

金银花中水溶性化合物的分离与结构确定

山东医科大学药学系(济南 250012)

姜红祥*

哈尔滨中药二厂

郎伟君

北京大学化学系仪器分析中心

吕木坚

摘 要 金银花的水溶性部位经大孔树脂柱层析, R_p -18 HPLC 柱层析分得 4 个化合物, 经 FABMS, 1D NMR 和 2D NMR 谱的测定, 确定 3 个三萜皂甙的结构为: 3-O- α -L-吡喃鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- α -L-吡喃阿拉伯糖基-hederagenin-28-O- β -D-吡喃木糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-吡喃葡萄糖酯(I), 3-O- α -L-吡喃阿拉伯糖基-hederagenin-28-O- α -L-吡喃鼠李糖基(1 $\rightarrow$ 2)-[β -D-吡喃木糖基-(1 $\rightarrow$ 6)]- β -D-吡喃葡萄糖酯(II) 和 3-O- α -L-吡喃鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- α -L-吡喃阿拉伯糖基-hederagenin-28-O- α -L-吡喃鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 2)-[β -D-吡喃木糖基-(1 $\rightarrow$ 6)]- β -D-吡喃葡萄糖酯(III)。另一化合物确定为绿原酸四乙酰化物(IV)。药理实验表明以上化合物对 CCl_4 引起的小鼠肝损伤有明显的保护作用。

关键词 金银花 忍冬科 三萜皂甙 保肝作用

金银花为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的花蕾, 具有抗菌, 抗病毒, 保肝利胆之功效等^[1]。其水溶性部位经大孔树脂层析分得具有保肝活性组分, 经 HPLC 层析等分离得到化合物 I, II 和 III, 大孔树脂水洗脱部分经乙酰化, 硅胶柱层析分离得到化合物 IV。化合物 IV 经 ¹H NMR, ¹³C NMR, EIMS 鉴定为绿原酸四乙酰化物。

化合物 I, II 和 III Molish 反应和 Liebermann-Burchard 反应均为阳性, 彻底酸水解经层析均检出葡萄糖, 鼠李糖, 阿拉伯糖和木糖。

化合物 I 的 ¹H NMR 显示有个糖的端基信号分别为 δ : 5.43 (1H, d, J = 7.4 Hz), 5.34 (1H, d, J = 1.41 Hz), 4.31 (1H, d, J = 6.8 Hz), 4.27 (1H, d, J = 7.5 Hz) 与 ¹³C NMR 糖的端基信号: δ : 95.08, 101.75, 105.14, 106.40 相对应, 提示该化合物为四个糖组成的甙。FAB-MS 给出离子峰有: m/z 1083 [$M+1+K$]⁺, 1067 [$M+1+Na$]⁺, 1045 [$M+1$]⁺, 913 [$M+1-132$]⁺, 899 [$M+1-146$]⁺, 767 [$M+1-132-146$]⁺, 605 [$M+1$

$-132-146-162$]⁺, 455 [$M+1-132-146-162-150$]⁺, 437, 409。初步确定糖链部分具有分支; 从 DEPT 谱除去四个糖的信号, 结合 ¹H-¹³C COSY, HMBC 推定甙元的结构为 hederagenin^[2]。根据 ¹H-¹H COSY 对糖上的质子信号进行归属(表 1), 根据 ¹H-¹³C COSY 及 HMBC 谱归属碳信号(表 2)。从 HMBC 谱上发现在 ¹H NMR 上阿拉伯糖的 H-1, δ : 4.31d 的信号与 ¹³C NMR 中甙元的 C₃, δ : 83.37 的信号有远程相关, 木糖 H-1, δ : 4.27d 与葡萄糖 C₆, δ : 69.20, 鼠李糖 H-1, δ : 5.34d 与葡萄糖 C₆, δ : 77.49 有远程相关。结合 FAB-MS 的裂解特征确定该化合物结构为双糖链的皂甙, 其中 α -L-吡喃阿拉伯糖连于甙元的 C₃ 位上, 另一糖链以 α -L-吡喃鼠李糖(1 $\rightarrow$ 2)[β -D-吡喃木糖(1 $\rightarrow$ 6)] β -D-吡喃葡萄糖的形式连于甙元结构的 C₂₈ 位上, 最终确定该化合物的结构。尽管 ¹H-¹H COSY 能够准确确定甙元上的氢信号, 但因信号叠加, 其裂分情况较难观察, 甲基及烯氢的信号则较容易确定。

化合物 II 的 ¹H NMR 亦显示有 4 个糖的

* Address: Lou Hongxiang, Department of Pharmacy, Shandong Medical University, Jinan

端基信号,分别为 δ : 5.40 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 5.12 (1H, d, $J = 1.4$ Hz), 4.54 (1H, d, $J = 5.6$ Hz), 4.28 (1H, d, $J = 7.6$ Hz) 与 ^{13}C -NMR 糖的端基信号: δ : 95.62, 101.82, 104.36, 105.14 相对应, FAB-MS 显示与化合物 I 相同的分子离子峰 m/z 1045 $[M + 1]^+$; 从 DEPT 谱中可以确定该化合物的甙元与化合物 I 相同, 根据 ^1H - ^1H COSY 归属糖上的质子信号 (表 1), 根据 ^1H - ^{13}C COSY 及 HMBC 谱归属碳信号 (表 2), 与化合物 I 相比, 化合物 II 阿拉伯糖的 C_2 , δ : 76.72 向低场移动 +3.7 ppm, 而葡萄糖 C_2 , δ : 73.26 向高场移动约 2.5 ppm, 由此确定该化合物结构为 α -L-吡喃鼠李糖 (1 $\rightarrow$ 2) α -L-吡喃阿拉伯糖连于甙元的 C_3 位, β -D-吡喃木糖 (1 $\rightarrow$ 6) β -D-吡喃葡萄糖连于甙元结构的 C_{28} 位上的双糖链的皂甙。FABMS 显示主要碎片峰 m/z : 913 $[M + 1 - 132]^+$, 751 $[M + 1 - 132 - 162]^+$, 605 $[M + 1 - 132 - 162 - 146]^+$, 455 $[M + 1 - 132 - 162 - 146 - 150]^+$, 437, 409, 亦支持上述推断。

化合物 III 的 ^1H NMR 显示有 5 个糖的端基信号, 分别为 δ : 5.43 (1H, d, $J = 7.4$ Hz), 5.34 (1H, d, $J = 1.4$ Hz), 5.15 (1H, d, $J = 1.4$ Hz), 4.55 (1H, d, $J = 5.6$ Hz), 4.27 (1H, d, $J = 7.5$ Hz) 与 ^{13}C NMR 糖的端基信号 δ : 95.07, 101.89, 101.74, 104.35, 105.13 相对应, FAB-MS 显示主要碎片峰有 1191 $[M + 1]^+$, 1086 $[M + 1 - 132]^+$, 913 $[M + 1 - 132 - 146]^+$, 751 $[M + 1 - 132 - 146 - 162]^+$, 605 $[M + 1 - 132 - 146 - 162 - 146]$, 455。从 DEPT 谱中可以确定该化合物的甙元与化合物 I 相同, 与 I 相比多一鼠李糖的信号, 根据 ^1H - ^1H COSY 归属糖上的质子信号及 ^1H - ^{13}C COSY 谱归属碳信号 (表 2)。与化合物 I 相比, 阿拉伯糖的 C_2 , 由 δ : 72.99 低场位移到 δ : 76.99; 其余糖的信号基本相同, 由此确定该化合物的结构。HMBC 谱上鼠李糖 H-1, δ : 5.15d 与阿拉伯糖的 C_2 , δ : 76.69, 阿拉伯糖的 H-1, δ : 4.55d 与甙元的 C_3 , δ : 82.28 的信

号、木糖 H-1, δ : 4.27d 与葡萄糖 C_6 , δ : 69.24 以及鼠李糖 H-1, δ : 5.34d 与葡萄糖的 C_2 , δ : 77.46 的远程相关进一步确定该结构。

化合物 I ~ III 的化学结构式见图。

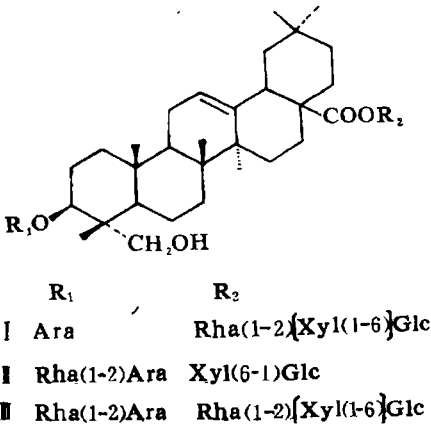


图 化合物 I ~ III 的化学结构式

化合物 I 和 III 已由 Son 自忍冬藤中分得^[3], 化合物 II 曾从葱目叶中分得。药理实验显示以上化合物对 CCl_4 引起的小鼠肝损伤有明显的保护作用。药理实验将另文报道。

1 仪器与试剂

熔点测定: Yanaco MP-S3 显微熔点测定仪测定, 红外光谱由 Perkin-Elmer 783 红外分光光度计测定, NMR 由 Bruker AIX-400 型核磁共振仪测定, FAB-MS 由 JMS-DX302 型质谱仪测定; 元素分析由 Carloerba 1106R 型元素分析仪测定, TLC 用及柱层析用硅胶均为青岛海洋化工厂生产, D_{101} 树脂由南开大学化工厂生产。

药材金银花于 1992-10 购于山东费县。

2 提取与分离

金银花 (1900g) 用 95% 的 EtOH 回流提取两次, 提取液合并, 回收乙醇得提取物 120g, 所得提取物加水溶解, 过滤不溶物, 水溶液经过处理过的 D_{101} 大孔树脂柱, 先用水洗脱, 然后用 30% EtOH 洗脱, 乙醇洗脱部分回收溶剂得残留物 24g, 该部位药效学实验显示对 CCl_4 引起的小鼠肝损伤有明显的保护作用。取 15g 进行硅胶柱层析, CHCl_3 -MeOH- H_2O (65 : 35 : 10 下层) 洗脱, 得 A

表 I 化合物 I ~ III 的 ¹HNMR 数据

糖部分	质子	I	II	III
3-O-糖部分				
Ara	1	4.31d(5.8)	4.56d(5.6)	4.55d(5.6)
	2	3.52dd(5.8,8.2)	3.70dd(5.6,8.0)	3.72dd(5.6,8.2)
	3	3.48dd(3.6,8.2)	3.42dd(8.0,3.6)	3.42dd(8.2,3.6)
	4	3.78m	3.67m	3.67m
	5	3.80dd(12.5,3.2)	3.64dd(12.5,3.3)	3.64dd(12.5,3.2)
		3.16br. d(12.5)	3.16br. d(12.5)	3.16dd(12.5)
Rha	1		5.12d(1.4)	5.15d(1.4)
	2		5.86dd(1.4,3.0)	3.90dd(1.4,3.0)
	3		3.69dd(3.0,9.6)	3.70dd(3.0,9.6)
	4		3.39dd(9.6,9.6)	3.39dd(9.6,9.4)
	5		3.80m	3.80m
	6		1.23d(6.2)	1.23d(6.2)
28-O-糖部分				
Glc	1	5.43d(7.4)	5.40d(7.8)	5.43d(7.4)
	2	3.52dd(7.4,7.6)	3.22dd(7.8,7.6)	3.52dd(7.6,7.4)
	3	3.28*	3.26*	3.28*
	4	3.47dd(7.2)	3.47dd(7.3)	3.47dd(7.3)
	5	3.29m	3.32m	3.37m
	6	4.11dd(1.2,12.5)	4.01dd(1.2,12.2)	4.03dd(1.2,12.5)
Xyl		3.67dd(12.5,3.6)	3.62dd(12.2,3.3)	3.66dd(12.2,3.3)
	1	4.27d(7.5)	4.28d(7.6)	4.27d(7.4)
	2	3.21dd(7.5,8.6)	3.21dd(7.6,8.6)	3.21dd(7.4,8.6)
	3	3.28*	3.28*	3.28*
	4	3.47m	3.46m	3.47m
	5	3.83dd(10.8,3.2)	3.82dd(10.2,3.3)	3.83dd(10.8,3.1)
Rha		3.54dd(10.8,10.8)	3.54dd(10.2)	3.56dd(10.8)
	1	5.34d(1.4)		5.34d(1.4)
	2	3.92dd(1.4,3.8)		3.93dd(1.4,3.0)
	3	3.66dd(3.8,9.4)		3.67dd(9.6,3.0)
	4	3.37dd(9.4,9.6)		3.38dd(9.6,9.6)
	5	3.72m		3.72m
	6	1.23d(6.2)		1.23d(6.2)

* 与其它信号重叠 括号里的数字为偶合常数(Hz)

,B,C三部分,A部分(1.8g)经Rp-18HPLC制备得到化合物I(120mg)和II(320mg),C部分(0.3g)经HPLC纯化得化合物III(96mg)。大孔树脂水洗脱部分经乙酰化得乙酰化产物46g,取20g进行硅胶柱层析,石油醚-醋酸乙酯(8:2)洗脱,得化合物IV(280mg)和另外三个化合物(鉴定中)。

3 结构鉴定

化合物I:白色粉末,mp 222~224℃, $[\alpha]_D^{20} - 24^\circ$ (MeOH, 0.16), $R_f = 0.21$ (硅胶H, CHCl₃-MeOH-H₂O = 65:35:10, lower layer), IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$: 3414, 1738, 1458, 1434,

1388, 1078, 1056。FAB-MS m/z : 1067 $[M+1+Na]^+$, 1045 $[M+1]^+$, 913 $[M+1-132]^+$, 899 $[M+1-116]^+$, 767 $[M+1-132-146]^+$, 605 $[M+1-132-162-146]^+$, 455 $[M+1-132-162-146-150]^+$, 437, 409。分子式: C₇₂H₈₄O₂₁ · H₂O, 元素分析(%): 计算值: C, 58.74, H, 8.15, 实测值: C, 58.76; H, 8.13。¹HNMR (400.13MHz, CD₃OD): 甙元部分 δ : 3.56t, J = 6.8Hz, C₃-H; 5.26br. t, C₁₂-H; 2.83dd, J = 3.8, 13.6, C₁₈-H; 3.38dd, 2H, C₂₃-H₂ (为溶剂峰掩盖); 0.70s, C₂₄-H₃; 0.99s, C₂₅-H₃; 0.80s, C₂₆-H₃;

表 2 化合物 I ~ III 的¹³CNMR 数据

碳 位	I	II	III	碳 位	I	II	III
貳元				3-O-糖部分			
1	39.63	39.79	39.66	Ara 1	106.40	104.36	104.35
2	26.39	26.57	26.38	2	72.99	76.72	76.69
3	83.32	82.28	82.26	3	74.96	74.02	73.96
4	43.92	43.98	43.96	4	69.76	69.43	69.15
5	48.20	48.19	48.20	5	66.84	64.66	64.74
6	18.92	18.84	18.90	Rha 1		101.82	101.74
7	33.17	33.17	33.17	2		71.96	72.02
8	40.83	40.82	40.83	3		72.16	72.17
9	48.39	48.38	48.38	4		73.72	73.78
10	37.75	37.70	37.72	5		70.16	70.19
11	24.63	24.63	24.62	6		18.32	18.00
12	123.81	123.82	123.81	28-O-糖部分			
13	144.79	144.76	144.78	Glc 1	95.08	95.62	95.07
14	43.10	43.10	43.11	2	77.49	73.26	77.46
15	29.11	29.11	29.10	3	78.94	78.32	78.91
16	24.14	24.15	24.14	4	71.21	71.14	71.19
17	48.14	48.13	48.14	5	77.61	77.32	77.61
18	42.87	42.87	42.86	6	69.20	69.20	69.24
19	47.34	47.38	47.36	Xyl 1	105.14	105.14	105.13
20	31.62	31.60	31.62	2	74.57	74.83	74.94
21	34.68	34.88	34.87	3	77.64	77.62	77.02
22	33.48	33.50	33.49	4	71.06	70.96	71.04
23	64.96	64.74	64.95	5	66.93	66.92	66.92
24	13.46	13.78	13.48	Rha 1	101.75		101.89
25	16.64	16.66	16.65	2	71.99		71.99
26	17.95	17.99	17.98	3	72.16		72.17
27	26.36	26.35	26.36	4	73.76		73.65
28	178.10	178.08	178.11	5	70.38		70.39
29	33.58	33.58	33.58	6	18.32		18.31
30	24.36	24.37	24.36				

1. 17s, C₂₇-H₃; 0. 90s, C₂₉-H₃; 0. 94s, C₃₀-H₃。
化合物 I 和 II 的¹HNMR 数据与 I 基本相同, 不再作详细归属, 糖部分的¹HNMR 数据见表 1, ¹³CNMR (100. 62MHz, CD₃OD) δ: 表 2。

化合物 II: 白色粉末, mp 206~204℃, [α]_D²⁰ - 7. 4° (MeOH, 0. 2), R_f = 0. 22 (硅胶 H, CHCl₃-MeOH-H₂O = 65 : 35 : 10, lower layer), IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹ : 3417, 1736, 1458, 1434, 1388, 1078, 1055, FAB-MS m/z : 1067[M + 1 + Na]⁺, 1045[M + 1]⁺, 913[M + 1 - 132]⁺, 751[M + 1 - 132 - 162]⁺, 605[M + 1 - 132 - 162 - 146]⁺, 455[M + 1 - 132 - 162 - 146 - 150]⁺, 437, 409, 分子式: C₅₂H₈₄O₂₁

• 2H₂O, 元素分析(%): 计算值: C, 57. 76; H, 8. 20, 实测值: C, 56. 79; H, 8. 18, ¹HNMR (400. 13MHz, CD₃OD) δ: 表 1, ¹³ CNMR (100. 62MHz, CD₃OD) δ: 表 2。

化合物 III: 白色粉末, mp 224~226℃, [α]_D²⁰ - 76. 3° (MeOH, 0. 2), R_f = 0. 20 (硅胶 H, CHCl₃-MeOH-H₂O = 65 : 35 : 10, lower layer), IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹ : 3424, 1740, 1460, 1434, 1388, 1078, 1057. FAB-MS m/z: 1213[M + 1 + Na]⁺, 1191[M + 1]⁺, 1068[M - 1 - 132]⁺, 1045[M - 1 - 146]⁺, 912[M + 1 - 146 - 132]⁺, 751[M + 1 - 132 - 146 - 162]⁺, 605[M + 1 - 132 - 146 - 162 - 146]⁺, 455[M + 1 - 132 - 146 - 162 - 146 -

150J⁺, 437, 409. 分子式: C₅₈H₉₄O₂₅ · H₂O, 元素分析(%): 计算值: C, 57.60; H, 8.00。实测值: C, 57.80; H: 8.10。¹HNMR (400.13MHz, CD₃OD) δ: 表 1, ¹³CNMR (100.62MHz, CD₃OD) δ: 表 2

化合物 N: 白色粉末, mp 124~126℃, R_f=0.47(硅胶 H, Petrol: EtOAc=7:3), IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3420, 1805, 1772, 1745, 1730, 1720, 1640, 1502, 1370, 1250, 1220, 1175, 1050。EIMS m/z: 522, 247, 275, 215, 204。¹HNMR (400.13MHz, CDCl₃) δ: 2.35 (1H, dd, J=5.0, 4.6Hz, C₂-H_a), 2.46 (1H, dd, J=5.0, 7.6Hz, C₂-H_β), 5.23 (1H, ddd, J=7.8, 7.6, 4.6Hz, C₃-H), 5.61 (1H, dd, J=7.8, 4.7Hz, C₄-H), 3.13 (1H, ddd, 4.7, 5.8, 6.2Hz, C₅-H), 4.94 (1H, dd, 5.0, 10.6, C₆-H_a), 2.36 (1H, dd, 6.2, 10.6Hz, C₆-H_β), 7.23 (1H, d, J=2.0Hz, C₂'-H), 7.25 (1H, d, J=8.2Hz, C₅'-H), 7.44 (1H, dd, J=2.0, 8.2Hz, C₆'-H), 7.69 (1H, d, J=16.2Hz, C₇'-H), 6.

44 (1H, d, J=16.2Hz, C₈'-H)。乙酰基信号 δ: 2.00s (3H), 2.16s (3H), 2.30s (6H)。¹³CNMR (100.62 MHz, CD₃OD) δ: 122.96s (C₁), 33.59t (C₂), 64.93d (C₃), 73.65d (C₄), 65.71d (C₅), 34.06t (C₆), 171.07s (C₇), 132.64s (C_{1'}), 124.09d (C_{2'}), 142.57s (C_{3'}), 143.99s (C_{4'}), 122.96d (C_{5'}), 126.66d (C_{6'}), 144.75d (C_{7'}), 117.56dd (C_{8'}), 168.05s (C₉)。乙酰基信号: δ: 169.13s, 169.05s, 167.90s, 164.89s, 20.56q, 20.61q, 20.621, 21.07q。

致谢: FAB-MS 由北京军事医学科学院仪器测试中心测定, ¹DNMR 和 ²DNMR 由北京大学仪器中心测定。

参考文献

- 1 江苏新医学院. 中药大辞典. 上海: 上海科技出版社, 1977. 1403
- 2 Kizu H, et al. Chem Pharm Bull, 1985, 33: 3324
- 3 Son K, et al. Phytochem, 1994, 35: 1005
- 4 Saito S, et al. Chem Pharm Bull, 1990, 38: 411

(1995-02-23 收稿)

Water Soluble Constituents From Japanese Honeysuckle (*Lonicera japonica*)

Lou Hongxiang, Lang Weijun, Lu Mujiam, et al

From the water soluble extract of Flos *Lonicera japonica* Thunb., three triterpenoid saponins were isolated. On the basis of detailed analysis of ¹HNMR, ¹³CNMR, ¹H-¹HCOSY, HMBC, HMQC, FAB MS, their structures were decided as 3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-α-L-arabinopyranosyl hederagenin 28-O-β-D-xylopyranosyl (1→6)-β-D-glucopyranosyl ester (I), 3-O-α-L-arabinopyranosyl hederagenin 28-O-α-L-rhamnopyranosyl (1→2)[β-D-xylopyranosyl (1→6)]-β-D-glucopyranosyl ester (II) and 3-O-α-L-rhamnopyranosyl (1→2)-α-L-arabinopyranosyl hederagenin 28-O-α-L-rhamnopyranosyl (1→2)[β-D-xylopyranosyl (1→6)]-β-D-glucopyranosyl ester (III), and chlorogenin tetraacetate (IV). Pharmacological experiment showed that these compounds had cytoprotective effects against carbon tetrachloride induced hepatic injury.

一部大型中草药工具书《全国中草药汇编》及其《彩色图谱》(修订版)即将出版

《全国中草药汇编》(第一版)是根据周恩来总理 1971 年的指示,在卫生部的领导下,由中国中医研究院中药研究所、中国医学科学院药用植物研究所、中国药品生物制品检定所(均为现名)会同来自全国九省(黑龙江、辽宁、陕西、浙江、江西、湖南、广东、四川、云南)、二市(北京市、天津市)及在京有关单位(中国科学院植物研究所、北京医科大学药学院、北京中医药大学、北京市药品检验所、北京中医医院、北京市药材公司等)的代表组成编写组,历时数年编写而成的。编写人员大都为来自全国各地的专家教授。由谢宗万任主编,范崔生、朱兆仪任副主编。编写的宗旨是在全国三次大搞中草药群众运动的基础上,比较系统地、全面地总结、整理全国中草药关于认、采、种、养、制、用等方面的经验与当时有关国内外科研技术资料。全书分上、下两册,共收载中草药 4000 余种(生物种)并附墨线图近 3000 幅,还绘制彩色图谱专集一册。书中正文每种中草药均按序号、正名、别名、来源、形态特征(或药材性状)、生境分布、栽培(或饲养)要点、采集加工、炮制、化学成分、药理作用、性味功能、主治用法、附方、制剂及附注等项顺序编写,书后有中文名索引、拉丁学名索引等,是建国以来出版的第一部大型中草药工具书。

(下转第 217 页)