

窝儿七中 1 个新的木脂素成分

白 玮¹, 李 真¹, 张 丽¹, 杨新杰¹, 岳正刚², 宋小妹^{1*}, 王 薇^{1*}

1. 陕西中医药大学药学院, 陕西 咸阳 712046

2. 陕西中医药大学 陕西省中药资源产业化协同创新中心, 陕西 咸阳 712046

摘要: 目的 研究窝儿七(中华山荷叶 *Diphylleia sinensis* 的根及根茎)的化学成分。方法 采用硅胶、葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20、高效液相等色谱技术进行分离纯化, 根据理化性质和波谱方法进行结构鉴定。结果 从窝儿七根茎 95%乙醇提取物中分离得到 3 个化合物, 分别鉴定为山荷叶素-4-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖基-(1 \rightarrow 6)- β -*D*-吡喃葡萄糖苷(1)、爵床脂素 A(2)、(+)-tanegool-7'-methylether(3)。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为爵床苷 G; 化合 2 和 3 为首次从山荷叶属植物中分离得到。

关键词: 窝儿七; 山荷叶素-4-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖基-(1 \rightarrow 6)- β -*D*-吡喃葡萄糖苷; 爵床脂素 A; 爵床苷 G; 木脂素

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)07-1504-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.07.003

A new lignan from radix and rhizome of *Diphylleia sinensis*

BAI Wei¹, LI Zhen¹, ZHANG Li¹, YANG Xin-jie¹, YUE Zheng-gang², SONG Xiao-mei¹, WANG Wei¹

1. School of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

2. Shaanxi University of Chinese Medicine Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resource Industrialization, Xianyang 712046, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from the radix and rhizome of *Diphylleia sinensis*. **Methods** Silica gel column chromatography, Sephadex LH-20, high performance liquid chromatography, and other chromatographic techniques were used for separation and purification. The structures were elucidated by physical and chemical methods and spectral data. **Results** Three compounds were isolated from the 95% ethanol extract in the rhizome of *D. sinensis*, and their structures identified as diphyllin-4-*O*- β -*D*-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -*D*-glucopyranoside (1), justicidin A (2), and (+)-tanegool-7'-methylether (3). **Conclusion** Compound 1 is a new compound named procumbenoside G; Compounds 2 and 3 were isolated from the *Diphylleia* for the first time.

Key words: *Diphylleia sinensis* H. L. Li; diphyllin-4-*O*- β -*D*-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -*D*-glucopyranoside; justicidin A; justicidin G; lignans

窝儿七又名阿儿七、窝儿参、江边一碗水, 为小檗科(Berberidaceae)山荷叶属 *Diphylleia* Michaux 中华山荷叶 *Diphylleia sinensis* H. L. Li 的根及根茎^[1], 主产于陕西、甘肃、四川、湖北、云南等地, 生于海拔 2 000~3 400 m 的山坡林下阴湿处^[2]。它是我国一种传统草药, 具有清热解毒、祛风除湿、消肿止痛的功效, 长期以来, 当地民间主要用作治疗风湿病、跌打损伤、毒蛇咬伤、月经不调、小腹痛、痈肿疮疖^[3-4]。窝儿七中含有木脂素类、黄酮

类、甾醇类、酚酸类和葡萄糖等化合物。其中木脂素类是窝儿七的主要化学成分, 具有抗肿瘤、抗病毒、抗菌消炎、抗氧化、抑制植物生长等多方面的药理活性^[5]。为进一步开发利用该植物资源, 探索其活性成分, 明确其药效物质基础, 本实验对窝儿七中的化学成分进行了研究, 从中分离得到 3 个化合物, 分别鉴定为山荷叶素-4-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖基-(1 \rightarrow 6)- β -*D*-吡喃葡萄糖苷 [diphyllin-4-*O*- β -*D*-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -*D*-glucopyranoside, 1]、爵床

收稿日期: 2018-01-02

基金项目: 陕西省中药基础与新药研究重点实验室资助; 陕西省教育厅 2016 年度重点实验室重点科研项目 (16JS022)

作者简介: 白 玮 (1993—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向为中草药药效物质基础研究。Tel: 18391079560 E-mail: 2273715075@qq.com

*通信作者 宋小妹, 教授, 硕士生导师, 研究方向为中草药药效物质基础研究。Tel: 13636733632 E-mail: 2051087@sntcm.edu.cn

王 薇, 教授, 硕士生导师, 研究方向为中草药药效物质基础研究。Tel: 13891087756 E-mail: 2051003@sntcm.edu.cn

脂素 A (justicidin A, **2**)、(+)-tanegool-7'-methylether (**3**)。其中化合物 **1** 为新化合物, 命名为爵床昔 G;

化合物 **2** 和 **3** 为首次从山荷叶属植物中分离得到, 所有化合物的结构见图 1。

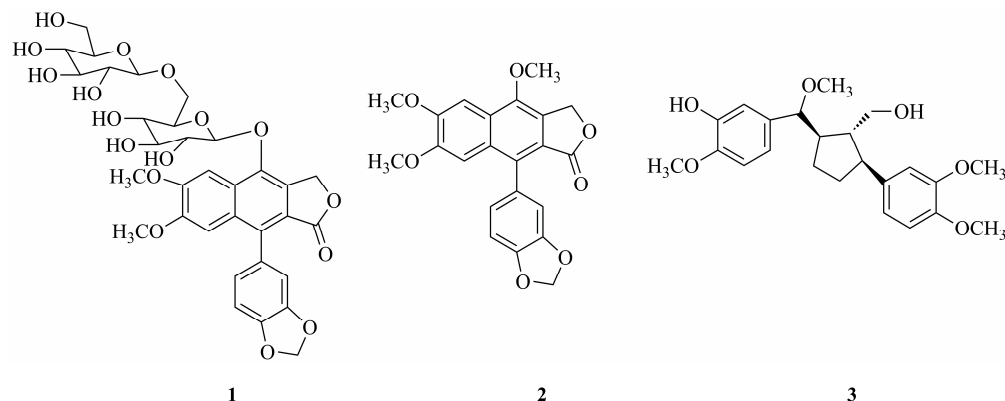


图 1 化合物 1~3 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—3

1 仪器与材料

Bruker-AVANCE 400 型核磁共振仪 (TMS 为内标); LC-3000 型高效半制备液相色谱仪 (Alltima C₁₈ 10 μm 或 Allsphere ODS, 250 mm×10 mm, 5 μm; 制备柱); OB204 电子分析天平 (瑞士梅特勒公司, 万分之一); HB10 digital 型旋转蒸发器 (德国 IKA 公司); HH-2 恒温水浴锅 (常州国华电器有限公司); DLSB series 型低温冷凝循环泵 (郑州长城科工贸公司); WFH-203 三用紫外分析仪 (上海精科实业有限公司); 舒美 KQ-500DE 型超声波清洗仪 (昆山市超声波仪器有限公司); Agilent Technologies 6550Q-TOF (美国安捷伦公司); ODS-C₁₈ 填料 (加拿大 SiliCycle 公司); Sephadex LH-20 (瑞典 GE Healthcare Bio-Sciences AB 公司); 柱色谱硅胶 (100~200、200~300 目) 均为青岛海洋化工厂产品; 薄层硅胶板 (烟台江友硅胶发展有限公司); 所用分析纯试剂 (天津天力试剂公司), 色谱纯试剂 (天津科密欧试剂公司)。

窝儿七药材于 2014 年 1 月采自陕西秦岭太白山等地, 经陕西中医药大学王继涛高级实验师鉴定为小檗科 (Berberidaceae) 山荷叶属 *Diphylleia* Michaux 植物中华山荷叶 *Diphylleia sinensis* H. L. Li 的干燥根及根茎。标本存放于陕西中医药大学中药标本馆。

2 提取与分离

窝儿七药材干燥根及根茎 10.0 kg, 粉碎后 10 倍量 95% 乙醇冷浸 24 h, 回流提取 3 次, 每次 2 h。合并提取液, 减压浓缩至无醇味, 分散于水中, 依次用石油醚、醋酸乙酯、水饱和正丁醇萃取, 得石

油醚萃取物 33.00 g, 醋酸乙酯萃取物 500.38 g, 正丁醇萃取物 100.12 g。

取正丁醇萃取部分 100.12 g, 经硅胶柱色谱, 以氯仿-甲醇 (60:1、40:1、20:1、10:1、0:1) 梯度洗脱, 得到 5 个组分 Fr. 1~5, 将 Fr. 1~2 合并, 硅胶柱色谱分离, 以氯仿-甲醇 (30:1、20:1、10:1、5:1) 梯度洗脱, 收集流分, 得到 4 个组分 Fr. 1.1~1.4。将 Fr. 1.2 再经硅胶柱色谱分离, 以氯仿-甲醇 (30:1、25:1、20:1、15:1、5:1、0:1) 梯度洗脱, 收集流分, 得到 3 个组分 Fr. 1.2.1~1.2.3。将 Fr. 1.2.1 用 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离, 再经半制备 HPLC 纯化 (甲醇-水 24:76), 得到化合物 **1** (15 mg, $t_R=31.0$ min)。将 Fr. 1.2.2 用甲醇重结晶得到化合物 **2** (12 mg)。将 Fr. 1.2.3 采用 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离, 再经半制备 HPLC 纯化 (甲醇-水 72:28), 得到化合物 **3** (13 mg, $t_R=35.0$ min)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色无定形粉末, 20% 硫酸-乙醇显紫红色, UV 254 nm 下有暗斑, UV 365 nm 下有蓝色荧光。HR-ESI-MS m/z 703.187 4 [M-H]⁻, 结合 1D-和 2D-NMR 谱图信息确定分子式为 C₃₃H₃₆O₁₇, 相对分子质量为 704, 不饱和度为 15, ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) 谱中, 低场区给出 1 组四取代的苯环上对位质子信号 δ_H 8.19 (1H, s, H-5) 和 6.98 (1H, s, H-8), 1 组 ABX 系统的苯环上质子信号 δ_H 6.92 (1H, d, $J=4.0$ Hz, H-2'), 7.03 (1H, d, $J=7.9$ Hz, H-5') 和 6.80 (1H, dd, $J=7.9, 4.0$ Hz, H-6'); 由 1 组

信号 δ_H 6.13 (2H, s) 推出此化合物含有亚甲二氧基 (O-CH₂-O); 2 个葡萄糖端基质子信号 δ_H 4.79 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, Glc-H-1) 和 4.17 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, Glc-H-1'), 由其偶合常数可以判断 2 个葡萄糖均为 β 构型, 通过 β -D-葡萄糖糖苷酶水解并与标准糖进行薄层对照, 确定 2 个糖均为 D-葡萄糖; 2 个甲氧基质子信号 δ_H 3.94 (3H, s, 6-OMe) 和 3.65 (3H, s, 7-OMe); 此外, ¹H-NMR 谱中还存在 1 组五元内脂环同碳偶合的亚甲基质子信号 δ_H 5.45 (1H, d, $J = 15.4$ Hz, H-11a) 和 5.73 (1H, d, $J = 15.4$ Hz, H-11b), 提示化合物 **1** 可能为鬼臼毒素类木脂素, 由亚甲基的化学位移推断, 不存在 C 环的屏蔽作用, 内脂环

应为下向型。¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) 谱给出 33 个碳共振信号, 其中 (δ_C 104.8, 73.7, 76.8, 70.2, 76.2 和 69.4) 以及 (δ_C 103.4, 73.4, 76.7, 70.0, 75.2 和 61.0) 可以归属为 2 组葡萄糖信号; δ_C 101.1 为亚甲二氧基信号; δ_C 55.2 (6-OMe) 和 55.8 (7-OMe) 为 2 个甲氧基信号; 剩余 18 个骨架碳信号均出现在 ¹³C-NMR 谱的低场区, 提示鬼臼毒素类木脂素 **1** 具有芳基萘母核。通过 HSQC 谱将化合物 **1** 所有碳氢信号进行了准确的归属 (表 1), 通过 HMBC 谱对化合物 **1** 碳氢信号进行相关连接。在 HMBC 谱 (图 2) 中, δ_H 3.94 (6-OMe)/ δ_C 151.3 (C-6), δ_H 3.65 (7-OMe)/ δ_C 149.9 (C-7), δ_H 6.13 (O-CH₂-O)/ δ_C 146.8

表 1 化合物 **1** 的 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据 (400/100 MHz, DMSO-*d*₆)
Table 1 ¹H-NMR and ¹³C-NMR data of compound **1** (400/100 MHz, DMSO-*d*₆)

碳位	δ_H	δ_C	碳位	δ_H	δ_C
1		134.6	6'	6.80 (1H, dd, $J = 7.9, 4.0$ Hz)	123.5
2		119.1	Glc-1	4.79 (1H, d, $J = 7.8$ Hz)	104.8
3		130.2	Glc-2	3.46 (1H, m)	73.7
4		144.8	Glc-3	3.05 (1H, m)	76.8
5	8.19 (1H, s)	101.7	Glc-4	3.18 (1H, m)	70.2
6		151.3	Glc-5	3.46 (1H, m)	76.2
7		149.9	Glc-6	4.09 (1H, d, $J = 9.9$ Hz), 3.58 (1H, m)	69.4
8	6.98 (1H, s)	105.3	Glc-1'	4.17 (1H, d, $J = 7.7$ Hz)	103.4
9		129.9	Glc-2'	2.94 (1H, m)	73.4
10		126.6	Glc-3'	3.12 (1H, m)	76.7
11	5.45 (1H, d, $J = 15.4$ Hz)	67.0	Glc-4'	3.00 (1H, m)	70.0
12	5.73 (1H, dd, $J = 15.4$ Hz)	169.2	Glc-5'	3.30 (1H, m)	75.2
1'		128.4	Glc-6'	3.24 (1H, m)	61.0
2'	6.92 (1H, d, $J = 4.0$ Hz)	110.6	OCH ₂ O	6.13 (2H, s)	101.1
3'		146.8	6-OMe	3.94 (3H, s)	55.2
4'		146.9	7-OMe	3.65 (3H, s)	55.8
5'	7.03 (1H, d, $J = 7.9$ Hz)	107.9			

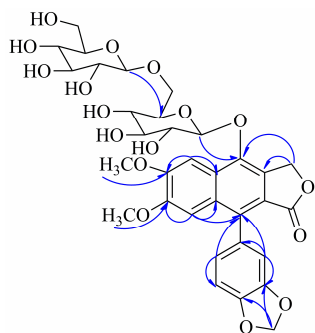


图 2 化合物 **1** 的主要 HMBC 相关信号

Fig. 2 Key HMBC correlations of compound **1**

(C-3') 和 146.9 (C-4') 信号相关, 据此可以确定化合物 **1** 的结构母核为 diphyllin。在 HMBC 谱中 Glc-H-1/C-4 相关, 可以确定葡萄糖连接在 diphyllin 的 4 位, Glc-H-1'/C-Glc-6 相关, 可以确定另外 1 个葡萄糖连接在内侧葡萄糖的 6 位。因此确定 2 个葡萄糖的连接顺序是通过 1→6 键相连, 所以化合物 **1** 的结构确定为山荷叶素-4-O- β -D-吡喃葡萄糖基-(1→6)- β -D-吡喃葡萄糖苷, 经过 Scifinder 查新确定为新化合物, 命名为爵床苷 G。

化合物 **2**: 白色针晶 (甲醇), mp 261~263 °C,

20%硫酸-乙醇显紫红色, UV 254 nm 下有暗斑, ESI-MS m/z : 393.1 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.52 (1H, s, H-5), 7.04 (1H, s, H-8), 5.52 (2H, s, H-11), 6.80 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2'), 6.93 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-5'), 6.77 (1H, dd, $J = 7.9, 1.8$ Hz, H-6'), 6.07 (2H, s, O-CH₂-O), 4.05 (3H, s, 6-OMe), 4.11 (3H, s, 7-OMe), 3.79 (3H, s, 4-OMe); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 134.7 (C-1), 119.3 (C-2), 124.7 (C-3), 148.0 (C-4), 100.8 (C-5), 151.6 (C-6), 150.8 (C-7), 106.4 (C-8), 126.2 (C-9), 130.9 (C-10), 66.8 (C-11), 169.8 (C-12), 128.8 (C-1'), 111.0 (C-2'), 147.7 (C-3', 4'), 108.4 (C-5'), 123.9 (C-6'), 56.3 (6-OMe), 56.0 (7-OMe), 59.9 (4-OMe), 101.4 (OCH₂O)。以上数据与文献报道基本一致^[6-8], 故鉴定化合物 2 为爵床脂素 A。

化合物 3: 白色晶体 (甲醇), 20%硫酸-乙醇显紫红色, UV 254 nm 下有暗斑, ESI-MS m/z : 389.2 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.83 (1H, brs, H-2), 6.76 (1H, m, H-5), 6.71 (1H, m, H-6), 4.46 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-7), 1.93 (1H, m, H-8), 3.30 (2H, m, H-9), 6.85 (1H, brs, H-2'), 6.76 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.75 (1H, m, H-6'), 4.00 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-7'), 2.52 (1H, m, H-8'), 4.12 (1H, m, H-9'a), 4.02 (1H, m, H-9'b), 3.84 (3H, s, H-10, 10'), 3.18 (3H, s, H-11'); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 133.6 (C-1), 109.0 (C-2), 146.8 (C-3), 145.5 (C-4), 114.4 (C-5), 119.6 (C-6), 84.1 (C-7), 52.0 (C-8), 63.1 (C-9), 56.2 (C-10), 131.3 (C-1'), 109.7 (C-2'), 147.1 (C-3'), 145.8

(C-4'), 114.4 (C-5'), 121.4 (C-6'), 85.5 (C-7'), 49.9 (C-8'), 71.0 (C-9'), 56.1 (C-10'), 56.7 (C-11')。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 3 为 (+)-tanegool-7'-methylether。

参考文献

- [1] 中国科学院西北植物研究所. 秦岭植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1974.
- [2] 宋小妹, 刘海静. 太白七药研究与应用 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011.
- [3] 宝鸡市卫生局. 太白山本草志 [M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1993.
- [4] 杨仓良主编. 毒药本草. [M]. 北京: 中国中医药出版社, 1993.
- [5] 孙彦君, 李占林, 陈虹, 等. 鬼臼类植物化学成分和生物活性研究进展 [J]. 中草药, 2012, 43(8): 1626-1634.
- [6] Subbaraju G V, Rajasekhar D, Kavitha J, et al. Justicia lignans: Part 7-two new diphyllin glycosides from *Justicia neesii* Ramamoorthy [J]. *Indian J Chem*, 2001, 32(31): 313-319.
- [7] Lee J C, Lee C H, Su C L, et al. Justicidin A decreases the level of cytosolic Ku70 leading to apoptosis in human colorectal cancer cells [J]. *Carcinogenesis*, 2005, 26(10): 1716-1730.
- [8] 吴威巍, 缪刘萍, 王鑫杰, 等. 爵床中一个新的木脂体昔-爵床昔 E [J]. 中国医药工业杂志, 2012, 43(8): 669-672.
- [9] Sun Y J, Li Z L, Chen H, et al. Four new cytotoxic tetrahydrofuranoid lignans from *Sinopodophyllum emodi* [J]. *Planta Med*, 2012, 78(5): 480-484.