红大戟中的蒽醌类化学成分

赵峰，王素娟*，吴秀丽，于洋，岳正刚，刘波，林生，
朱承根，杨永春，石建功*
(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)

[摘要] 目的:研究茜草科红芽大戟属植物红大戟根的化学成分,并对其在多种体外药理模型上进行了活性筛选。方法:运用硅胶、Sephadex LH-20 柱色谱和制备薄层色谱等方法进行分离和纯化,通过理化性质和 NMR,MS 等波谱数据鉴定化合物的结构;在细胞水平模型上,筛选化合物在抗氧化、抗 HIV、神经细胞保护及肿瘤细胞毒等方面的活性。结果:从 95% 乙醇提取物中分离鉴定了 21 个蒽醌类化合物,包括去甲虎刺醛(1)、1,3-二羟基-2-乙氧甲基-9,10-蒽醌(2)、甲基异茜草素(3)、虎刺醇(4)、1,3,5-三羟基-2-乙氧甲基-6-甲氧基-9,10-蒽醌(5)、3-羟基巴戟醌(6)、红大戟素(7)、1,3,5-三羟基-2-甲酰基-6-甲氧基-9,10-蒽醌(8)、芦西丁(9)、异茜草素(10)、1,3-二羟基-2-甲氧基-9,10-蒽醌(11)、1,3-二羟基-2-甲氧甲基-9,10-蒽醌(12)、1-羟基-2-羟甲基-9,10-蒽醌(13)、3-羟基-2-甲基-9,10-蒽醌(14)、3-羟基-1-甲氧基-2-甲基-9,10-蒽醌(15)、1,3-二羟基-2-乙氧甲基-6-甲氧基-9,10-蒽醌(16)、1,3,6-三羟基-2-甲基-9,10-蒽醌(17)、1,3-二羟基-2-羟甲基-6-甲氧基-9,10-蒽醌(18)、1,3,6-三羟基-2-甲氧甲基-9,10-蒽醌(19)、3,6-二羟基-2-羟甲基-9,10-蒽醌(20)和 1,6-二羟基-2-甲基-9,10-蒽醌(21)。在 1.0×10^{-5} mol·L^{-1} 浓度下,在肿瘤细胞(MTT 法,HCT-8,Bel7402,BGC-823,A549,A2780)、去血清和谷氨酸损伤神经细胞、Fe^{2+}-Cys 诱导大鼠肝微粒体丙二醛生成和小鼠腹腔巨噬细胞分泌 NO 模型,以及抗 HIV(VSVG/HIV-luc)和抗糖尿病(PTPB 酶抑制)模型上,以上化合物均未显示出显著活性。结论:化合物 9~21 为首次从本属植物中分离得到。

[关键词] 茜草科;红芽大戟属;红大戟;蒽醌;化学成分

红大戟 *Knoxia valerianoides* Thorel ex Pitard 为茜草科 Rubiaceae 红芽大戟属植物,多年生草本,分布于我国南部各省,主产于广西。该植物块根入药,微毒,有泻水逐饮、攻毒消肿散结的功效;主治胸腹积水、二便不利、痈肿疮毒、瘰疬痰核等症[1]。红芽大戟属药用植物主要有 2 种,即红大戟和红芽大戟[1],二者的名称和民间用法相似,由于在泻下、消肿及解毒等方面红大戟效果较好,因而被我国 2005 年版药典收载。本属植物的化学成分和药理活性研究较少,目前仅从红大戟中分离得到 12 个蒽醌类化合物[2-5],而从红芽大戟中主要得到了 6 个黄酮苷和 2 个色原酮苷[6-7],这可能是二者药理作用差异的原因。为了给 2010 年版药典修订提供红大戟质量控制的指标成分,同时,为现代多模型药理活性筛选提供丰富的植物代谢产物样品,作者对该植物乙醇提取物的化学成分进行较系统的研究,从中得到了 21 个蒽醌类化合物。本文报道该 21 个蒽醌的分离、结构鉴定和初步活性筛选结果。

1 材料

NMR 用 Varian Inova-500 和 SYS-600 核磁共振仪测定(溶剂峰信号作为参照);测定温度 297 K;质谱用 Micromass Autospec-Ultima ETOF 型或 JMS-J100CS AccuToF CS 型质谱仪测定;柱色谱硅胶为青岛海洋化工厂生产;制备及分析薄层色谱板为烟台江友硅胶发展有限公司生产;凝胶 Sephadex LH-20 为 Amersham Pharmacia 公司生产;Büchi Gradient Former B-687 型中压液相色谱仪,RP C_{18},43-60(Pharmacia 公司);Waters 600 高效液相色谱仪,Agilent HP1100 型高效液相色谱仪,RP C_{18}(10 μm,制备型;5 μm,半制备型和分析型);所用试剂均为分析纯或色谱纯。

红大戟药材购自河北省安国中药市场,于 2006 年采自云南大理,经中国医学科学院药物研究所马林副研究员鉴定为红大戟 *K. valerianoides*,标本现存于中国医学科学院药物研究所植物标本室,标本号为 HDJ070413。

[稿件编号] 20110524007
[基金项目] 国家自然科学基金项目(30825044,20932007);国家"重大新药创制"科技重大专项(2009ZX09311-004)
[通信作者] * 石建功,Tel:(010) 83154789,Fax:(010) 63017757,E-mail:shijg@imm.ac.cn;* 王素娟,副研究员,Tel:(010) 83154789

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2 提取与分离

红大戟的干燥块根 20 kg，粉碎后用 95% 乙醇超声提取 3 次，提取液合并，减压回收溶剂得浸膏 3.9 kg。浸膏分散于 4 L 水中，用等体积乙酸乙酯萃取 3 次，减压回收溶剂后得到乙酸乙酯萃取部分 400 g 和水溶部分 3.5 kg。

乙酸乙酯萃取部分(400 g)用硅胶柱(100～200 目，1.5 kg)柱色谱分离，石油醚-丙酮为流动相梯度洗脱，薄层色谱检测合并组成相似的洗脱液，浓缩后得到 9 个部分(Fr. 1～Fr. 9)。洗脱过程中析出橙红色针晶，氯仿反复洗涤得到化合物 **5**(21.7 mg)。Fr. 3(10 g)用硅胶(200～300 目，200 g)柱色谱分离，石油醚-乙酸乙酯为流动相梯度洗脱，薄层色谱检测，合并相似洗脱液得到 23 个组分。Fr. 3-9(0.2 g)用凝胶 Sephadex LH-20(100 g)柱色谱分离，用石油醚-氯仿-甲醇(5∶5∶1)洗脱，洗脱液放置析出橙黄色片状结晶，氯仿反复洗涤得到化合物 **1**(10.7 mg)。Fr. 3-20～Fr. 3-23 合并(3.1 g)，氯仿反复重结晶得到化合物 **2**(1.2 g)及化合物 **9**(3.2 mg)。

Fr. 4(15 g)用硅胶(100～200 目，300 g)柱色谱分离，石油醚-丙酮为流动相梯度洗脱，薄层色谱检测合并相似洗脱液，得到 26 个组分。洗脱过程中析出淡黄色固体，丙酮反复洗涤得到化合物 **15**(13.2 mg)。Fr. 4-4(0.12 g)和 Fr. 4-8(0.27 g)分别用凝胶 Sephadex LH-20(50 g，石油醚-氯仿-甲醇 5∶5∶1)柱色谱分离，制备薄层色谱纯化(石油醚-乙酸乙酯 10∶1)得到化合物 **11**(3.1 mg)和 **12**(4.8 mg)。Fr. 4-15(0.16 g)用凝胶 Sephadex LH-20(100 g，石油醚-氯仿-甲醇 5∶5∶1)柱色谱分离，合并相似洗脱液得到 3 个部分。Fr. 4-15-2(30 mg)用制备薄层色谱纯化(石油醚-氯仿 10∶1.5)得到化合物 **16**(10.6 mg)；Fr. 4-15-2(20 mg)用 HPLC 半制备色谱分离(C_{18}，5 μm，10 mm×250 mm，甲醇-水 85∶15)得到化合物 **14**(2.3 mg)和 **3**(5.7 mg)。Fr. 4-20(0.67 g)用凝胶 Sephadex LH-20(100 g，石油醚-氯仿-甲醇 5∶5∶1)柱色谱分离得到 20 个组分。洗脱液 Fr. 4-20-2 析出橙红色絮状沉淀，过滤后氯仿反复洗涤得到化合物 **8**(20.3 mg)。洗脱液 Fr. 4-20-18 析出橙黄色针晶，丙酮反复洗涤得到化合物 **10**(4.8 mg)。Fr. 4-20-8(50.2 mg)用 HPLC 半制备色谱分离(C_{18}，5 μm，10 mm×250 mm，甲醇-水 90∶10)得到化合物 **21**(4.5 mg)。Fr. 4-26(2.0 g)用凝胶 Sephadex LH-20(100 g，石油醚-氯仿-甲醇 5∶5∶1)柱色谱分离，薄层色谱检测合并相似洗脱液得到 4 个小部分。Fr. 4-26-1(11.2 mg)用制备薄层色谱纯化(石油醚-丙酮 4∶1)得到化合物 **13**(5.9 mg)。

Fr. 5(24 g)用硅胶(100～200 目，400 g)柱色谱分离，石油醚-丙酮为流动相梯度洗脱得到 60 个组分。Fr. 5-21～Fr. 5-43(10 g)合并后用 MPLC 制备色谱分离(C_{18}，43～60 μm，50 mm×500 mm，甲醇-水)梯度洗脱，薄层色谱检测合并相似洗脱液得到 7 个小部分(Fr. 5-21-1～Fr. 5-21-7)。洗脱过程中析出淡黄色和橙红色固体，分别经凝胶 Sephadex LH-20(100 g，氯仿-甲醇 1∶1)纯化得到化合物 **4**(300 mg)，**6**(400 mg)，**7**(320 mg)。Fr. 5-21-7(1.2 g)经凝胶 Sephadex LH-20(100 g，氯仿-甲醇 1∶1)分离得到化合物 **19**(4.3 mg)。

Fr. 6(30 g)用硅胶(100～200 目，700 g)柱色谱分离，氯仿-甲醇流动相梯度洗脱，薄层色谱检测合并相似洗脱液得到 7 个小部分。Fr. 6-2(0.82 g)经凝胶 Sephadex LH-20(100 g，氯仿-甲醇 1∶1)分离，薄层色谱检测，合并相似洗脱液得到 6 个小部分，Fr. 6-2-1(14.6 mg)用制备薄层色谱纯化(石油醚-丙酮 21)得到化合物 **17**(1.2 mg)。Fr. 6-3(0.91 g)经凝胶 Sephadex LH-20(100 g，氯仿-甲醇 1∶1)分离，薄层色谱检测，合并相似洗脱液得到 12 个小部分。Fr. 6-3-1(15.0 mg)用制备薄层色谱纯化(氯仿-甲醇 20∶1)得到化合物 **18**(2.7 mg)。Fr. 6-4(0.77 g)经凝胶 Sephadex LH-20(100 g，氯仿-甲醇 1∶1)分离，薄层色谱检测合并相似洗脱液得到 6 个小部分。Fr. 6-4-2(58 mg)经 HPLC 半制备色谱分离(甲醇-水 64∶36)得到化合物 **20**(9.5 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1 橙黄色片状结晶($CHCl_3$)，mp 202 ℃；IRγ_{max} 3 381，2 917，1 849，1 673，1 632，1 588，1 572，1 470，1 412，1 381，1 279，1 260，1 195，1 144，931，904，835，786，718，627 cm^{-1}；ESI-MS *m/z* 267 $[M-H]^-$；^{1}H-NMR($CDCl_3$，500 MHz) δ：7.34(1H，s，H-4)，8.30(1H，dd，*J* = 8.0，1.5 Hz，H-5)，7.84(2H，m，H-6，7)，8.33(1H，dd，*J* = 8.0，1.5 Hz，H-8)，10.51(1H，s，H-11)，14.02(1H，s，1-OH)，12.68(1H，s，3-OH)；^{13}C-NMR($CDCl_3$，125 MHz) δ：169.2(C-1)，112.1(C-2)，168.1(C-3)，109.4(C-4)，139.5(C-4a)，127.8(C-5)，134.8(C-6)，134.7(C-

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

7), 127.0(C-8), 133.2(C-8a), 186.8(C-9), 109.1(C-9a), 181.4(C-10), 133.3(C-10a), 193.9(C-11)。以上 ^{1}H-NMR 数据与文献[3]报道的去甲虎刺醛(nordamnacanthal)的数据一致,并通过与该植物同时分离得到的类似化合物的数据进行比较对其 ^{13}C-NMR数据进行了归属。

化合物 2 黄色无定型粉末; ESI-MS *m/z* 297 [M-H]$^-$; ^{1}H-NMR(CDCl$_3$, 500 MHz) δ: 7.28(1H, s, H-4), 7.77(2H, m, H-6, 7), 8.25(2H, dd, *J* = 7.0, 2.5 Hz, H-5, 8), 4.96(2H, s, H$_2$-11), 13.26(1H, s, 1-OH), 9.62(1H, s, 3-OH), 3.74(2H, q, *J* = 6.5 Hz, 11-OCH$_2$CH$_3$), 1.34(3H, t, *J* = 6.5 Hz, 11-OCH$_2$CH$_3$); ^{13}C-NMR(CDCl$_3$, 125 MHz) δ: 164.2(C-1), 117.2(C-2), 161.8(C-3), 109.8(C-4), 133.6(C-4a, 8a, 10a), 127.3(C-5), 134.1(C-6, 7), 126.7(C-8), 186.9(C-9), 114.6(C-9a), 182.2(C-10), 67.6(C-11), 67.0(11-OCH$_2$CH$_3$), 14.9(11-OCH$_2$CH$_3$)。以上数据与文献[3-4]报道的 1,3-二羟基-2-乙氧甲基-9,10 蒽醌(ibericin)的数据一致。

化合物 3 橙黄色针晶(丙酮), mp 249 ℃; IRγ_{max} 3 393, 1 661, 1 621, 1 589, 1 437, 1 404, 1 364, 1 341, 1 315, 1 122, 865, 829, 805, 744, 711 cm^{-1}; ESI-MS *m/z* 253 [M-H]$^-$; ^{1}H-NMR(DMSO-d_6, 500 MHz) δ: 7.27(1H, s, H-4), 8.14(1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-5), 7.88(1H, ddd, *J* = 8.0, 8.0, 2.0 Hz, H-6), 7.91(1H, ddd, *J* = 8.0, 8.0, 2.0 Hz, H-7), 8.20(1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-8), 2.08(3H, s, H$_3$-11), 13.12(1H, s, 1-OH), 11.24(1H, s, 3-OH); ^{13}C-NMR(DMSO-d_6, 125 MHz) δ: 162.8(C-1), 117.3(C-2), 162.4(C-3), 107.3(C-4), 133.0(C-4a), 126.7(C-5), 134.6(C-6), 134.5(C-7), 126.4(C-8), 131.8(C-8a), 186.3(C-9), 109.0(C-9a), 181.8(C-10), 132.9(C-10a), 8.1(C-11)。以上 ^{1}H-NMR 数据与文献[5,8-9]报道的甲基异茜草素(rubiadin)的数据一致,并通过与同时分离得到的类似化合物的数据比较对其 ^{13}C-NMR 数据进行了准确归属。

化合物 4 淡黄色针晶(CHCl$_3$-MeOH, 1∶1), mp 282 ℃; ESI-MS *m/z* 283 [M-H]$^-$; ^{1}H-NMR(DMSO-d_6, 500 MHz) δ: 7.52(1H, s, H-4), 8.11(1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5), 7.84(1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz, H-6), 7.90(1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz, H-7), 8.16(1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-8), 4.57(2H, s, H$_2$-11), 3.86(3H, s, 1-OCH$_3$), 11.16(1H, s, 3-OH); ^{13}C-NMR(DMSO-d_6, 125 MHz) δ: 161.6(C-1), 117.9(C-2, 9a), 162.1(C-3), 109.7(C-4), 135.3(C-4a), 126.6(C-5), 134.6(C-6), 133.3(C-7), 126.0(C-8), 128.8(C-8a), 180.0(C-9), 182.5(C-10), 132.0(C-10a), 52.1(C-11), 62.4(1-OCH$_3$)。以上数据与文献[3,10]报道的虎刺醇(damnacanthol)的数据一致。

化合物 5 橙红色针晶(CHCl$_3$), mp 196 ℃; IRγ_{max} 3 364, 2 970, 1 612, 1 475, 1 438, 1 372, 1 316, 1 277, 1 223, 1 046, 970, 821; EI-MS *m/z* 344 (M$^{+\cdot}$); ^{1}H-NMR(CDCl$_3$, 500 MHz) δ: 7.31(1H, s, H-4), 7.15(1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-7), 7.83(1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-8), 4.97(2H, s, H$_2$-11), 13.50(1H, s, 1-OH), 9.63(1H, s, 3-OH), 13.04(1H, s, 5-OH), 4.02(3H, s, 6-OCH$_3$), 3.74(2H, q, *J* = 6.5 Hz, 11-OCH$_2$CH$_3$), 1.35(3H, t, *J* = 6.5 Hz, 11-OCH$_2$CH$_3$); ^{13}C-NMR(CDCl$_3$, 125 MHz) δ: 163.7(C-1), 115.4(C-2), 161.9(C-3), 109.4(C-4, 9a), 133.8(C-4a), 154.1(C-5), 153.2(C-6), 115.6(C-7), 120.6(C-8), 125.1(C-8a), 185.6(C-9), 188.2(C-10), 116.0(C-10a), 67.6(C-11), 56.4(6-OCH$_3$), 67.1(11-OCH$_2$CH$_3$), 14.9(11-OCH$_2$CH$_3$)。以上数据确定与文献[3-4]报道 1,3,5-三羟基-2-乙氧甲基-6-甲氧基-9,10-蒽醌(2-ethoxymethylknoxiavaledin)的数据一致。

化合物 6 橙红色无定型粉末; IRγ_{max} 3 430, 1 639, 1 597, 1 581, 1 484, 1 421, 1 396, 1 308, 1 281, 1 221, 1 122, 1 060, 1 002, 894, 838, 771, 711, 624 cm^{-1}; ESI-MS *m/z* 285 [M-H]$^-$。^{1}H-NMR(DMSO-d_6, 500 MHz) δ: 7.22(1H, s, H-4), 7.16(1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-7), 7.59(1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-8), 2.03(3H, s, H$_3$-11), 13.38(1H, s, 1-OH), 11.00(2H, br s, 3, 6-OH), 12.62(1H, br s, 5-OH); ^{13}C-NMR(DMSO-d_6, 125 MHz) δ: 162.1(C-1), 115.9(C-2), 162.4(C-3), 106.9(C-4), 131.4(C-4a), 151.1(C-5), 152.7(C-6), 120.5(C-7), 120.8(C-8), 123.3(C-8a), 184.9(C-9), 108.8(C-9a), 188.0(C-10), 118.1(C-10a), 8.1(C-11)。以上 ^{1}H-NMR 数据与文献[2,8,11]报道的 3-羟基巴戟醌(3-hydroxymorindone)的数据一致,并通过与同时分离得到类似化合物的数据比较对其 ^{13}C-NMR 数据进行了归属。

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

化合物 7　橙红色无定型粉末; IRγ_{max} 3 420, 2 974, 1 598, 1 475, 1 462, 1 429, 1 378, 1 309, 1 277, 1 130, 1 107, 1 049, 786, 773, 712; EI-MS *m/z* 300 ($M^{+\cdot}$); ^{1}H-NMR (DMSO-d_6, 500 MHz,) δ: 7.23 (1H, s, H-4), 7.43 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-7), 7.75 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-8), 3.95 (3H, s, H_3-11), 13.38 (1H, s, 1-OH), 11.22 (1H, br s, 3-OH), 12.77 (1H, s, 5-OH), 3.95 (3H, s, 6-OCH_3); ^{13}C-NMR (DMSO-d_6, 125 MHz) δ: 163.8 (C-1), 116.6 (C-2), 164.2 (C-3), 107.7 (C-4), 133.0 (C-4a), 155.1 (C-5), 162.8 (C-6), 119.8 (C-7), 121.3 (C-8), 125.7 (C-8a), 186.5 (C-9), 110.6 (C-9a), 189.4 (C-10), 117.2 (C-10a), 8.3 (C-11), 56.7 (6-OCH_3)。**以上**^{1}H-NMR **数据与文献**[2-3, 11]**报道的红大戟素**(knoxiadin)**的数据一致,并通过与同时分离得到类似化合物的数据比较对其**^{13}C-NMR **数据进行了准确归属**。

化合物 8　橙红色无定型粉末; ESI-MS *m/z* 313 [M - H]$^-$。^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.20 (1H, s, H-4), 7.35 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-7), 7.90 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-8), 14.35 (1H, s, 1-OH), 12.64 (1H, s, 3-OH), 12.84 (1H, s, 5-OH), 10.50 (1H, s, H-11)。**以上数据与文献**[3]**报道的** 1, 3, 5-**三羟基**-2-**甲酰基**-6-**甲氧基**-9, 10-**蒽醌**(2-formylknoxiavaledin) **的数据一致**。

化合物 9　淡黄色无定型粉末; IRγ_{max} 3 417, 2 864, 2 638, 1 662, 1 616, 1 591, 1 484, 1 440, 1 413, 1 334, 1 286, 1 240, 1 008, 987, 901, 824, 717, 618, 540; ESI-MS *m/z* 269 [M - H]$^-$; ^{1}H-NMR (DMSO-d_6, 500 MHz) δ: 7.24 (1H, s, H-4), 8.17 (2H, dd, *J* = 8.4, 2.5 Hz, H-5, 8), 7.90 (2H, m, H-6, 7), 4.53 (2H, s, H_2-11), 13.19 (1H, s, 1-OH), 11.27 (1H, s, 3-OH); ^{13}C-NMR (DMSO-d_6, 125 MHz) δ: 163.6 (C-1), 120.3 (C-2), 163.1 (C-3), 107.8 (C-4), 133.3 (C-4a), 126.7 (C-5), 134.6 (C-6), 134.5 (C-7), 126.4 (C-8), 132.9 (C-8a), 186.2 (C-9), 109.1 (C-9a), 181.8 (C-10), 133.0 (C-10a), 51.2 (C-11)。**以上数据与文献**[9, 12]**报道的芦西丁**(lucidin) **的数据一致**。

化合物 10　橙黄色针晶(丙酮), mp 282 ℃; IRγ_{max} 3 389, 2 921, 2 851, 1 670, 1 639, 1 590, 1 454, 1 412, 1 339, 1 310, 1 158, 860, 779, 712 cm^{-1}; EI-MS *m/z* 240 ($M^{+\cdot}$) ^{1}H-NMR (acetone-d_6, 500 MHz) δ: 6.69 (1H, d, *J* = 2.5 Hz, H-2), 7.28 (1H, d, *J* = 2.5 Hz, H-4), 8.23 (1H, dd, *J* = 7.0, 2.5 Hz, H-5), 7.92 (2H, m, H-6, 7), 8.29 (1H, dd, *J* = 7.0, 2.5 Hz, H-8), 12.84 (1H, s, 1-OH), 10.02 (1H, s, 3-OH); ^{13}C-NMR (acetone-d_6, 125 MHz) δ: 166.4 (C-1), 108.7 (C-2), 165.9 (C-3), 109.0 (C-4, 9a), 135.3 (C-4a), 127.8 (C-5), 135.2 (C-6, 7, 10a), 127.3 (C-8), 134.3 (C-8a), 187.5 (C-9), 182.7 (C-10)。**以上**^{1}H-NMR **数据与文献**[9]**报道异茜草素**(xanthopurpurin) **的数据一致,并通过与同时分离得到类似化合物的数据比较对其**^{13}C-NMR **数据进行了归属**。

化合物 11　淡黄色无定型粉末; IRγ_{max} 3 342, 2 923, 1 676, 1 648, 1 565, 1 446, 1 343, 1 261, 1 220, 1 190, 980, 768, 716 cm^{-1}; ESI-MS *m/z* 269 [M - H]$^-$; ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ: 7.70 (1H, s, H-4), 8.26 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-5), 7.78 (1H, dd, *J* = 7.0, 2.5 Hz, H-6), 7.84 (1H, dd, *J* = 7.0, 2.5 Hz, H-7), 8.31 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-8), 13.30 (1H, s, 1-OH), 10.48 (1H, s, 3-OH), 4.13 (3H, s, 2-OCH_3)。**以上数据与文献**[13]**报道的** 1, 3-**二羟基**-2-**甲氧基**-9, 10-**蒽醌**(1, 3-dihydroxy-2-methoxy-9, 10-anthraquinone) **的数据一致**。

化合物 12　淡黄色无定型粉末; ESI-MS *m/z* 283 [M - H]$^-$; ^{1}H-NMR (acetone-d_6, 600 MHz) δ: 7.32 (1H, s, H-4), 8.24 (1H, dd, *J* = 7.8, 1.2 Hz, H-5), 7.92 (1H, ddd, *J* = 7.8, 7.8, 1.2 Hz, H-6), 7.96 (1H, ddd, *J* = 7.8, 7.8, 1.2 Hz, H-7), 8.31 (1H, dd, *J* = 7.8, 1.2 Hz, H-8), 4.71 (2H, s, H_2-11), 13.36 (1H, s, 1-OH), 9.93 (1H, br s, 3-OH), 3.44 (3H, s, 11-OCH_3); ^{13}C-NMR (acetone-d_6, 125 MHz) δ: 164.7 (C-1), 117.5 (C-2), 164.5 (C-3), 108.7 (C-4), 134.4 (C-4a), 127.7 (C-5), 135.3 (C-6), 135.3 (C-7), 127.4 (C-8), 134.3 (C-8a), 187.8 (C-9), 110.6 (C-9a), 182.6 (C-10), 134.3 (C-10a), 64.2 (C-11), 58.7 (11-OCH_3)。**以上数据与文献**[9, 14]**报道的** 1, 3-**二羟基**-2-**甲氧甲基**-9, 10-**蒽醌**[lucidin (-methyl ether] **的数据一致**。

化合物 13　淡黄色无定形粉末; ESI-MS *m/z* 253 [M - H]$^-$; ^{1}H-NMR (acetone-d_6, 600 MHz) δ: 7.84 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-3), 8.01 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-4), 8.27 (1H, dd, *J* = 7.2, 2.4 Hz, H-5), 7.95 (1H, dd, *J* = 7.2, 2.4 Hz, H-6), 7.96 (1H, dd, *J* =

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

7.2,2.4 Hz,H-7),8.33(1H,dd,J=7.2,2.4 Hz,H-8),4.82(2H,s,H_2-11);^{13}C-NMR(acetone-d_6,125 MHz) δ: 160.0(C-1),132.7(C-2),134.5(C-3),119.7(C-4),139.1(C-4a),127.8(C-5),135.8(C-6),135.2(C-7),127.5(C-8),134.1(C-8a),190.1(C-9),132.7(C-9a),182.6(C-10),134.7(C-10a),59.0(C-11)。**以上**^{1}H-NMR **数据与文献**[14]**中 1-羟基-2-羟甲基-9,10-蒽醌**(digiferruginol)**的数据一致,并通过与同时分离得到类似化合物的数据比较对其**^{13}C-NMR **数据进行了归属**。

化合物 14　淡黄色针晶(丙酮),mp 203 ℃;IRγ_{max} 3 280,1 666,1 652,1 509,1 357,1 308,1 253,1 187,1 104,1 082,965,915,888,976,716,695 cm^{-1};ESI-MS m/z 237 [M-H]$^-$。^{1}H-NMR(acetone-d_6,500 MHz) δ: 8.03(1H,s,H-1),7.64(1H,s,H-4),8.20(1H,dd,J=8.0,2.0 Hz,H-5),7.86(1H,ddd,J=8.0,8.0,2.0 Hz,H-6),7.89(1H,ddd,J=8.0,8.0,2.0 Hz,H-7),8.23(1H,dd,J=8.0,2.0 Hz,H-8),2.37(3H,s,H_3-11),9.76(1H,s,3-OH);^{13}C-NMR(acetone-d_6,125 MHz) δ: 183.4(C-10),182.4(C-9),161.8(C-3),134.9(C-4a),134.6(C-7),134.5(C-6),133.0(C-10a),131.0(C-8a),127.5(C-9a),127.4(C-5),127.0(C-8),112.3(C-4),16.4(C-11)。**以上数据与文献**[15]**报道的 3-羟基-2-甲基-9,10-蒽醌**(3-hydroxy-2-methyl-9,10-anthraquinone)**的数据一致**。

化合物 15　淡黄色针晶($CHCl_3$-MeOH,1∶1),mp 220 ℃;IRγ_{max} 3 302,1 672,1 650,1 150,1 411,1 338,1 300,1 281,1 223,1 119,1 068,982,885,765,711 cm^{-1};ESI-MS m/z 267 [M-H]$^-$;^{1}H-NMR(DMSO-d_6,500 MHz) δ: 7.50(1H,s,H-4),8.09(1H,d,J=8.0 Hz,H-5),7.83(1H,dd,J=8.0,2.5 Hz,H-6),7.88(1H,dd,J=8.0,2.5 Hz,H-7),8.14(1H,d,J=8.0 Hz,H-8),2.15(3H,s,H_3-11),3.78(3H,s,1-OCH_3),11.09(1H,s,3-OH);^{13}C-NMR(DMSO-d_6,125 MHz) δ: 160.6(C-1),126.1(C-2),161.6(C-3),109.0(C-4),134.5(C-4a),126.0(C-5),133.3(C-6),134.5(C-7),126.6(C-8),132.0(C-8a),180.2(C-9),117.9(C-9a),182.6(C-10),133.7(C-10a),9.0(C-11),60.6(1-OCH_3)。**以上数据与文献**[16]**中 3-羟基-1-甲氧基-2-甲基-9,10-蒽醌**(rubiadin-1-methyl ether)**的数据一致**。

化合物 16　橙黄色针晶(丙酮),mp 186 ℃;ESI-MS m/z 327 [M-H]$^-$;^{1}H-NMR($CDCl_3$,500 MHz) δ: 7.28(1H,s,H-4),7.69(1H,d,J=2.5 Hz,H-5),7.24(1H,dd,J=8.5,2.5 Hz,H-7),8.20(1H,d,J=8.5 Hz,H-8),4.96(2H,s,H_2-11),13.39(1H,s,1-OH),9.56(1H,s,3-OH),3.97(3H,s,6-OCH_3),3.74(2H,q,J=6.5 Hz,11-OCH_2CH_3),1.34(3H,t,J=6.5 Hz,11-OCH_2CH_3);^{13}C-NMR($CDCl_3$,125 MHz) δ: 161.6(C-1),114.8(C-2),163.6(C-3),109.6(C-4),135.7(C-4a),110.3(C-5),164.4(C-6),121.0(C-7),129.1(C-8),126.8(C-8a),186.3(C-9),109.3(C-9a),182.3(C-10),134.0(C-10a),67.6(C-11),56.0(6-OCH_3),67.0(11-OCH_2CH_3),15.0(11-OCH_2CH_3)。**以上数据与文献**[17]**报道的 1,3-二羟基-2-乙氧甲基-6-甲氧基-9,10-蒽醌**(6-methoxylucidin(-ethyl ether)**的数据一致**。

化合物 17　橙黄色无定型粉末;ESI-MS m/z 269 [M-H]$^-$;^{1}H-NMR(acetone-d_6,500 MHz) δ: 7.33(1H,s,H-4),7.59(1H,d,J=1.5 Hz,H-5),7.29(1H,dd,J=8.0,1.5 Hz,H-7),8.18(1H,d,J=8.0 Hz,H-8),2.17(3H,s,H_3-11),13.39(1H,s,1-OH)。**以上**^{1}H-NMR **数据与文献**[12]**报道的 1,3,6-三羟基-2-甲基-9,10-蒽醌**(1,3,6-trihydroxy-2-methyl-9,10-anthraqui none)**的数据一致,并通过与同时分离得到类似化合物的数据比较对其**^{13}C-NMR **数据进行了归属**。

化合物 18　淡黄色无定型粉末;ESI-MS m/z 301 [M-H]$^-$;^{1}H-NMR(acetone-d_6,600 MHz) δ: 7.22(1H,s,H-4),7.65(1H,d,J=2.4 Hz,H-5),7.41(1H,dd,J=8.4,2.4 Hz,H-7),8.23(1H,d,J=8.4 Hz,H-8),5.00(2H,s,H_2-11),13.41(1H,s,1-OH),10.35(1H,s,3-OH),4.03(3H,s,6-OCH_3);^{13}C-NMR(DMSO-d_6,125 MHz) δ: 163.2(C-1),120.6(C-2),163.1(C-3),107.8(C-4),133.5(C-4a),110.7(C-5),164.1(C-6),120.7(C-7),129.2(C-8),126.2(C-8a),185.8(C-9),108.9(C-9a),181.9(C-10),135.1(C-10a),56.2(C-11),79.2(6-OCH_3)。**以上**^{1}H-NMR **数据与文献**[14]**报道的 1,3-二羟基-2-羟甲基-6-甲氧基-9,10-蒽醌**(1,3-dihydroxy-2-hydroxymethyl-6-methoxy-9,10-anthraquinone)**的数据一致,并通过与同时分离得到类似化合**

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

物的数据比较对其 ^{13}C-NMR 数据进行了归属。

化合物 19 淡黄色无定型粉末; IRγ_{max} 3 378, 3 145, 2 919, 2 851, 1 731, 1 665, 1 592, 1 414, 1 317, 1 244, 1 078, 935, 843, 760, 733, 610 cm^{-1}; ESI-MS *m/z* 299 [M - H]$^-$; ^{1}H-NMR (acetone-d_6, 600 MHz) δ: 7.28 (1H, s, H-4), 7.60 (1H, d, *J* = 2.5 Hz, H-5), 7.31 (1H, dd, *J* = 8.5, 2.5 Hz, H-7), 8.20 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-8), 4.69 (2H, s, H_2-11), 13.53 (1H, s, 1-OH), 9.84 (1H, br s, 3-OH), 3.42 (3H, s, 11-OCH_3); ^{13}C-NMR (acetone-d_6, 125 MHz) δ: 164.3 (C-1), 117.6 (C-2), 164.2 (C-3), 108.5 (C-4), 135.4 (C-4a), 113.6 (C-5), 164.0 (C-6), 122.2 (C-7), 130.4 (C-8), 126.6 (C-8a), 187.2 (C-9), 110.3 (C-9a), 182.7 (C-10), 136.6 (C-10a), 64.3 (C-11), 58.6 (11-OCH_3)。以上数据与文献[18]中 1,3,6-三羟基-2-甲氧甲基-9,10-蒽醌 (1,3,6-trihydroxy-2-methoxymethyl-9,10-anthraquinone) 的数据一致。

化合物 20 浅黄色无定型粉末; ESI-MS *m/z* 269 [M - H]$^-$; ^{1}H-NMR (DMSO-d_6, 500 MHz) δ: 8.20 (1H, s, H-1), 7.48 (1H, s, H-4), 7.45 (1H, d, *J* = 2.5 Hz, H-5), 7.20 (1H, dd, *J* = 8.5, 2.5 Hz, H-7), 8.04 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-8), 4.57 (2H, s, H_2-11); ^{13}C-NMR (DMSO-d_6, 125 MHz) δ: 126.1 (C-1), 136.3 (C-2), 159.3 (C-3), 111.3 (C-4), 125.2 (C-4a), 112.2 (C-5), 162.7 (C-6), 121.4 (C-7), 129.7 (C-8), 125.4 (C-8a), 180.7 (C-9), 133.5 (C-9a), 182.9 (C-10), 135.4 (C-10a), 56.0 (C-11)。以上数据与文献[18]报道 3,6-二羟基-2-羟甲基-9,10-蒽醌 (3,6-dihydroxy-2-hydroxymethyl-9,10-anthraquinone) 的数据一致。

化合物 21 橙黄色无定型粉末; ESI-MS *m/z* 253 [M - H]$^-$; ^{1}H-NMR (acetone-d_6, 600 MHz) δ: 7.64 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-3), 7.67 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-4), 7.63 (1H, d, *J* = 2.5 Hz, H-5), 7.32 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.5 Hz, H-7), 8.21 (1H, d, *J* = 8.0, H-8 Hz), 2.34 (3H, s, H_3-11), 13.18 (1H, s, 1-OH), 9.94 (1H, brs, 3-OH); ^{13}C-NMR (acetone-d_6, 125 MHz) δ: 164.5 (C-1), 132.6 (C-2), 135.2 (C-3), 119.5 (C-4), 137.1 (C-4a), 113.5 (C-5), 161.6 (C-6), 122.1 (C-7), 130.7 (C-8), 127.6 (C-8a), 189.0 (C-9), 137.6 (C-9a), 182.7 (C-10), 115.9 (C-10a), 16.0 (C-11)。以上数据与文献[14]中 1,6-二羟基-2-甲基-9,10-蒽醌 (1,6-dihydroxy-2-methyl-9,10-anthraquinone) 的数据一致。

4 药理活性筛选

对得到的单体化合物分别进行了肿瘤细胞毒 (MTT 法, HCT-8, Bel7402, BGC-823, A549 和 A2780 细胞株)[19]、去血清和谷氨酸诱导神经细胞 (PC12) 损伤保护[20-21], Fe^{2+}-Cys 诱导大鼠肝微粒体丙二醛生成抗氧化[22]和小鼠腹腔巨噬细胞 NO 分泌抑制活性[23], 以及抗 HIV (VSVG/HIV-luc 模型)[24]和抗糖尿病 (PTPB 酶抑制模型)[25]药理活性的筛选, 结果表明, 在 1.0×10^{-5} mol·L^{-1} 浓度下, 化合物 1 ~ 21 均未显示出显著的药理活性。

致谢 本研究所陈晓光研究员、侯琦研究员、陈乃宏研究员、叶菲研究员和郭颖研究员课题组在药理活性筛选方面给予支持。

[参考文献]

[1] 中国科学院华南植物研究所. 中国植物志. 第 71 卷. 第 2 分册 [M]. 北京: 科学出版社, 1999: 4.
[2] 王雪芬, 陈家源, 卢文杰. 红芽大戟化学成分的研究 [J]. 药学学报, 1985, 20(8): 615.
[3] Zhou Z, Jiang S H, Zhu D Y, et al. Anthraquinones from *Knoxia valerianoides* [J]. Phytochemistry, 1994, 36(3): 765.
[4] 袁珊琴, 赵毅民. 红芽大戟化学成分的研究 [J]. 药学学报, 2005, 40(5): 432.
[5] 袁珊琴, 赵毅民. 红芽大戟的化学成分研究 [J]. 药学学报, 2006, 41(8): 735.
[6] Wang Y B, Mei S X, Wang Y H, et al. Two new flavonol glycosides from *Knoxia corymbosa* [J]. Chin Chem Lett, 2003, 14(9): 923.
[7] 王玉波, 赵静峰, 李干鹏, 等. 红芽大戟化学成分研究 [J]. 药学学报, 2004, 39(6): 439.
[8] Inoue K, Nayeshiro H, Inouye H, et al. Anthraquinones in cell suspension cultures of *Morinda citrifolia* [J]. Phytochemistry, 1981, 20(7): 1693.
[9] Kawasaki Y, Goda Y, Yoshihira K. The mutagenic constituents of *Rubia tinctorum* [J]. Chem Pharm Bull, 1992, 40(6): 1504.
[10] Li B, Zhang D M, Luo Y M, et al. Three new and antitumor anthraquinone glycosides from *Lasianthus acuminatissimus* MERR [J]. Chem Pharm Bull, 2006, 54(3): 297.
[11] Courchesne M, Brassard P. Identification and characterization of naturally occurring rubiadins [J]. J Nat Prod, 1993, 56(5): 722.
[12] Itokawa H, Mihara K, Takeya K. Studies on a novel anthraquinone and its glycosides isolated from *Rubia cordifolia* and *R. akane* [J]. Chem Pharm Bull, 1983, 31(7): 2353.
[13] Roberge G, Brassard P. Reactions of ketene acetals. 13. Synthesis of contiguously trihydroxyated naphtho- and anthraquinones

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[J]. J Org Chem, 1981, 46(21): 4161.

[14] Banthorpe D V, White J J. Novel anthraquinones from differentiated cell cultures of *Galium verum* [J]. Phytochemistry, 1995, 38(1): 107.

[15] Zhang X G, Fox B W, Hadfield J A. Preparation of naturally occurring anthraquinones [J]. Syn commun, 1996, 26(1): 49

[16] Likhitwitayawuid K, Dej-Adisai S, Jongbunprasert V, et al. Antimalarials from *Stephania venosa*, *Prismatomeris sessiliflora*, *Diospyros montana* and *Murraya siamensis* [J]. Planta Med, 1999, 65(8): 754.

[17] El-Gamal A A, Takeya K, Itokawa H, et al. Anthraquinones from *Galium sinaicum* [J]. Phytochemistry, 1995, 40(1): 245.

[18] Ling S K, Komorita A, Tanaka T, et al. Iridoids and anthraquinones from the *Malaysian medicinal* plant, *Saprosma scortechinii* (Rubiaceae) [J]. Chem Pharm Bull, 2002, 50(8): 1035.

[19] Mo S Y, Wang S J, Yang Y C, et al. Phelligridins C-F: cytotoxic pyrano [4, 3-c] [2] benzopyran-1, 6-dione and furo [3, 2-c] pyran-4-one derivatives from the fungus *Phellinus igniarius* [J]. J Nat Prod, 2004, 67(5): 823.

[20] Yoon J S, Lee M K, Sung S H, et al. Neuroprotective 2-(2-phenylethyl) chromones of *Imperata cylindrica* [J]. J Nat Prod, 2006, 69(2): 290.

[21] Gan M L, Zhang Y L, Lin S, et al. Glycosides from the root of *Iodes cirrhosa* [J]. J Nat Prod, 2008, 71(4): 647.

[22] 林生, 刘明韬, 王素娟, 等. 小蜡树香豆素类成分及其抗氧化活性 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(14): 1708.

[23] Sacco R E, Waters W R, Rudolph K M, et al. Comparative nitric oxide production by LPS-stimulated monocyte-derived macrophages from *Ovis canadensis* and *Ovis aries* [J]. Comp Immunol Microbiol Infect Dis, 2006, 29: 1.

[24] 曹颖莉, 郭颖. 应用假病毒技术研究 HIV-1 复制抑制剂 [J]. 药学学报, 2008, 43(4): 253.

[25] 马明, 王素娟, 李帅, 等. 盾叶木中具蛋白酪氨酸磷酸酶 1B 抑制活性的三萜类成分 [J]. 中草药, 2006, 37(8): 1128.

Anthraquinones from the Roots of *Knoxia valerianoides*

ZHAO Feng, WANG Sujuan*, WU Xiuli, YU Yang, YUE Zhenggang, LIU Bo, LIN Sheng, ZHU Chenggen, YANG Yongchun, SHI Jiangong*

(*State Key Laboratory of Bioactive Substances and Functions of Natural Medicines, Ministry of Education, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Science and Peking Union Medical College, Beijing* 100050, *China*)

[Abstract] **Objective:** To investigate the chemical constituents of the roots of *Knoxia valerianoides* and their biological activities. **Method:** The anthraquinones were isolated by using a combination of various chromatographic techniques including column chromatography over silica gel, Sephadex LH-20, and reversed-phase HPLC. Structures of the isolates were identified by their physical-chemical properties and spectroscopic analysis including 2D NMR and MS. Antioxidant, anti-HIV, neuroprotective, and cytotoxic activities were screened by using cell-based models. **Result:** Twenty-two constituents were isolated from an ethanolic extract of the roots of K. valerianoides. Their structures were identified as nordamnacanthal(**1**), ibericin(**2**), rubiadin(**3**), damnacanthol(**4**), 2-ethoxymethylknoxiavaledin(**5**), 3-hydroxymorindone(**6**), knoxiadin(**7**), 2-formyl knoxiavaledin(**8**), lucidin(**9**), xanthopurpurin(**10**), 1, 3-dihydroxy-2-methoxy-9, 10-anthraquinone(**11**), lucidin(-methyl ether(**12**), digiferruginol(**13**), 3-hydroxy-2-methyl-9, 10-anthraquinone(**14**), rubiadin-1-methyl ether(**15**), 6-methoxylucidin(-ethyl ether(**16**), 1, 3, 6-trihydroxy-2-methyl-9, 10-anthraquinone(**17**), 1, 3-dihydroxy-2-hydroxy methyl-6-methoxy-9, 10-anthraquinone(**18**), 1, 3, 6-trihydroxy-2-methoxymethyl-9, 10-anthraquinone(**19**), 3, 6-dihydroxy-2-hydroxymethyl-9, 10-anthraquinone(**20**), and 1, 6-dihydroxy-2-methyl-9, 10-anthra quinone(**21**). In the *in vitro* assays, at a concentration of 1×10^{-5} mol · L^{-1}, no compounds were active against human cancer cell lines(HCT-8, Bel7402, BGC-823, A549, and A2780), deserum and glutamate induced PC12-syn cell damage, LPS induced NO production in macrophage, Fe^{2+}-cystine induced rat liver microsomal lipid peroxidation, HIV-1 replication, and protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B). **Conclusion:** Compounds **9-21** were obtained from the roots of *K. valerianoides* for the first time.

[Key words] *Knoxia valerianoides*; chemical constituents; anthraquinones

doi: 10.4268/cjcmm20112118

[责任编辑 丁广治]

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net