

甘西鼠尾草中化学成分研究

杨立新¹, 李杏翠¹, 刘超¹, 肖磊¹, 秦德华², 陈若芸^{1*}

(1. 中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 北京 100050;

2. 中国医学科学院、北京协和医学院医药生物技术研究所, 北京 100050)

摘要: 为了研究甘西鼠尾草的化学成分与生物活性之间的相关性, 采用硅胶、Sephadex LH-20、RP-C₁₈ (reverse phase C-18) 等色谱方法进行分离纯化, 通过核磁共振、质谱等波谱分析技术鉴定化合物结构。从甘西鼠尾草的 95% 乙醇提取物中分离鉴定了 11 个化合物, 分别为 przewalskin Y-1 (1)、anhydride of tanshinone- II A (2)、sugiol (3)、epicryptoacetalide (4)、cryptoacetalide (5)、arucadiol (6)、1-dehydromiltirone (7)、miltirone (8)、cryptotanshinone (9)、tanshinone- II A (10) 和 isotanshinone- I (11)。其中化合物 1 为新化合物, 化合物 4 和 5 为一对对映异构体 (1 : 3), 化合物 4、5、6、8、11 为首次从甘西鼠尾草中分离得到。

关键词: 鼠尾草属; 甘西鼠尾草; 二萜类化合物

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2011) 07-0818-04

Chemical constituents from *Salvia przewalskii* Maxim

YANG Li-xin¹, LI Xing-cui¹, LIU Chao¹, XIAO Lei¹, QIN De-hua², CHEN Ruo-yun^{1*}

(1. State Key Laboratory of Bioactive Substances and Functions of Natural Medicines, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050; 2. Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: The investigation on *Salvia przewalskii* Maxim was carried out to find the relationship of the constituents and their pharmacological activities. The isolation and purification were performed by various chromatographies such as silica gel, Sephadex LH-20, RP-C₁₈ column chromatography, etc. Further investigation on the fraction of the 95% ethanol extract of *Salvia przewalskii* Maxim yielded przewalskin Y-1 (1), anhydride of tanshinone- II A (2), sugiol (3), epicryptoacetalide (4), cryptoacetalide (5), arucadiol (6), 1-dehydromiltirone (7), miltirone (8), cryptotanshinone (9), tanshinone II A (10) and isotanshinone- I (11). Their structures were elucidated by the spectral analysis such as NMR (Nuclear Magnetic Resonance) and MS (Mass Spectrometry). Compound 1 is a new compound. Compounds 4 and 5 are mirror isomers (1 : 3). Compounds 4, 5, 6, 8, 11 were isolated from *Salvia przewalskii* Maxim for the first time.

Key words: genus *Salvia*; *Salvia przewalskii* Maxim; diterpenoid

甘西鼠尾草 (*Salvia przewalskii* Maxim) 为鼠尾草属植物, 民间多用其根入药, 即藏药红秦艽, 四川以其作为秦艽的代用品, 云南用作丹参代用品^[1]。经药理活性筛选发现, 甘西鼠尾草 95% 乙醇提取物的

石油醚部分表现出较强的血清诱导血管平滑肌细胞增殖的抑制活性, 对该部分进行分离得到 11 个化合物, 经波谱分析分别鉴定为: przewalskin Y-1 (1)、anhydride of tanshinone- II A (2)、sugiol (3)、epicryptoacetalide (4)、cryptoacetalide (5)、arucadiol (6)、1-dehydromiltirone (7)、miltirone (8)、cryptotanshinone (9)、tanshinone- II A (10) 和 isotanshinone- I (11), 其中化合物 1 为新化合物。

收稿日期: 2011-02-15.

基金项目: 国家科技重大专项资助项目 (2009ZX09308-001).

*通讯作者 Tel: 86-10-83161622, Fax: 86-10-63017757,

E-mail: rych@imm.ac.cn

结果与讨论

化合物 1 黄红色针晶, mp 188~189 °C, $[\alpha]_D^{20} +28.07$ (c 0.27, CHCl_3)。紫外光谱在 246 (1.822 3), 320 (1.114 2), 357 (1.119 1), 371 (1.117 6) nm 处分别有最大吸收, 提示分子中有共轭系统。红外光谱显示含羟基 ($3\ 219\ \text{cm}^{-1}$)、共轭结构 ($1\ 565, 1\ 467\ \text{cm}^{-1}$)。HR-ESI-MS m/z : 287.200 8 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd. 287.200 6), 确定化合物 **1** 的分子式为 $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_2$ 。化合物 **1** 的 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) 和 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) 谱数据 (表 1) 与已知化合物 *multipolone*^[2]相似, 但化合物 **1** 没有出现位于 *multipolone* 的 5、7 之间的亚甲氧基桥信号, 但多出一个甲基氢信号 δ 1.24 (3H, s, CH_3 -16)、两个位于苄位的亚甲基上的氢信号 δ 2.94 (2H, m, H-7)。碳谱显示出甲基碳信号 δ 23.5 (C-16)、苄位亚甲基碳信号 δ 35.4 (C-7)。HR-ESI-MS 给出 $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_2$ 的分子式, 通过计算得出不饱和度为 7。再通过 HMBC 谱 (图 1), 确定了该化合物的结构。

在 NOESY 谱中, 当照射 δ 0.93 (s, Me-17) 时, δ 1.22 (s, H-5) 有增益, δ 1.24 (s, Me-16) 无变化; 当照射 δ 0.96 (s, Me-18) 时, δ 1.24 (s, Me-16) 有增益, δ 1.22 (s, H-5) 无变化。由此得出 Me-17 与 H-5 在同侧, Me-18 与 Me-16 同侧。另一方面化合物 **1** 旋光测定为 $[\alpha]_D^{20} +28.07$ (c 0.27, CHCl_3), 而自然界存在的 *przewalskin K* 的 $[\alpha]_D^{20} +40.8$ (c 0.20, CH_3Cl)^[3], 由此证明 C-10 的构型为 *S*, Me-17 相对构型为 α , Me-18、Me-16 相对构型为 β , H-5 相对构型为 α 。综上所述, 化合物 **1** 的结构鉴定为如图 1 所示, 命名为 *przewalskin Y-1*。

化合物 4 和 5 在 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱中均显示为两个化合物, 但是在薄层色谱与 HPLC 液相色谱中分别为单一点和孤立峰, 经试验, 常规反相色谱柱不能将其分离。改用正相手性色谱柱 Chiralpak AD-H (DAICEL) 后, 在流动相为 20% 异丙醇-正己烷、检测波长为 280 nm 的 Agilent 1100/1200 高效液

Table 1 ^1H NMR and ^{13}C NMR data of **1** (300 MHz for H, 100 MHz for C, in CDCl_3)

No.	δ_{H}	δ_{C}	No.	δ_{H}	δ_{C}
1	2.35 (m), 1.35 (m)	39.1	11	7.64 (s)	117.7
2	1.72 (m), 1.74 (m)	19.3	12		174.6
3	1.46 (m), 1.18 (m)	41.0	13		160.6
4		33.7	14		136.5
5	1.22 (s)	49.3	15	7.43 (s)	143.8
6	1.90 (m), 1.66 (m)	18.9	16	1.24 (s)	23.5
7	2.94 (m)	35.4	17	0.93 (s)	33.1
8		138.9	18	0.96 (s)	21.7
9		156.6	19	2.42 (s)	22.4
10		40.9			

相色谱的条件下得以分离, 保留时间分别为 6.6 min (化合物 **4**) 和 8.9 min (化合物 **5**)。

实验部分

熔点用 Boettius 显微熔点测定仪测定 (温度未校正); 紫外光谱用 Jasco V650 型分光光度仪测定; 红外光谱用 Nicolet 5700 型红外光谱仪测定 (显微镜透射法); 旋光用 Jasco P2000 型旋光仪测定; 核磁共振谱用美国 Varian 公司 Mercury-300 型, Mercury-400 型和 BRUKER AV500-III 型核磁共振仪测定 (TMS 为内标); ESI-MS 用 Agilent 1100 LC/MSD Trap SL 型液相色谱-质谱联用仪测定。Sephadex LH-20 为 Pharmacia 公司产品。柱色谱和薄层色谱硅胶均为青岛海洋化工厂产品。溶剂均为分析纯, 为北京化学试剂厂生产。甘西鼠尾草于 2005 年采自云南中甸, 由中国医学科学院药物研究所马林副研究员鉴定, 标本存于本所标本室 (标本号: ID-20925)。

1 提取与分离

甘西鼠尾草 11.75 kg, 粉碎, 95%乙醇回流提取 3 次, 每次 1 h, 回收乙醇得浸膏 1.3 kg。将浸膏溶于水中, 分别用石油醚、氯仿、乙酸乙酯和正丁醇萃取。石油醚部分 (172 g) 经硅胶柱色谱分离, 以石油醚-乙酸乙酯 (100:1~1:1) 梯度洗脱分为 15 个部分, 每个部分经反复硅胶柱色谱 (石油醚-乙酸乙酯)、Sephadex LH-20 分离, 得到化合物 **1** (305 mg)、**2** (7 mg)、**3** (8 mg)、**4** 和 **5** (1:3, 7 mg)、**6** (10 mg)、**7** (8 mg)、**8** (7 g)、**9** (4.1 g)、**10** (1.1 g) 和 **11** (9 mg)。

2 结构鉴定

化合物 1 黄红色针晶, mp 188~189 °C, $[\alpha]_D^{20} +28.07$ (c 0.27, CHCl_3)。UV (MeOH) λ_{max} nm: 246 (1.822 3), 320 (1.114 2), 357 (1.119 1), 371 (1.117 6)。IR $\nu_{\text{max}}\ \text{cm}^{-1}$: 3 219, 1 565, 1 467。HR-ESI-MS m/z :

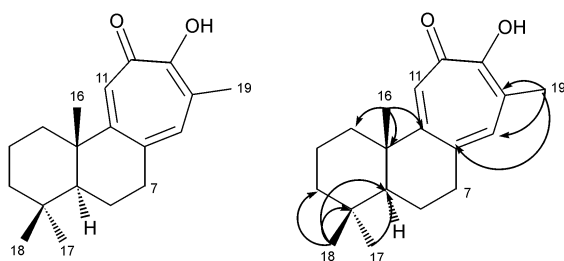


Figure 1 The structure and key HMBC correlations of compound **1**

287.200 8 $[M+H]^+$ (calcd. 287.200 6), 确定化合物 **1** 的分子式为 $C_{19}H_{26}O_2$ 。 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) 和 ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) 数据见表 1。

化合物 2 黄白色无定形固体, ESI-MS m/z : 311 $[M+H]^+$; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.52 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-6), 7.32 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-7), 7.07 (1H, s, H-16), 2.90 (2H, m, H-1), 2.17 (3H, s, Me-17), 1.81 (2H, m, H-2), 1.68 (2H, m, H-3), 1.25 (6H, s, Me-18 and Me-19); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 28.1 (C-1), 19.3 (C-2), 38.4 (C-3), 34.2 (C-4), 149.4 (C-5), 130.3 (C-6), 122.9 (C-7), 123.4 (C-8), 128.4 (C-9), 135.5 (C-10), 155.5 (C-11), 155.3 (C-12), 122.6 (C-13), 162.7 (C-14), 113.7 (C-15), 140.8 (C-16), 8.6 (C-17), 31.8 (C-18 and C-19)。以上数据与文献报道的 anhydride of tanshinone- II A^[3]基本一致, 故鉴定化合物 **2** 为 anhydride of tanshinone- II A。

化合物 3 黄色油状液体, ESI-MS m/z : 301 $[M+H]^+$; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.50 (1H, s, H-14), 7.33 (1H, s, H-11), 2.87 (1H, m, H-15), 2.84 (2H, m, H-6), 2.09 (1H, m, H_a-1), 1.95 (1H, m, H-5), 1.65 (2H, m, H-2), 1.45 (1H, m, H_b-1), 1.45 (2H, m, H-3), 1.18 (6H, d, $J = 6.4$ Hz, Me-16 and Me-17), 1.04 (3H, s, Me-20), 0.88 (3H, s, Me-19), 0.85 (3H, s, Me-18)。以上数据与文献报道的 sugiol^[4]一致, 故鉴定化合物 **3** 为 sugiol。

化合物 4 白色无定形固体, ESI-MS m/z : 287 $[M+H]^+$; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.64 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6), 7.22 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-7), 4.39 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, H-14b), 3.73 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, H-14a), 3.20 (2H, m, H-1), 2.86 (1H, m, H-15), 2.62 (1H, m, H-16a), 2.11 (1H, d, $J = 6.9$ Hz, H-16b), 1.87 (2H, m, H-2), 1.68 (2H, m, H-3), 1.25 (6H, s, Me-18 and Me-19), 1.21 (1H, d, $J = 6.6$ Hz, H-17); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 25.99 (C-1), 18.44 (C-2), 38.35 (C-3), 34.12 (C-4), 148.89 (C-5), 133.13 (C-6), 119.09 (C-7), 145.43 (C-8), 123.77 (C-9), 137.60 (C-10), 168.63 (C-11), 112.87 (C-13), 76.75 (C-14), 33.36 (C-15), 44.50 (C-16), 17.40 (C-17), 31.76 (C-18), 31.79 (C-19)。以上数据与文献报道的 epicryptoacetalide^[5]一致, 故鉴定化合物 **4** 为 epicryptoacetalide。

化合物 5 白色无定形固体, ESI-MS m/z : 287 $[M+H]^+$; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.64 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6), 7.22 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-7), 4.39 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, H-14a), 3.84 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, H-14b), 3.20 (2H, m, H-1), 2.91 (1H, m, H-15), 2.44 (1H, dd, $J = 6.6$ Hz, H-16b), 1.98 (1H, m, H-16a), 1.81 (2H, m, H-2), 1.68 (2H, m, H-3), 1.27 (6H, s, Me-18

and Me-19), 1.25 (3H, s, H-17); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 25.99 (C-1), 18.44 (C-2), 38.35 (C-3), 33.36 (C-4), 148.99 (C-5), 133.03 (C-6), 119.21 (C-7), 144.63 (C-8), 124.21 (C-9), 137.72 (C-10), 168.44 (C-11), 112.91 (C-13), 76.75 (C-14), 32.46 (C-15), 45.47 (C-16), 17.40 (C-17), 31.76 (C-18), 30.92 (C-19)。以上数据与文献报道的 cryptoacetalide^[5]一致, 故鉴定化合物 **5** 为 cryptoacetalide。

化合物 6 白色粉末, mp 152~153 °C, ESI-MS m/z : 299 $[M+H]^+$; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 10.64 (1H, s, OH-11), 7.94 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6), 7.32 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-7), 7.25 (1H, s, H-14), 6.88 (1H, s, OH-12), 3.43 (1H, m, H-15), 2.92 (2H, t, $J = 6.9$ Hz, H-2), 2.07 (2H, t, $J = 6.9$ Hz, H-3), 1.44 (6H, s, Me-18 and Me-19), 1.35 (3H, s, Me-16), 1.33 (3H, s, Me-17); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 204.4 (C-1), 36.3 (C-2), 35.5 (C-3), 36.1 (C-4), 127.8 (C-5), 138.1 (C-6), 120.3 (C-7), 125.3 (C-8), 145.0 (C-9), 158.3 (C-10), 137.7 (C-11), 120.2 (C-12), 136.6 (C-13), 118.7 (C-14), 27.7 (C-15), 22.3 (C-16), 29.7 (C-18)。以上数据与文献报道的 arucadiol^[6]一致, 故鉴定化合物 **6** 为 arucadiol。

化合物 7 黄红色无定形固体, mp 144~145 °C, ESI-MS m/z : 281 $[M+H]^+$; 1H NMR (400 MHz, acetone- d_6) δ : 7.82 (1H, d, $J = 10.4$ Hz, H-1), 7.64 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6), 7.36 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-7), 7.35 (1H, s, H-14), 6.32 (1H, m, H-2), 2.95 (1H, m, H-15), 2.29 (2H, dd, $J = 4.8$ Hz, H-3), 1.28 (6H, s, Me-18 and Me-19), 1.16 (6H, d, $J = 6.8$ Hz, Me-16 and Me-17)。以上数据与文献报道的 1-dehydromiltirone^[3]基本一致, 故鉴定化合物 **7** 为 1-dehydromiltirone。

化合物 8 红色油状物, ESI-MS m/z : 285 $[M+H]^+$; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.53 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-6), 7.32 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-7), 7.07 (1H, s, H-14), 3.02 (1H, m, H-15), 2.90 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-1), 1.81 (4H, m, H-2 and H-3), 1.25 (6H, s, Me-18 and Me-19), 1.16 (6H, d, $J = 6.9$ Hz, Me-16 and Me-17)。以上数据与文献报道的 miltirone^[6]一致, 故鉴定化合物 **8** 为 miltirone。

化合物 9 红色粉末, mp 196~197 °C, ESI-MS m/z : 297 $[M+H]^+$; 1H NMR (400 MHz, acetone- d_6) δ : 7.81 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6), 7.52 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-7), 4.96 (1H, t, $J = 9.6$ Hz, H-16b), 4.41 (1H, dd, $J = 9.6, 6.4$ Hz, H-16a), 3.54 (1H, m, H-15), 3.14 (2H, t, $J = 6.0$ Hz, H-1), 1.78 (2H, m, H-2), 1.67 (2H, m, H-3), 1.32 (3H, s, Me-17), 1.30 (6H, d, $J = 6.8$ Hz, Me-18 and Me-19)。以上数据与文献报道的 cryptotanshinone^[7]一致, 故鉴定化合物 **9** 为 cryptotanshinone。

化合物 10 红色粉末, mp 201~202 °C, ESI-MS m/z : 295 $[M+H]^+$. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.63 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6), 7.55 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-7), 7.22 (1H, s, H-16), 3.19 (2H, t, $J = 6.0$ Hz, H-1), 2.26 (3H, s, Me-17), 1.78 (2H, m, H-2), 1.64 (2H, m, H-3), 1.31 (6H, s, Me-18 and Me-19)。以上数据与文献报道的 tanshinone II A^[8]一致, 故鉴定化合物 **10** 为 tanshinone II A。

化合物 11 红色粉末, mp 189~190 °C, ESI-MS m/z : 265 $[M+H]^+$; 1H NMR (400 MHz, acetone- d_6) δ : 9.25 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-1), 8.51 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-6), 7.94 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-7), 7.66 (1H, s, H-16), 7.61 (1H, t, $J = 6.8, 8.8$ Hz, H-2), 7.45 (1H, d, $J = 6.8$ Hz, H-3)。以上数据与文献报道的 isotanshinone- I^[9]基本一致, 故鉴定化合物 **11** 为 isotanshinone- I。

References

- [1] Flora of China Editorial Board, Chinese Academy of Science. Flora Republicae Popularis Sinicae: Vol 66 (中国植物志: 第六十六卷) [M]. Beijing: Science Press, 1977: 70-71.
- [2] Luo HW, Li LL. Phytochemistry of Danshen, Cyclopedia of Danshen: Vol 2 (丹参大全第二卷 丹参植物化学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2008: 77-78.
- [3] Chang HM, Cheng KP, Choang TF. Structure elucidation and total synthesis of new tanshinones isolated from *Salvia miltiorrhiza* Bunge (Danshen) [J]. J Org Chem, 1990, 55: 3537-3543.
- [4] Marcos IS, Beneitez A, Moro RF, et al. Lateral lithiation in terpenes: synthesis of (+)-ferruginol and (+)-sugiol [J]. Tetrahedron, 2010, 66: 7773-7780.
- [5] Asari F, Kusumi T, Zheng GZ, et al. Cryptoacetalide and epicryptoacetalide, novel spiroactone diterpenoids from *Salvia miltiorrhiza* [J]. Chem Lett, 1990, 10: 1885-1888.
- [6] Hall CA, Cuppett SL, Dussault P. Hydrogen-donating mechanism of rosmariquinone, an antioxidant found in Rosemary [J]. J Am Oil Chem Soc, 1998, 75: 1147-1154.
- [7] Xue M, Shi YB, Cui Y, et al. Study on the chemical constituents from *Salvia przewalskii* Maxim [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 1999, 12: 27-32.
- [8] Luo HW, Sun XR, Niwa M. Diterpenoids from *Salvia paramiltiorrhiza* [J]. Heterocycles, 1994, 38: 2473-2479.
- [9] Luo HW, Li LL. Phytochemistry of Danshen, Cyclopedia of Danshen: Vol 2 (丹参大全第二卷 丹参植物化学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2008: 68.