

鹿蹄草中一个新的萘醌类化合物

任凤霞, 杨 郁, 张爱军, 张 杨, 赵毅民*

(军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850)

摘要: 为了研究鹿蹄草止血活性提取物的化学成分, 采用色谱方法对其进行了分离纯化。除一些已知成分外, 分离得到了一个新的萘醌衍生物, 通过理化性质和光谱数据分析, 鉴定为 2-(1, 4-二氢-2, 6-二甲基-1, 4-二氧代-3-萘基)-3, 4, 5-三羟基苯甲酸。

关键词: 鹿蹄草; 2-(1, 4-二氢-2, 6-二甲基-1, 4-二氧代-3-萘基)-3, 4, 5-三羟基苯甲酸; 萘醌

中图分类号: R284.2 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870 (2010) 08-1025-03

A new naphthaquinone derivative from *Pyrola calliantha* H. Andres

REN Feng-xia, YANG Yu, ZHANG Ai-jun, ZHANG Yang, ZHAO Yi-min*

(Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

Abstract: To investigate the chemical constituents of hemostatic extract of *Pyrola calliantha* H. Andres, the extract was subjected to chromatographic separation and purification. Along with some known compounds, a new naphthaquinone derivative was isolated and identified as 2-(1, 4-dihydro-2, 6-dimethyl-1, 4-dioxo-3-naphthalenyl)-3, 4, 5-trihydroxybenzoic acid by physicochemical and spectroscopic analysis.

Key words: *Pyrola calliantha*; 2-(1, 4-dihydro-2, 6-dimethyl-1, 4-dioxo-3-naphthalenyl)-3, 4, 5-trihydroxybenzoic acid; naphthaquinone

鹿蹄草 (*Pyrola calliantha* H. Andres) 属于鹿蹄草科 (Pyrolaceae) 鹿蹄草属 (*Pyrola* L.), 为多年生常绿草本植物, 主要分布于北半球的温带和寒温带地区, 我国是其主要分布区。该植物为中药鹿蹄草的基源之一, 具有祛风湿、强筋骨、止血等功能, 常用于治疗风湿痹痛, 腰膝无力, 月经过多, 久咳痰嗽等^[1]。据文献报道, 从该植物中曾分离得到黄酮、酚苷和醌类等化合物^[2-8]。作者在研究鹿蹄草的止血作用过程中发现, 其水提取物的正丁醇萃取部位具有较好的止血活性, 可以显著缩短小鼠凝血时间和出血时间, 在灌胃给药正丁醇萃取部位 25 mg·kg⁻¹ 时, 缩短率分别为 29.5% 和 45.7%。为明确其活性物质基础, 采用各种柱色谱方法从正丁醇萃取部位分离得

到了 9 个化合物, 经波谱分析分别鉴定为 2-(1, 4-二氢-2, 6-二甲基-1, 4-二氧代-3-萘基)-3, 4, 5-三羟基苯甲酸 (1)、高熊果酚苷 (2)、4-hydroxy-2-[(*E*)-4-hydroxy-3-methyl-2-butenyl]-5-methyl-phenyl β -*D*-glucopyranoside (3)、草夹竹桃苷 (4)、pisumionoside (5)、棕榈酸 (6)、棕榈酰基葡萄糖苷 (7)^[7]、鹿蹄草苷 B (8) 和 4-羟基-2, 7-二甲基萘基-1-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷 (9)^[8], 其中化合物 2~9 已经报道。化合物 1 经文献检索确定为一个新化合物, 现报道该化合物的结构解析和确证。鹿蹄草中的萘醌类化合物在结构上与维生素 K₃ 有相似性, 而维生素 K₃ 是临床上广泛使用的止血药。鹿蹄草的止血活性是否与此类化合物或其于动物体内的代谢产物相关, 有待累积化合物样品后实验证实。

化合物 1 淡黄色粉末, 易溶于甲醇; mp 153~156 °C。[α]_D²⁰ + 41.2 (c 0.023, CH₃OH)。HR-ESI-MS 给出 *m/z* 353.066 71 [M-H]⁻ (计算值为 353.066 68),

收稿日期: 2010-03-11.

基金项目: 国家重大新药创制科技重大专项 (2009ZX09301-002).

*通讯作者 Tel: 86-10-66931648, Fax: 86-10-68211656,

E-mail: Zhaoymin@nic.bmi.ac.cn

结合 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据确定该化合物分子式为 $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{O}_7$, 不饱和度为 13。IR (KBr) cm^{-1} 显示 3 195, 2 960, 2 920, 1 300, 1 695, 1 655 的吸收峰, 说明存在有羟基和羰基。 ^1H NMR 谱中可以看到位于 δ_{H} 9.59 (1H, s)、 δ_{H} 9.23 (1H, s) 及 δ_{H} 8.69 (1H, s) 的信号, 提示该化合物有 3 个酚羟基; 位于 δ_{H} 12.13 (1H, s) 的氢信号提示化合物有一个羧基; 根据位于 δ_{H} 7.86 (1H, d, $J = 8.0$ Hz)、 δ_{H} 7.90 (1H, br s) 和 δ_{H} 7.65 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz) 的氢信号, 推测分子内含有一个典型的 ABX 耦合质子信号, 表明该化合物有一个 1, 3, 4-三取代的芳环; ^1H NMR 在 δ_{H} 7.12 (1H, s) 处的单峰质子信号显示为一组五取代芳环上的氢信号; 此外, 在 ^1H NMR 高场区有两个甲基质子信号 [δ_{H} 1.78 (3H, s) 和 δ_{H} 2.51 (3H, s)]。 ^{13}C NMR 谱显示有 19 个碳信号, 包括 3 个羰基信号 (δ_{C} 168.6、 δ_{C} 184.4 和 δ_{C} 185.7), 14 个芳香碳信号, 2 个甲基碳信号。综合以上分析, 初步推测该化合物为连有一个五取代芳环的萘醌衍生物。

在 HMBC 中, 位于 δ_{H} 1.78 的甲基信号与 C-1' (δ_{C} 185.7)、C-2' (δ_{C} 145.3) 和 C-3' (δ_{C} 142.3) 相关, 表明该甲基连接在 2' 位; 间位氢 δ_{H} 7.90 与 C-4' (δ_{C} 184.4) 相关, 提示 ABX 耦合的 3 个质子位于 5'、7' 和 8' 位; 另一个甲基信号 δ_{H} 2.51 与 C-5' (δ_{C} 126.1)、C-6' (δ_{C} 144.4) 和 C-7' (δ_{C} 133.8) 相关, 表明该甲基连接在 6' 位, 这与上述 ABX 耦合体系相符; 综合以上信息, 推断化合物 1 中包含一个 2' 和 6' 位被甲基取代的萘醌片段, 萘醌的 3' 位与一个五取代芳环相连。

^{13}C NMR 谱除去萘醌结构片段后, 剩余信号与文献^[9, 10]对照, 发现除 C-2 位信号向低场位移外, 其余信号与没食子酸的波谱数据非常接近, 推断五取代芳环为没食子酸基团。在 HMBC 谱中, 单峰氢信号 δ_{H} 7.12 与 C-7 (δ_{C} 168.6)、C-5 (δ_{C} 144.8)、C-4 (δ_{C} 137.8) 和 C-2 (δ_{C} 115.9) 相关, 表明该质子为没食子酸 6 位氢信号, 证明没食子酸的 2 位与萘醌环的 3' 位以碳碳键连接。

根据以上数据, 确定该化合物结构为 2-(1, 4-二氢-2, 6-二甲基-1, 4-二氧代-3-萘基)-3, 4, 5-三羟基苯甲酸, 化学结构式及主要的 HMBC 相关见图 1, ^1H NMR, ^{13}C NMR 数据归属及 HMBC 谱相关信号见表 1。

实验部分

X4 型熔点仪 (温度未校正, 北京天地宇科技公

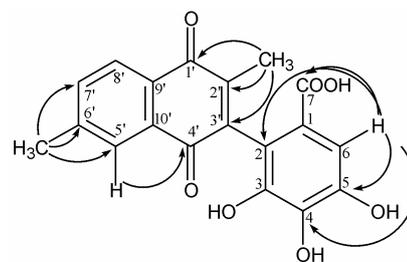


Figure 1 Key HMBC correlations of compound 1

Table 1 ^1H and ^{13}C NMR data of compound 1 (DMSO- d_6) (J in Hz)

No.	δ_{H}	δ_{C}	HMBC (H→C)
1		120.1	
2		115.9	
3		143.0	
4		137.8	
5		144.8	
6	7.12 (1H, s)	110.0	C-2, C-4, C-5, C-7
7		168.6	
1'		185.7	
2'		145.3	
3'		142.3	
4'		184.4	
5'	7.90 (1H, br s)	126.1	C-4', C-10', 6'-Me
6'		144.4	
7'	7.65 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$)	133.8	C-5'
8'	7.86 (1H, d, $J = 8.0$)	125.9	C-6', C-10'
9'		130.7	
10'		132.5	
2'-Me	1.78 (3H, s)	12.7	C-1', C-2', C-3'
6'-Me	2.51 (3H, s)	20.4	C-5', C-6', C-7'

司)。旋光用 PE Model 343 旋光仪测定 (美国 Perkin-Elmer 公司)。红外光谱用 Nicolet Manga 红外光谱仪测定, KBr 压片 (美国 Micmnicoleet 公司)。JNM ECA 400 型超导 NMR 仪 (日本电子株式会社)。质谱用 API 3000 质谱仪测定 (美国 ABI 公司)。HR-ESI-MS 用傅里叶变换质谱仪测定 (德国 Bruker 公司)。检测用薄层色谱硅胶 (青岛海洋化工有限公司)。Sephadex LH-20 (Pharmacia 公司), HP20 大孔树脂 (Diaion) (日本三菱株式会社)。所用试剂均为分析纯。药材购自陕西省太白县, 由军事医学科学院毒物药物研究所马其云高级实验师鉴定为鹿蹄草科 (Pyrolaceae) 鹿蹄草属 (*Pyrola* L.) 植物鹿蹄草 (*Pyrola calliantha* H. Andres), 标本存放于本所标本室。

1 提取分离

鹿蹄草全草 10 kg, 粉碎后用水回流提取 3 次,

提取液减压浓缩, 加适量水混悬, 依次用氯仿、乙酸乙酯和正丁醇萃取, 回收溶剂后得到正丁醇浸膏 62 g。

正丁醇部位用水溶解, 经过 HP 20 大孔树脂柱色谱, 乙醇-水 (0 : 100, 10 : 90, 20 : 80, 30 : 70, 40 : 60, 50 : 50, 100 : 0) 洗脱, 得到 Fr.1~Fr.7 七个部位。Fr.5 经过 LH 20 凝胶柱色谱, 甲醇-水 (3 : 7) 洗脱, 得到化合物 **1** (5 mg)。

2 结构鉴定

化合物 **1** 淡黄色粉末, mp 153~156 °C。[α]_D²⁰ + 41.2 (c 0.023, CH₃OH)。IR (KBr) cm⁻¹: 3 195, 1 695, 1 655, 1 599, 1 300, 1 221, 1 023, 995。¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) 和 ¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz) 数据见表 1。ESI-MS *m/z* 353 [M-H]⁻, 377 [M+Na]⁺; HR-ESI-MS *m/z* 353.066 71 [M-H]⁻ (C₁₉H₁₃O₇, 计算值为: 353.066 68)。

References

- [1] Jiangsu New Medical Colloge. Dictionary of Chinese Traditional Drugs (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1997: 2243.
- [2] Liu L, Chen YP, Tu PF, et al. Study on chemical constituents in herb *Pyrola calliantha* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2007, 32: 1762-1765.
- [3] Wang JX, Chen XM, Li H, et al. Study on the chemical constituents of *Pyrola calliantha* H. Andres [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 1991, 3: 1-5.
- [4] Shi J, Wang JX. Study on the chemical constituents of *Pyrola calliantha* [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2002, 14: 37-38.
- [5] Liu L, Li AL, Zhao MB, et al. Tetralones and flavonoids from *Pyrola calliantha* [J]. Chem Biodivers, 2007, 4: 2932-2937.
- [6] Chen YL, Tan CH, Tan JJ, et al. Two new isomeric α -tetralones from *Pyrola calliantha* [J]. Planta Med, 2008, 74: 1826-1828.
- [7] Ren FX, Zhang AJ, Zhao YM. Studies on chemical constituents of *Pyrola calliantha* H. Andres [J]. Pharm J Chin PLA (解放军药学报), 2008, 24: 301-304.
- [8] Ren FX, Zhang AJ, Zhao YM. Study on chemical constituents of *Pyrola calliantha* H. Andres [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2010, 22: 54-57.
- [9] Li G, Yang XH, Wang Y, et al. Isolation and structure identification of phenolic compounds from *Geum aleppicum* Jacq [J]. J Jilin Univ (Med ed) (吉林大学学报 医学版), 2006, 32: 196-198.
- [10] Kadota S, Takamori Y, Nyein KN, et al. Constituents of the leaves of *Woodfordia fruticosa* Kurz. I. Isolation, structure, and proton and carbon-13 nuclear magnetic resonance signal assignments of Woodfruticosin (Woodfordin C), an inhibitor of deoxyribonucleic acid topoisomerase II [J]. Chem Pharm Bull (Tokoyo), 1990, 38: 2687-2697.