

丹 参 有 效 成 分 的 研 究

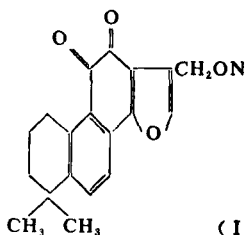
V. 紫丹参甲素和乙素的分离和化学结构

杨保津 钱名堃 秦国伟 陈政雄

(中国科学院上海药物研究所)

提要 从云南产紫丹参(*Salvia przewalskii* Maxim. var. *mandarinorum* Stib.)中分离到两种新的二萜醌类化合物, 取名为紫丹参甲素($C_{19}H_{18}O_4$, 熔点 $173\sim 5^\circ\text{C}$)和紫丹参乙素($C_{18}H_{16}O_4$, 熔点 $242\sim 3^\circ\text{C}$), 经物理和化学方法的研究推定其结构式分别为(I)和(IIb)。紫丹参甲素有抗动物肿瘤活性, 且其抑菌作用比隐丹参酮强。试探了紫丹参乙素质谱中 M-16 裂片的裂解由来。

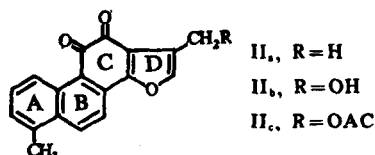
丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)是中医常用的活血化瘀药, 我们将其所含主要二萜醌类化合物丹参酮 II-A 制成磺酸钠盐⁽¹⁾, 临床试验证明对冠心病有较好疗效^(2~4), 为扩大丹参酮 II-A 的资源 and 寻找新的二萜醌类化合物⁽⁵⁾, 我们对云南所产甘西鼠尾草褐毛变种(*Salvia przewalskii* Maxim. var. *mandarinorum* Stib.) 俗名紫丹参中的二萜醌类化学成分进行了研究, 通过薄层层析及高速液相层析检查, 发现紫丹参也含有丹参中的一些主要二萜醌类成分⁽¹⁾, 如丹参酮 I、次甲丹参酮、丹参酮 II-A、丹参酸甲酯、二氢丹参酮 I、隐丹参酮和羟基丹参酮 II-A 等, 其中丹参酮 II-A 含量可达 0.5% 左右。此外, 还分得两种新的二萜醌类化合物, 取名为紫丹参甲素(przewaquinone A)和紫丹参乙素(przewaquinone B)。紫丹参甲素, 为橙红色柱状结晶, 熔点 $173\sim 5^\circ\text{C}$ (分解), 分子式 $C_{19}H_{18}O_4$, 分子量 310.1227 (质谱)。关于紫丹参甲素的结构(I)已由药学通报发表⁽⁶⁾。



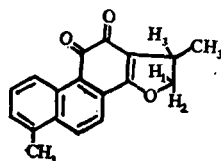
紫丹参甲素对动物肿瘤具有活性, 120 或 150 mg/kg 剂量, 腹腔注射, 对小鼠 Lewis 肺癌、黑色素瘤 B₁₆ 和肉瘤 180 的抑制率为 35.8~67.8%, 可使白血病 P₃₈₈ 小鼠的生存时间延长达 100% 以上。紫丹参甲素对抑制金黄色葡萄球菌 209 p 作用比隐丹参酮强, 进一步的活性试验正在进行之中。本文着重就紫丹参乙素的结构予以报道。

紫丹参乙素, 为紫褐色片状结晶, 熔点 $242\sim 3^\circ\text{C}$ (分解)。分子式 $C_{18}H_{16}O_4$, 分子量 292.0747 (质谱), 其紫外光谱与丹参酮 I (IIa), 分子式 $C_{18}H_{12}O_3$, 分子量 276.0817 (质谱) 基本一致, 红外光谱中有很强的邻醌吸收, ($\nu_{C=O}$, $1660, 1670\text{ cm}^{-1}$), 根据以上结果, 并考虑到生源规律, 我们推测其为具有丹参酮 I (IIb) 母核和共轭系统的二萜醌类化合物。紫丹

参乙素的分子量比丹参酮 I 大 16, 多一个氧, 结合其红外光谱中有羟基吸收 (ν_{OH} , 3370~3440 cm^{-1}), 因而推测其比丹参酮 I 多一个羟基。当比较紫丹参乙素和丹参酮 I 的核磁共振谱时发现, 两者的唯一不同是紫丹参乙素缺少丹参酮 I 中呋喃环上 β 位置的甲基信号, 代之而在 δ 4.65 ppm 处出现面积为 2 个氢的单峰, 而此单峰在紫丹参乙素乙酰化后的核磁共振谱中又可显著的向低磁场移动至 δ 5.23 ppm, 故而确定其为连接羟基的次甲基信号, 因此紫丹参乙素应该是丹参酮 I 在呋喃环 β 位甲基上羟基化的产物。其结构及它的乙酰化物结构分别为(II_a)和(II_c), 这也是一种新的二萜醌类化合物。



为了确证(II_b)的结构, 我们将其在醋酸和加温条件下用Adam's 催化剂进行接触氢化, 得到的产物为褐紫色针晶, 熔点 202~203°C, 分子式 $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{O}_3$, 分子量 278(质谱), 其紫外光谱和核磁共振谱与二氢丹参酮 I 一致, 其红外光谱和熔点与从丹参酮 I 经同样条件接触氢化所得的消旋二氢丹参酮 I 也完全一致, 混合熔点也不下降, 故而鉴定其为消旋二氢丹参酮 I (III)。



(III)

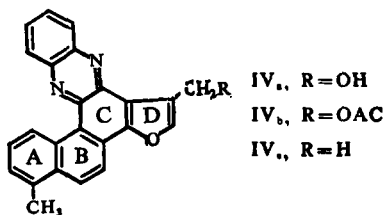
紫丹参乙素在醋酸和加温条件下用 Adam's 催化氢化中, 能使羟甲基还原为甲基, 这是颇为有趣的事, 我们推测此反应可能是由于先发生氢解, 结果失去羟基所致。

在核磁共振谱上, 呋喃环 α 位的质子, 由于与其他芳香质子在一起而不易清晰的辨认。而紫丹参乙素的 ^{13}C 核磁共振谱(氘代二甲基亚砜, δ ppm)显示 CH_3 (19.2, q), $-\text{CH}_2-\text{O}-$ (54.3, t), 两个 $\text{C}=\text{O}$ (181.6, 173.8, 均为 s), 八个芳香季碳 (159.7, 135.0, 132.6, 131.5, 128.4, 127.1, 122.5, 118.2, 均 s), 六个芳香叔碳 (142.4, 132.4, 129.8, 127.5, 123.5, 118.2, 均 d) 的存在。142.4 ppm (d) 表示呋喃环的 α 位没有取代, 即 CH_2OH 基应在呋喃环的 β 位, 从而支持了上述的结论。

另有一个值得提出的问题是紫丹参甲素(I)和乙素(II_b)有相同的 B、C 和 D 环结构, 这部分包含分子中的全部氧原子, 可是两者在质谱中却有一些涉及氧原子的不同开裂, 这就是在紫丹参甲素的高分辨质谱中有由呋喃环 β 位羟甲基引起脱去水分子的一系列碎片, 如 m/e 292.1092 ($\text{M}-\text{H}_2\text{O}$), 277.0890 ($\text{M}-\text{CH}_3-\text{H}_2\text{O}$) 和 249.0885 ($\text{M}-\text{CH}_3-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}$), 在甲素乙酰化物中有与此相应的脱去醋酸分子的一系列碎片, 如 m/e 292 ($\text{M}-\text{HOAc}$), 277 ($\text{M}-\text{CH}_3-\text{HOAc}$) 和 249 ($\text{M}-\text{CH}_3-\text{CO}-\text{HOAc}$), 但是在紫丹参乙素的高分辨质谱中, 却未观察到脱去水分子的碎片, 而仅有 m/e 247.0733 ($\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{O}_2$, $\text{M}-\text{CO}-\text{OH}$) 和 189.0681 (C_{15}H_9 , $\text{M}-2\text{CO}-\text{O}-\text{CH}_2\text{OH}$), 更令人注目的是紫丹参乙素却具有一系列脱去一个氧原子的碎片, 如 m/e 276.0770 ($\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{O}_3$, $\text{M}-\text{O}$), 248.0812 ($\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{O}_2$, $\text{M}-\text{CO}-\text{O}$) 和 189.0681 (C_{15}H_9 , $\text{M}-2\text{CO}-\text{O}-\text{CH}_2\text{OH}$), 在乙素的乙酰化物中, 也有脱去一个氧原子的碎片。为了研究乙素质谱中脱去

的氧原子究竟来自邻醌还是呋喃环,我们将乙素用邻苯二胺取代邻醌,制成 IVa,又将乙素的乙酰化物制成邻苯二胺衍生物 IVb, IVa 和 IVb 经质谱分析,仍可观察到 M-16 的碎片。

从丹参酮 I 及其邻苯二胺衍生物的质谱中,同样也可观察到 M-16 的碎片,因而推测紫丹参乙素(IIb),脱去的氧原子不可能来自邻醌,而可能来自呋喃环。这样的开裂,机理尚不清楚,也许可能是由于 A 环的芳香化引起整个分子的芳香化所致。



至于丹参二萜醌类化合物质谱裂解有何规律,尚有待于今后进一步深入研究。

实 验 部 分

文中报道的熔点用 Kofler 测定,温度计未经校正,紫外光谱在甲醇中测定,红外光谱用 SP-100 型仪测定,溴化钾压片或石蜡糊。核磁共振谱用 JNMPS-100 型仪测定,四甲基硅或六甲基二硅烷为内标准,除紫丹参乙素用氘代二甲亚砜(DMSO-d₆)以外,其他样品均用氘代氯仿(CDCl₃)为溶剂。质谱用 MAT-711 型仪测定,质谱项括号内数值为相对丰度。紫丹参甲素、乙素和丹参酮 I 用高分辨质谱测定。

(一) 紫丹参甲素和乙素的提取和分离 云南紫丹参 8.3 kg 用 95% 乙醇回流提取,提取液减压浓缩后放置,析出丹参酮 II-A 粗结晶,共 44 g,其母液再浓缩呈浸膏状,取相当于生药 1.6 kg 的浸膏,用中性氧化铝(IV~V 级)干柱层析,苯展开,或层析用硅胶(100~200 目 IV 级)干柱层析,二氯甲烷展开,将接近于样品层附近的这段红、褐色吸附剂倒出切割,分成红色段及褐色段。

1. 红色段氧化铝(或硅胶),用氯仿反复洗脱,洗脱液合并蒸干,残留物用甲醇反复重结晶多次,得紫丹参甲素(I),得率约为丹参酮 II-A 的 1/10,即 0.5%,呈橙红色柱状结晶,熔点 173~5°C(分解)。如果残留物太杂,重结晶析不出甲素时,则可通过中性层析用硅胶,进行再次柱层析,用二氯甲烷及乙酸乙酯 10:11 洗脱,即可分得紫丹参甲素纯品。紫外光谱 $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm(log ϵ) 225(4.171), 252(4.195), 269(4.276), 348(3.237), 460(3.321); 红外光谱 ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ 700, 835, 920, 1030, 1050, 1200, 1290, 1370, 1422, 1465, 1490, 1540, 1590, 1675(强), 1680(强), 2860, 2940, 2980, 3410(强), 3445(强)。核磁共振谱 ppm 1.35(s, 6 H), 1.72(m, 4 H), 4.70(s, 2H), 7.55, 7.68(dd, 2 H, J=8 周/秒), 3.18(t, 2H), 7.38(s, 1H), 4.70(能被重水全部交换)。质谱 m/e(相对丰度) 310.1227(M⁺, 39.66), 292.1092(80.98), 277.0890(100), 249.0885(88.56), 221.0879(6.71), 193.0990(6.31), 178.0776(15.89), 165.0731(13.66), 152.0238(7.84)。

2. 褐色段氧化铝(或硅胶)用氯仿反复洗脱,洗脱液合并蒸干,残留物用丙酮重结晶多次,或用上述甲素再次柱层析的条件,均可得紫丹参乙素(II_b),得率约为紫丹参甲素的 1/3,即 0.2% 左右,呈紫褐色片状结晶,熔点 242~3°C(分解)。紫外光谱 $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm(log ϵ) 245(4.437), 266(4.256), 325(3.683); 红外光谱 ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ 750, 790, 840, 910, 920, 1000, 1120, 1150, 1160, 1190, 1370, 1590, 1660(强), 1670(强), 3370(强), 3440(强)。

核磁共振(DMSO- d_6 , TMS)ppm 2.70(s, 3H), 7.36~7.78(m, 2H), 9.15(d, 1H, $J=8$ 周/秒), 7.85, 8.45(dd, 2H, $J=8$ 周/秒), 7.78(s, 1H), 4.65(s, 2H), 3.57(为羟基峰)。质谱 m/e (相对丰度)292.0747(M^+ , 64.4), 276.0770(M^+-0 , 3.41), 264.0781(M^+-CO , 100), 248.0812(M^+-O-CO , 4.70), 247.0733($M^+-OH-CO$, 4.52), 236.0830($M^+-CO-CO$, 7.21), 189.0681($M^+-2CO-O-CH_2OH$ 8.56)。

(二) 紫丹参甲素乙酰化物的制备 取 I 18 mg 按常法用醋酐和吡啶于室温乙酰化, 所得粗乙酰化物用丙酮、乙醇重结晶二次得紫丹参甲素乙酰化物, 呈鲜红色针状结晶, 熔点 $167\sim 8^\circ\text{C}$ 。红外光谱 $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$ 840, 1040, 1140, 1020, 1366, 1520, 1650, 1680(强), 1750(强), 2860, 2890, 3180; 核磁共振谱 ppm 1.35(s, 6H), 1.72(m, 4H), 2.14(s, 3H), 3.28(t, 2H), 5.27(s, 2H), 7.55, 7.68(dd, 2H, $J=8.5$ 周/秒), 7.38(s, 1H); 质谱 m/e (相对丰度) 352(M^+ , 22), 310(10), 292(100), 277(97), 249(88), 222(15), 194(16), 178(28), 166(20), 152(11)。

(三) 紫丹参乙素乙酰化物(IIc)的制备 取 IIb 20 mg, 加入醋酐和吡啶, 在烘箱中于 $35\sim 40^\circ\text{C}$ 下加热三小时, 然后在室温放置过夜, 即有晶体析出, 滤取, 以水洗涤, 干燥后用丙酮重结晶三次, 呈紫红色片状结晶, 即 IIc, 熔点 $229\sim 30^\circ\text{C}$ (分解)。红外光谱 $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$ 800, 830, 900, 1020, 1170, 1270, 1380, 1600, 1675(强), 1680(强), 1750(强)。核磁共振谱 ppm 2.66(s, 3H), 2.08(s, 3H), 5.23(s, 2H), 7.30~7.60(m, 2H), 9.27(d, 1H, $J=8$ 周/秒), 7.84, 8.36(dd, 2H, $J=8$ 周/秒), 7.47(s, 1H); 质谱 m/e (相对丰度) 334(M^+ 85), 306(25), 292(70), 276(66), 264(96), 248(100), 236(98), 221(24), 220(18), 208(20), 207(21), 189(64), 176(32), 165(29)。

(四) 紫丹参乙素氢化物(III)的制备 取 II_c 20 mg, 以冰醋酸为溶剂, 在加温条件(约 $30\sim 40^\circ\text{C}$)下, 用 Adam's 催化剂进行接触氢化, 氢化反应结束后, 滤去剩余的 Adam's, 醋酸溶液加水稀释, 然后用氯仿提取, 合并氯仿液, 用蒸馏水反复洗涤除去酸性, 再用无水硫酸钠干燥, 然后蒸去氯仿, 所得残留物用甲醇重结晶二次, 得褐紫色针晶, 熔点 $202\sim 203^\circ\text{C}$, 经理化常数分析证明为二氢丹参酮 I。紫外光谱 $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}} \text{nm}(\log e)$ 214(4.375), 239(4.457), 290(4.268); 红外光谱 $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$ 1625, 1655, 1689(C=O); 核磁共振谱 ppm 1.39(d, 3H, $J=7$ 周/秒), 2.64(s, 3H), 3.60(m, 1H), 4.38(dd, 1H, $J=9$ 周/秒, 7周/秒), 4.92(t, 1H, $J=8$ 周/秒), 7.20~7.48(m, 2H), 9.18(d, 1H, $J=8$ 周/秒), 7.62(d, 1H, $J=8$ 周/秒), 8.16(d, 1H, $J=8$ 周/秒)。去偶实验在结构式 III 中, 照射 δ 3.60 时, δ 4.38(H_1) 和 δ 4.92(H_2) 呈 AB 型四峰, $J=9$ 周/秒, 证明符合二氢丹参酮 I, $JH_1, H_2=9$ 周/秒, $JH_1, H_3=2$ 周/秒, $JH_2, H_3=9$ 周/秒。

丹参酮 I 氢化物的制备, 方法同紫丹参乙素, 所得氢化产物呈棕紫色柱状结晶, 经甲醇重结晶二次后, 熔点为 $200\sim 201^\circ\text{C}$, 与紫丹参乙素氢化产物测定混合熔点不下降, 两者的红外光谱及质谱裂解碎片均一致。

(五) 紫丹参乙素邻苯二胺衍生物(IVa)的制备 取紫丹参乙素 20 mg 使溶解在无水乙醇 15 ml 中, 加入五倍量的邻苯二胺乙醇溶液, 在水浴上加热回流两小时, 放置过夜, 即有淡黄色的簇状针晶析出, 用无水乙醇重结晶二次, 熔点 $250\sim 2^\circ\text{C}$, 分子式为 $\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{O}_2\text{N}_2$, 分子量 364(质谱), 红外光谱中邻醌吸收峰消失。

丹参酮 I 邻苯二胺衍生物(IVc)的制备, 方法同紫丹参乙素, 所得淡黄色细针晶, 用无水乙醇重结晶二次, 熔点 $196\sim 7^\circ\text{C}$, 分子式为 $\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{ON}_2$, 分子量 348(质谱), 红外光谱

中邻醌吸收峰消失。

(六)紫丹参乙素乙酰化物邻苯二胺衍生物 (IVb) 的制备 先取紫丹参乙素 50 mg 按照上述方法乙酰化, 然后再取紫丹参乙素乙酰化物 20 mg, 溶解在无水乙醇中, 加入五倍量的邻苯二胺乙醇溶液, 加热回流两小时, 放冷, 即有黄色细柱晶析出, 用无水乙醇重结晶二次, 熔点 $197\sim 8^{\circ}\text{C}$, 分子式为 $\text{C}_{26}\text{H}_{18}\text{O}_3\text{N}_2$, 分子量 406 (质谱), 红外光谱中邻醌及羟基吸收峰全部消失。

致谢 文中植物学名由本所黄秀兰同志鉴定, 周明忠、黄秀兰、田英、黄慧珠同志参加部分提取工作。日本九州大学药学部矢原正治博士协助测定 ^{13}C 核磁共振。本所刘伯年、黄知恒同志协助和指导测定质谱及分析, 统在此特表致谢。

参 考 文 献

1. 钱名堃等: 丹参有效成分的研究 I、丹参酮 II-A 磺酸钠和次甲丹参醌的化学结构. 化学学报 36:199, 1978
2. 陈维洲等: 丹参酮 II-A 磺酸钠的药理研究. 药学报 14:277, 1979
3. 王志敏等: 丹参酮 II-A 磺酸钠对心肌和溶血的作用. 生理学报 32:18, 1980
4. 上海丹参 201 临床协作组: 丹参酮 II-A 磺酸钠注射液治疗 108 例冠心病疗效观察. 中草药通讯 (1):37, 1978
5. 黄秀兰等: 丹参有效成分的研究 III、丹参酮 II-A 的资源寻找. 植物学报 22:98, 1980
6. 钱名堃等: 紫丹参甲素和乙素的分离及甲素的化学结构. 药学通报 15:193, 1980

STUDIES ON THE ACTIVE PRINCIPLES OF DAN-SHEN V. ISOLATION AND STRUCTURES OF PRZEWAQUINONE A AND PRZEWAQUINONE B

Yang Baojin, Qian Mingkun, Qin Guowei and

Chen Zhengxiong

(Shanghai Institute of Materia Medica, Academia Sinica)

ABSTRACT

Two new diterpenequinones named przewaquinone A and przewaquinone B were isolated from *Salvia przewalskii* Maxim. var. *mandarinorum* (Diels) Stib.

The structures of przewaquinone A ($\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_4$, mp $173\sim 5^{\circ}\text{C}$) and przewaquinone B ($\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{O}_4$, mp $242\sim 3^{\circ}\text{C}$) were elucidated as (I) and (II_b) by spectral analyses and chemical methods, respectively.

Przewaquinone A was shown to have antitumor activities on mice and to exhibit stronger inhibition against *Staphylococcus aureus* than cryptotanshinone.