

柴胡红景天中一个新氰苷类化合物

董 礼¹, 陈 敏^{2*}, 李 梅², 廖志华¹, 孙 敏¹

(1. 西南大学生命科学学院, 重庆 400715; 2. 西南大学药学院, 重庆 400715)

摘要: 利用硅胶柱色谱, 对柴胡红景天 (*Rhodiola bupleuroides*) 根茎 70%乙醇提取部分进行分离纯化, 分离得到 5 个化合物。用光谱分析 (UV、IR、HR-ESI-MS、¹H NMR、¹³C NMR、2D NMR) 和化学反应鉴定得到的化合物结构。5 个化合物分别为柴胡红景天氰苷素 A (rhobupcyanoside A, **1**)、对香豆酸 (*p*-coumaric acid, **2**)、没食子酸-3-甲基醚 (4, 5-dihydroxy-3-methoxybenzoic acid, **3**)、黑色五味子单体苷 (schizandriside, **4**) 和山柰酚 (kaempferol, **5**)。化合物 **1** 为新化合物, 其余 4 个化合物均为首次从该属植物中分离得到。

关键词: 柴胡红景天; 氰苷类化合物; 柴胡红景天氰苷素 A

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2009) 12-1383-04

A new cyanosides from *Rhodiola bupleuroides*DONG Li¹, CHEN Min^{2*}, LI Mei², LIAO Zhi-hua¹, SUN Min¹

(1. School of Life Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. College of Pharmaceutical Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: From the 70% ethanol extract of the stems of *Rhodiola bupleuroides*, five compounds were isolated by repeated silica gel column chromatography. Their structures were determined by spectroscopic (UV, IR, ESI-MS, ¹H NMR, ¹³C NMR and 2D NMR) and chemical methods as rhobupcyanoside A (**1**), *p*-coumaric acid (**2**), 4, 5-dihydroxy-3-methoxybenzoic acid (**3**), schizandriside (**4**) and kaempferol (**5**). Among them, **1** was a new compound, and **2**–**5** were isolated from *R. bupleuroides* for the first time.

Key words: *Rhodiola bupleuroides*; cyanoside; rhobupcyanoside A

柴胡红景天 (*Rhodiola bupleuroides* (Wall. Eex Hk.f. et Thoms) S. H. Fu) 系红景天属植物, 又名伸长红景天、不丹红景天, 产于西藏、云南西北部、四川西部。生长于海拔 2 400~5 700 米的山坡石缝中或灌木丛中或草地上^[1]。该属植物具有活血止血、清肺止咳的功效, 用于治疗咳血、咯血、肺炎咳嗽、妇女白带等症^[2]。目前, 关于红景天化学成分的研究报道已经很多, 但柴胡红景天化学成分研究却少见报道。本文继该植物已报道的 7 个已知化合物^[3], 又从其根茎 70% 乙醇提取物中分离鉴定出 5 个化合物, 分别是柴胡红景天氰苷素 A (rhobupcyanoside A, **1**)、对香豆酸 (*p*-coumaric acid, **2**)、没食子酸-3-甲基醚 (4, 5-dihydroxy-

3-methoxybenzoic acid, **3**)、黑色五味子单体苷 (schizandriside, **4**)、山柰酚 (kaempferol, **5**)。化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **3** 为首次从该属植物中分离得到, 其余 3 个化合物为首次从该植物中分离得到。

化合物 **1** 白色无定形粉末。与三氯化铁反应呈棕黑色, 提示该化合物有酚羟基存在; Molish 反应呈阳性, 提示为苷类化合物; 紫外光谱在 236 和 250 nm 的最大吸收为不饱和双键和苯环的紫外吸收特征峰; 红外光谱显示有氰基 ($\text{C}\equiv\text{N}$) ($2\,221\text{ cm}^{-1}$) 和羰基 ($\text{C}=\text{O}$) ($1\,713\text{ cm}^{-1}$); HR-ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 478.130 6 (理论值为 $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{NO}_{11}\text{Na}$, 478.132 0), 结合 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 确定其分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{NO}_{11}$ 。

¹H NMR (DMSO-*d*₆) 显示了一组氢信号 δ_{H} 6.97 (1H, t, $J = 6.0\text{ Hz}$), 4.56 (1H, dd, $J = 6.0, 14.5\text{ Hz}$), 4.43

收稿日期: 2009-08-04.

基金项目: 重庆市自然科学基金资助项目 (CSTC, 2006BB5343).

*通讯作者 Tel / Fax: 86-23-68251225, E-mail: mminchen@swu.edu.cn

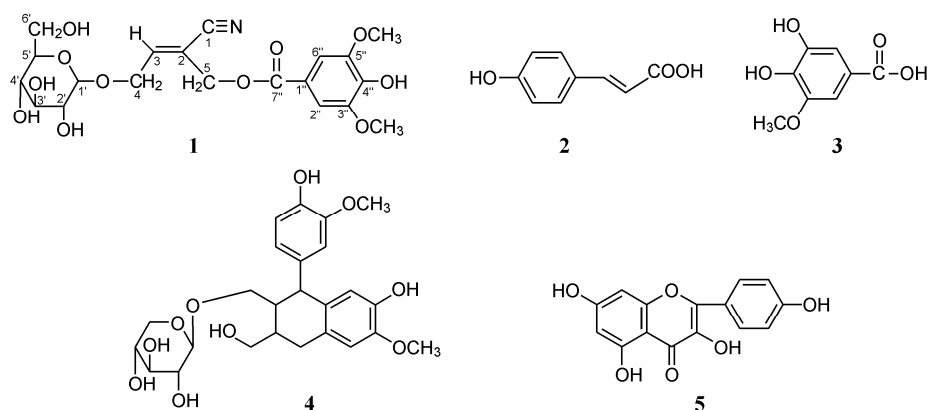


Figure 1 Structures of compounds 1-5

(1H, dd, $J = 6.5, 14.5$ Hz), 4.97 (2H, s), HSQC 相关关系表明 δ_{H} 6.97 与碳原子 δ_{C} 148.6 相连接, δ_{H} 4.56 和 4.43 与碳原子 δ_{C} 66.4 相连, 是一对同碳质子信号, δ_{H} 4.97 (2H, s) 与 δ_{C} 63.3 相连, 也是一对同碳质子信号。HMBC 显示 δ_{H} 6.97 与 δ_{C} 66.4、63.3 和 115.4 相耦合, δ_{H} 4.56 和 4.43 与 δ_{C} 111.0、148.6 相耦合, δ_{H} 4.97 与 δ_{C} 115.4、148.6 相耦合, 由此确定了碳的归属, 顺序依次为 δ_{C} 115.4 (C-1), 111.0 (C-2), 148.6 (C-3), 66.4 (C-4) 和 63.3 (C-5)。NOESY 谱中, 3-H 只与 4-H₂ 相关, 与 5-H₂ 无相关信号, 提示该基团为顺式结构。与 rhodiocynoside B 的 ¹H NMR、¹³C NMR 对照^[4], 确定该部分基团为 (*E*)-2-亚甲基-2-丁烯基。

¹H NMR 还显示了 2 个芳氢质子信号 δ_{H} 7.24 (2H, s), 2 个甲氧基信号 (δ_{H} 3.81, 6H, s), 结合 ¹³C NMR 信号 (δ_{C} 118.4, 107.0×2, 147.7×2, 141.2), 提示存在苯环上的对称取代; ¹³C NMR 显示了一个羰基碳信号 (δ_{C} 165.0)。HSQC 显示 δ_{H} 7.24 是 δ_{C} 107.0 上的氢质子信号, 提示苯环为四取代。由 δ_{H} 7.24 与 δ_{C} 165.0、147.7×2 和 141.2 在 HMBC 上的耦合关系表明, 芳氢质子 δ_{H} 7.24 分别位于 C-2"和 C-6", δ_{C} 165.0 位于 C-7"。 δ_{H} 3.81 与 δ_{C} 147.7 的 HMBC 耦合表明 2 个甲氧基分别位于 C-3"和 C-5"。以上结果表明该部分为 3", 5"-二甲氧基没食子酰基基团。 δ_{H} 4.97 (H-5) 与 δ_{C} 165.0 (C-7") 的 HMBC 相关关系表明 3", 5"-二甲氧基没食子酰基与 (*E*)-2-亚甲基-2-丁烯基的 C-5 位形成酯键。

¹H NMR 还显示了一组糖基信号 δ_{H} : 4.24 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 3.67 (1H, m), 3.46 (1H, m), 3.15 (1H, m), 3.12 (1H, m), 3.06 (1H, m), 2.99 (1H, m)。结合 ¹³C NMR 信号 δ_{C} : 102.8, 77.0, 76.7, 73.3, 70.0, 61.0, 提示为葡萄糖基, 经水解反应后与葡萄糖标准品比较, Rf 值和显色行为均一致, 确证糖基为葡萄糖。 δ_{H} 4.24 (C-1')

与 δ_{C} 66.4 (C-4) 在 HMBC 上的耦合表明葡萄糖基通过 C-1' 与 (*E*)-2-亚甲基-2-丁烯基的 C-4 位经苷键相连接。

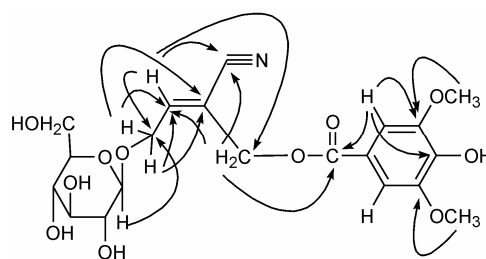


Figure 2 Key HMBC correlations of compound 1

综上所述, 化合物 1 结构可推定为 (*E*)-4-*O*- β -D-吡喃葡萄糖基-2-(亚甲基-(3, 5-二甲氧基-4-羟基苯甲酸酯))-2-丁烯基。命名为柴胡红景天氰苷素 A (rhobupcyanoside A), 为新化合物。

实验部分

熔点采用 X-4 显微测定仪 (未校正, 北京第三光学仪器厂) 测定; 核磁共振谱采用 AV300、AV500 核磁共振仪 (Bruker) 测定; 紫外光谱采用 Modelu-3010 紫外分光光度计 (日本日立) 测定; 红外光谱采用 Spectrum GX 红外光谱仪 (Perkin Elmer) 测定; 比旋光值用 Perkin 241 polarimeter 旋光仪测定, 柱色谱硅胶 (300~400 目、100~200 目) (青岛海洋化工厂生产); 薄层硅胶 GF₂₅₄ (烟台江友硅胶开发有限公司); 其他试剂均为分析纯。

柴胡红景天根茎藤 2004 年 9 月自西藏林芝地区采集, 学名经西藏农牧学院动物科技系植物生物技术教研室鲍隆友教授鉴定, 凭证标本 (2004-CM-002) 保存于西南大学药学院药物分析教研室。

1 提取分离

干燥柴胡红景天根茎 (4 kg), 粉碎后用 70%乙醇室温下渗漉提取 5 次, 得乙醇浸膏 386 g。浸膏悬浮于蒸馏水中, 依次用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、水饱和和正丁醇进行萃取, 得到乙酸乙酯萃取物为 54.6 g, 硅胶柱色谱分离, 以氯仿-氯仿-甲醇 (99:1~3:1) 梯度洗脱, 得到 10 个流份 (Fr. 1~Fr. 10), 洗脱流份再经反复硅胶柱色谱和重结晶进行分离纯化。

Table 1 NMR data of compound **1**^{a, b}

	¹ H NMR	¹³ C NMR
C-1	—	115.4
C-2	—	111.0
C-3	6.97 (1H, t, <i>J</i> = 6.0 Hz)	148.6
C-4	4.56 (1H, dd, <i>J</i> = 14.5, 6.0 Hz)	
	4.43 (1H, dd, <i>J</i> = 14.5, 6.5 Hz)	66.4
C-5	4.97 (2H, s)	63.3
C-1''	—	118.4
C-2''	7.24 (1H, s)	107.0
C-3''	—	147.7
C-4''	—	141.2
C-5''	—	147.7
C-6''	7.24 (1H, s)	107.0
C-7''	—	165.0
3'', 5''-OCH ₃	3.81 (6H, s)	56.1
Glucose		
C-1'	4.24 (1H, d, <i>J</i> = 8.0 Hz)	102.8
C-2'	2.99 (1H, m)	73.3
C-3'	3.12 (1H, m)	77.0
C-4'	3.06 (1H, mz)	70.0
C-5'	3.15 (1H, m)	76.7
C-6'	3.67 (1H, m), 3.46 (1H, m)	61.0

^aAll spectra were recorded on Bruker AV500 NMR spectrometer in DMSO-*d*₆; ^bAssignments were established by HSQC, HMBC

Fr.2 (氯仿-甲醇 99:1) 流份, 经氯仿-甲醇 100:0~95:5 梯度洗脱, 再进行重结晶得到化合物 **3** (75 mg)。Fr.3 (氯仿-甲醇 97:3) 流份, 经硅胶柱色谱 (氯仿-甲醇 98:1~9:1) 得到化合物 **1** (2 g)。Fr.4 (氯仿-甲醇 95:5) 流份经硅胶柱色谱 (氯仿-甲醇 95:5~9:1) 得到 Fr.4-1 和 Fr.4-2。Fr.4-2 经硅胶柱色谱 (氯仿-甲醇 93:7) 后, 重结晶得到化合物 **5** (50 mg); Fr.4-1 经过硅胶柱色谱 (氯仿-甲醇 92:8) 后, 再经重结晶得到化合物 **2** (6 mg)。Fr.6 (氯仿-甲醇 85:15) 经反复硅胶柱色谱 (氯仿-甲醇 9:1~85:15) 得到化合物 **4** (15 mg)。

2 结构鉴定

化合物 **1** 白色无定形粉末 (CH₃OH)。[α]_D¹⁸ 11.4 (*c* 0.7, CH₃OH)。UV (λ_{max}, CH₃OH): 236, 250 nm。

IR (KBr) ν/cm⁻¹: 3 517, 3 422, 3 222, 1 713, 1 612, 1 514, 1 457, 1 368, 763, 636。HR-ESI-MS *m/z*: [M+Na]⁺ 478.130 6 (calcd. for C₂₀H₂₅NO₁₁Na, 478.132 0), ESI-MS 给出准分子离子峰为 *m/z*: [M+Na]⁺ 478.1。¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据见表 1。根据 ¹H NMR、¹³C NMR、HSQC、HMBC 谱数据分析, 确定化合物 **1** 为 (*E*)-4-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖基-2-(亚甲基-(3, 5-二甲氧基-4-羟基苯甲酸酯))-2-丁烯腈。**1** 为新化合物, 命名为柴胡红景天氰苷素 A (rhobupcyanoside A)。

化合物 **2** 白色针状结晶 (CH₃OH), mp 206~208 °C。ESI-MS *m/z*: [M-H]⁻ 163。IR (KBr) ν/cm⁻¹: 3 380, 2 827, 1 674, 1 603, 1 239, 690。¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ: 7.59 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-7), 7.44 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-2, 6), 6.80 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-3, 5), 6.27 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-8)。以上数据与文献报道的对香豆酸数据^[5]对照, 基本一致。确定化合物为对香豆酸 (*p*-coumaric acid)。

化合物 **3** 白色针状结晶 (CH₃OH), mp 219~223 °C。EI-MS *m/z*: [M]⁺ 184。IR (KBr) ν/cm⁻¹: 3 495, 3 280, 3 060, 1 649, 1 614, 1 325, 1 220, 866。¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ: 7.19 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6), 7.18 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2), 3.87 (3H, s, 3-OCH₃)。 ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ: 170.5 (C-7), 149.4 (C-3), 146.5 (C-5), 140.7 (C-4), 122.3 (C-1), 112.5 (C-6), 106.6 (C-2), 56.9 (-OCH₃)。以上数据与文献报道的没食子酸-3-甲基醚数据^[6]对照, 基本一致。确定化合物 **3** 为没食子酸-3-甲基醚 (4, 5-dihydroxy-3-methoxy-benzoic acid)。

化合物 **4** 白色无定形粉末 (CH₃OH)。ESI-MS *m/z*: [M+Na]⁺ 515.3。IR (KBr) ν/cm⁻¹: 3 429, 2 928, 1 612, 1 273, 1 040, 627。¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ: 6.77 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2), 6.73 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-6), 6.64 (1H, s, H-2'), 6.62 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz, H-5), 6.16 (1H, d, *J* = 0.8 Hz, H-5'), 4.05 (1H, d, *J* = 11.2 Hz, H_a-9), 4.04 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-1''), 3.97 (1H, dd, *J* = 10.0, 2.0 Hz, H_a-9'), 3.80 (3H, s, 3-OCH₃), 3.79 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.79 (1H, m, H_a-5''), 3.75 (1H, dd, *J* = 11.2, 3.6 Hz, H_b-9), 3.69 (1H, dd, *J* = 10.8, 6.0 Hz, H_b-9'), 3.45 (1H, m, H-4''), 3.27 (1H, m, H-7), 3.21 (1H, dd, *J* = 10.0, 3.6 Hz, H-3''), 3.18 (1H, m, H_b-5''), 3.10 (1H, t, *J* = 10.8 Hz, H-2''), 2.82 (2H, m, H-7'), 2.06 (1H, m, H-8), 1.84 (1H, tt, *J* = 10.8, 2.8 Hz, H-8')。 ¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz) δ: 134.4 (C-1), 114.4 (C-2), 147.3 (C-3), 145.3 (C-4), 116.2 (C-5), 123.2 (C-6), 48.0 (C-7), 46.0 (C-8), 69.6 (C-9), 129.2 (C-1'), 112.6 (C-2'), 149.0

(C-3'), 146.0 (C-4'), 117.5 (C-5'), 138.7 (C-6'), 33.9 (C-7'), 39.8 (C-8'), 67.0 (C-9'), 105.9 (C-1''), 78.0 (C-2''), 75.1 (C-3''), 71.3 (C-4''), 65.3 (C-5''), 56.6 (3-OCH₃), 56.5 (3'-OCH₃)。以上数据与文献报道的黑色五味子单体苷数据^[7]对照, 基本一致。确定化合物 4 为黑色五味子单体苷 (schizandriside)。

化合物 5 黄色针状结晶 (CH₃OH), mp 275~277 °C。ESI-MS m/z : [M+H]⁺ 287.0。IR (KBr) ν/cm^{-1} : 3 318, 1 660, 1 566, 1 510。¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz) δ : 8.10 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2', 6'), 6.91 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-3', 5'), 6.40 (1H, s, H-8), 6.18 (1H, s, H-6)。¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz) δ : 177.5 (C-4), 165.6 (C-5), 162.5 (C-7), 160.5 (C-4'), 158.2 (C-9), 148.1 (C-2), 137.2 (C-3), 130.7×2 (C-2', 6'), 123.8 (C-1'), 116.3×2 (C-3', 5'), 104.5 (C-10), 99.3 (C-6), 94.4 (C-8)。以上数据与文献报道的山柰酚数据^[8, 9]对照一致, 鉴定化合物 5 为山柰酚 (kaempferol)。

酸水解 取化合物 1 约 20 mg, 加入 CH₃OH 60 mL 加热溶解, 再加入浓 HCl 12 mL 摇匀, 置于 80 °C 水浴中水解 2 h, 水解完全后取水解样与葡萄糖标准品共同在 TLC 上展开, 展开剂 CHCl₃-CH₃OH 2 : 1^[10], 结果显示糖与葡萄糖标准品一致。

References

- [1] The Flora Committee of Chinese Academy of Sciences. Flora of China. Vol 34 (中国植物志: 第三十四卷) [M]. Beijing: Science Press, 1984: 161, 197.
- [2] Jiang Su New College of Medicine. Dictionary of Chinese Traditional Medicine (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1977: 1009.
- [3] Dong L, Li L, Chen M, et al. Chemical constituents in root of *Rhodiola bupleuroides* [J]. Acta Bot Boreal (西北植物学报), 2007, 12: 2564–2567.
- [4] Yoshikawa M, Shimada H, Shimoda H, et al. Bioactive constituents of Chinese natural medicines. II. *Rhodiola Radix* (1): chemical structures and antiallergic activity of rhodiocyanosides A and B from the underground part of *Rhodiola quadrifida* (Pall.) Fisch. et Mey (Crassulaceae) [J]. Chem Pharm Bull, 1996. 44: 2086–2091.
- [5] Zhang LH, Yin ZQ, Ye WC, et al. Studies on the chemical constituents in herb of *Lygodium japonicum* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2005, 30: 1522–1524.
- [6] Liu BM, Chen RG, Cai QL. Preliminary study on the chemical constituents of *Glochidion ericarpum* Champ [J]. Guangxi J Tradit Chin Med (广西中医药), 2000, 23: 52–54.
- [7] Guo YT, Wang FP, Xiao ZY. Chemical components from roots of *Rhodiola yunnanensis* [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 1993, 5: 1–7.
- [8] Si JY, Chen DH, Pan RL, et al. Chemical constituents of *Hedyotis diffusa* [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2006, 18: 942–944.
- [9] Liu JZ, Wang L. Studies on chemical constituents of *Hedyotis diffusa* [J]. J Hebei Med Univ (河北医科大学学报), 2007, 28: 188–190.
- [10] Li X, Li JF, Wang D, et al. Isoflavone glycosides from the bark of *Maackia amurensis* [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2009, 44: 63–68.