

怀山药中的一个新吡嗪衍生物

冯卫生^{1,2*}, 李方^{1,2}, 郭孟焕^{1,2}, 曹彦刚^{1,3}, 杨雁芸^{1,2}, 陈文静^{1,2},
齐曼^{1,2}, 王小兰¹, 郑晓珂^{1,2}

(1. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046; 2. 呼吸疾病诊疗与新药研发河南省协同创新中心, 河南 郑州 450046; 3. 黑龙江中医药大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要: 采用 Diaion HP-20、Sephadex LH-20、Toyopearl HW-40、MCI Gel CHP-20、ODS、silica gel 等柱色谱和半制备液相等技术, 从怀山药中分离得到 9 个化合物, 通过化合物的光谱数据和理化性质鉴定其结构分别为: 2-(1',2',3'-三羟基丁基-4'-*O*- α -D 葡萄糖苷)-6-(2",3",4"-三羟基丁基)-吡嗪 (1)、尿嘧啶 (2)、黄嘌呤 (3)、次黄嘌呤 (4)、胸腺嘧啶 (5)、腺苷 (6)、尿苷 (7)、肌苷 (8) 和 5'-去氧-5'-亚磺酰腺苷 (9)。其中, 化合物 1 为一个新的吡嗪衍生物, 化合物 3~5、8、9 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 怀山药; 化学成分; 吡嗪衍生物; 核苷类

中图分类号: R284

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 08-1299-03

A new pyrazine derivative from *Dioscorea opposita* Thunb.

FENG Wei-sheng^{1,2*}, LI Fang^{1,2}, GUO Meng-huan^{1,2}, CAO Yan-gang^{1,3}, YANG Yan-yun^{1,2},
CHEN Wen-jing^{1,2}, QI Man^{1,2}, WANG Xiao-lan¹, ZHENG Xiao-ke^{1,2}

(1. College of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. Collaborative Innovation Center for Respiratory Disease Diagnosis and Treatment and Chinese Medicine Development of Henan Province, Zhengzhou 450046, China; 3. College of Pharmacy, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

Abstract: The chemical constituents of *Dioscorea opposita* Thunb. were isolated and purified by Diaion HP-20, Sephadex LH-20, Toyopearl HW-40, MCI Gel CHP-20, ODS, silica gel column chromatography and semi-preparative-HPLC. Nine compounds were found and their structures were elucidated by spectral data and physicochemical properties, which were identified as 2-(1',2',3'-trihydroxybutyl-4'-*O*- α -D-glucopyranoside)-6-(2",3",4"-trihydroxybutyl)-pyrazine (1), uracil (2), xanthine (3), hypoxanthine (4), thymine (5), adenosine (6), uridine (7), inosine (8), and 5'-deoxy-5'-methylsulphanyladenosine (9). The compound 1 is a new pyrazine derivative, and the compound 3–5, 8, 9 are found in this plant for the first time.

Key words: *Dioscorea opposita*; chemical constituent; pyrazine derivative; nucleosides

山药是薯蓣科植物薯蓣 *Dioscorea opposita* Thunb. 的干燥根茎。始载于《神农本草经》，列为上品。山药主产于河南温县、武陟、博爱等地，大都集

中在河南沁阳县（旧属怀庆府），故名“怀山药”，是河南省“四大怀药”之一。2015 版药典中记载：味甘、性平。归脾、肺、肾经。有补脾养胃、生津益肺、补肾涩精的功效^[1]。山药不仅是一种常用中药，而且还是一种上好的养生食材，自古以来便是药食同源的典范。目前，关于山药的研究有很多，但大多集中在其药理作用和机制，关于其药效物质基础方面的研究比较少。因此，本文采用多种柱色谱技术和

收稿日期: 2017-03-22; 修回日期: 2017-03-29.

基金项目: 中央引导地方科技发展专项——河南道地大宗药材种质评价及集约化种植与示范.

*通讯作者 Tel / Fax: 86-371-60190296, E-mail: fwsh@hactcm.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2017-0245

手段, 从怀山药中分离得到 9 个化合物, 分别是: 2-(1',2',3'-三羟基丁基-4'-*O*- α -*D*-葡萄糖苷)-6-(2'',3'',4''-三羟基丁基)-吡嗪 (1)、尿嘧啶^[2] (2)、黄嘌呤^[3] (3)、次黄嘌呤^[4] (4)、胸腺嘧啶^[5] (5)、腺苷^[6] (6)、尿苷^[7] (7)、肌苷^[8] (8) 和 5'-去氧-5'-亚磺酰腺苷^[9] (9), 其中化合物 1 为新的吡嗪衍生物, 化合物 3~5、8、9 为首次从该植物中分离得到的, 结构见图 1。

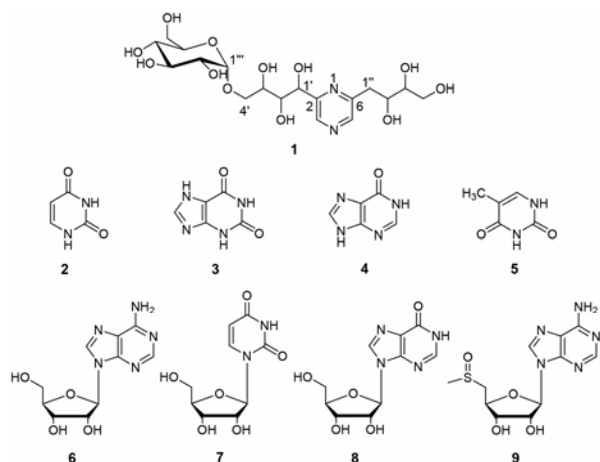


Figure 1 Structures of compounds 1–9

结果与讨论

化合物 1 为白色粉末 (甲醇), 易溶于水。[α]_D²⁰ 37.05 (*c* 0.13, CH₃OH); HR-TOF-MS 给出分子离子峰 *m/z*: 489.171 2 [M+Na]⁺ (C₁₈H₃₀N₂O₁₂Na 计算值为 489.169 1), 提示化合物的分子式为 C₁₈H₃₀N₂O₁₂; UV (CH₃OH) λ : 209、275 nm; IR (ATR): 3 282、2 925、1 673、1 421、1 200、1 145、1 031 cm⁻¹ 等。在 ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) 谱中, δ_H 8.74 (1H, s, H-3) 和 8.50 (1H, s, H-5) 处有两个氢信号, 处于较低场, 推测可能是氮杂环上的不饱和氢信号; δ_H 4.81 (1H, d, *J* = 3.6 Hz), 根据化学位移和耦合常数推测可能为 α -构型糖的端基氢信号。在 ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) 谱中有 18 个碳信号, 根据 DEPT 135 谱可知, 季碳有 2 个: δ_C 156.9 (C-2) 和 154.7 (C-6); 仲碳有 4 个: δ_C 69.9 (C-6''), 65.0 (C-4'), 62.6 (C-4'') 和 39.9 (C-1''); 其余 10 个均为叔碳。根据 HSQC 谱和 HMBC 谱 (图 2), 可知 δ_C 156.9 (C-2)、154.7 (C-6)、145.2 (C-5) 和 143.6 (C-3) 是 2,6-二取代吡嗪上的 4 个碳信号, δ_C 100.3 (C-1'''), 71.7 (C-2'''), 73.8 (C-3'''), 73.7 (C-4'''), 75.3 (C-5'''), 62.6 (C-6'') 是 α -葡萄糖^[10]上的碳信号。在 HSQC 谱中, δ_H 2.90、3.27 与 δ_C 39.9 相关, δ_H 3.40 与 δ_C 72.9 (C-3'') 有相关, δ_H 3.84 与 δ_C 65.0 有相关, δ_H 3.95 与 δ_C 69.9 相关; HMBC 谱中 δ_H 2.90 与 δ_C 72.9

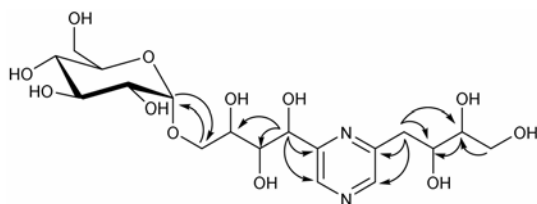


Figure 2 Key HMBC correlations of compound 1

有远程相关, δ_H 3.27 和 3.40 与 δ_C 74.5 (C-2'') 均存在远程相关, δ_H 3.84 与 δ_C 72.9 有远程相关, 推测可能存在 -CH₂(CHOH)₂CH₂OH, δ_H 2.90、3.27 与 δ_C 145.2、154.7 都存在远程相关, 说明 -CH₂(CHOH)₂CH₂OH 片段与 δ_C 154.7 的碳相连; δ_H 5.11 与 δ_C 72.5 (C-2')、75.2 (C-3') 有远程相关, 结合化学位移推测可能存在 -(CHOH)₃CH₂- 的结构片段, δ_H 5.11 与 δ_C 143.6、156.9 均存在远程相关, 说明 -(CHOH)₃CH₂- 片段与 δ_C 156.9 的碳相连; δ_H 3.95 与 δ_C 100.3 有远程相关, 同时, δ_H 4.81 与 δ_C 69.9 也存在远程相关, 可知, 葡萄糖基与 -(CHOH)₃CH₂- 片段中的亚甲基通过 1 位相连。进一步酸水解, 酯化, 通过 HPLC 可确定该化合物中的糖是 *D*-葡萄糖。综上所述, 并结合文献^[10]中 2-(1',2',3',4'-四羟基丁基)-6-(2'',3'',4''-三羟基丁基)-吡嗪的波谱数据, 最终确定该化合物的结构是 2-(1',2',3'-三羟基丁基-4'-*O*- α -*D*-葡萄糖苷)-6-(2'',3'',4''-三羟基丁基)-吡嗪 [2-(1',2',3'-trihydroxybutyl-4'-*O*- α -*D*-glucopyranoside)-6-(2'',3'',4''-trihydroxybutyl)-pyrazine]。其 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据见表 1。

Table 1 ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) and ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) spectral data of compound 1

No.	δ_H (<i>J</i> in Hz)	δ_C	No.	δ_H (<i>J</i> in Hz)	δ_C
2		156.9	2''	3.58 (1H, m)	74.5
3	8.74 (1H, s)	143.6	3''	3.40 (1H, dd, 3.6, 9.7)	72.9
5	8.50 (1H, s)	145.2	4''	3.84 (1H, m)	65.0
6		154.7		3.63 (1H, m)	
1'	5.11 (1H, s)	72.9	1'''	4.81 (1H, d, 3.6)	100.3
2'	3.33 (1H, m)	72.5	2'''	3.58–3.84 (6H, m)	71.7
3'	3.62 (1H, m)	75.2	3'''	3.58–3.84 (6H, m)	73.8
4'	3.95 (1H, dd, 4.6, 10.2)	69.9	4'''	3.58–3.84 (6H, m)	73.7
	3.60 (1H, m)		5'''	3.58–3.84 (6H, m)	75.3
1''	3.27 (1H, t, m)	39.9	6'''	3.58–3.84 (6H, m)	62.6
	2.90 (1H, dd, 9.2, 14.1)				

核苷类成分是生物细胞维持生命活动的基本组成元素, 参与 DNA 的代谢, 具有广泛的生物活性。通过本实验发现怀山药含有多种碱基和核苷类成分, 这可能与怀山药的补益作用具有一定的联系, 有待于进一步的研究商榷。

实验部分

Bruker AVANCE III 500 型核磁共振仪 (TMS 内标)、Bruker maxis HD 型飞行时间质谱 (德国布鲁克公司)、Rudolph AP-IV 型旋光仪 (美国鲁道夫公司)、Thermo Nicolet IS10 红外光谱仪、Thermo EVO300 紫外分光光度计 (美国热电公司)、赛谱锐思 LC50 型高压制备液相色谱仪 (赛谱锐思北京科技有限公司)、UV200 型紫外检测器、YMC-Pack ODS-A 色谱柱 (10 mm×250 mm, D. S-5 μm , 12 μm) (日本 YMC 有限公司)、Waters e2695 高效液相色谱仪、Waters 2998 检测器、DIKMA PLATISIL (TMS) ODS 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm)、EYELA N-1100 型旋转蒸发仪、EYELA A-1000S 型水流抽气机、EYELA N-1111 型冷冻水循环装置、EYELA FDU-2110 型冷冻干燥机 (上海爱朗仪器有限公司)、上海一恒 DFZ-60508 型真空干燥箱 (上海一恒科学仪器有限公司)。

柱色谱填料 Diaion HP-20、MCI Gel CHP-20 (日本三菱化学公司)、Toyopearl HW-40 (日本 TOSOH 公司)、Sephadex LH-20 (Pharmacia Biotech 公司)、柱色谱所用硅胶 H (160~200 目)、薄层色谱硅胶 (颗粒范围 10~40 μm) (青岛海洋化工厂)、其他分析纯和色谱纯试剂为北京化工厂和天津第三化学试剂厂生产, 标准品购自上海源叶生物科技有限公司。

本实验所选怀山药购自焦作市药材生产基地, 经河南中医药大学药学院陈随清教授鉴定为薯蓣科植物薯蓣 *Dioscorea opposita* Thunb. 的干燥根茎。

1 提取与分离

怀山药 10 kg, 75% 含水乙醇组织破碎提取, 每次 3 min, 过滤, 滤液合并后 45 $^{\circ}\text{C}$ 减压浓缩成流浸膏, 加适量水分散溶解后, 依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇反复萃取, 分别得到石油醚部位 (21.02 g)、乙酸乙酯部位 (13.76 g)、正丁醇部位 (23.46 g)。其中, 正丁醇部位上 Diaion HP-20 大孔吸附树脂柱, 依次用水、10%、20%、30%、45%、60%、75%、95% 乙醇-水梯度洗脱得到 8 个洗脱组分; 各个洗脱组分在反复通过 Sephadex LH-20、Toyopearl HW-40、MCI Gel CHP-20 等柱色谱和半制备高效液相色谱柱, 得到化合物 **1** (7.7 mg)、**2** (2.1 mg)、**3** (2.4 mg)、**4** (22.3 mg)、**5** (3.2 mg)、**6** (1.6 mg)、**7** (1.2 mg)、**8** (1.5 mg) 和 **9** (3.2 mg)。

2 酸水解

取化合物 **1** (2 mg), 溶于 CF_3COOH (4 mL) 溶液中, 95 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 3 h 后, 冷却至室温, 反应混合物用等体积 (2 mL) 的 CH_2Cl_2 萃取 3 次, 含水层浓缩干燥。然后分别将浓缩物和 *D*-葡萄糖的标准品溶于无水吡啶 (0.5 mL) 和 *L*-半胱氨酸甲酯盐酸盐 (1.0 mg) 中,

在 60 $^{\circ}\text{C}$ 时反应 1 h。冷却后分别加入 5 μL 邻甲苯异硫氰酸酯, 60 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 1 h。冷却至室温, 用吡啶稀释 1 倍后, 分别取样品 (5 μL), 通过 HPLC (乙腈-水 25 : 75, 0.8 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$) 进行分析, 检测波长为 250 nm ^[11]。化合物 **1** 的水解产物和 *D*-葡萄糖衍生物分别在 $t_{\text{R}}=18.8$ min 处有色谱峰。

3 结构鉴定

化合物 **1** 为白色粉末。 $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 37.047 (*c* 0.127 5, CH_3OH); HR-TOF-MS *m/z*: 489.171 2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_{12}\text{Na}$ 计算值是 489.169 1); UV (CH_3OH) λ/nm : 209, 275; IR (ATR)/ cm^{-1} : 3 282, 2 925, 1 673, 1 421, 1 200, 1 145, 1 031; ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 和 ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 数据见表 1。

References

- [1] Chinese Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [M]. Part 1. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 29.
- [2] Gao JM, Shen J, Yang X, et al. The constituents of *Russula ochroleuca* basidiomycetes [J]. Acta Bot Yunnan (云南植物研究), 2001, 23: 385-393.
- [3] Sun JL, Deng AJ, Li HZ, et al. Study on the chemical constituents of roots of *Linum usitatissimum* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2009, 34: 718-720.
- [4] Chen Y, Li FT, Tao WW, et al. Chemical constituents of Typhae Pollen [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2015, 27: 1558-1563.
- [5] Du WP, Xu P, Liu B, et al. Chemical constituents from shoots of *Phyllostachys edulis* (L) [J]. China Tradit Herb Drugs (中草药), 2015, 46: 334-338.
- [6] Zheng XK, Bi YF, Feng WS, et al. Study on the chemical constituents of *Selaginella tamariscina* (Beauv) Spring [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2004, 39: 266-268.
- [7] Wang ZB, Guo JT, Yang CJ, et al. Chemical constituents from *Hydrangea macrophylla* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2013, 38: 709-713.
- [8] Shao JJ, Peng Y, He CN, et al. Isolation and identification the chemical constituents of *Przewalskiatungutica* Maxim. [J]. J Shenyang Pharm Univ (沈阳药科大学学报), 2013, 30: 840-845.
- [9] Kawagishi H, Fukuhara F, Sazuka M, et al. 5'-Deoxy-5'-methylsulphinyladenine, a platelet aggregation inhibitor from *Ganoderma lucidum* [J]. Phytochemistry, 1993, 32: 239-241.
- [10] Li Q, Ye WH, Yan AX, et al. Isolation, identification and physiological activities of 2-(1',2',3',4'-tetrahydroxybutyl)-6-(2'',3'',4''-trihydroxybutyl)-pyrazine from *Panax notoginseng* [J]. Chem J Chin Univ (高等学校化学学报), 2001, 22: 1824-1828.
- [11] Tian EL, Yang GZ, Mei ZN, et al. Chemical constituents from stems of *Glycosmis pentaphylla* [J]. China Tradit Herb Drugs (中草药), 2014, 45: 1358-1362.