

山辣子皮根茎化学成分研究

危英^{1,3*}, 梁光义^{1,2}, 汪冶², 蒋小虎¹, 王道平², 服部征雄³

(1. 贵阳中医学院 药学系, 贵州 贵阳 550002;

2. 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵州 贵阳 550002;

3. 富山大学和汉医药研究所, 日本 富山 9300194)

[摘要] 目的: 研究山辣子皮 *Daphne papyracea* var. *crassiuscula* 根茎的化学成分。方法: 对山辣子皮根茎 75% 乙醇提取物的乙酸乙酯部分进行反复硅胶、反相硅胶柱色谱分离, 并运用波谱学方法对化合物结构进行鉴定。结果: 从瑞香属植物山辣子皮根茎中分离得到 8 个化合物, 分别鉴定为瑞香新素(1), 瑞香素(2), 7-羟基-8-甲氧基香豆素(3), 西瑞香素(4), 1-4'-羟基苯基-5-苯基-2(E)-烯-1-戊酮(5), 瑞香醇酮(6), β -香树脂醇醋酸酯(7)和 (+)-松萝酸(8)。结论: 化合物 1~8 为首次从山辣子皮中得到, 化合物 8 首次从该属植物中得到。

[关键词] 山辣子皮; 香豆素; 三萜; 二苯呋喃衍生物

瑞香科 Thymelaeaceae 瑞香属 *Daphne* 植物山辣子皮 *D. papyracea* var. *crassiuscula*, 又称小构皮、麻树皮。味甘, 辛, 性微温, 小毒, 具有祛风止痛, 活血调经的功能, 在民间其根茎被广泛用于治疗风湿痹痛、跌打损伤、月经不调、痛经和疔疮疖肿等病症^[1]。研究显示同属原变种植物白瑞香 *D. papyracea* 根含有瑞香因子、瑞香素、瑞香素-8- β -葡萄糖苷; 地上部分含有蒲公英赛酮、蒲公英赛醇和芫花素等成分^[1]。本课题组在研究中药活性成分的过程中^[2-6], 发现山辣子皮根茎乙醇提取物显示抗 HCV NS3/4A 蛋白酶活性, 并且其化学成分未见报道。为明确该民间药物的化学物质基础和抗丙型肝炎病毒蛋白酶活性物质, 作者从其乙醇提取物的乙酸乙酯部位分离得到 8 个化合物。

1 材料

DIP-360 型自动旋光测定仪, JASCO FT/IR-230 型红外光谱仪, JEOL JHA-LAA 400 型核磁共振波谱仪(TMS 为内标), JMS DX-300 型质谱仪(EI-MS), VG Auto Spec-3000 型质谱仪; TLC 使用 GF₂₅₄ 硅胶(Merck 公司), 柱色谱硅胶为 BW-820MH 型硅胶

(富士硅胶公司, 日本), 反相硅胶为 ODS DM 1020T (富士硅胶公司, 日本); 洗脱剂均为分析纯(Wako 和光纯药株式会社, 日本)。

山辣子皮根茎于 2006 年 4 月购于贵州省贵阳市万东药材市场, 由贵阳中医学院陈德媛教授鉴定为山辣子皮 *D. papyracea* var. *crassiuscula* 的根茎。凭证标本保存于贵阳中医学院中药化学教研室(No. 0604/DAP)。

2 提取和分离

山辣子皮干燥根茎(6.5 kg)经 75% 乙醇室温下冷浸 48 h, 过滤后, 药材被重复提取 2 次。提取液减压条件下回收至无醇味, 用水混悬, 依次用乙酸乙酯、正丁醇萃取。乙酸乙酯提取物(132 g)经硅胶柱色谱(6.5 cm \times 80 cm), 氯仿-甲醇(50:1~0:100)梯度洗脱, 共收集到 7 个流分 A~G(氯仿-甲醇 50:1~8:1)。上述流分分别经反相硅胶柱色谱(4.5 cm \times 20 cm), 50%~100% 甲醇梯度洗脱, B 流分得化合物 7(3.9 g), 8(10 mg), C 流分得化合物 5(793.4 mg), 6(34.0 mg), D 流分得化合物 4(742.9 mg), F 流分得化合物 1(1.8 g), G 流分得化合物 2(5.4 g), 3(2.1 g)。所有化合物进一步在甲醇中重结晶纯化。

3 结构鉴定

化合物 1 黄色固体; ESI-MS m/z 409 [M + Na]⁺; ¹H-NMR(pyridine-*d*₅, 400 MHz) δ : 3.81(3H, s, 3', 5'-OCH₃), 3.90(2H, d, J = 2.7, 13.0 Hz,

[稿件编号] 20120711019

[基金项目] 贵州省科学技术基金项目[黔科合 NY(2010)2210]; 贵州省中医药管理局课题(QZYY2010-12); 贵阳中医学院博士启动基金项目

[通信作者] * 危英, 教授, 主要从事中药与民族药新药研究, Tel: (0851)5652704, E-mail: weiying1969@hotmail.com



H-8'), 4.29 (1H, d, $J = 1.7, 13.0$ Hz, H-8'), 4.31 (1H, d, $J = 8.1, 10.3$ Hz, H-7'), 5.59 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-6), 6.38 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3), 7.04 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5), 7.69 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-4); $^{13}\text{C-NMR}$ (pyridine- d_5 , 100 MHz) δ : 56.4 (3', 5'-OCH₃), 60.8 (C-9'), 78.0 (C-7'), 80.1 (C-8'), 106.2 (C-2', 6'), 113.4 (C-6), 113.8 (C-10), 113.9 (C-3), 120.0 (C-5), 126.6 (C-1'), 132.4 (C-4'), 138.5 (C-8), 144.3 (C-9), 144.6 (C-4), 147.8 (C-7), 160.6 (C-2)。以上数据与文献[7]报道的数据一致,故确定该化合物为瑞香新素。

化合物2 白色针晶(甲醇); ESI-MS (negative) m/z 177 [M - H]⁻; $^1\text{H-NMR}$ (MeOD, 400 MHz) δ : 6.07 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-3), 6.71 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-6), 6.88 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5), 7.72 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-4), 11.2 (s, 7-OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (MeOD, 100 MHz) δ : 110.0 (C-3), 112.4 (C-10), 112.6 (C-6), 118.8 (C-5), 132.2 (C-8), 143.6 (C-9), 145.3 (C-4), 149.8 (C-7), 162.1 (C-2)。以上数据与文献[8]报道的数据一致,故确定该化合物为瑞香素。

化合物3 白色固体; EI-MS m/z 192 (M⁺); mp 158 ~ 159 °C; Gibbs 反应呈阴性; $^1\text{H-NMR}$ (MeOD, 400 MHz) δ : 3.29 (3H, s, -OCH₃), 6.17 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-3), 6.81 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-6), 7.17 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5), 7.80 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-4); $^{13}\text{C-NMR}$ (MeOD, 100 MHz) δ : 60.4 (-OCH₃), 111.1 (C-6), 112.7 (C-3), 113.3 (C-10), 123.5 (C-5), 134.5 (C-8), 145.1 (C-9), 148.3 (C-7), 154.1 (C-4), 161.7 (C-2)。以上数据与文献[9]报道的数据一致,故确定该化合物为7-羟基-8-甲氧基香豆素。

化合物4 黄色固体; ESI-MS m/z 375 [M + Na]⁺; $^1\text{H-NMR}$ (MeOD, 400 MHz) δ : 3.80 (3H, s, -OCH₃), 6.37 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3'), 6.85 (1H, s, H-8), 7.10 (1H, br d, $J = 8.5$ Hz, H-6'), 7.17 (1H, br s, H-8'), 7.20 (1H, s, H-5), 7.70 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5'), 7.87 (1H, s, H-4), 8.03 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-4'); $^{13}\text{C-NMR}$ (MeOD, 100 MHz) δ : 56.0 (-OCH₃), 102.8 (C-8'), 104.0 (C-8), 109.4 (C-5), 110.2 (C-10), 113.5 (C-6'), 113.9 (C-3'), 114.4 (C-10'), 129.9 (C-5'), 131.0 (C-4), 135.7 (C-3), 144.1

(C-4'), 145.7 (C-6), 147.5 (C-7), 150.5 (C-9), 155.0 (C-9'), 157.0 (C-7'), 159.7 (C-2), 160.0 (C-2')。以上数据与文献[8]报道的数据一致,故确定该化合物为西瑞香素。

化合物5 白色固体; ESI-MS m/z 275 [M + Na]⁺; $^1\text{H-NMR}$ (pyridine- d_5 , 400 MHz) δ : 2.63 (2H, t, $J = 8.0$ Hz, H-4), 2.84 (2H, t, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.87 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-3), 7.04 (1H, d, $J = 6.0, 15.0$ Hz, H-2), 7.20 (1H, d, $J = 6.0, 15.0$ Hz, H-4''), 7.13-7.26 (4H, m, H-2'', 3'', 5'', 6''), 7.83 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-2', 6'), 12.3 (1H, -OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (pyridine- d_5 , 100 MHz) δ : 34.6 (C-4), 34.8 (C-5), 116.2 (C-3'), 116.3 (C-5'), 126.5 (C-2), 126.6 (C-4''), 128.8 (C-3'', 5''), 128.9 (C-2'', 6''), 130.0 (C-1'), 131.8 (C-2', 6'), 141.7 (C-1''), 146.9 (C-3), 163.7 (C-4'), 188.2 (C-1)。以上数据与文献[10]报道的数据一致,故确定该化合物为1-4'-羟基苯基-5-苯基-2(E)-烯-1-戊酮。

化合物6 白色固体; ESI-MS m/z 293 [M + Na]⁺; $[\alpha]_D^{24.3} + 0.01^\circ$ (c 0.022, MeOH); $^1\text{H-NMR}$ (pyridine- d_5 , 400 MHz) δ : 2.07 (2H, m, H-5a), 2.91 (2H, m, H-5b), 3.10 (1H, m, H-2a), 3.12 (1H, dd, H-2b), 4.67 (1H, br s, H-3), 7.17 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-3', 5'), 7.15 ~ 7.30 (5H, m, H-2'' ~ 6''), 8.19 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-2', 6'), 12.6 (1H, 3-OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (pyridine- d_5 , 100 MHz) δ : 32.7 (C-5), 40.2 (C-4), 46.7 (C-2), 67.8 (C-3), 116.2 (C-3', 5'), 126.1 (C-4''), 128.8 (C-3'', 5''), 129.0 (C-2'', 6''), 130.0 (C-1'), 131.6 (C-2', 6'), 143.2 (C-1''), 163.8 (C-4'), 198.3 (C-1)。以上数据与文献[11]报道的数据一致,故确定该化合物为瑞香醇酮。

化合物7 白色固体; ESI-MS m/z 491 [M + Na]⁺; 用10% H₂SO₄加热显色为紫红色; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃, 400 MHz) δ : 0.79 (3H, s, 28-CH₃), 0.83 (3H, s, 23-CH₃), 0.87 (6H, s, 29, 30-CH₃), 0.88 (3H, s, 24-CH₃), 0.96 (3H, s, 25-CH₃), 0.97 (3H, s, 26-CH₃), 1.13 (3H, s, 27-CH₃), 2.05 (3H, s, -COCH₃), 4.50 (1H, dd, $J = 8.5, 16$ Hz, H-3), 5.18 (1H, t, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl₃, 100 MHz) δ : 15.5 (C-25), 16.7 (C-26), 16.8 (C-24), 18.2 (C-6), 21.3 (CH₃), 23.5 (C-11), 23.7 (C-2, 30), 25.6 (C-27), 25.8 (C-28), 26.1 (C-16), 28.0 (C-15), 28.4 (C-

23), 31.1 (C-20), 32.4 (C-7), 33.3 (C-17), 34.9 (C-29), 36.8 (C-10), 37.1 (C-22), 37.6 (C-4), 38.2 (C-1), 39.7 (C-21), 40.4 (C-8), 41.7 (C-14), 46.7 (C-19), 47.2 (C-18), 47.5 (C-9), 55.2 (C-5), 80.9 (C-3), 121.5 (C-12), 145.2 (C-13), 171.0 (C=O)。以上数据与文献[12]报道的数据一致,故确定该化合物为 β -香树脂醇醋酸酯。

化合物 8 黄色针晶(甲醇); EI-MS m/z 344 (M^+); 1H -NMR (pyridin- d_5 , 400 MHz) δ : 1.77 (3H, s, 9b-CH₃), 2.33 (3H, s, 8-CH₃), 2.62 (3H, s, 2-OCCH₃), 2.68 (3H, s, 6-OCCH₃), 6.62 (1H, s, H-4), 12.19 (1H, s, 9-OH); ^{13}C -NMR (pyridin- d_5 , 100 MHz) δ : 7.95 (8-CH₃), 29.2 (2-OCCH₃), 31.1 (6-OCCH₃), 31.8 (9b-CH₃), 58.6 (C-9b), 99.7 (C-1), 101.8 (C-6), 105.5 (C-9a), 106.9 (C-2), 108.3 (C-8), 156.0 (C-6a), 158.3 (C-9), 163.9 (C-7), 178.4 (C-4a), 191.2 (C-3), 198.0 (C-1), 200.9 (6-OCCH₃), 201.2 (2-OCCH₃)。以上数据与文献[13-15]报道的数据一致,故确定该化合物为(+)-松萝酸。

[致谢] 中国科学院昆明植物研究所张颖君教授和黑龙江中医药大学王志刚博士提供技术支持。

[参考文献]

[1] 国家中医药管理局中华本草编委会. 中华本草. 第 5 卷 [M]. 上海: 上海科技出版社, 1999: 4433.
[2] Wei Y, Ma C M, Hattori M. Anti-HIV protease triterpenes from the acid hydrolysate of *Panax ginseng* [J]. *Phytochem Lett*, 2009, 2: 63.
[3] Dine R S E, Halawany A M E, Ma C M, et al. Anti-HIV-1 protease activity of lanostane triterpenes from the vietnamese mush

room *Ganoderma colossus* [J]. *J Nat Prod*, 2008, 71: 1022.

[4] Wei Y, Ma C M, Chen D Y, et al. Anti-HIV-1 protease triterpenoids from *Stauntonia obovatifoliola* Hayata subsp. *intermedia* [J]. *Phytochemistry*, 2008, 69: 1875.
[5] Ma C M, Wei Y, Wang Z G, et al. Triterpenes from *Cynomorium songaricum*—analysis of HCV protease inhibitory activity, quantification and content change under the influence of heating [J]. *J Nat Med*, 2009, 63: 9.
[6] Sato N, Ma C M, Komatsu K, et al. Triterpene-farnesyl hydroquinone conjugates from *Ganoderma sinense* [J]. *J Nat Prod*, 2009, 72: 958.
[7] Lin-Gen Z, Seligmann O, Wagner H. Daphneticin, a coumarinolinonoid from *Daphne tangutica* [J]. *Phytochemistry*, 1983, 22: 617.
[8] Zhuang L G, Seligmann O, Jurcic K, et al. Inhaltsstoffe von *Daphne tangutica* [J]. *Plant Med*, 1982, 45(3): 172.
[9] 王明时, 玛莱娜·戈加泽. 祖师麻化学成分的研究[J]. *中草药*, 1980, 11(2): 49.
[10] 王明时, 刘卫国, 忻莉娟. 唐古特瑞香化学成分研究[J]. *南京药学院学报*, 1984, 15(2): 1.
[11] Shigehumi K, Shigeki H, Kojiro W. Daphneolone in the roots of *Daphne odora* [J]. *Phytochemistry*, 1974, 13: 2332.
[12] Ageta H, Arai Y. Pentacyclic triterpenoids isolated from *Polypodium niponicum* and *P. formosanum* [J]. *Phytochemistry*, 1983, 22: 1801.
[13] Huneck S, Djerassi C, Becher D, et al. Massenspektrometrie von depsiden, depsidonen, depsonen, dibenzofuranen und diphenylbutandienen mit positiven und negativen Ionen [J]. *Tetrahedron*, 1968, 24: 2707.
[14] Huneck S, Schreiber K. A-acetylsalazins ure (galbins ure) aus *Parmelia caraccensis* [J]. *Phytochemistry*, 1976, 15: 437.
[15] Rashid M A, Majid M A, Quader M A. Complete NMR assignment of (+)-usnic acid [J]. *Fitoterapia*, 1999, 70: 113.

Chemical constituents from rhizome of *Daphne papyracea* var. *crassiuscula*

WEI Ying^{1,3*}, LIANG Guang-yi^{1,2}, WANG Ye², JIANG Xiao-hu¹, WANG Dao-ping², Masao Hattori³
(1. Department of Pharmacy, Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China;
2. Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China;
3. Institute of Natural Medicine, University of Toyama, Toyama 9300194, Japan)

[Abstract] **Objective:** To study chemical constituents from rhizome of *Daphne papyracea* var. *crassiuscula*. **Method:** Ethyl acetate fraction of 75% ethanol extracts from rhizome of *D. papyracea* var. *crassiuscula*, and its structure was identified by spectral method. **Result:** Nine compounds were separated and identified as daphneticin (**1**), daphnetin (**2**), hydrangetin (**3**), daphnoretin (**4**), 1-4'-hydroxyphenyl-5-phenyl-2(*E*)-en-1-pentanone (**5**), daphneolon (**6**), 3 β -*O*-acetyl-olean-12-en (**7**), and (+)-usnic acid (**8**). **Conclusion:** Compounds **1-8** were separated from *D. papyracea* var. *crassiuscula* for the first time. Compound **8** was separated from the genus for first time.

[Key words] *Daphne papyracea*; coumarin; triterpenoid; flavonoid; dibenzofran derivative

doi:10.4268/cjcm20122219

[责任编辑 孔晶晶]