

大株红景天化学成分及其心肌细胞保护活性研究

王雪晶^{1,2,3}, 罗鑫^{1,2,3}, 周建明^{1,2,3}, 宋亚玲^{1,2,3}, 赵祎武^{1,2,3}, 黄文哲^{1,2,3}, 王振中^{1,2,3}, 萧伟^{1,2,3*}

1. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222000

2. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222000

3. 中药提取精制新技术重点实验室, 江苏 连云港 222000

摘要: 目的 对大株红景天 *Rhodiola wallichiana* var. *cholaensis* 根茎的化学成分进行研究, 并探讨其对心肌细胞 H9c2 损伤的保护作用。方法 采用动态轴向压缩柱色谱、硅胶柱色谱以及 HPLC 等方法进行分离纯化, 利用现代波谱学技术鉴定化合物结构。对分离得到的化合物进行细胞损伤保护活性实验。结果 从大株红景天根茎中共分离并鉴定了 16 个单体化合物, 分别为红景天苷(1)、没食子酸(2)、没食子酸甲酯(3)、槲皮素(4)、邻苯三酚(5)、6"-O-galloylsalidroside(6)、没食子酸乙酯(7)、山柰酚-7-O- α -L-鼠李糖苷(8)、草质素-7-O- β -D-吡喃葡萄糖苷(9)、草质素-7-O-(3"-O- β -D-葡萄糖基)- α -L-鼠李糖苷(10)、山柰酚-3-O- β -D-吡喃葡萄糖苷(11)、草质素(12)、草质素-7-O- α -L-鼠李糖苷(13)、小麦黄素(14)、芦丁(15)、山柰酚-3-O-(2"-O- β -D-木糖基)- β -D-葡萄糖苷(16)。样品质量浓度为 25 μ g/mL 时, 化合物 2、6、8、12 和 15 对心肌细胞 H9c2 的保护率分别为 20.40%、31.54%、67.61%、44.27% 和 47.84%。结论 化合物 5 为首次从红景天属植物中分离得到, 化合物 7~16 为首次从该植物中分离得到。化合物 2、6、8、12 和 15 在一定程度上对心肌细胞 H9c2 损伤具有保护作用。

关键词: 大株红景天; 邻苯三酚; 山柰酚-7-O- α -L-鼠李糖苷; 草质素; 芦丁; 心肌细胞保护作用

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2016)16-2822-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.16.007

Chemical constituents from rhizomes of *Rhodiola wallichiana* var. *cholaensis* and their protective effects on myocardium

WANG Xue-jing^{1,2,3}, LUO Xin^{1,2,3}, ZHOU Jian-ming^{1,2,3}, SONG Ya-ling^{1,2,3}, ZHAO Yi-wu^{1,2,3}, HUANG Wen-zhe^{1,2,3}, WANG Zhen-zhong^{1,2,3}, XIAO Wei^{1,2,3}

1. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222000, China

2. State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222000, China

3. The Key Laboratory for the New Technique Research of TCM Extraction and Purification, Lianyungang 222000, China

Abstract: **Objective** To investigate the chemical constituents from the rhizomes of *Rhodiola wallichiana* var. *cholaensis* and their protective effects on myocardium of H9c2 cells. **Methods** The compounds were isolated by dynamic axial compression chromatography, silica gel column chromatography, and HPLC. Their structures were identified on the basis of spectral data analysis. The protective effects of all isolated compounds on myocardium were determined. **Results** Sixteen compounds were isolated from the rhizomes of *R. wallichiana* var. *cholaensis* and identified as salidroside (1), gallic acid (2), methyl gallate (3), quercetin (4), pyrogallol (5), 6"-O-galloylsalidroside (6), ethyl gallate (7), kaempferol-7-O- α -L-rhamnopyranoside (8), herbacetin-7-O- β -D-glucopyranoside (9), rhodiosin (10), kaempferol-3-O- β -D-glucopyranoside (11), herbacetin (12), herbacetin-7- α -L-rhamnopyranoside (13), tricetin (14), rutin (15), and kaempferol-3-O-(2"-O- β -D-xylosyl)- β -D-glucopyranoside (16). Compounds 2, 6, 8, 12, and 15 showed the significant protective effects against H9c2 cells at the concentration of 25 μ g/mL and the protective ratios were 20.40%, 31.54%, 67.61%, 44.27%, and 47.84%. **Conclusion** Compound 5 is isolated from the species of genus *Rhodiola* L. for the first time, and compounds 7—16 are obtained from the plant for the first time. Compounds 2, 6, 8, 12, and 15 could protect the myocardium of H9c2 cells to some extent.

Key words: *Rhodiola wallichiana* (HK.) S. H. Fu var. *cholaensis* (Praeger) S. H. Fu; pyrogallol; kaempferol-7-O- α -L-rhamnopyranoside; herbacetin; rutin; protective effects on myocardium

收稿日期: 2016-01-12

基金项目: 科技部重大新药创制: 现代中药创新集群与数字制药技术平台 (2013ZX09402203)

作者简介: 王雪晶, 助理研究员, 主要从事中药新药研究工作。Tel: 15261395101 E-mail: wangxuejing87@126.com

*通信作者 萧伟, 男, 研究员级高级工程师, 博士, 研究方向为中药新药的研究与开发。Tel: (0518)81152367 E-mail: kanionlunwen@163.com

大株红景天 *Rhodiola wallichiana* (HK.) S. H. Fu var. *cholaensis* (Praeger) S. H. Fu 为景天科 (Crassulaceae) 红景天属 *Rhodiola* L. 多年生草本植物, 又名大株粗茎红景天, 主产于西藏及云南西北部等地。大株红景天作为传统藏药, 应用广泛且用药历史悠久^[1]。现代临床及药理研究表明, 红景天属植物具有明显的抗肿瘤、抗衰老、抗缺氧、抗辐射、抗疲劳以及调节神经系统等作用^[2-4], 其主要化学成分有酪醇及其苷类、黄酮苷类、苯丙素类及萜类等^[5]。目前对红景天属的大花红景天 *Rhodiola crenulata* (HK. f. et Thoms.) H. Ohba、库页红景天 *Rhodiola sachalinensis* A. Bor.、玫瑰红景天 *Rhodiola rosea* L.、长鞭红景天 *Rhodiola fastigiata* (HK. f. et Thoms.) S. H. Fu、唐古特红景天 *Rhodiola algida* (Ledeb.) Fisch. et Mey. var. *tangutlica* (Maxim.) S. H. Fu 及四裂红景天 *Rhodiola quadrifida* (Pall.) Fisch. et Mey. 等研究报道较多, 但有关大株红景天的化学成分研究却鲜有报道^[6]。本实验对大株红景天展开了系统的化学成分研究, 从其水提取物中分离得到 16 个化合物, 并采用现代波谱学手段鉴定其结构, 分别为红景天苷 (salidroside, **1**)、没食子酸 (gallic acid, **2**)、没食子酸甲酯 (methyl gallate, **3**)、槲皮素 (quercetin, **4**)、邻苯三酚 (pyrogallol, **5**)、6"-*O*-galloylsalidroside (**6**)、没食子酸乙酯 (ethyl gallate, **7**)、山柰酚-7-*O*- α -*L*-鼠李糖苷 (kaempferol-7- α -*L*-rhamnopyranoside, **8**)、草质素-7-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷 (herbacetin-7-*O*- β -*D*-glucopyranoside, **9**)、草质素-7-*O*-(3"-*O*- β -*D*-葡萄糖基)- α -*L*-鼠李糖苷 (rhodiosin, **10**)、山柰酚-3-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷 (kaempferol-3-*O*- β -*D*-glucopyranoside, **11**)、草质素 (herbacetin, **12**)、草质素-7-*O*- α -*L*-鼠李糖苷 (herbacetin-7- α -*L*-rhamnopyranoside, **13**)、小麦黄素 (tricin, **14**)、芦丁 (rutin, **15**)、山柰酚-3-*O*-(2"-*O*- β -*D*-木糖基)- β -*D*-葡萄糖苷 [kaempferol-3-*O*-(2"-*O*- β -*D*-xylosyl)- β -*D*-glucopyranoside, **16**]。其中化合物 **5** 为首次从红景天属植物中分离得到, 化合物 **7**~**16** 为首次从大株红景天中分离得到。体外活性实验结果表明化合物 **2**、**6**、**8**、**12** 和 **15** 对 H₂O₂ 所致的 H9c2 细胞损伤具有一定的保护作用。

1 仪器与材料

动态轴向压缩反相柱色谱 (江苏汉邦科技有限公司), Agilent 1260 制备型高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司), Bruker-AV-400 型核磁共振光谱仪

(Bruker 公司)。Sephadex LH-20 (Pharmacia 公司); Fuji C₁₈ (50 mm×250 mm, 5 μ m) 色谱柱; Welch Ultimate Polar-Rp (21.2 mm×250 mm, 5 μ m) 色谱柱; 色谱乙腈 (OCEANPAK), 薄层及柱色谱硅胶 (青岛海洋化工厂), 分析纯试剂 (南京化学试剂有限公司)。

SW-CJ-2F 型超净工作台 (苏净集团苏州安泰空气技术有限公司), 二氧化碳培养箱 (Thermo scientific 3100), CKX41SF 倒置显微镜 (OLYMPUS), 96 孔细胞培养板 (美国 Costar), 25 cm² 细胞培养瓶 (美国 Costar), infinite M200 PRO 酶标仪 (TEKEN), 移液枪 (Eppendorf), BXM-30R 高压蒸汽灭菌锅 (立式压力蒸气灭菌锅), LD4-2A 离心机 (北京众益中和生物技术有限公司), c1028 细胞自动计数仪 (invitrogen)。DMEM 培养基 (Gibco, 批号 8112420), 胎牛血清 (Gibco, 批号 608759), 胰蛋白酶 (Biotopped, 批号 BH01018), G3580 MTS 细胞毒性检测试剂盒 (Promage), H9c2 心肌细胞株 (中国科学院典型培养物保藏中心上海细胞库)。

大株红景天由南京中医药大学吴启南教授鉴定为景天科植物大株红景天 *Rhodiola wallichiana* (HK.) S. H. Fu var. *cholaensis* (Praeger) S. H. Fu 的干燥根及根茎。

2 提取与分离

大株红景天干燥根茎 10 kg, 水回流提取 2 次, 每次 2 h, 提取液合并浓缩后加适量 95% 乙醇醇沉, 静置, 离心, 减压浓缩上清液。浓缩液与反相 C₁₈ 拌样, 经 DAC 反相色谱以乙腈 (A)-水 (B) 为流动相, 0~70 min, 10%~75% A, 70~85 min, 75%~100% A 进行梯度洗脱, 收集得到 8 个流分 (Fr. 1~8)。Fr. 1 经硅胶柱色谱, 以二氯甲烷-甲醇 (50:1→1:1) 梯度洗脱, 再经 Sephadex LH-20 柱色谱纯化, 得化合物 **1** (50 mg)、**2** (63 mg)。Fr. 2 经硅胶柱色谱, 以二氯甲烷-甲醇 (50:1→1:1) 梯度洗脱, 再经 HPLC, 以 5%~45% 乙腈-水 0~60 min 梯度洗脱及 Sephadex LH-20 反复分离纯化, 得到化合物 **3** (15 mg)、**4** (14 mg)、**5** (8 mg)、**6** (64 mg)。Fr. 3 经硅胶柱色谱以醋酸乙酯-甲醇 (30:1→1:1) 梯度洗脱结合 Sephadex LH-20 柱色谱纯化, 得到化合物 **7** (77 mg)、**8** (43 mg)、**9** (22 mg)。Fr. 4 经 HPLC 结合 Sephadex LH-20 柱色谱反复分离纯化, 得到化合物 **13** (14 mg)、**15** (10 mg)、**11** (8 mg)、**12** (9 mg)。Fr. 6 重结晶得到化合物 **10** (48 mg), 除去结晶后溶液经 HPLC 制备得到化合物 **16** (7 mg)、**14** (9 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 301 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.06 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2,6), 6.69 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3, 5), 4.29 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 2.82 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-7), 3.18 (2H, m, H-8); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 155.4 (C-1), 129.6 (C-4), 129.3 (C-3, 5), 114.7 (C-2, 6), 103.0 (C-1'), 73.7 (C-2'), 76.5 (C-3'), 70.7 (C-8), 70.2 (C-4'), 76.7 (C-5'), 61.3 (C-6'), 35.0 (C-7)。以上数据与文献报道^[7]一致, 故鉴定化合物 **1** 为红景天苷。

化合物 **2**: 无色针状结晶(甲醇), ESI-MS m/z : 169 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.06 (2H, s, H-2, 6); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 122.3 (C-1), 146.5 (C-2, 6), 110.6 (C-3, 5), 139.8 (C-4), 170.6 (-COOH)。数据与文献报道^[8]一致, 故鉴定化合物 **2** 为没食子酸。

化合物 **3**: 浅黄色粉末, ESI-MS m/z : 183 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.04 (2H, s, H-2, 6), 3.81 (3H, s, -CH₃); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 120.0 (C-1), 145.1 (C-2, 6), 108.6 (C-3, 5), 138.4 (C-4), 167.6 (-COO), 50.8 (-CH₃)。数据与文献报道^[9]一致, 故鉴定化合物 **3** 为没食子酸甲酯。

化合物 **4**: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 303 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 6.32 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-6), 6.53 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-8), 7.00 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5'), 7.69 (1H, dd, $J = 8.1, 2.4$ Hz, H-6'), 7.83 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2'), 9.41 (1H, s, 3-OH), 10.77 (1H, s, 7-OH), 12.18 (1H, s, 5-OH); ^{13}C -NMR (100 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 94.6 (C-8), 99.3 (C-6), 104.3 (C-10), 115.9 (C-2'), 116.4 (C-5'), 120.8 (C-6'), 121.5 (C-1'), 136.9 (C-3), 162.5 (C-9), 145.9 (C-3'), 146.9 (C-2), 148.5 (C-4'), 157.8 (C-7), 176.6 (C-4)。以上数据与文献报道^[10]一致, 故鉴定化合物 **4** 为槲皮素。

化合物 **5**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 127 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 6.48 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.31 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-4, 6); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 145.7 (C-1, 3), 132.9 (C-2), 118.7 (C-5), 106.9 (C-4, 6)。以上数据与文献报道^[11]一致, 故鉴定化合物 **5** 为邻苯三酚。

化合物 **6**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 453 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.10 (2H, s, H-2, 6), 6.98 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2'', 6''), 6.65 (2H, d, $J = 8.4$

Hz, H-3'', 5''), 4.33 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 2.79 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-7''); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 120.0 (C-1), 108.9 (C-2, 6), 145.1 (C-3, 5), 138.5 (C-4), 166.9 (-COO), 103.1 (C-1'), 73.7 (C-2'), 76.5 (C-3'), 70.9 (C-4'), 74.1 (C-5'), 63.4 (C-6'), 129.2 (C-1''), 129.5 (C-2'', 6''), 114.7 (C-3'', 5''), 155.3 (C-4''), 35.1 (C-7''), 70.3 (C-8'')。以上数据与文献报道^[12]一致, 故鉴定化合物 **6** 为6''-O-galloylsalidroside。

化合物 **7**: 无色针晶(甲醇), ESI-MS m/z : 197 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.05 (2H, s, H-2, 6), 4.27 (2H, q, $J = 7.0$ Hz, H-8), 1.34 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, H-9); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 167.2 (C-7), 145.1 (C-3, 5), 138.3 (C-4), 120.4 (C-1), 108.6 (C-2, 6), 60.3 (C-8), 13.2 (C-9)。以上数据与文献报道^[13]一致, 故鉴定化合物 **7** 为没食子酸乙酯。

化合物 **8**: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 433 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 8.12 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2', 6'), 6.93 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', 5'), 6.76 (1H, s, H-8), 6.45 (1H, s, H-6), 5.54 (1H, s, H-1''), 1.25 (3H, d, $J = 7.5$ Hz, H-6''); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 177.6 (C-4), 163.4 (C-5), 162.4 (C-7), 160.9 (C-4'), 157.9 (C-9), 148.9 (C-2), 137.7 (C-3), 130.9 (C-2', 6'), 123.7 (C-1'), 116.5 (C-3', 5'), 106.4 (C-10), 99.9 (C-6), 95.5 (C-8); 100.1 (C-1''), 73.8 (C-4''), 72.0 (C-3''), 71.9 (C-2''), 71.4 (C-5''), 18.2 (C-6'')。以上数据与文献报道^[14]一致, 故鉴定化合物 **8** 为山柰酚-7-O- α -L-鼠李糖苷。

化合物 **9**: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 477 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 6.65 (1H, s, H-6), 6.97 (2H, d, $J = 9.2$ Hz, H-3', 5'), 8.15 (2H, d, $J = 9.2$ Hz, H-2', 6'), 5.18 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-1''); ^{13}C -NMR (100 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 176.5 (C-4), 151.6 (C-5), 150.6 (C-7), 159.5 (C-4'), 143.6 (C-9), 147.4 (C-2), 135.5 (C-3), 129.6 (C-2', 6'), 121.6 (C-1'), 115.7 (C-3', 5'), 104.7 (C-10), 99.9 (C-6), 97.7 (C-8), 101.3 (C-1''), 73.4 (C-2''), 75.5 (C-3''), 69.8 (C-4''), 77.3 (C-5''), 60.6 (C-6'')。以上数据与文献报道^[15]一致, 故鉴定化合物 **9** 为草质素-7-O- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **10**: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 611 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 11.91 (1H, 5-OH), 8.15 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-2', 6'), 6.95 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-3', 5'), 6.61 (1H, s, H-6), 5.56 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-1''), 4.48 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-1'''),

1.13 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-6''); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 147.8 (C-2), 136.2 (C-3), 176.8 (C-4), 150.6 (C-5), 98.7 (C-6), 152.0 (C-7), 127.5 (C-8), 144.9 (C-9), 105.2 (C-10), 122.3 (C-1'), 130.3 (C-2', 6'), 115.9 (C-3', 5'), 159.8 (C-4'), 99.6 (C-1''), 69.8 (C-2''), 81.4 (C-3''), 70.2 (C-4''), 69.4 (C-5''), 18.3 (C-6''), 104.9 (C-1'''), 74.5 (C-2'''), 76.7 (C-3'''), 70.9 (C-4'''), 77.3 (C-5'''), 61.4 (C-6'''). 以上数据与文献报道^[6]一致, 故鉴定化合物 **10** 为草质素-7-*O*-(3''-*O*- β -D-葡萄糖基)- α -L-鼠李糖苷。

化合物 **11**: 淡黄色粉末, ESI-MS m/z : 447 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.02 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2', 6'), 6.88 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3', 5'), 6.42 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-8), 6.17 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-6), 5.44 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1''); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 156.2 (C-2), 133.0 (C-3), 177.2 (C-4), 161.0 (C-5), 98.5 (C-6), 164.0 (C-7), 93.3 (C-8), 158.4 (C-9), 104.2 (C-10), 120.7 (C-1'), 130.7 (C-2'), 115.0 (C-3'), 161.3 (C-4'), 116.4 (C-5'), 130.7 (C-6'), 100.8 (C-1''), 74.2 (C-2''), 76.2 (C-3''), 70.1 (C-4''), 77.4 (C-5''), 60.4 (C-6''). 以上数据与文献报道^[17]基本一致, 故鉴定化合物 **11** 为山柰酚-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **12**: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 303 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.22 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-2', 6'), 6.91 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-3', 5'), 6.64 (1H, s, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 147.0 (C-2), 135.7 (C-3), 176.4 (C-4), 151.5 (C-5), 98.4 (C-6), 153.1 (C-7), 125.0 (C-8), 145.2 (C-9), 104.1 (C-10), 122.3 (C-1'), 130.2 (C-2', 6'), 115.6 (C-3', 5'), 159.5 (C-4')。以上数据与文献报道^[18]一致, 故鉴定化合物 **12** 为草质素。

化合物 **13**: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 449 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.15 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-2', 6'), 6.95 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-3', 5'), 6.60 (1H, s, H-6), 5.12 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-1''), 1.13 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-6''); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 147.8 (C-2), 136.2 (C-3), 176.8 (C-4), 150.6 (C-5), 98.7 (C-6), 152.0 (C-7), 127.5 (C-8), 144.9 (C-9), 105.0 (C-10), 122.3 (C-1'), 130.3 (C-2', 6'), 115.9 (C-3', 5'), 159.8 (C-4'), 99.8 (C-1''), 70.5 (C-2''), 70.3 (C-3''), 72.1 (C-4''), 70.3 (C-5''), 18.3 (C-6'')。以上数据与文献报道^[19]基本一致, 故鉴定

化合物 **13** 为草质素-7-*O*- α -L-鼠李糖苷。

化合物 **14**: 淡黄色针晶 (丙酮), ESI-MS m/z : 353 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.33 (2H, s, H-2', 6'), 6.98 (1H, s, H-3), 6.56 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.20 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 3.89 (6H, s, 3', 5'-OCH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 181.9 (C-4), 164.1 (C-7), 163.6 (C-2), 161.4 (C-9), 157.3 (C-5), 148.2 (C-3', 5'), 139.8 (C-4'), 120.4 (C-1'), 104.3 (C-2', 6'), 103.7 (C-10), 103.6 (C-3), 98.8 (C-6), 94.2 (C-8), 56.3 (-OCH₃)。以上数据与文献报道^[20]基本一致, 故鉴定化合物 **14** 为小麦黄素。

化合物 **15**: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 633 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD₃OD) δ : 6.21 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 6.40 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 7.67 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.87 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 7.63 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz, H-6'), 5.12 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1''), 4.96 (1H, d, $J = 6.8$ Hz, H-1'''); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD₃OD) δ : 158.4 (C-2), 135.5 (C-3), 179.3 (C-4), 162.9 (C-5), 99.8 (C-6), 165.9 (C-7), 94.7 (C-8), 159.2 (C-9), 105.5 (C-10), 122.9 (C-1'), 115.9 (C-2'), 145.7 (C-3'), 149.7 (C-4'), 115.9 (C-5'), 123.4 (C-6'), 102.3 (C-1''), 73.8 (C-2''), 77.1 (C-3''), 71.3 (C-4''), 78.1 (C-5''), 68.4 (C-6''), 104.6 (C-1'''), 75.6 (C-2'''), 71.9 (C-3'''), 72.1 (C-4'''), 69.6 (C-5'''), 17.7 (C-6''')。以上数据与文献报道^[21]基本一致, 故鉴定化合物 **15** 为芦丁。

化合物 **16**: 淡黄色粉末, ESI-MS m/z : 579 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD₃OD) δ : 6.19 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 6.39 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 8.07 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2', 6'), 6.89 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3', 5'), 5.48 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1''), 4.74 (1H, d, $J = 6.8$ Hz, H-1'''); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD₃OD) δ : 158.5 (C-2), 135.0 (C-3), 179.7 (C-4), 163.2 (C-5), 99.7 (C-6), 165.8 (C-7), 94.6 (C-8), 161.5 (C-9), 105.8 (C-10), 122.8 (C-1'), 132.3 (C-2', 6'), 116.2 (C-3', 5'), 158.3 (C-4'), 100.7 (C-1''), 82.5 (C-2''), 77.2 (C-3''), 71.1 (C-4''), 78.4 (C-5''), 62.4 (C-6''), 105.5 (C-1'''), 75.0 (C-2'''), 78.2 (C-3'''), 71.0 (C-4'''), 66.7 (C-5''')。以上数据与文献报道^[22]基本一致, 故鉴定化合物 **16** 为山柰酚-3-*O*-(2''-*O*- β -D-木糖基)- β -D-葡萄糖苷。

4 心肌细胞保护实验

以 H9c2 大鼠心肌细胞株为受试对象, 将培养 3 代以后的 H9c2 细胞用 0.25% 的胰酶消化, 制成单

细胞悬液并计数,以每孔3 000个的密度接种于96孔板,于37℃、5% CO₂的细胞培养箱中培养24 h,吸弃上清,将细胞分成空白组、模型组、给药组,每组6个复孔。空白组加入100 μL无血清DMEM培养基;模型组及给药组均加入含200 μmol/L H₂O₂的无血清DMEM培养基100 μL氧化损伤3 h后,给药组分别加入100 μL质量浓度为25 μg/mL的化合物1~16共培养,阳性对照组加入质量浓度为25 μg/mL的槲皮苷。3 h后每孔加入20 μL MTS溶液培养4 h,于490 nm下测定吸光度(A)值。每次测定均需同时测定空白组与阳性对照组。根据公式计算细胞保护率。

$$\text{细胞保护率} = (A_{\text{给药}} - A_{\text{模型}}) / (A_{\text{空白}} - A_{\text{模型}})$$

实验结果表明,在25 μg/mL的条件下,化合物2、6、8、12和15作用4 h后细胞保护率分别为20.40%、31.54%、67.61%、44.27%和47.84%。同等条件下,槲皮苷的细胞保护率为20.15%。说明化合物2、6、8、12和15对H₂O₂所致的H9c2细胞损伤具有一定程度的保护作用。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1984.
- [2] 张明发, 沈雅琴. 红景天苷及其苷元酪醇的抗炎、抗肿瘤和免疫调节作用 [J]. 药物评价研究, 2013, 36(3): 228-233.
- [3] 张明发, 沈雅琴. 红景天苷抗痴呆作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(6): 675-681.
- [4] 金永日, 于晓风, 吕忠智, 等. 红景天茎叶提取物的抗衰老作用研究 II [J]. 中国老年学杂志, 2001, 21(5): 228-229.
- [5] Zhou J T, Lei X, Chen Y Y, *et al.* Chemical constituents from the *Rhodiola* genus plants [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2014, 23(7): 433-445.
- [6] 王爱玲, 曲 玮, 梁敬钰. 红景天属植物化学成分及药理作用研究进展 [J]. 海峡药学, 2014, 26(1): 1-8.
- [7] 罗 鑫, 王雪晶, 张 桥, 等. 同时制备克级高纯度酪醇、大花红天素及红景天苷的工艺研究 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(7): 1300-1304.
- [8] 董 礼, 李 磊, 廖志华, 等. 柴胡红景天化学成分的研究 [J]. 西北植物学报, 2007, 27(12): 2564-2567.
- [9] 刘延麟. 没食子单体化合物分离鉴定及其药理活性研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2009.
- [10] Yun X G, Sun H M, Chen G Y, *et al.* Chemical constituents from barks of *Lannea coromandelica* [J]. *Chin Herb Med*, 2014, 6(1): 65-69.
- [11] 谭菁菁, 赵庆春, 杨 琳, 等. 白芍化学成分研究 [J]. 中草药, 2010, 41(8): 1245-1248.
- [12] Nonaka G, Nishimura H, Nishioka I. Tannins and related compounds. IV. Seven new phenol glucoside gallates from *Quercus stenophylla* Makino (1) [J]. *Chem Pharm Bull*, 1982, 30(6): 2061-2067.
- [13] 苑 祥, 张 莉, 张建强, 等. 短管兔耳草化学成分研究 [J]. 中草药, 2015, 46(10): 1437-1440.
- [14] 倪付勇, 陈 重, 杨世林, 等. 高山红景天化学成分研究 [J]. 中草药, 2013, 44(7): 798-802.
- [15] Taichi O, Kyoko Y, Keiji I. Constituents of *Hibiscus moscheutos* L. I [J]. *Chem Pharm Bull*, 1988, 36(2): 578-581.
- [16] 周凌云, 张祥华, 陈昌祥. 丽江产红景天的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2004, 16(5): 410-414.
- [17] 唐于平, 王 颖, 娄凤昌, 等. 银杏叶中的黄酮苷类成分 [J]. 药学学报, 2000, 35(5): 363-366.
- [18] Saleh N A M, Maksoud S A, Amer W M M, *et al.* Herbacetin and gossypetin 3-glucuronide-8- glucosides from *Roemeria hybrid* [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27(1): 309-310.
- [19] 张 珂, 李国玉, 王航宇, 等. 新疆蔷薇红景天黄酮类化学成分研究 [J]. 中国现代中药, 2010, 12(11): 20-23.
- [20] Kuwabara H, Mouri K, Otsuka H, *et al.* Tricin from a Malagasy connaraceous plant with potent antihistaminic activity [J]. *J Nat Prod*, 2003, 66(9): 1272-1275.
- [21] 陈纪军, 陈金素, 陈泗英, 等. 德钦红景天的化学成分 [J]. 云南植物研究, 1999, 21(4): 525-530.
- [22] Nakamura S, Li X Z, Matsuda H, *et al.* Bioactive constituents from chinese natural medicines XXVI. chemical structures and hepatoprotective effects of constituents from roots of *Rhodiola sachalinensis* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2007, 55(10): 1505-1511.