

延龄草根及根茎的化学成分研究 (II)

张忠立, 左月明*, 蔡妙婷, 王彦彦

江西中医药大学药学院, 江西 南昌 330006

摘要: 目的 研究延龄草 *Trillium tschonoskii* 根及根茎中的化学成分。方法 采用硅胶、聚酰胺、反相硅胶 C₁₈ 和 Sephadex LH-20 柱色谱对延龄草 70%乙醇提取物进行分离纯化。用质谱、核磁等波谱学方法确定化合物结构。结果 从延龄草醋酸乙酯和正丁醇部位分离得到 12 个化合物, 分别鉴定为 β -蜕皮激素 (1)、pinnatasterone (2)、polypodine B (3)、3-甲氧基-4-羟基-苯丙酸甲酯 (4)、岷江百合苷 A (5)、4-羟基苯甲酸 (6)、香草醛 (7)、 β -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 4)-O-[α -L-吡喃鼠李糖基 (1 $\rightarrow$ 2)]-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 (8)、重楼皂苷 V (9)、重楼皂苷 III (10)、延龄草苷 A (11)、延龄草苷 C (12)。结论 化合物 1、2、6、7、9、10 首次从该属植物中分离得到, 化合物 3~5、11、12 首次从该种植物中分离得到。

关键词: 延龄草; 岷江百合苷 A; 重楼皂苷 V; 延龄草苷 A; β -蜕皮激素

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)20-2808-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.20.004

Studies on chemical constituents in roots and rhizomes of *Trillium tschonoskii* (II)

ZHANG Zhong-li, ZUO Yue-ming, CAI Miao-ting, WANG Yan-yan

College of Pharmaceutical Sciences, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents in the roots and rhizomes of *Trillium tschonoskii*. **Methods** The roots and rhizomes of *T. tschonoskii* were extracted with 70% ethanol and separated by chromatography on polyamide, silica gel, RP-C₁₈, and Sephadex LH-20 columns. Chemical structures were identified by MS, 1D and 2D NMR experiments. **Results** Twelve compounds were isolated and identified from the ethyl acetate extract from the roots and rhizomes of *T. tschonoskii* and *n*-butanol fractions were identified as β -ecdysone (1), pinnatasterone (2), polypodine B (3), methyl ferulate (4), regaloside A (5), 4-hydroxybenzoic acid (6), vanillic aldehyde (7), β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)]-O- β -D-glucopyranoside (8), paris saponin V (9), paris saponin III (10), trillenoside A (11), and trillenoside C (12). **Conclusion** Compounds 1, 2, 6, 7, 9, and 10 are isolated from the plants in this genus for the first time, and compounds 3—5, 11, and 12 are isolated from this plant for the first time.

Key words: *Trillium tschonoskii* Maxim.; regaloside A; paris saponin V; trillenoside A; β -ecdysone

延龄草为百合科延龄草属植物延龄草 *Trillium tschonoskii* Maxim. 的干燥根及根茎, 俗称地珠, 其味甘、性平、有小毒, 是传统的名贵中药, 有延年益寿的功效^[1-2]; 主治头晕目眩、外伤出血、神经衰弱、高血压病、脑震荡后遗症等疾病, 是恩施土家族著名民间药之一^[2-4]。延龄草属植物全世界大约有 50 种, 我国有 3 种, 主产于西藏、云南、四川、湖北、河南等省区^[2]。该属植物的次生代谢产物以皂苷为主, 包括甾体皂苷、黄酮苷、倍半萜苷、苯丙素苷等类型的化合物。前期的药理研究表明延龄草具有抗异质性及治疗多因性老年痴呆的作用。为了

进一步阐明其药效物质基础, 本实验对延龄草根及根茎进行了系统的化学成分研究, 从其 70%乙醇提取物中分离鉴定得到 12 个化合物, 分别为 β -蜕皮激素 (β -ecdysone, 1)、pinnatasterone (2)、polypodine B (3)、3-甲氧基-4-羟基-苯丙酸甲酯 (methyl ferulate, 4)、岷江百合苷 A (regaloside A, 5)、4-羟基苯甲酸 (4-hydroxybenzoic acid, 6)、香草醛 (vanillic aldehyde, 7)、 β -D-吡喃葡萄糖基 (1 $\rightarrow$ 4)-O-[α -L-吡喃鼠李糖基 (1 $\rightarrow$ 2)]-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 (β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)]-O- β -D-glucopyranoside, 8)、重楼皂

收稿日期: 2013-07-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81260631)

作者简介: 张忠立 (1979—), 男, 硕士, 主要从事天然药物的化学成分及其作用机制研究。Tel: 13767956379 E-mail: zzl51518@163.com

*通信作者 左月明 Tel: 13767956397 E-mail: zuo_yueming@163.com

苷 V (paris saponin V, 9)、重楼皂苷 III (paris saponin III, 10)、延龄草苷 A (trillenoside A, 11)、延龄草苷 C (trillenoside C, 12)。化合物 1、2、6、7、9、10 首次从该属植物中分离得到, 化合物 3~5、11、12 首次从该种植物中分离得到。

1 仪器与材料

Micromass ZabSpec 高分辨磁质谱仪 (美国 Waters 公司), Inova—400 和 Bruker—400 型超导核磁共振光谱仪 (瑞士 Bruker 公司)。Waters 2695 Alliance Separations Module 高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司); Empower Pro 工作站; 色谱柱为 Apollo C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)。ASI Solvent Delivery Module 制备液相色谱仪, 浙大智达 N2000 工作站; 色谱柱为 Lichrospher C₁₈ 柱 (250 mm×10 mm, 10 μm); 填料为 ODS-A (50 μm, 日本 YMC 公司); Sephadex LH-20 (美国 GE 公司), 薄层色谱硅胶 H 和硅胶 GF254 (青岛海洋化工厂产品); 所用试剂均为分析纯。

延龄草药材购自河北省安国市药材有限公司, 经江西中医药大学中药鉴定教研室左月明副教授鉴定为百合科延龄草属植物延龄草 *Trillium tschonoskii* Maxim., 标本 (JX20110612) 保存于江西中医药大学药学院标本室。

2 提取与分离

将干燥的延龄草根及根茎的粗粉 15.0 kg, 用 10 倍 70%乙醇回流提取 3 次, 每次 2.0 h, 合并提取液, 滤过, 提取液减压浓缩, 回收乙醇得浸膏 1.8 kg。取浸膏 900 g 加水混悬, 依次用石油醚、醋酸乙酯和正丁醇萃取, 各部分萃取液经减压浓缩, 得石油醚提取物 60.7 g、醋酸乙酯提取物 80.4 g、正丁醇提取物 345.5 g。醋酸乙酯和正丁醇提取物分别反复经硅胶柱色谱, 用氯仿-甲醇系统梯度洗脱, 并结合 ODS-A、Sephadex LH-20 和制备型 HPLC 柱色谱, 从醋酸乙酯部位分离得到化合物 1 (12 mg)、2 (10 mg)、3 (8 mg)、4 (6 mg), 从正丁醇部位分离得到化合物 5 (9 mg)、6 (15 mg)、7 (6 mg)、8 (3 mg)、9 (10 mg)、10 (12 mg)、11 (14 mg)、12 (15 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 白色针晶, 可溶于甲醇、乙醇。Liebermann-Burchard 反应阳性, Molish 反应阴性, 由此推测化合物 1 为甾体苷元。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 0.76 (3H, s, 18-CH₃), 0.81 (3H, s, 19-CH₃), 1.05 (3H, s, 27-CH₃), 1.06 (3H, s, 21-CH₃),

1.08 (3H, s, 26-CH₃), 2.19 (1H, dd, *J* = 4.0, 13.2 Hz, H-5), 2.25 (1H, t, *J* = 8.4 Hz, H-17), 3.00 (1H, brt, *J* = 8.4 Hz, H-9), 3.11 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-22), 3.60 (1H, brs, H-2), 3.76 (1H, brs, H-3), 5.62 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-7); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 36.6 (C-1), 66.7 (C-2), 66.5 (C-3), 31.5 (C-4), 50.1 (C-5), 202.6 (C-6), 120.4 (C-7), 165.2 (C-8), 33.1 (C-9), 37.6 (C-10), 20.0 (C-11), 30.3 (C-12), 46.8 (C-13), 82.9 (C-14), 30.3 (C-15), 20.2 (C-16), 48.7 (C-17), 17.1 (C-18), 23.8 (C-19), 75.7 (C-20), 21.0 (C-21), 76.1 (C-22), 26.1 (C-23), 41.4 (C-24), 68.7 (C-25), 29.0 (C-26), 30.0 (C-27)。以上数据与文献报道基本一致^[5], 故鉴定化合物 1 为 β-蜕皮激素。

化合物 2: 白色针晶, 可溶于甲醇、乙醇。Liebermann-Burchard 反应阳性, Molish 反应阴性, 由此推测化合物 2 为甾体苷元。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 0.77 (3H, s, 18-CH₃), 0.79 (3H, s, 19-CH₃), 1.05 (3H, s, 27-CH₃), 1.06 (3H, s, 21-CH₃), 1.07 (3H, s, 26-CH₃), 2.01 (1H, t, *J* = 8.4 Hz, H-17), 2.24 (1H, dd, *J* = 4.8, 12.8 Hz, H-5), 3.03 (1H, m, H-24), 3.08 (1H, brt, *J* = 8.4 Hz, H-9), 3.61 (1H, brs, H-2), 3.83 (1H, brs, H-3), 5.67 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-7); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 36.9 (C-1), 68.7 (C-2), 68.3 (C-3), 33.3 (C-4), 48.5 (C-5), 199.7 (C-6), 119.3 (C-7), 164.9 (C-8), 34.8 (C-9), 38.0 (C-10), 20.2 (C-11), 30.9 (C-12), 43.7 (C-13), 82.8 (C-14), 30.2 (C-15), 20.9 (C-16), 46.8 (C-17), 16.4 (C-18), 23.2 (C-19), 76.2 (C-20), 22.4 (C-21), 41.4 (C-22), 26.1 (C-23), 78.4 (C-24), 75.6 (C-25), 29.0 (C-26), 30.0 (C-27)。以上数据与文献报道基本一致^[6], 故鉴定化合物 2 为 pinnatasterone。

化合物 3: 白色针晶 (甲醇)。Liebermann-Burchard 反应阳性, Molish 反应阴性, 由此可知化合物 3 为甾体苷元。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 0.76 (3H, s, 18-CH₃), 0.81 (3H, s, 19-CH₃), 0.84 (6H, s, 21, 27-CH₃), 1.04 (3H, s, 26-CH₃), 2.02 (1H, t, *J* = 7.6 Hz, H-17), 2.98 (1H, brt, *J* = 8.0 Hz, H-9), 3.01 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, H-22), 4.23 (1H, brt, *J* = 5.2, 6.0 Hz, H-2), 4.42 (1H, d, *J* = 5.2 Hz, H-3), 5.62 (1H, s, H-7)。以上数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物 3 为 polypodine B。

化合物 4: 白色结晶 (甲醇)。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.53 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-7), 7.26

(1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 7.08 (1H, dd, $J = 2.0, 8.0$ Hz, H-6), 6.72 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.40 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8), 3.79 (3H, s, 3-OCH₃), 3.69 (3H, s, 9-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物 **4** 为 3-甲氧基-4-羟基-苯丙酸甲酯。

化合物 **5**: 白色结晶(甲醇)。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.59 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7), 7.28 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 7.15 (1H, dd, $J = 2.0, 8.0$ Hz, H-6), 6.79 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.41 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8), 5.35 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1'), 5.23 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-1''), 3.82 (3H, s, 3-OCH₃), 2.04 (3H, s, 6''-COOCH₃)。以上数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物 **5** 为岷江百合苷 A。

化合物 **6**: 白色结晶(甲醇)。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.86 (1H, brs, COOH), 8.08 (2H, d, $J = 6.4$ Hz, H-2, 6), 7.24 (2H, brs, H-3, 5)。以上数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 **6** 为 4-羟基苯甲酸。

化合物 **7**: 白色结晶(甲醇)。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 9.85 (1H, brs, CHO), 8.00 (1H, d, $J = 2.8$ Hz, H-2), 7.24 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 7.13 (1H, dd, $J = 2.8, 8.4$ Hz, H-6), 4.43 (3H, s, 3-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 **7** 为香草醛。

化合物 **8**: 白色结晶, 可溶于甲醇。Molish 反应阳性, 水解反应鉴定含葡萄糖和鼠李糖。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1.41 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, 5'-CH₃), 5.09 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-1'), 4.46 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1'')。综合分析, 结合文献报道^[10]鉴定化合物 **8** 为 β -D-吡喃葡萄糖基 (1 $\rightarrow$ 4)-O-[α -L-吡喃鼠李糖基 (1 $\rightarrow$ 2)]-O- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **9**: 无色针状结晶(甲醇), 分子式为 C₃₉H₆₂O₁₂。Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应均呈阳性。ESI-MS m/z : 723 [M+H]⁺。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 0.73 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, 27-CH₃), 0.73 (3H, s, 18-CH₃), 0.90 (3H, d, $J = 7.6$ Hz, 21-CH₃), 0.96 (3H, s, 19-CH₃), 1.08 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, Rha-6''-CH₃); 5.33 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-6), 4.95 (1H, d, $J = 5.6$ Hz, Glc-H-1'), 5.11 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, Rha-H-1''); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 36.4 (C-1), 29.8 (C-2), 76.0 (C-3), 36.8 (C-4), 140.3 (C-5), 121.2 (C-6), 31.5 (C-7), 29.8 (C-8), 49.6 (C-9), 36.3 (C-10), 20.3 (C-11), 37.6 (C-12), 39.5 (C-13), 55.7 (C-14), 31.0 (C-15), 80.2 (C-16), 65.9 (C-17), 16.0 (C-18), 18.9 (C-19), 41.1 (C-20), 14.6 (C-21),

108.4 (C-22), 29.0 (C-23), 28.4 (C-24), 31.0 (C-25), 67.9 (C-26), 17.0 (C-27), 98.1 (C-1'), 77.7 (C-2'), 76.5 (C-3'), 70.2 (C-4'), 76.3 (C-5'), 61.8 (C-6'), 100.0 (C-1''), 70.5 (C-2''), 70.6 (C-3''), 71.9 (C-4''), 65.8 (C-5''), 17.7 (C-6'')。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **9** 为重楼皂苷 V。

化合物 **10**: 无色针状结晶(甲醇), 分子式为 C₄₅H₇₂O₁₆。Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应均呈阳性。ESI-MS m/z : 869 [M+H]⁺。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 0.85 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, 27-CH₃), 0.86 (3H, s, 18-CH₃), 0.98 (3H, d, $J = 8.0$ Hz, 21-CH₃), 1.05 (3H, s, 19-CH₃), 1.08 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, Rha-6''-CH₃), 1.10 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, Rha-6'''-CH₃); 5.33 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-6), 5.02 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, Rha-H-1''), 4.93 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, Rha-H-1'''), 4.92 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, Glc-H-1')。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **10** 为重楼皂苷 III。

化合物 **11**: 无色针状结晶(甲醇), 分子式为 C₄₇H₇₀O₂₄。Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应均呈阳性。FAB-MS m/z : 1 017 [M-H]⁻。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 0.82 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, 27-CH₃), 0.97 (3H, s, 19-CH₃), 1.10 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, Rha-6''-CH₃), 5.51 (1H, d, $J = 5.6$ Hz, H-6), 5.19 (1H, s, Rha-H-1''), 5.09 (1H, d, $J = 5.6$ Hz, Api-H-1'''), 4.99 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, Xyl-H-1'''), 4.93 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, Ara-H-1') ; ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 82.5 (C-1), 35.7 (C-2), 66.9 (C-3), 46.8 (C-4), 138.6 (C-5), 123.9 (C-6), 28.6 (C-7), 31.1 (C-8), 47.9 (C-9), 41.9 (C-10), 24.5 (C-11), 27.2 (C-12), 176.2 (C-13), 137.3 (C-14), 203.5 (C-15), 80.0 (C-16), 48.4 (C-17), 13.0 (C-19), 41.4 (C-20), 60.3 (C-21), 112.8 (C-22), 73.1 (C-23), 75.8 (C-24), 37.7 (C-25), 63.5 (C-26), 12.9 (C-27), 98.9 (C-1'), 72.2 (C-2'), 83.5 (C-3'), 69.4 (C-4'), 68.0 (C-5'), 99.8 (C-1''), 71.5 (C-2''), 78.7 (C-3''), 69.3 (C-4''), 70.0 (C-5''), 18.2 (C-6''), 105.0 (C-1'''), 73.3 (C-2'''), 78.4 (C-3'''), 70.8 (C-4'''), 68.2 (C-5'''), 110.2 (C-1'''), 76.6 (C-2'''), 78.7 (C-3'''), 73.7 (C-4'''), 63.8 (C-5''')。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **11** 为延龄草苷 A。

化合物 **12**: 无色针状结晶(甲醇), 分子式为 C₃₇H₅₄O₁₆。Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反

应均呈阳性。FAB-MS m/z : 755 $[M+H]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 0.78 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, 27- CH_3), 1.07 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, Rha-6''- CH_3), 1.15 (3H, s, 19- CH_3), 5.66 (1H, s, H-6), 5.16 (1H, d, $J = 5.6$ Hz, Rha-H-1''), 5.01 (1H, d, $J = 5.6$ Hz, Ara-H-1'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 87.7 (C-1), 35.8 (C-2), 67.9 (C-3), 44.7 (C-4), 131.6 (C-5), 125.3 (C-6), 29.7 (C-7), 31.4 (C-8), 44.9 (C-9), 43.5 (C-10), 23.2 (C-11), 28.0 (C-12), 165.7 (C-13), 128.6 (C-14), 201.1 (C-15), 77.7 (C-16), 45.2 (C-17), 13.9 (C-19), 38.0 (C-20), 60.9 (C-21), 108.7 (C-22), 75.1 (C-23), 76.0 (C-24), 37.3 (C-25), 65.8 (C-26), 10.8 (C-27), 98.3 (C-1'), 71.9 (C-2'), 88.2 (C-3'), 70.2 (C-4'), 67.9 (C-5'), 99.9 (C-1''), 71.9 (C-2''), 76.6 (C-3''), 75.9 (C-4''), 70.5 (C-5''), 16.7 (C-6'')。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **12** 为延龄草苷 C。

参考文献

- [1] 中国科学院武汉植物所. 湖北植物志 (第四册) [M]. 武汉: 湖北科技出版社, 2003.
- [2] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编 (上册) [M]. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 1998.
- [3] 方志先, 朱诗立. 恩施州民族医药研究丛书•恩施本草精选 [M]. 北京: 国际文化出版公司, 2002.
- [4] 赵敬华. 恩施州民族医药研究丛书•恩施州名中医医案集 [M]. 北京: 国际文化出版公司, 2002.
- [5] 赵志勇, 高文远, 黄贤校, 等. 长药隔重楼化学成分研究 [J]. 中草药, 2011, 42(10): 1917-1920.
- [6] 张志港, 赵 德, 邓 君. 巴山重楼化学成分研究 [J]. 中药材, 2011, 34(3): 389-392.
- [7] Ono M, Takamura C, Sugita F, *et al.* Two new steroid glycosides and a new sesquiterpenoid glycoside from the underground parts of *Trillium kamschaticum* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2007, 55(4): 551-556.
- [8] 宋 萍, 李小娟, 贾岩岩, 等. 鬼箭锦鸡儿化学成分的研究 [J]. 中成药, 2011, 33(11): 1934-1936.
- [9] 曹百一, 刘润祥, 王 晶, 等. 栀子根化学成分的分离与鉴定 [J]. 沈阳药科大学学报, 2011, 28(10): 784-787.
- [10] 张忠立, 左月明, 熊诗华, 等. 延龄草根及根茎的化学成分研究 [J]. 中草药, 2011, 42(9): 1689-1690.
- [11] 黄贤校. 毛重楼、北重楼和五指莲的化学成分及其抗肿瘤活性研究 [D]. 天津: 天津大学, 2010.
- [12] Masateru O, Yoshihiro Y, Tsuyoshi I, *et al.* Steroids from the underground parts of *Trillium kamschaticum* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2003, 51(11): 1328-1331.