

柳叶白前中非 C₂₁ 留体类化学成分

余舒乐^{1,2}, 马林^{1,2}, 吴正凤^{1,2}, 赵守训¹, 王磊³, 叶文才³, 张健², 殷志琦^{1*}

(¹中国药科大学天然药物化学教研室 & 天然药物活性组分与药效国家重点实验室, 南京 210009; ²江苏省中医药研究院转化医学实验室, 南京 210028; ³暨南大学中药及天然药物研究所, 广州 510632)

摘要 采用硅胶、凝胶及反相柱色谱等技术, 对鹅绒藤属植物柳叶白前 *Cynanchum stauntonii* 干燥根茎 80% 乙醇提取物乙酸乙酯部位的非 C₂₁ 留体类成分进行分离, 得到 12 个化合物, 利用波谱学方法和理化性质鉴定它们的结构为: 丁香脂素(**1**)、(-)-(7R,7'R,7''R,8S,8'S,8"S)-4',4"-二羟基-3',3",5-甲氧基-7,9':7',9-环氧-4,8"-O-8,8'-倍半木质素-7",9"-二醇(**2**)、8,8'-二羟基松脂素(**3**)、对羟基苯乙酮(**4**)、白首乌二苯酮(**5**)、2,4-二羟基苯乙酮(**6**)、苯甲酸(**7**)、对羟基苯酚(**8**)、6-O-[E]-芥子酰- α -D-吡喃葡萄糖苷(**9a**)、6-O-[E]-芥子酰- β -D-吡喃葡萄糖苷(**9b**)、1-O-甲基- α -D-吡喃加拿大麻糖甲苷(**10**)、 β -胡萝卜苷(**11**)、 β -谷甾醇(**12**)。其中化合物 **1~3, 5, 7~11** 为首次从该植物中分离得到。

关键词 白前; 非 C₂₁ 留体; 化学成分; 结构鉴定

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2015)04-0426-05

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20150407

Non-C₂₁ steroids from the Rhizome of *Cynanchum stauntonii*

YU Shule^{1,2}, MA Lin^{1,2}, WU Zhengfeng^{1,2}, ZHAO Shouxun¹, WANG Lei³, YE Wencai³, ZHANG Jian², YIN Zhiqi^{1*}

¹Department of Natural Medicinal Chemistry & State Key Laboratory of Natural Medicines, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009; ²Laboratory of Translational Medicine, Jiangsu Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028; ³Institute of Traditional Chinese Medicine and Natural Products, College of Pharmacy, Jil'nan University, Guangzhou 510632, China

Abstract Twelve compounds were isolated and purified from ethyl acetate fraction of *Cynanchum stauntonii* by silica gel, Sephadex LH-20 and ODS column chromatography. Their structures were identified by spectral techniques and physicochemical properties as syringaresinol (**1**), (-)-(7R,7'R,7''R,8S,8'S,8"S)-4',4"-dihydroxy-3',3",5-tetramethoxy-7,9':7',9-diepoxy-4,8"-oxy-8,8'-sesquineolignan-7",9"-diol (**2**), prinsepiol (**3**), 4-hydroxyacetophenone (**4**), baishouwubenzophenone (**5**), 2,4-dihydroxyacetophenone (**6**), benzoic acid (**7**), 1,4-benzenediol (**8**), 6-O-[E]-sinapoyl- α -D-glucopyranoside (**9a**), 6-O-[E]-sinapoyl- β -D-glucopyranoside (**9b**), 1-O-methyl- α -D-cymadropyranoside (**10**), β -daucosterol (**11**), and β -sitosterol (**12**). Compounds **1~3, 5** and **7~11** were firstly isolated from this plant.

Key words *Cynanchum stauntonii*; non-C₂₁ steroids; chemical constituents; structural identification

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81001379); the Fundamental Research Funds for the Central Universities (No. ZJ14103); the Ninth Batch of “Six Talent Peaks” Project of Jiangsu Province (No. 2012-YY-008); and the Project Funded by the Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions

柳叶白前 *Cynanchum stauntonii* (Decne.) Schl-tr. eslevl. 为萝藦科 (Asclepiadaceae) 鹅绒藤属

(*Cynanchum* Linn.) 植物^[1], 主产浙江、湖南、安徽、福建、湖北、江西、江苏等省^[2]。其性微温, 味辛、

苦,归肺经,具降气消痰止咳之效,用于肺气壅实、咳嗽痰多、胸满喘急^[3]。现代研究主要集中在其C₂₁甾体类成分^[4~6],药理研究表明,柳叶白前提取物具有镇咳平喘、镇痛抗炎等作用^[7~8],且其中的某些C₂₁甾体苷对肿瘤细胞具有细胞毒活性^[9]。为进一步发掘柳叶白前的化学成分,探索其非C₂₁甾体成分对镇痛抗炎活性是否有贡献,本研究对其中非C₂₁甾体类化学成分开展深入研究,从其干燥根茎80%乙醇提取物的乙酸乙酯部位分离并鉴定12个化合物(图1),包括3个木脂素:丁香脂素(1),(−)-(7R,7'R,7''R,8S,8'S,8''S)-4',4''-二羟基-3,3',3'',5-甲氧基-7,9':7',9-环氧4,8''-O-8,8'-倍半木质素-7'',9''-二醇(2),8,8'-二羟基松脂素(3);3个苯乙酮类化合物:对羟基苯乙酮(4),对羟基苯酚(8);2个苯环类化合物:苯甲酸(7),对羟基苯酚(8);1个其他类化合物:6-O-[E]-芥子酰-α-D-吡喃葡萄糖苷(9a),6-O-[E]-芥子酰-β-D-吡喃葡萄糖苷(9b);1个去氧糖:1-O-甲基-α-D-吡喃加拿大麻糖甲苷(10);2个甾体:β-胡萝卜苷(11),β-谷甾醇(12)。其中化合物1~3,5,7~11为首次从该植物中分离得到。

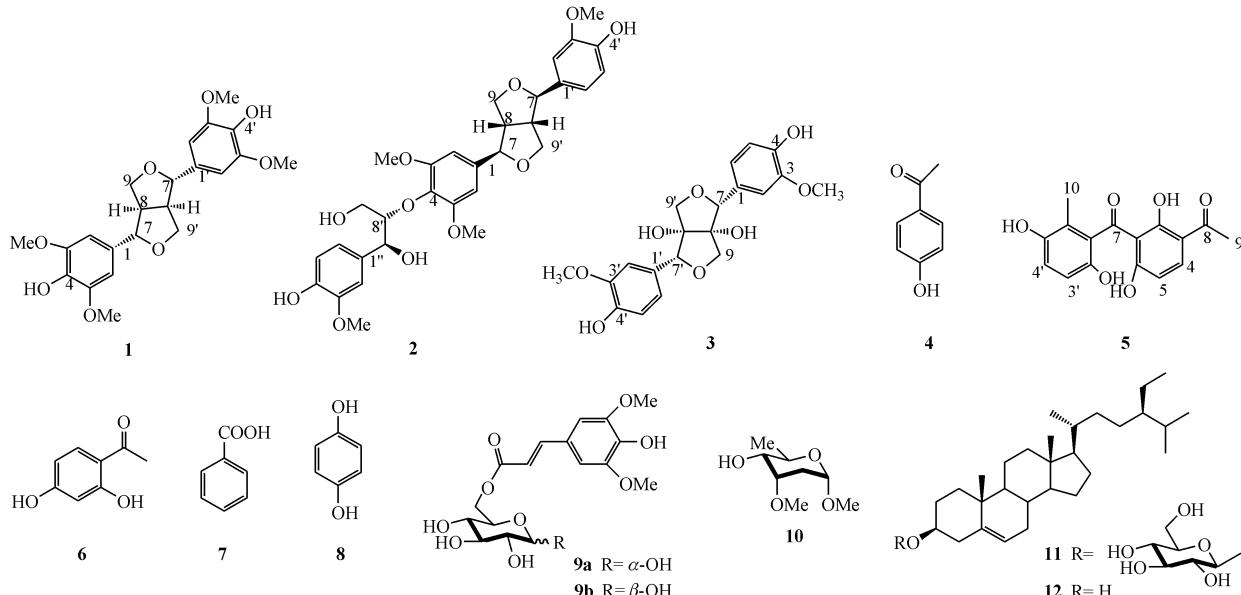


Figure 1 Chemical structures of compounds 1-12 from the Rhizome of *Cynanchum stauntonii*

1 材料

X-4数字显示双目显微熔点测定仪(温度计未校正);Bruker AV-500和AV-300型核磁共振仪(德国Bruker公司);Agilent 1100 Series LC/MSD Trap质谱仪(美国Agilent公司)。柱色谱硅胶100~200、200~300、300~400目(青岛海洋化工厂);薄层色谱硅胶GF₂₅₄(烟台化工研究所);MCI HP-20(日本三菱化学公司);Sephadex LH-20(美国Pharmacia公司);ODS(德国Merck公司)。所用试剂均为市售分析纯。

柳叶白前药材于2013年9月购买自湖北,经中国药科大学生药学教研室秦民坚教授鉴定为柳叶白前 *Cynanchum stauntonii* (Decne.) Schltr.

基-3,3',3'',5-甲氧基-7,9':7',9-环氧4,8''-O-8,8'-倍半木质素-7'',9''-二醇(2),8,8'-二羟基松脂素(3);3个苯乙酮类化合物:对羟基苯乙酮(4),白首乌二苯酮(5),2,4-二羟基苯乙酮(6);2个苯环类化合物:苯甲酸(7),对羟基苯酚(8);1个其他类化合物:6-O-[E]-芥子酰-α-D-吡喃葡萄糖苷(9a),6-O-[E]-芥子酰-β-D-吡喃葡萄糖苷(9b);1个去氧糖:1-O-甲基-α-D-吡喃加拿大麻糖甲苷(10);2个甾体:β-胡萝卜苷(11),β-谷甾醇(12)。其中化合物1~3,5,7~11为首次从该植物中分离得到。

eslevl.的根茎,标本(No. 20130911)保存于中国药科大学中药学院天然药物化学教研室。

2 提取与分离

白前干燥根茎10 kg,用80%乙醇加热回流提取3次,每次3 h,提取液减压浓缩得浸膏,加水混悬后依次用乙酸乙酯、水饱和的正丁醇萃取。乙酸乙酯萃取部位(130 g)经硅胶柱色谱,以二氯甲烷-甲醇(100:0→100)梯度洗脱,TLC检识,合并得到5个流份(Fr. 1~5)。Fr. 1与Fr. 2经硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯(20:1→1:1)梯度洗脱,再经反复硅胶柱色谱纯化,得化合物1(39 mg)、3(28 mg)、6(12 mg)、10(310 mg)。Fr. 3经硅胶柱色谱,二氯甲烷-甲醇(50:1→1:1)梯度洗脱,经反复硅胶柱色

谱、Sephadex LH-20 柱色谱以氯仿-甲醇(1:1)洗脱纯化,得化合物**4**(30 mg)和**7**(33 mg)。Fr. 4 经硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯(4:1→0:1)梯度洗脱,再经反复硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱纯化,得化合物**2**(18 mg)、**5**(93 mg)和**12**(76 mg)。Fr. 5 经硅胶柱色谱,以二氯甲烷-甲醇(30:1→0:1)梯度洗脱,得化合物**8**(27 mg)、**9**(21 mg)和**11**(35 mg)。

3 结构鉴定

化合物1 白色粉末(甲醇),mp:106~108 °C, $[\alpha]_D^{21.5} = -6.7^\circ$ (c 0.20, MeOH)。ESI-MS m/z : 417 [M-H]⁻,浓硫酸-香草醛显紫红色。¹H NMR (CD_3OD , 300 MHz) δ : 6.66(4H, s, H-2, 2', 6, 6'), 4.72(2H, d, J =4.1 Hz, H-7, 7'), 4.26(2H, dd, J =8.9, 6.8 Hz, H-9a, 9'a), 3.88(2H, m, H-9b, 9'b), 3.85(12H, s, H-3, 3', 5, 5'-OCH₃), 3.14(2H, m, H-8, 8')。¹³C NMR (CD_3OD , 75 MHz) δ : 149.4(C-3, 3', 5, 5'), 136.1(C-4, 4'), 133.2(C-1, 1'), 104.6(C-2, 2', 6, 6'), 87.6(C-7, 7'), 72.8(C-9, 9'), 56.8(-OCH₃-3, 3', 5, 5'), 55.5(C-8, 8')。以上波谱数据与文献[10]对照一致,确定化合物**1**为丁香脂素(syringaresinol)。

化合物2 白色粉末(氯仿),mp:117~119 °C, $[\alpha]_D^{24} = -4.0^\circ$ (c 0.10, MeCN)。ESI-MS m/z : 583 [M-H]⁻,浓硫酸-香草醛显红色。¹H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 6.95(2H, br. s, H-2', 2''), 6.88(1H, br. s, H-5'), 6.86(1H, br. s, H-5''), 6.82(1H, br. s, H-6'), 6.72(1H, br. s, H-6''), 6.62(2H, br. s, H-2, 6), 4.98(1H, d, J =2.9 Hz, H-7''), 4.75(2H, br. s, H-7, 7'), 4.30(2H, m, H-9a, 9'a), 4.12(1H, m, H-8''), 3.93(2H, m, H-9b, 9'b), 3.89(1H, m, H-9'a), 3.88(3H, s, -OMe-3'), 3.87(3H, s, -OMe-3, 5), 3.85(3H, s, -OMe-3''), 3.50(1H, m, H-9'b), 3.10(2H, m, H-8, 8')。¹³C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ : 153.6(C-3, 5), 146.8(C-3', 3''), 145.0(C-4', 4''), 138.0(C-1), 134.5(C-4), 132.0(C-1'), 131.4(C-1''), 118.9(C-6', 6''), 114.5(C-5''), 114.3(C-5'), 108.8(C-2'), 108.5(C-2''), 102.9(C-2, 6), 87.2(C-8''), 86.1(C-7), 85.8(C-7''), 72.6(C-7''), 72.2(C-9), 71.7(C-9'), 60.7(C-9''), 54.6(C-8'), 54.2(C-8), 56.1(-OCH₃-3''), 56.4

(-OCH₃-3'), 56.5(-OCH₃-3, 5)。以上波谱数据与文献[11]对照一致,确定化合物**2**为(-)-(7R, 7'R, 7''R, 8S, 8'S, 8"S)-4', 4''-二羟基-3, 3', 3'', 5-甲氧基-7, 9': 7', 9-环氧-4, 8''-O-8, 8'-倍半木质素-7'', 9''-二醇[(-)-(7R, 7'R, 7''R, 8S, 8'S, 8"S)-4', 4''-dihydroxy-3, 3', 3'', 5-tetramethoxy-7, 9': 7', 9-diepoxy-4, 8''-oxy-8, 8'-sesquineolignan-7'', 9''-diol]。

化合物3 白色固体(甲醇),mp:190~192 °C, $[\alpha]_D^{20} = -19.2^\circ$ (c 0.12, CHCl₃)。ESI-MS m/z : 389 [M-H]⁻,浓硫酸-香草醛显紫红色。¹H NMR (CD_3OD , 300 MHz) δ : 7.04(2H, s, H-2, 2'), 6.86(2H, d, J =8.2 Hz, H-6, 6'), 6.79(2H, d, J =8.0 Hz, H-5, 5'), 4.97(2H, s, H-7, 7'), 4.11(2H, d, J =9.5 Hz, H-9b, 9'b), 3.98(2H, d, J =9.5 Hz, H-9a, 9'a), 3.86(6H, s, 2×OCH₃)。¹³C NMR (CD_3OD , 75 MHz) δ : 148.7(C-3, 3'), 147.5(C-4, 4'), 129.6(C-1, 1'), 121.6(C-6, 6'), 115.6(C-5, 5'), 112.9(C-2, 2'), 89.1(C-7, 7', 8, 8'), 76.8(C-9, 9'), 56.4(2×OCH₃)。其波谱数据与文献[12]对照一致,确定化合物**3**为8,8'-二羟基松脂素(prinsepiol)。

化合物4 白色固体(甲醇),mp:125~127 °C, ESI-MS m/z : 135 [M-H]⁻,浓硫酸-香草醛显红色。¹H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 7.90(2H, d, J =8.3 Hz, H-2, 6), 6.88(2H, d, J =8.3 Hz, H-3, 5), 2.56(3H, s, H-8)。以上数据与文献[13]对照一致,确定化合物**4**为对羟基苯乙酮(4-hydroxyacetophenone)。

化合物5 黄绿色晶体(丙酮),mp:198~200 °C, ESI-MS m/z : 301 [M-H]⁻,浓硫酸-香草醛显红色。¹H NMR (CD_3COCD_3 , 300 MHz) δ : 7.83(1H, d, J =8.8 Hz, H-4), 7.04(1H, d, J =8.9 Hz, H-4'), 6.80(1H, d, J =8.9 Hz, H-3'), 6.56(1H, d, J =8.8 Hz, H-5), 2.57(3H, s, H-10), 2.04(3H, s, H-9)。以上数据与文献[14]对照一致,确定化合物**5**为白首乌二苯酮(baishouwubenzophenone)。

化合物6 白色粉末(甲醇),mp:143~145 °C,三氯化铁反应呈阳性。与2,4-二羟基苯乙酮对照品共薄层,其 R_f 值及显色行为一致,且两者混合熔点不下降,故确定化合物**6**为2,4-二羟基苯乙酮(2,4-dihydroxyacetophenone)。

化合物7 白色晶体(甲醇),mp:121~123 °C, ESI-MS m/z : 121 [M-H]⁻,浓硫酸-香草

醛显红色。¹H NMR(CD₃OD,300 MHz)δ:8.01(2H,dd,J=8.4,1.3 Hz,H-2,6),7.60(1H,t,J=7.4 Hz,H-4),7.49(2H,t,J=7.4 Hz,H-3,5)。以上数据与文献[15]对照一致,确定化合物7苯甲酸(benzoic acid)。

化合物8 白色晶体(丙酮),mp:172~173 °C,ESI-MS m/z:109[M-H]⁻,浓硫酸-香草醛显红色。¹H NMR(DMSO-d₆,300 MHz)δ:6.54(4H,s,H-2,3,5,6)。以上数据与文献[16]对照一致,确定化合物8为对羟基苯酚(1,4-benzenediol)。

化合物9 黄色粉末(甲醇),mp:132~134 °C,ESI-MS m/z 385[M-H]⁻,浓硫酸-香草醛显黄色。¹H NMR(CD₃OD,300 MHz)δ:7.64(2H,d,J=15.9 Hz,H-7a,7b),6.42(2H,d,J=15.9 Hz,H-8a,8b),6.92(4H,s,H-2a,2b,6a,6b),3.89(12H,s,OMe),5.12(1H,d,J=3.7 Hz,H-1'a),4.51(1H,d,J=7.8 Hz,H-1'b)。¹³C NMR(CD₃OD,75 MHz)δ:169.1(C-9a,9b),149.5(C-3a,5a,3b,5b),147.2(C-7a,7b),139.7(C-4a,4b),126.6(C-1a),126.4(C-1b),115.8(C-8a,8b),106.9(C-2a,6a,2b,6b),98.30(C-1'b),94.0(C-1'a),76.3(C-2'b),73.8(C-2'a),78.0(C-3'b),75.5(C-3'a),71.8(C-4'b),70.8(C-4'a),74.8(C-5'b),72.0(C-5'a),64.9(C-6'a),64.8(C-6'b)。以上波谱数据与文献[17]对照一致,确定化合物9为含有6-O-[E]-芥子酰-α-D-吡喃葡萄糖昔[6-O-[E]-sinapoyl-α-D-glucopyranoside]和6-O-[E]-芥子酰-β-D-吡喃葡萄糖昔[6-O-[E]-sinapoyl-β-D-glucopyranoside]的混合物。

化合物10 黄色粉末(甲醇)。ESI-MS m/z:175[M-H]⁻,浓硫酸-香草醛显蓝黑色。¹H NMR(C₅D₅N,300 MHz)δ:4.72(1H,d,J=2.2 Hz,H-1),3.32(3H,s,1-OMe),3.40(3H,s,3-OMe),1.49(3H,d,J=6.5 Hz,H-6)。¹³C NMR(C₅D₅N,75 MHz)δ:97.8(C-1),76.6(C-3),73.4(C-4),65.4(C-5),56.8(3-OMe),54.8(1-OMe),32.0(C-2),18.5(C-6)。以上波谱数据与文献[18]对照一致,确定化合物10为1-O-甲基-α-D-吡喃加拿大麻糖甲昔(1-O-methyl-α-D-cymadropyranoside)。

化合物11 白色粉末(氯仿甲醇),mp:282~284 °C。Libermann-Burchard反应显紫黑色,Molish反应呈阳性,浓硫酸-香草醛显紫红色。与β-胡萝

卜昔对照品共薄层,其R_f及显色行为一致,且两者混合熔点不下降,故确定化合物11为β-胡萝卜昔(β-daucosterol)。

化合物12 无色针晶(石油醚-丙酮),mp:140~142 °C。Libermann-Burchard反应显紫黑色,浓硫酸-香草醛显蓝紫色。与β-谷甾醇对照品共薄层,其R_f值及显色行为一致,且两者混合熔点不下降,故确定化合物12为β-谷甾醇(β-sitosterol)。

参 考 文 献

- [1] Ma YL, Fu HM, Fang J. Recent 10 years researches on *Cynanchum stuntonii* and other plants of *Cynanchum* Linn. [J]. *J Med Pharm Chin Minorities*(中国民族医药杂志), 2003, (65):318~322.
- [2] Liao YH. The difference between *Cynanchum stuntonii* and *Cynanchum atratum* Bunge. [J]. *J Prac Tradit Chin Med*(实用中医药杂志), 2008, 24(5):326~327.
- [3] Liang AH, Xue BY, Yang Q, et al. The difference of the pharmacological activities between *Cynanchum stuntonii* and *Cynanchum atratum* Bunge. [J]. *Chin J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 1996, 20(10):622~625.
- [4] Takashi N, Koji H, Hiroshi M. The structures of Glaucogenin A, Glaucogenin B, and Glaucogenin C-mono-D-thevetoside from Chinese drug “Pai-ch’ien” *Cynanchum glaucescens* (Decne.) Hand.-Mazz. [J]. *Tetrahedron Lett*, 1982, 23(7):757~760.
- [5] Takashi N, Koji H, Hiroshi M. Studies on the constituents of Asclepiadaceae plants. The structures of three new Glauconides, Glauconide-H, -I and -J from the Chinese drug “Pai-ch’ien” *Cynanchum glaucescens* (Decne.) Hand.-Mazz. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1983, 31(7):2244~2253.
- [6] Yu JQ, Deng AJ, Qin HL. Nine new steroid glycosides from the roots of *Cynanchum stauntonii* [J]. *Steroids*, 2013, 78:79~90.
- [7] Huang F, Fang Y, Zheng Q, et al. The antithrombotic activity of *Cynanchum stauntonii* [J]. *Zhejiang J Integr Tradit Chin West Med*(浙江中西医结合杂志), 2012, 22(7):574~575.
- [8] Shen YQ, Zhang MF, Zhu ZP. The analgesics, anti-inflammatory and antithrombotic activities of *Cynanchum stauntonii* [J]. *Chin Pharm*(中国药房), 2001, 12(1):15~16.
- [9] Zhang M, Wang JS, Luo J, et al. Glaucogenin E, a new C₂₁ steroid from *Cynanchum stauntonii* [J]. *Nat Prod Res*, 2013, 27(2):176~180.
- [10] Yu Y, Gao H, Dai Y. A new lignan from *Gardenia jasminoides* [J]. *Chin Tradit Herb Drug*(中草药), 2010, 41(4):509~514.
- [11] Liang X, Zhu CG, Li YR, et al. Lignans and neolignans from *Sinocalamus affinis* and their absolute configurations [J]. *J Nat Prod*, 2011, 74:1188~1200.
- [12] Piccinelli AL, Arana S, Caceres A, et al. New lignans from the

- roots of *Valeriana prionophylla* with antioxidative and vasorelaxant activities [J]. *J Nat Prod*, 2004, **67**(7):1135–1140.
- [13] Li LB, He X, Wen XP. Studies on chemical constituents of *Saussurea lancioides* Hand. -Mazz. [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2013, **24**(1):5–7.
- [14] Zhao YB, Ren HY, Zuo GY, et al. Component analysis of extract from *Cynanchum otophyllum* Schneid. [J]. *Med J Nat Defend Forces Southwest China* (西南国防医药), 2009, **19**(10):961–965.
- [15] Jia L, Bi YF, Jing LL, et al. Study chemical constituents of *Urena procumbens* L. [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2010, **45**(14):1054–1056.
- [16] Zhang JJ, Wang J, Xue J, et al. Chemical constituents from the stems and leaves of *Sedum aizoon* L. [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2010, **27**(8):635–638.
- [17] Lou HX, Li X, Zhu TR, et al. Sinapic acid esters and a phenolic glycoside from *Cynanchum hancockianum* [J]. *Phytochem*, 1993, **32**(5):1283–1286.
- [18] Keiji W, Koji H, Hiroshi M, et al. Studies on the constituents of *Asclepiadaceae plants*. L. Two new ologlycosides, cynanchoside C₂ and cynanchoside C₁, from *Cynanchum caudatum* Max. [J]. *Chem Pharm Bult*, 1982, **30**:3500–3504.