, 得到正丁醇萃取物 934 g, 过 D-101 大孔树脂柱, 依次用水及 30%、50%、70%、95% 乙醇梯度洗脱。50% 乙醇洗脱部分 (103 g) 经硅胶柱色谱, 醋酸乙酯-甲醇梯度洗脱。所得流分 Fr. 7~13 (5 g) 再经过硅胶柱色谱, 二氯甲烷-甲醇洗脱, 所得流分 Fr. 30~63 减压浓缩后用甲醇溶解, 析出无色晶体, 得到化合物 1 (20 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 无色晶体 (甲醇), mp 276 °C, $[\alpha]_D^{26} -56.1^\circ$ (c 1.00, C₅H₅N)。IR 光谱提示该化合物中含有羟基 (3 441 cm⁻¹) 和羰基 (1 703 cm⁻¹)。HR-ESI-MS *m/z*: 571.287 6 (计算值 571.288 3, [M+Na]⁺), 且该化合物的 ¹³C-NMR 谱共有 30 个碳信号, 确定其分子式为 C₃₀H₄₄O₉。¹H-NMR (500 MHz, C₅D₅N) 谱

中, δ 0.60~2.80 处有多个环上非连氧碳上的饱和质子信号, 其中 2 个甲基质子信号 δ 0.63 (3H, s), 0.85 (3H, s), 提示有甾环结构; δ 3.90~5.40 有多个连氧质子信号, 其中有 1 个端基质子信号 δ 5.06 (1H, d, *J* = 10.0 Hz), 提示有 1 个六碳糖; δ 6.20~9.00 有 3 个环内不饱和质子信号 δ 8.23 (1H, dd, *J* = 10.0, 2.5 Hz), 7.45 (1H, brs), 6.35 (1H, d, *J* = 10.0 Hz)。¹³C-NMR (125 MHz, C₅D₅N) 谱中, δ 12.2, 17.2 处有 2 个甲基碳信号, δ 20.0~60.0 处有多个环内饱和碳信号, δ 60.0~85.0 处有 7 个连氧碳信号, δ 102.1 处有 1 个糖的端基碳信号, δ 115.3, 123.4, 149.3, 147.6 处有 4 个烯碳信号, δ 162.1 处有 1 个羰基碳信号, 提示化合物 1 含有 α , β -不饱和六元内酯环结构。

化合物 1 的 NMR 数据与前期从小桃儿七中获得的一个化合物 14 β , 16 β -二羟基-3 β -[(β -D-葡萄糖基)氧]-5 α -蟾酥甾-20, 22-二烯^2 十分相似, 仅 D 环上的 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 的化学位移有较大区别。DEPT 谱提示化合物 1 比化合物 2 多了 1 个仲碳, 少了 1 个连氧叔碳信号; 同时质谱数据也表明化合物 1 比化合物 2 少了 1 个氧, 提示与化合物 2 相比较, 化合物 1 可能在 D 环少了 1 个羟基取代, 即在 16 位无羟基取代。

结合二维谱图分析, 完成了化合物 1 的信号归属 (表 1), 确证化合物 1 在 16 位无羟基取代, 化合物 1 和 2 的结构见图 1。在 HMBC 谱图 (图 2) 中葡萄糖的端基氢信号 δ 5.06 (d, *J* = 10.0 Hz) 与 C-3 (δ 77.0) 信号相关, 确证苷化发生在苷元的 3 位羟基。在 NOESY 谱图 (图 2) 中 H-3 (δ 3.99) 与 H-5 (δ 0.84)、H-1ax (δ 0.91) 相关, 19-CH₃ (δ 0.63) 与 H-2ax (δ 1.64)、H-4ax (δ 1.39)、H-6ax (δ 1.21)、H-8ax (δ 1.61)、H-11ax (δ 1.12) 相关, 尤其 19-CH₃

表 1 化合物 1 与化合物 2 的波谱数据 (C₅D₅N)
Table 1 Spectral data of compounds 1 and 2 (C₅D₅N)

| 碳位 | 化合物 1 | | 化合物 2 | |
|-----|-----------------------|------------|-----------------------|------------|
| | δ_H | δ_C | δ_H | δ_C |
| 1ax | 0.87 (1H, overlapped) | 37.4 | 0.81 (1H, overlapped) | 37.3 |
| 1eq | 1.58 (1H, overlapped) | | 1.57 (1H, overlapped) | |
| 2ax | 1.64 (1H, overlapped) | 29.9 | 1.60 (1H, overlapped) | 29.9 |
| 2eq | 2.13 (1H, overlapped) | | 2.02 (1H, m) | |
| 3 | 3.99 (1H, overlapped) | 77.0 | 3.97 (1H, overlapped) | 77.1 |
| 4ax | 1.39 (1H, overlapped) | 34.7 | 1.33 (1H, overlapped) | 34.6 |
| 4eq | 1.83 (1H, overlapped) | | 1.83 (1H, m) | |
| 5 | 0.84 (1H, overlapped) | 44.2 | 0.82 (1H, overlapped) | 44.2 |

续表 1

| 碳位 | 化合物 1 | | 化合物 2 | |
|-------------|-----------------------------------|------------|-----------------------------------|------------|
| | δ_H | δ_C | δ_H | δ_C |
| 6ax | 1.21 (1H, overlapped) | 29.2 | 1.08 (1H, overlapped) | 29.1 |
| 6eq | 1.26 (1H, overlapped) | | 1.20 (1H, overlapped) | |
| 7ax | 1.08 (1H, overlapped) | 28.0 | 1.10 (1H, overlapped) | 28.1 |
| 7eq | 2.32 (1H, m) | | 2.35 (1H, m) | |
| 8 | 1.61 (1H, overlapped) | 42.0 | 1.63 (1H, overlapped) | 41.8 |
| 9 | 0.82 (1H, overlapped) | 50.0 | 0.78 (1H, overlapped) | 49.8 |
| 10 | | 36.0 | | 35.9 |
| 11ax | 1.12 (1H, overlapped) | 21.8 | 1.12 (1H, overlapped) | 21.5 |
| 11eq | 1.34 (1H, overlapped) | | 1.33 (1H, overlapped) | |
| 12ax | 1.23 (1H, overlapped) | 40.7 | 1.22 (1H, overlapped) | 41.1 |
| 12eq | 1.36 (1H, overlapped) | | 1.45 (1H, m) | |
| 13 | | 48.8 | | 49.4 |
| 14 | | 84.3 | | 84.5 |
| 15 α | 1.93 (1H, overlapped) | 32.9 | 2.47 (1H, dd, $J = 14.0, 7.0$ Hz) | 43.1 |
| 15 β | 1.81 (1H, overlapped) | | 2.13 (1H, brd, $J = 14.0$ Hz) | |
| 16a | 2.09 (1H, overlapped) | 29.4 | 4.75 (1H, t, $J = 7.5$ Hz) | 72.5 |
| 16b | 1.93 (1H, overlapped) | | | |
| 17 | 1.85 (1H, overlapped) | 51.4 | 2.74 (1H, d, $J = 8.0$ Hz) | 59.0 |
| 18 | 2.44 (1H, m) | 17.2 | 0.95 (3H, s) | 17.2 |
| 19 | 0.85 (3H, s) | 12.2 | 0.60 (3H, s) | 12.1 |
| 20 | 0.63 (3H, s) | 123.4 | | 119.3 |
| 21 | 7.45 (1H, brs) | 149.3 | 7.46 (1H, d, $J = 2.0$ Hz) | 150.6 |
| 22 | 8.23 (1H, dd, $J = 10.0, 2.5$ Hz) | 147.6 | 8.46 (1H, dd, $J = 10.0, 2.5$ Hz) | 151.3 |
| 23 | 6.35 (1H, d, $J = 10.0$ Hz) | 115.3 | 6.27 (1H, d, $J = 10.0$ Hz) | 112.6 |
| 24 | | 162.1 | | 162.2 |
| 3-O-Glc | | | | |
| 1' | 5.06 (1H, d, $J = 7.5$ Hz) | 102.1 | 5.01 (1H, d, $J = 7.5$ Hz) | 102.1 |
| 2' | 4.01 (1H, m) | 75.3 | 3.99 (1H, m) | 75.3 |
| 3' | 4.29 (1H, dd, $J = 8.5, 8.5$ Hz) | 78.6 | 4.25 (1H, dd, $J = 9.0, 8.5$ Hz) | 78.6 |
| 4' | 4.27 (1H, dd, $J = 8.5, 8.5$ Hz) | 71.8 | 4.19 (1H, dd, $J = 9.0, 8.5$ Hz) | 71.8 |
| 5' | 4.00 (1H, m) | 78.5 | 3.99 (1H, m) | 78.5 |
| 6'a | 4.63 (1H, brd, $J = 11.0$ Hz) | 62.9 | 4.56 (1H, dd, $J = 11.5, 2.0$ Hz) | 62.9 |
| 6'b | 4.41 (1H, d, $J = 11.5, 5.5$ Hz) | | 4.36 (1H, dd, $J = 11.5, 5.5$ Hz) | |

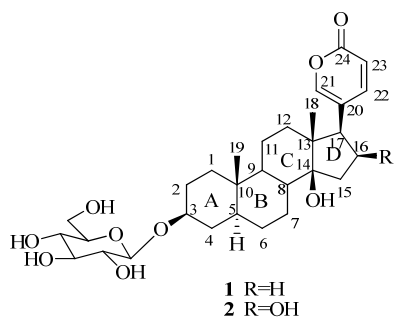


图 1 化合物 1 和 2 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1 and 2

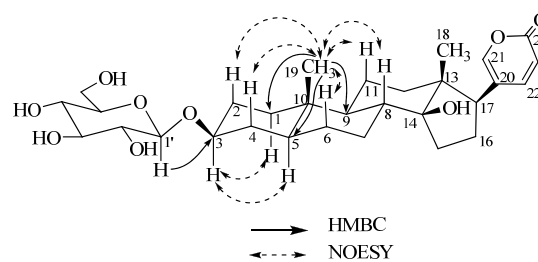


图 2 化合物 1 的部分 HMBC 和 NOESY 相关

Fig. 2 Selected HMBC and NOESY correlations of compound 1

(δ 0.63) 与 H-4ax (δ 1.39) 的相关, 只有在 A/B 环反式连接时才会出现, 进一步验证了 H-5 的 α -构型。综上所述, 化合物 **1** 的结构鉴定为 14 β -羟基-3 β -[(β -D-葡萄糖吡喃糖基) 氧]-5 α -蟾酥甙-20, 22-二烯, 为 1 个新化合物, 属于蟾蜍二烯羟酸内酯类强心苷类化合物, 命名为铁筷子苷 A。

参考文献

- [1] 郭增军. 陕西七药 [M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 2003.
- [2] Yang F Y, Su Y F, Wang Y, *et al.* Bufadienolides and phytoecdystones from the rhizomes of *Helleborus thibetanus* (Ranunculaceae) [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2010, 38: 759-763.
- [3] Yang J, Zhang Y H, Miao F, *et al.* Two new bufadienolides from the rhizomes of *Helleborus thibetanus* Franch [J]. *Fitoterapia*, 2010, 81(6): 636-639.
- [4] Yang F Y, Su Y F, Zhang X, *et al.* New spirostanol sulfonate from the rhizomes of *Helleborus thibetanus* (Ranunculaceae) [J]. *Chem Res Chin Univ*, 2010, 26(5): 746-748.