

黑水缬草神经保护活性成分研究

王长福, 王秋红, 肖 阳, 武立华, 万莹莹, 杨炳友, 王知斌, 匡海学*

黑龙江中医药大学 北药基础与应用研究教育部重点实验室, 黑龙江省中药天然药物药效物质基础研究重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘要: **目的** 对黑水缬草 *Valeriana amurensis* 抗阿尔茨海默症 (AD) 有效部位中具有神经保护活性的成分进行筛选, 以阐明黑水缬草发挥神经保护作用的药效物质基础。 **方法** 采用各种色谱方法对黑水缬草抗 AD 有效部位进行化学成分分离, 并根据理化分析及波谱数据进行结构鉴定; 利用 MTT 法筛选具有 PC12 神经保护作用的单体化合物。 **结果** 从黑水缬草抗 AD 有效部位中共分离鉴定了 11 个化合物, 包括 5 个双环氧木脂素类化合物: (+)-桉皮树脂醇-4,4'-二-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 (1)、(+)-紫丁香-4,4'-二-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 (2)、青刺尖木脂醇苷 (3)、(+)-8,8'-二羟基-松脂素-4,4'-二-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 (4)、青刺尖木脂醇 (5) 和 6 个环烯醚萜类化合物: jatamanin A (6)、7-羟基-8-(羟甲基)-4-亚甲基六氢环戊烯[并]吡喃-1(3*H*)-酮 (7)、4-羟甲基-环戊烯[并]吡喃-7-甲醛 (8)、patriscabroside III (9)、jatamanin E (10) 及败酱苷 (11)。对其进行体外活性研究发现 25、12.5 和 5 $\mu\text{mol/L}$ 的双环氧木脂素类化合物均能明显减轻 $\text{A}\beta_{1-42}$ 所致 PC12 细胞损伤。 **结论** 环烯醚萜类化合物 6~10 为该植物中首次分离得到, 双环氧木脂素类化合物为黑水缬草抗 AD 有效部位发挥神经保护作用的部分药效物质基础。

关键词: 黑水缬草; 青刺尖木脂醇苷; jatamanin A; patriscabroside III; jatamanin E; 神经保护; 阿尔茨海默症

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2016)11-1850-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.11.007

Study on neuroprotective active constituents from root and rhizome of *Valeriana amurensis*

WANG Chang-fu, WANG Qiu-hong, XIAO Yang, WU Li-hua, WAN Ying-ying, YANG Bing-you, WANG Zhi-bin, KUANG Hai-xue

Key Laboratory of North-drug Basic and Application Research (Ministry of Education), Heilongjiang Key Laboratory of TCMs and Natural Drugs Therapeutic Basis Research, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

Abstract: Objective To screen the active constituents from the anti-AD active fraction from the roots and rhizomes of *Valeriana amurensis* and to elucidate the therapeutic basis for the neuroprotective effect of the roots and rhizomes in *V. amurensis*. **Methods** The active fraction of the roots and rhizomes in *V. amurensis* was separated with various chromatographic processes and the structures of the obtained compounds were identified by physicochemical analysis and various spectra data. The neuroprotective compounds on PC12 cells were screened by MTT assay. **Results** Eleven compounds were isolated from the roots and rhizomes of *V. amurensis*, including five bisepoxy lignans of (+)-medioresinol-4,4'-di-*O*- β -D-glucopyranoside (1), (+)-syringaresinol-4,4'-di-*O*- β -D-glucopyranoside (2), prinsepiol-4-*O*- β -D-glucopyranoside (3), (+)-8,8'-dihydroxy-pinoresinol-4,4'-di-*O*- β -D-glucopyranoside (4), prinsepiol (5), and 6 iridoids of jatamanin A (6), 7-hydroxy-8-(hydroxymethyl)-4-methylenehexahydrocyclopenta [c] pyran-1(3*H*)-one (7), 4-hydroxymethyl-cyclopenta [c] pyran-7-carboxaldehyde (8), patriscabroside III (9), jatamanin E (10), and patrinoside (11). The $\text{A}\beta_{1-42}$ -induced PC12 cells injuries were alleviated by all the bisepoxy lignans with the concentration of 25, 12.5, and 5 $\mu\text{mol/L}$. **Conclusion** Iridoids 6—10 are isolated from the roots and rhizomes of *V. amurensis* for the first time. Bisepoxy lignans are the therapeutic basis of neuroprotective effect in the roots and rhizomes of *V. amurensis*.

Key words: *Valeriana amurensis* Smir. ex Kom.; prinsepiol-4-*O*- β -D-glucopyranoside; jatamanin A; patriscabroside III; jatamanin E; neuroprotective effect; Alzheimer's disease

收稿日期: 2015-12-07

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目 (H2015040); 国际科技合作项目 (2010DFA32440)

作者简介: 王长福 (1983—), 男, 山东人, 博士, 副研究员, 研究方向为中药复方及其药效物质基础研究。

Tel: (0451)87266856 E-mail: wangchangfu831124@163.com

*通信作者 匡海学 Tel: (0451)82193001 E-mail: haixuekuang@163.com

黑水缬草 *Valeriana amurensis* Smir. ex Kom. 为败酱科 (Valerianaceae) 缬草属 *Valeriana* L. 多年生草本植物, 黑水缬草药材 (干燥根及根茎) 味辛、甘, 性温, 具有安神、理气和止痛的功效, 归心、肝经; 可用于失眠、癔症及癫痫等神经系统疾病的治疗。几个世纪以来, 缬草及其他一些缬草属植物在欧美一直用于治疗失眠^[1-3], 现代研究表明, 缬草属植物具有抗焦虑、抗抑郁、解痉、镇静、抗肿瘤及抗艾滋病毒等方面的药理作用^[4-8]。黑水缬草主要分布在我国东北部, 尤其在大兴安岭地区资源丰富。本课题组前期研究首次发现黑水缬草具有显著的抗阿尔茨海默症 (AD) 作用, 并进一步确定了抗 AD 的有效部位为黑水缬草提取物的大孔吸附树脂柱色谱 50%乙醇洗脱组分, 该有效部位在体外实验中对 PC12 细胞损伤模型亦具有很好的保护作用^[9], 基于此, 本实验继续对黑水缬草抗 AD 的有效部位进行了系统的活性成分研究, 以进一步明确黑水缬草发挥神经保护作用的药效物质基础。分离得到的 11 个化合物分别鉴定为 (+)-桉皮树脂醇-4,4'-二-*O*- β -D-双吡喃葡萄糖苷 [(+)-medioresinol-4,4'-di-*O*- β -D-glucopyranoside, **1**]、(+)-紫丁香-4,4'-二-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 [(+)-syringaresinol-4,4'-di-*O*- β -D-glucopyranoside, **2**]、青刺尖木脂醇苷 (prinsepiol-4-*O*- β -D-glucopyranoside, **3**)、(+)-8,8'-二羟基-松脂素-4,4'-二-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 [(+)-8,8'-dihydroxy-pinioresinol-4,4'-di-*O*- β -D-glucopyranoside, **4**]、青刺尖木脂醇 (prinsepiol, **5**)、jatamanin A (**6**)、7-羟基-8-(羟甲基)-4-亚甲基六氢环戊烯[并]吡喃-1(3*H*)-酮 (7-hydroxy-8-(hydroxymethyl)-4-methylenehexahydrocyclopenta [c] pyran-1(3*H*)-one, **7**)、4-羟甲基-环戊烯[并]吡喃-7-甲醛 (4-hydroxymethylcyclopenta [c] pyran-7-carboxaldehyde, **8**)、patriscabroside III (**9**)、jatamanin E (**10**) 及败酱苷 (patrinoside, **11**)。其中环烯醚萜类化合物 **6**~**10** 为该植物中首次分离得到, 双环氧木脂素类化合物均能明显减轻 A β ₁₋₄₂ 所致的 PC12 细胞损伤, 为黑水缬草抗 AD 有效部位中发挥神经保护作用的药效物质基础。

1 仪器与材料

Bruker-400 超导核磁共振光谱仪 (Bruker 公司); Waters Xero Q-TOF 型 ESI-MS (Waters 公司); 2535-2998-2414 制备型 HPLC (Waters 公司); 硅胶 (青岛海洋化工厂, 200~300 目); ODS-AM (YMC 公司); AB-8 大孔吸附树脂 (南开大学化工厂)。CO₂ 细胞培养箱 (TC 2323, 美国 SHELDON); 酶

标仪 (VICTORTM×3, PerkinElmer, Inc., 美国); DMEM 完全培养液 (NRH0020, 海克隆生物化学制品有限公司); 胎牛血清 (海克隆生物化学制品有限公司); 胰蛋白酶 (LOT1379361); DMEM 冻存液 (Exporation 06/2008 0231 XIASI BIO); 双抗 (青-链霉素溶液, 北京赛驰生物科技有限公司); A β ₁₋₄₂ (北京博奥森生物技术有限公司); 维生素 E (VE, H20073294, 国药控股星鲨制药有限公司)。

实验原药材于 2010 年 8 月采于黑龙江省大兴安岭地区呼玛县, 经黑龙江中医药大学药学院中药鉴定教研室苏连杰教授鉴定为败酱科缬草属植物黑水缬草 *Valeriana amurensis* Smir. ex Kom.。PC12 细胞株购于中国科学院上海细胞所。

2 方法

2.1 黑水缬草抗 AD 有效部位的制备

将干燥黑水缬草根及根茎 45 kg, 以 75%乙醇回流提取, 得到总提取物 8 211.96 g, 将该提取物以水混悬, 以石油醚萃取, 将水层减压回收溶剂, 得到水层萃取物 6 144.60 g, 取其中 2.30 kg 经 AB-8 型大孔吸附树脂柱色谱, 以水及 50%、95%乙醇依次洗脱, 减压回收各个洗脱组分, 得到 50%乙醇洗脱组分 521.13 g, 该组分即为黑水缬草抗 AD 有效部位。

2.2 化合物的分离

取黑水缬草抗 AD 有效部位 80.0 g, 经二氯甲烷-甲醇 (15:1、8:1、4:1、2:1) 梯度洗脱, 共得 7 个组分 (Fr. 1~7), Fr. 1 (15.84 g) 经正相硅胶柱色谱分离, 二氯甲烷-甲醇 (40:1) 反复洗脱得到化合物 **7** (51 mg) 和 **8** (46 mg), Fr. 3 (10.45 g) 经反相 ODS 柱色谱分离, 甲醇-水 (25%) 洗脱, 并经制备型反相 HPLC 乙腈-水 (15%) 洗脱分离得到化合物 **5** (33 mg)、**6** (28 mg)、**10** (32 mg) 和 **11** (43 mg), Fr. 5 (28.58 g) 经反相 ODS 柱色谱, 甲醇-水 (15%) 洗脱, 并经制备型反相 HPLC, 乙腈-水 (7%) 洗脱分离得到化合物 **1** (35 mg)、**2** (37 mg)、**3** (52 mg)、**4** (39 mg) 和 **9** (40 mg)。

2.3 单体化合物神经细胞保护活性筛选

采用 MTT 法对化合物 **1**~**11** 的神经保护活性进行筛选^[10], 在 DMEM 培养基中加入 10%的胎牛血清, 并加入 1%双抗 (100 U/mL 链霉素, 100 U/mL 青霉素), 使用该培养液将 PC12 细胞放在 37 ℃、5% CO₂、饱和湿度培养箱中培养, 经胰酶消化传代后, 选取对数生长期细胞用于实验。实验共分 14

组, 每组 8 孔。空白对照组、模型组每孔加入无血清 DMEM 低糖培养基 120 μL ; 各给药组每孔加入无血清 DMEM 低糖培养基配制的各浓度 (25、12.5 和 5 $\mu\text{mol/L}$) 的单体化合物及各浓度 (50、25 和 12.5 $\mu\text{mol/L}$) 的维生素 E (VE) 120 μL ; 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 4 h 后除空白对照组加 10 μL 的无血清 DMEM 低糖培养基外, 其他各组均加入 10 μL $\text{A}\beta_{1-42}$ 并使其终浓度为 1.5 $\mu\text{mol/L}$; 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h 后, 每孔加入 5 mg/mL MTT 20 μL , 继续培养 4 h 后吸去 DMEM 培养基, 每孔加入 DMSO 150 μL , 振荡混匀 10 min, 待孔内颗粒完全溶解后, 在酶标仪 492 nm 处测定吸光度 (A) 值。上述实验重复 3 次, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组细胞活力 = 各组细胞 A 值 / 空白对照组细胞 A 值。

3 结果与分析

3.1 结构鉴定

化合物 **1**: 白色无定形粉末, 可溶于甲醇、水, 难溶于二氯甲烷; Molish 反应呈阳性; ESI-MS m/z : 735 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 6.95 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 7.05 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 6.86 (1H, dd, $J = 2.0, 8.4$ Hz, H-6), 5.16 (1H, d, $J = 4.2$ Hz, H-7), 3.25 (1H, m, H-8), 3.82 (1H, dd, $J = 2.8, 8.1$ Hz, H-9a), 4.17 (1H, m, H-9b), 6.66 (2H, s, H-2', 6'), 5.03 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-7'), 3.25 (1H, m, H-8'), 3.82 (1H, dd, $J = 2.8, 8.1$ Hz, H-9'a), 4.17 (1H, m, H-9'b), 3.76 (3H, s, 3-OCH₃), 3.77 (6H, s, 3', 5'-OCH₃), 4.88 (2H, d, $J = 6.0$ Hz, glu-H-1'', 1'''); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 135.2 (C-1), 110.6 (C-2), 145.9 (C-3), 149.0 (C-4), 115.3 (C-5), 118.2 (C-6), 84.9 (C-7), 53.7 (C-8), 71.3 (C-9), 133.8 (C-1'), 104.2 (C-2', 6'), 152.7 (C-3', 5'), 137.2 (C-4'), 85.1 (C-7'), 53.6 (C-8'), 71.2 (C-9'), 55.7 (3-OCH₃), 55.7 (3', 5'-OCH₃); $\delta_{\text{glu-C}}$ (1''-6''): 100.2, 73.2, 76.5, 69.7, 77.0, 60.7; $\delta_{\text{glu-C}}$ (1'''-6'''): 102.7, 74.2, 76.9, 70.0, 77.2, 60.9。以上数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 **1** 为 (+)-桉皮树脂醇-4,4'-二- O - β -D-双吡喃葡萄糖苷。

化合物 **2**: 白色无定形粉末, 可溶于甲醇、水, 难溶于二氯甲烷; Molish 反应呈阳性; ESI-MS m/z : 765 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 6.66 (4H, s, H-2, 6, 2', 6'), 4.67 (2H, d, $J = 3.0$ Hz, H-7, 7'), 3.03 (2H, m, H-8, 8'), 3.82 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-9a, 9'a), 4.20 (2H, m, H-9b, 9'b), 3.75 (12H, s, 3, 3', 5, 5'-OCH₃), 4.89 (2H, d, $J = 6.1$ Hz, glu-H-1'', 1'''); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 133.9 (C-1,

1'), 104.4 (C-2, 2'), 152.8 (C-3, 3'), 137.3 (C-4, 4'), 152.8 (C-5, 5'), 104.4 (C-6, 6'), 85.3 (C-7, 7'), 53.8 (C-8, 8'), 71.6 (C-9, 9'), 56.6 (3, 3', 5, 5'-OCH₃); $\delta_{\text{glu-C}}$ (1''-6''): 102.9, 74.4, 77.4, 70.1, 76.7, 61.1。以上数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 **2** 为 (+)-紫丁香-4,4'-二- O - β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **3**: 白色无定形粉末, 可溶于甲醇、水, 难溶于二氯甲烷; Molish 反应呈阳性; ESI-MS m/z : 575 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.01 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 7.02 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.92 (1H, dd, $J = 2.0, 8.0$ Hz, H-6), 4.86 (1H, s, H-7), 3.87 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-9a), 3.96 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-9b), 6.98 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.70 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.72 (1H, dd, $J = 2.0, 8.0$ Hz, H-6'), 4.83 (1H, s, H-7'), 3.87 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-9'a), 3.96 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-9'b), 3.70 (6H, s, 3, 3'-OCH₃), 4.81 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, glu-H-1''); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 133.0 (C-1), 113.5 (C-2), 150.2 (C-3), 147.5 (C-4), 117.2 (C-5), 121.5 (C-6), 88.7 (C-7), 89.3 (C-8), 76.8 (C-9), 129.6 (C-1'), 112.9 (C-2'), 148.7 (C-3'), 147.4 (C-4'), 115.9 (C-5'), 121.7 (C-6'), 89.0 (C-7'), 89.4 (C-8'), 76.8 (C-9'), 56.9 (3-OCH₃), 56.7 (3'-OCH₃); $\delta_{\text{glu-C}}$ (1''-6''): 102.6, 74.9, 77.7, 71.3, 78.0, 62.6。以上数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 **3** 为青刺尖木脂醇苷。

化合物 **4**: 白色无定形粉末, 可溶于甲醇、水, 难溶于二氯甲烷; Molish 反应呈阳性; ESI-MS m/z : 737 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.01 (2H, d, $J = 1.7$ Hz, H-2, 2'), 7.03 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5, 5'), 6.86 (2H, dd, $J = 1.7, 8.5$ Hz, H-6, 6'), 4.93 (2H, s, H-7, 7'), 4.04 (2H, d, $J = 9.2$ Hz, H-9a, 9'a), 3.84 (2H, d, $J = 9.2$ Hz, H-9b, 9'b), 3.76 (6H, s, 3, 3'-OCH₃), 4.87 (2H, d, $J = 7.4$ Hz, glu-H-1'', 1'''); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 131.5 (C-1, 1'), 112.5 (C-2, 2'), 148.4 (C-3, 3'), 146.0 (C-4, 4'), 114.7 (C-5, 5'), 119.8 (C-6, 6'), 87.7 (C-7, 7'), 86.8 (C-8, 8'), 73.3 (C-9, 9'), 55.8 (3, 3'-OCH₃); $\delta_{\text{glu-C}}$ (1''-6''): 100.3, 74.6, 77.0, 69.7, 76.9, 60.7。以上数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 **4** 为 (+)-8,8'-二羟基-松脂素-4,4'-二- O - β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **5**: 无色簇状结晶 (甲醇), 易溶于甲醇; ESI-MS m/z : 409 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.06 (2H, brs, H-2, 2'), 6.81 (2H, d, $J =$

8.0 Hz, H-5, 5'), 6.87 (2H, brd, $J = 8.0$ Hz, H-6, 6'), 4.98 (2H, s, H-7, 7'), 4.00 (2H, d, $J = 9.4$ Hz, H-9a, 9'a), 4.12 (2H, d, $J = 9.4$ Hz, H-9b, 9'b), 3.88 (6H, s, 3, 3'-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 129.8 (C-1, 1'), 113.1 (C-2, 2'), 148.9 (C-3, 3'), 147.7 (C-4, 4'), 115.9 (C-5, 5'), 121.8 (C-6, 6'), 89.2 (C-7, 7'), 89.3 (C-8, 8'), 77.0 (C-9, 9'), 56.7 (3, 3'-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 **5** 为青刺尖木脂醇。

化合物 **6**: 无色针晶 (甲醇), 易溶于甲醇; ESI-MS m/z : 199 [M+H]⁺。 ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 4.32 (1H, d, $J = 11.5$ Hz, H-3a), 4.97 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-3b), 3.22 (1H, m, H-5), 1.88 (1H, t, $J = 10.9$ Hz, H-6a), 2.07 (1H, t, $J = 11.5$ Hz, H-6b), 3.66 (1H, brs, H-7), 2.89 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-9), 1.37 (3H, s, H-10), 4.95 (1H, s, H-11a), 5.00 (1H, s, H-11b); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 175.1 (C-1), 71.2 (C-3), 144.2 (C-4), 41.1 (C-5), 40.8 (C-6), 81.5 (C-7), 86.3 (C-8), 53.7 (C-9), 22.2 (C-10), 113.9 (C-11)。以上数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 **6** 为 jatamanin A。

化合物 **7**: 无色针晶 (甲醇), 易溶于甲醇; ESI-MS m/z : 199 [M+H]⁺。 ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 4.29 (1H, brs, H-3), 3.37 (1H, m, H-5), 1.56 (1H, m, H-6a), 2.05 (1H, dd, $J = 13.2, 7.4$ Hz, H-6b), 4.62 (2H, m, H-7), 2.31 (1H, m, H-8), 2.91 (1H, t, $J = 10.0$ Hz, H-9), 3.77 (1H, dd, $J = 4.8, 10.8$ Hz, H-10a), 3.70 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, H-10b), 4.96 (1H, s, H-11a), 5.09 (1H, s, H-11b); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 177.5 (C-1), 73.7 (C-3), 144.3 (C-4), 41.1 (C-5), 41.5 (C-6), 72.6 (C-7), 52.2 (C-8), 45.1 (C-9), 62.1 (C-10), 113.9 (C-11)。以上数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 **7** 为 7-羟基-8-(羟甲基)-4-亚甲基六氢环戊烯[并]吡喃-1(3H)-酮。

化合物 **8**: 黄色针状结晶 (甲醇), 易溶于甲醇; ESI-MS m/z : 177 [M+H]⁺。 ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 9.20 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1), 8.09 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-3), 6.70 (1H, d, $J = 4.6$ Hz, H-6), 7.97 (1H, d, $J = 4.4$ Hz, H-7), 9.82 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-10), 4.85 (2H, s, H-11); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 151.9 (C-1), 142.9 (C-3), 125.8 (C-4), 136.5 (C-5), 110.4 (C-6), 148.0 (C-7), 125.3 (C-8), 124.2 (C-9), 186.4 (C-10), 59.5 (C-11)。以上数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 **8** 为 4-羟甲基-环戊烯

[并]吡喃-7-甲醛。

化合物 **9**: 白色无定形粉末, 可溶于甲醇、水, 难溶于二氯甲烷; ESI-MS m/z : 495 [M+H]⁺。 ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 4.31 (1H, dd, $J = 11.4, 6.7$ Hz, H-1a), 4.22 (1H, dd, $J = 11.4, 6.7$ Hz, H-1b), 2.46 (1H, m, H-4), 2.03 (1H, m, H-5), 1.86 (1H, m, H-6a), 2.05 (1H, m, H-6b), 3.91 (1H, t, $J = 4.7$ Hz, H-7), 2.31 (1H, m, H-9), 1.25 (3H, s, H-10), 1.04 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-11), 4.29 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, glu-H-1'), 4.92 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, api-H-1''); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 67.6 (C-1), 179.5 (C-3), 40.1 (C-4), 40.6 (C-5), 37.6 (C-6), 89.0 (C-7), 81.7 (C-8), 46.4 (C-9), 22.9 (C-10), 14.4 (C-11); $\delta_{\text{glu-C}}$: 105.1, 75.5, 78.2, 71.7, 77.0, 68.6; $\delta_{\text{api-C}}$: 110.0, 78.2, 80.7, 75.2, 65.9。以上数据与文献报道一致^[18], 故鉴定化合物 **9** 为 patriscabroside III。

化合物 **10**: 无色簇状结晶 (甲醇), 易溶于甲醇; ESI-MS m/z : 215 [M+H]⁺。 ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 5.63 (1H, brs, H-3), 1.99 (1H, m, H-4), 2.24 (1H, m, H-5), 2.36 (1H, dd, $J = 7.2, 13.7$ Hz, H-6a), 1.80 (1H, m, H-6b), 4.00 (1H, m, H-7), 2.75 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-9), 1.29 (3H, s, H-10), 3.38 (2H, brs, H-11); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 173.9 (C-1), 98.7 (C-3), 49.9 (C-4), 35.7 (C-5), 43.4 (C-6), 78.8 (C-7), 87.7 (C-8), 51.5 (C-9), 20.4 (C-10), 62.6 (C-11)。以上数据与文献报道一致^[19], 故鉴定化合物 **10** 为 jatamanin E。

化合物 **11**: 白色无定形粉末, 可溶于甲醇, 难溶于二氯甲烷; Molish 反应阳性; ESI-MS m/z : 485 [M+Na]⁺。 ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 5.90 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, H-1), 6.36 (1H, s, H-3), 3.01 (1H, m, H-5), 1.83 (1H, ddd, $J = 4.8, 8.4, 13.0$ Hz, H-6a), 2.04 (1H, m, H-6b), 4.31 (1H, m, H-7), 2.15 (1H, ddd, $J = 4.8, 8.4, 12.8$ Hz, H-8), 3.18 (1H, m, H-9), 3.83 (1H, m, H-10a), 3.75 (1H, m, H-10b), 4.27 (1H, d, $J = 12.6$ Hz, H-11a), 4.08 (1H, d, $J = 12.6$ Hz, H-11b); $\delta_{\text{isovaleryl-H}}$: 2.06 (2H, m, H-2'), 1.94 (1H, m, H-3'), 0.96 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-4'), 0.96 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-5'); 4.28 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, glu-H-1''); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 93.6 (C-1), 140.1 (C-3), 116.4 (C-4), 34.1 (C-5), 40.9 (C-6), 73.3 (C-7), 49.0 (C-8), 42.7 (C-9), 62.3 (C-10), 69.7 (C-11); $\delta_{\text{isovaleryl-C}}$: 173.3 (C-1'), 44.2 (C-2'), 26.8 (C-3'), 22.6 (C-4'), 22.6

(C-5'); $\delta_{\text{glu-C}}$ (1"-6"): 103.4, 75.1, 78.1, 71.7, 78.0, 62.8。以上数据与文献报道一致^[20], 故鉴定化合物 11 为败酱苷。

3.2 对 $\text{A}\beta_{1-42}$ 所致 PC12 细胞损伤的保护作用

不同浓度的单体化合物对 $\text{A}\beta_{1-42}$ 所致 PC12 细胞损伤的保护作用见图 1, 其中双环氧木脂素类化合物均对 $\text{A}\beta_{1-42}$ 所致 PC12 细胞损伤具有很好的保

护作用, 除化合物 5 外, 相同浓度条件下, 其活性优于阳性对照药物 VE。其中 25 和 12.5 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的化合物 1~4 及 25 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的化合物 5 与模型组比较, 其 PC12 细胞活力具有显著性差异 ($P < 0.01$); 而 5 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的化合物 2 和 4 及 12.5 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的化合物 5 与模型组比较, 其 PC12 细胞活力具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

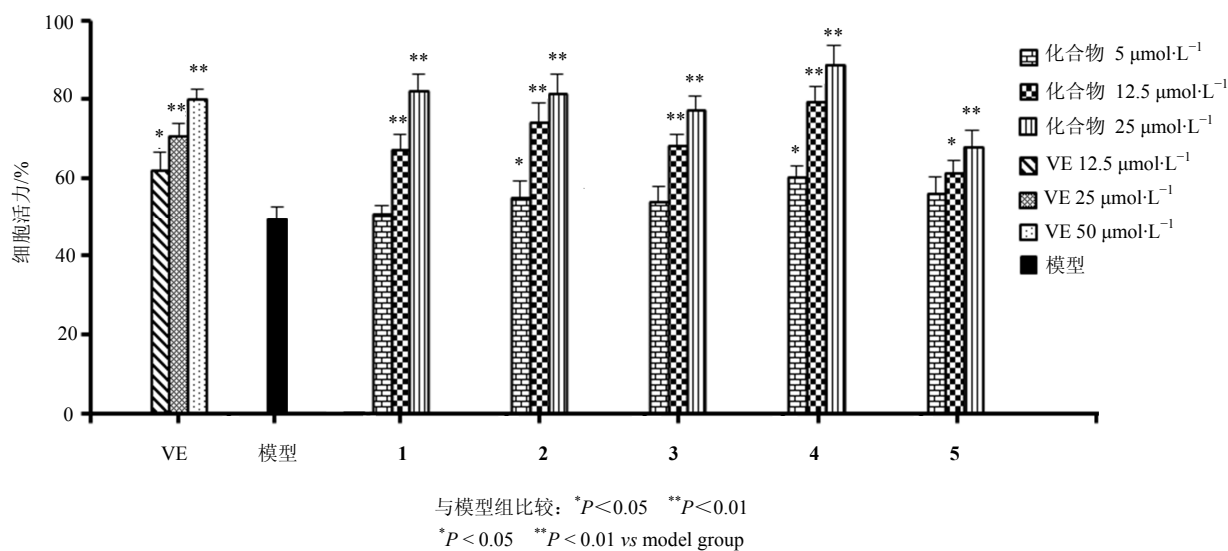


图 1 化合物 1~5 对 $\text{A}\beta_{1-42}$ 致 PC12 细胞损伤的影响

Fig. 1 Effects of tested compounds on $\text{A}\beta_{1-42}$ -induced PC12 cells injury

环烯醚萜类化合物 6~11 对 $\text{A}\beta_{1-42}$ 所致 PC12 细胞损伤无明显保护作用, 与模型组比较差异不显著 ($P > 0.05$)。综上结果表明, 双环氧木脂素类化合物为黑水缬草神经保护作用的药效物质基础。

参考文献

- [1] Houghton P J. The biological activity of *Valerian* and related plants [J]. *J Ethnopharmacol*, 1988, 22(2): 121-142.
- [2] Houghton P J. The scientific basis for the reputed activity of *Valerian* [J]. *J Pharm Pharmacol*, 1999, 51(5): 505-512.
- [3] Yager J, Siegfried S L, DiMattero T L. Use of alternative remedies by psychiatric patients: Illustrative vignettes and a discussion of the issues [J]. *Am J Psychiatry*, 1999, 156(9): 1432-1438.
- [4] Bounthan C, Bergmann C, Beck J P, et al. Valepotriates, a new class of cytotoxic and antitumor agents [J]. *Planta Med*, 1981, 41(1): 21-28.
- [5] Tortarolo M, Braun R, Hübner G E, et al. *In vitro* effects of epoxide-bearing alepotriates on mouse early hematopoietic progenitor cells and human T-lymphocytes [J]. *Arch Toxicol*, 1982, 51(1): 37-42.

- [6] Morazzoni P, Bombardelli E. *Valeriana officinalis*: Traditional use and recent evaluation of activity [J]. *Fitoterapia*, 1995, 66(2): 99-112.
- [7] Murakami N, Ye Y, Kawanishi M, et al. New rev-transport inhibitor with anti-HIV activity from *Valerianae Radix* [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2002, 12(20): 2807-2810.
- [8] Hatteso M, Feistel B, Sievers H, et al. Extracts of *Valeriana officinalis* L. s. l. show anxiolytic and antidepressant effects but neither sedative nor myorelaxant properties [J]. *Phytomedicine*, 2008, 15(1/2): 2-15.
- [9] 左月明. 黑水缬草抗老年痴呆有效部位化学成分和药理作用研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2007.
- [10] Wang C F, Xiao Y, Yang B Y, et al. Isolation and screened neuroprotective active constituents from the Roots and Rhizomes of *Valeriana amurensis* [J]. *Fitoterapia*, 2014, 96: 48-55.
- [11] Zheng L P, He Z G, Wu Z J, et al. Chemical constituents from *Dendropanax dentiger* [J]. *Chem Nat Compd*, 2012, 48(5): 883-885.

- [12] Piccinelli A L, Arana S, Caceres A, *et al.* New Lignans from the roots of *Valeriana prionophylla* with antioxidative and vasorelaxant activities [J]. *J Nat Prod*, 2004, 67(7): 1135-1140.
- [13] 于德泉, 杨峻山. 分析化学手册 (第七分册), 核磁共振波谱分析 [M]. 第 2 版. 北京: 化学工业出版社出版, 2002.
- [14] Xu Y Q, Zhao B, Yang L X. (1*S*,3*aR*,4*S*,6*aR*)-1-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)-4-(4-hydroxy-3-methylphenyl)perhydrofuro [3,4-*c*] furan-3*a*,6*a*-diol hexahydrate [J]. *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*, 2005, 61(8): o2559-o2560.
- [15] Lin S, Chen T, Liu X H, *et al.* Iridoids and lignans from *Valeriana jatamansi* [J]. *J Nat Prod*, 2010, 73(4): 632-638.
- [16] Zhang Y, Lu Y, Zhang L, *et al.* Terpenoids from the roots and rhizomes of *Nardostachys chinensis* [J]. *J Nat Prod*, 2005, 68(7): 1131-1133.
- [17] Chen Y G, Yu L L, Huang R, *et al.* 11-Methoxyviburtinal, a new iridoid from *Valeriana jatamansi* [J]. *Arch Pharm Res*, 2005, 28(10): 1161-1163.
- [18] Kouno I, Yasuda I, Mizoshiri H, *et al.* Two new iridolactones and their glycosides from the roots of *Patrinia scabra* [J]. *Phytochemistry*, 1994, 37(2): 467-472.
- [19] Dinda B, Debnath S, Banik R. Naturally occurring iridoids and secoiridoids. An updated review, part 4 [J]. *Chem Pharm Bull*, 2011, 59(7): 803.
- [20] Tomassini L, Brkic D, Foddai S, *et al.* Iridoid glucosides from *Viburnum rhytidophyllum* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 44(4): 751-753.