

• 化学成分 •

冬凌草中 1 个新的黄烷类化合物

张彦焘¹, 雷翔³, 王红刚^{2,3}, 吴鹏^{2*}

1. 广州卫生职业技术学院, 广东 广州 510405

2. 广州中医药大学中药学院 中医药防治肿瘤转化医学研究国际合作联合实验室, 广东 广州 510006

3. 广东药科大学中药学院, 广东 广州 510006

摘要: 目的 研究冬凌草(碎米桠 *Rabdosia rubescens* 地上部分)的化学成分。方法 采用硅胶柱、十八烷基硅烷键合硅胶开放柱、小孔树脂凝胶柱以及反相高效液相色谱法进行分离纯化,通过理化性质及波谱数据对化合物进行结构鉴定。结果 从冬凌草中分离得到 1 个黄烷类化合物,鉴定为 3'-羟基-2',4'-二甲氧基-3-烯-黄烷(1)。结论 化合物 1 为新的黄烷类化合物,命名为冬凌烷 A。

关键词: 冬凌草; 超临界 CO₂ 萃取; 黄烷类; 3'-羟基-2',4'-二甲氧基-3-烯-黄烷; 冬凌烷 A

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)12-2791-03

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.12.006

A new flavanoid from *Rabdosia rubescens*ZHANG Yan-tao¹, LEI Xiang³, WANG Hong-gang^{2,3}, WU Peng²

1. Guangzhou Health Science College, Guangzhou 510405, China

2. International Joint Laboratory for Translational Cancer Research of Chinese Medicine of Ministry of Education, School of Chinese Materia Medica, University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China

3. School of Chinese Materia Medica, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents of *Rabdosia rubescens*. **Methods** The chemical constituent of *R. rubescens* was separated and purified by using of various column chromatographic technologies (silica gel, MCI, and ODS column chromatography) as well as HPLC. Structures were elucidated by physicochemical characteristics and spectral data. **Results** One new flavanoid compound was isolated from supercritical fluid extract of *R. rubescens*, and it was elucidated as 3'-hydroxy-2',4'-dimethoxy-flav-3-ene (1). **Conclusion** Compound 1 is a new flavanoid, named as rubescenane A.

Key words: *Rabdosia rubescens* (Hemsl.) Hara; supercritical CO₂ extraction; flavanoids; 3'-hydroxy-2',4'-dimethoxy-flav-3-ene; rubescenane A

冬凌草为唇形科 (Labiatae) 植物碎米桠 *Rabdosia rubescens* (Hemsl.) Hara 的干燥地上部分, 又名碎米桠、冰凌草、破血丹等, 广泛分布于黄河流域及以南的广大地区, 以河南省为主产地。小灌木, 高 30~100 cm。生于山坡、灌丛、林地及路边等向阳处, 海拔 100~2 800 m^[1]。《中国药典》2015 年版记载其味苦甘, 性微寒; 有清热解毒、活血止痛的功用。在河南民间其常用于治疗急、慢性咽炎, 支气管炎、扁桃体炎等炎症和虫蛇咬伤^[2]。

现代研究表明冬凌草中主要含有二萜类化合物^[3-8], 尤其是以冬凌草甲素为代表的对映贝壳杉烷型二萜表现出较强的抗肿瘤活性^[8-17]。本实验首次对冬凌草的 CO₂ 超临界提取物进行分离纯化, 从中得到 1 个新的黄烷类化合物, 鉴定为 3'-羟基-2',4'-二甲氧基-3-烯-黄烷 (3'-hydroxy-2',4'-dimethoxy-flav-3-ene, 1), 命名为冬凌烷 A。

1 仪器和材料

SPE 24×2-(32) 超临界萃取装置, 紫外/可见光

收稿日期: 2019-01-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81503224)

作者简介: 张彦焘 (1984—), 男, 河南汝州人, 讲师, 硕士, 研究方向为中药资源开发与研究。E-mail: zhangyantao333@163.com

*通信作者 吴鹏 Tel: (020)389358647 E-mail: wupeng@gzucm.edu.cn

谱仪 JASCO V-550; 红外光谱仪 JASCO FI/IR-480 Plus Fourier Transform; BRUKER AV-400 型 (瑞士 Bruker 公司); LC-6AD 半制备液相色谱仪 (岛津企业管理有限公司); 1290 超高效液相色谱仪 (美国安捷伦科技公司); COSMOSIL PACKED COLUMN 5PYE (250 mm×10 mm, Nacalai Tesque 公司); 6540 四级杆串联飞行时间质谱 (美国安捷伦科技公司); KQ5200B 型超声波清洗器 (广州浩瀚仪器有限公司); 电子分析天平 [梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司]。

ODS (日本 YMC 公司生产); MCI GELCHP20P (三菱化学公司) 柱色谱与薄层色谱用硅胶 (均由青岛海洋化工厂生产); 色谱级乙腈 (美国默克公司); 色谱级甲醇 (山东禹王公司产品); 所有分析试剂均来自天津大茂公司产品。

冬凌草购于安徽普仁中药饮片有限公司, 产地河南, 生产批号 151112, 生产日期 2015 年 11 月 12 日, 生产许可证号皖 20130318。经广东药科大学刘基柱副教授鉴定为碎米桠 *Rabdosia rubescens* (Hemsl.) Hara 的干燥地上部分, 样本现保存于广州中医药大学国际中医药转化医学研究所。

2 提取与分离

将 14.0 kg 干燥冬凌草粉碎, 过 20 目筛, 以料液比 1:1.5 的配比加入夹带剂 (90% 乙醇水) 21.0 L, 充分混匀。然后采用 SPE 24×2-(32) 超临界萃取装置进行 CO₂ 萃取, 提取条件: 压力 30 MPa, 提取温度 50 °C, 提取时间为 3 h。50 °C 下减压浓缩提取液, 得到粗浸膏 445.16 g。

取 423.19 g 浸膏经硅胶柱色谱, 先以石油醚-醋酸乙酯 (200:1→5:1) 梯度洗脱, 然后以 100% 甲醇洗脱, 得到 4 个流分 Fr. A~D。Fr. B (59.3 g) 先经 MCI 柱色谱 (甲醇-水 70%~100% 洗脱), 得到 Fr. B1~B4, 将 Fr. B1 (1.79 g) 经 ODS 开放柱色谱, 甲醇-水 (70%~100%) 洗脱, 得到 Fr. B1-1~B1-5, Fr. B1-2 再经制备型 HPLC (甲醇-水 73%~27% 洗脱) 得到化合物 **1** (5.5 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色无定形粉末, 易溶于氯仿, 薄层色谱展开后喷 10% 浓硫酸乙醇, 显墨绿色。HR-ESI-MS m/z : 285.111 3 [M+H]⁺ (计算值 285.112 7, C₁₇H₁₇O₄), 提示化合物 **1** 的分子式为 C₁₇H₁₆O₄。UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 204; IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 347, 2 941, 1 725, 1 609, 1 485, 1 286, 1 222, 1 092, 提示该化合

物含有苯环和羟基。旋光数据为 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +1.1^{\circ}$ (c 0.1, CH₃OH)。

化合物 **1** 的 ¹H-NMR 谱 (表 1) 中显示 1 组邻位芳香环质子信号 δ_{H} 6.62 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-5'), 6.96 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-6'), 存在 1 个四取代苯环。¹H-NMR 谱中还显示有 4 个芳香环质子信号 δ_{H} 7.08 (1H, t, J = 7.7 Hz, H-7), 7.00 (1H, d, J = 7.4 Hz, H-5), 6.85 (1H, t, J = 7.4 Hz, H-6), 6.74 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-8), 根据峰的裂分和偶合常数表明这 4 个氢质子信号组成了 ABCD 自旋体系, 为 1 个邻位二取代的苯环, 同时在 ¹H-¹H COSY 谱中能观察到这 4 个氢质子信号依次有相关。另外 ¹H-NMR 谱显示 1 组自旋偶合体系 δ_{H} 6.54 (1H, d, J = 9.8 Hz, H-4), 6.24 (1H, brs, H-2), 5.75 (1H, dd, J = 9.8, 3.1 Hz, H-3), 提示存在 1 个环内顺式双键, 同时在 ¹H-¹H COSY 谱 (图 1) 中能观察到这 3 个氢质子信号依次有相关。此外, ¹H-NMR 谱中还显示了 1 个羟基氢质子信号 δ_{H} 5.56 (s, 1H, 3-OH)、2 个甲氧基信号 δ_{H} 3.98 (3H, s,

表 1 化合物 **1** 的 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据 (400/100 MHz, CDCl₃)

Table 1 ¹H-NMR and ¹³C-NMR data of compound **1** (400/100 MHz, CDCl₃)

碳位	δ_{C}	δ_{H}	HMBC
2	71.6	6.24 (1H, brs)	—
3	124.9	5.75 (1H, dd, J = 9.8, 3.1 Hz)	C-10
4	124.0	6.54 (1H, d, J = 9.8 Hz)	C-5
5	126.6	7.00 (1H, d, J = 7.4 Hz)	C-4, 7, 9
6	121.1	6.85 (1H, t, J = 7.4 Hz)	C-8, 10
7	129.4	7.08 (1H, t, J = 7.7 Hz)	C-5, 9
8	116.1	6.74 (1H, d, J = 8.0 Hz)	C-6, 9
9	153.3	—	—
10	121.6	—	—
1'	126.8	—	—
2'	144.8	—	—
3'	138.7	—	—
4'	148.0	—	—
5'	106.4	6.62 (1H, d, J = 8.6 Hz)	C-1', 3', 4'
6'	118.8	6.96 (1H, d, J = 8.6 Hz)	C-2, 2', 4'
3'-OH	—	5.56 (1H, s)	C-2', 3', 4'
2'-OCH ₃	61.6	3.98 (3H, s)	C-2'
4'-OCH ₃	56.3	3.87 (3H, s)	C-4'

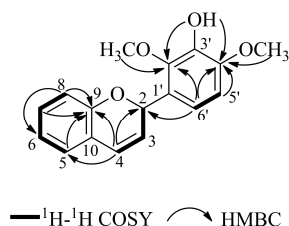


图1 化合物1的重要¹H-¹H COSY和HMBC相关
Fig. 1 Key ¹H-¹H COSY and HMBC correlations of compound 1

2'-OMe), 3.87 (3H, s, 4'-OMe), HSQC谱上显示没有碳信号与羟基质子直接相连。¹³C-NMR谱中共显示17个碳信号,包括12个芳香碳信号、2个烯碳信号、1个连氧碳信号 δ_C 71.6、2个甲氧基碳信号 δ_C 61.6和56.3。

HMBC谱(图1)显示 δ_H 5.56 (OH)与 δ_C 144.8 (C-2'), δ_C 138.7 (C-3')和 δ_C 148.0 (C-4')均有相关, δ_H 3.98 (2'-OCH₃)与 δ_C 144.8 (C-3')相关, δ_H 3.87 (4'-OCH₃)与 δ_C 148.0 (C-4')相关,提示2个甲氧基和羟基分别取代在2'、4'和3'位。HMBC谱还显示 δ_H 6.54 (H-4)和 δ_H 6.96 (H-6')都与 δ_C 71.6 (C-2)有相关,表明双键处于3、4位,B芳环取代在2位。其余H-4与C-5和C-9相关,H-8与C-6和C-9相关,H-6'与C-2'和C-4'相关,进一步证实了化合物1的结构。由于C-2存在手性中心,根据旋光值与圆二色光谱测试结果,提示该化合物为1对映异构体,即为外消旋体。

综上,确定化合物1为3'-羟基-2',4'-二甲氧基-3-烯-黄烷,1个新的黄烷类化合物,命名为冬凌烷A。

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, 1977.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [3] Han Q B, Lu Y, Zhang L L, et al. Novel ent-kaurane dimers from *Isodon rubescens* var. *rubescens* [J]. *Tetrahedron Lett*, 2004, 45(13): 2833-2837.
- [4] Huang S X, Xiao W L, Li L M, et al. Bisrubescensins A-C: Three new dimeric ent-kauranoids isolated from *Isodon rubescens* [J]. *Org Lett*, 2006, 8(6): 1157-1160.
- [5] Bai N S, He K, Zhu Z, et al. Ent-kaurane diterpenoids from *Rabdosia rubescens* and their cytotoxic effects on

human cancer cell lines [J]. *Planta Med*, 2010, 76(2): 140-145.

- [6] Zhang H B, Du X, Pu J X, et al. Two novel diterpenoids from *Isodon rubescens* var. *lushanensis* [J]. *Tetrahedron Lett*, 2010, 51(32): 4225-4228.
- [7] Zhou J, Pan L T, Li Q J, et al. Rubesanolides C-E: Abietane diterpenoids isolated from *Isodon rubescens* and evaluation of their anti-biofilm activity [J]. *Org Biomol Chem*, 2012, 10(26): 5039-5044.
- [8] Xie R J, Yan F L, Hai G F, et al. Two new diterpenoids and other constituents from *Isodon rubescens* [J]. *Fitoterapia*, 2011, 82(4): 726-730.
- [9] 段浩清, 李绵洋, 高 丽, 等. 冬凌草甲素对多发性骨髓瘤抗肿瘤的机制研究 [J]. 中国实验血液学杂志, 2014, 22(2): 364-369.
- [10] 王 健, 周 雯, 宋秀宇, 等. 冬凌草甲素对人肺癌 A549 和 PC-9 细胞侵袭的抑制作用和机制研究 [J]. 天津医药, 2015, 43(9): 965-969.
- [11] 高成伟, 李文强. 冬凌草甲素通过抑制 COX-2 表达及 PGE2 合成降低人胃癌 HGC-27 细胞侵袭能力的研究 [J]. 临床急诊杂志, 2016, 17(8): 625-627.
- [12] Gao F, Tang Q, Yang P, et al. Apoptosis inducing and differentiation enhancement effect of oridonin on the all-trans-retinoic acid-sensitive and-resistant acute promyelocytic leukemia cells [J]. *Int J Lab Hem*, 2010, 32: e114-e122.
- [13] Jin H Y, Tan X Z, Liu X F, et al. Down regulation of *AP-1* gene expression is an initial event in the oridonin-mediated inhibition of colorectal cancer: Studies *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Gastroen Hepatol*, 2011, 26(4): 706-715.
- [14] Liu H, Qian C L, Shen Z Y. Anti-tumor activity of oridonin on SNU-5 subcutaneous xenograft model via regulation of c-Met pathway [J]. *Tumor Biol*, 2014, 35(9): 9139-9146.
- [15] Wu J, Ding Y, Chen C H Z, et al. A new oridonin analog suppresses triple-negative breast cancer cells and tumor growth via the induction of death receptor 5 [J]. *Cancer Lett*, 2016, 380(2): 393-402.
- [16] Zhang Y Y, Jiang H Y, Liu M, et al. Bioactive ent-kaurane diterpenoids from *Isodon rubescens* [J]. *Phytochemistry*, 2017, 143: 199-207.
- [17] 李春雨, 王 琪, 申 坤, 等. 冬凌草甲素对人黑色素瘤 A375 细胞侵袭和转移的影响及机制研究 [J]. 中草药, 2018, 49(3): 658-662.