

· 化学成分 ·

柳兰化学成分研究 II . 鞣质及多元酚类化合物

刘延泽¹, 王彩芳², 韩全斌¹, 于丙午¹, 丁冈^{1*}

(1. 河南中医学院 植化教研室, 河南 郑州 450008; 2. 郑州大学 药学院, 河南 郑州 450052)

摘要: 目的 研究柳叶菜科植物柳兰 *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop. 全草的化学成分。方法 采用 Diaion HP-20(Tsk), Toyopearl HW-40(C), MCI gel CHP-20P (Mitsubishi) 柱色谱分离, 经理化和波谱分析确定化学结构。结果 从柳兰全草 70% 丙酮提取物中分得 9 个鞣质类及其他酚性化合物, 分别鉴定为 3-氧-没食子酰基-D-葡萄糖 (3-O-galloyl-D-glucose, I), 1,6-二-氧-没食子酰基-β-D-吡喃型葡萄糖 (1,6-di-O-galloyl-β-D-glucopyranose, II), 1-氧-没食子酰基-4,6-六羟基联苯甲酰基-β-D-吡喃型葡萄糖 (1-O-galloyl-4,6-HHDP-β-D-glucopyranose, III), 水杨梅丁素 (gemin D, IV), 英国栋鞣花酸 (pedunculagin, V), 特里马素 (tellimagrandin I, VI), 虾子花素 (woodfordin I, VII), 绿原酸 (3-O-caffeoyl-quinic acid, VIII), 没食子酸 (gallic acid, IX)。结论 以上化合物均为首次从该植物中分得。

关键词: 柳兰; 鞣质; 多元酚

中图分类号: R284.14 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)11-0967-03

Study on chemical constituents of *Chamaenerion angustifolium*

II . Tannins and related polyphenolic compounds

LIU Yan-ze¹, WANG Cai-fang², HAN Quan-bin¹, YU Bing-wu¹, DING Gang¹

(1. Department of Phytochemistry, Henan College of TCM, Zhengzhou 450008, China; 2. Department of Pharmaceutical Science, Eastern Zone of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

Abstract Object Study on the chemical constituents of *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop.

Methods Isolation by Diaion HP-20 (Tsk), Toyopearl HW-40 (C), MCI gel CHP-20P (Mitsubishi) chromatography column and identification of the structures by physiochemical and spectral methods. **Results** Nine tannins and related polyphenolic compounds were isolated from the air-dried section of *C. angustifolium*, and identified as 3-O-galloyl-D-glucose (I), 1,6-di-O-galloyl-β-D-glucopyranose (II), 1-O-galloyl-4,6-HHDP-β-D-glucopyranose (III), gemin D (IV), pedunculagin (V), tellimagrandin I (VI), woodfordin I (VII), 3-O-caffeoyl-quinic acid (VIII), gallic acid (IX). **Conclusion** These compounds were all separated from this plant for the first time.

Key words *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop.; tannins; polyphenols

前一报^[1]中报道了柳兰中分离到 4 个黄酮类化合物, 本报继续报道柳兰中分离到 9 个鞣质及其他小分子多元酚类化合物。通过理化鉴别和波谱分析, 鉴定了它们的结构: 1 个大环可水解鞣质虾子花素 (woodfordin I, VII), 6 个小分子可水解鞣质类化合物 3-氧-没食子酰基-D-葡萄糖 (3-O-galloyl-D-glu-

cose, I), 1,6-二-氧-没食子酰基-β-D-吡喃型葡萄糖 (1,6-di-O-galloyl-β-D-glucopyranose, II), 1-氧-没食子酰基-4,6-六羟基联苯甲酰基-β-D-吡喃型葡萄糖 (1-O-galloyl-4,6-HHDP-β-D-glucopyranose, III), 水杨梅丁素 (gemin D, IV), 英国栋鞣花酸 (pedunculagin, V), 特里马素 (tellimagrandin I, VI),

* 收稿日期: 2003-05-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (29672009)

作者简介: 刘延泽 (1957-), 男, 教授, 郑州大学有机化学专业博士 (1998), 日本冈山大学药学部客座研究员 (1988-1989, 1992-1993), 美国宾州州立大学化学系 (1999-2001) 和美国哈佛大学医学院 (2001-2003) 博士后, 曾三次主持国家自然科学基金和国家“九五”攻关项目。 E-mail: yanze_liu@hms.harvard.edu

* 通讯作者 Tel (0371) 6912698(0) 8959181(H)

2 个小分子多元酚类化合物绿原酸 (3-O-caffeoyl-quinic acid, VIII), 没食子酸 (gallic acid, IX)。

化合物 I: 淡棕色无定形粉末, 溶于丙酮、甲醇水, 与 FeCl₃ 试剂反应显蓝黑色, 明胶反应为阳性, α, α' 联吡啶反应为阴性, 为小分子可水解鞣质单元体。¹H-NMR (400 MHz, D₂O) 谱中同样显示有 1 个没食子酰基 (δ 7.00, 共 2H) 的结构特征, 尤其是在葡萄糖的信号区域同样出现了 α, β -anomer 的信号特征, 其中 δ 5.14 (1H, d, J = 3.6 Hz, H- α), δ 4.64 (1H, d, J = 8.0 Hz, H- β), δ 5.19 (1H, t, J = 10.0 Hz, H-3 α), δ 5.00 (1H, t, J = 9.6 Hz, H- β), 提示没食子酰基可能连接在葡萄糖的 3 位或 4 位, 将 ¹³C-NMR (400 MHz, D₂O) 谱中 δ 100~60 的数据进一步与文献^[2]中葡萄糖的数据对照, 最后确定该结构为 3-氧没食子酰基-D-葡萄糖。

化合物 IV: 淡棕色无定形粉末, 溶于丙酮、甲醇水, 与 FeCl₃ 试剂反应显蓝黑色, 明胶反应为阳性, α, α' 联吡啶反应为阴性, 说明为可水解鞣质单元体, 且相对分子质量较小。¹H-NMR (400 MHz, Me₂CO) 谱中示有 1 个没食子酰基 (δ 7.00, 7.01, 共 2H) 和 1 个 HHDP (δ 6.62, 6.63, 共 1H; 6.41, 6.42, 共 1H) 的结构特征, 但这些信号是按比例成对出现的, 所以初步推测为一对 anomer, 而且在葡萄糖的信号区域同样出现了葡萄糖的两套信号, 这就进一步证实了 α, β -anomer 的存在。根据偶合常数及与文献^[3]对照, 确定该化合物为水杨梅丁素 (3-O-galloyl-4, 6-HHDP-D-glucose, gemin D)。

1 仪器和材料

IR 用 Shimadzu 408 型红外分光光度计测定, KBr 压片; UV 用 Shimadzu 2100 型紫外仪测定; NMR 用 Bruker 400 M 核磁共振仪测定, 溶剂为 Me₂CO-d₆ D₂O; MS 用 Auto Spec-3000 型质谱仪测定; Bsa-100A 自动部分收集仪 (HL-2 恒流泵, 上海市沪西机器厂); ZFQ 旋转薄膜蒸发器 (天津玻璃仪器厂); SHZ-D 型循环式多用真空泵 (郑州市英峪电子仪器厂)。

TLC 用吸附剂为青岛海洋化工厂生产的 TLC 用硅胶 G, 以 0.6% CMC-Na 制板, 自然晾干, 醋酸乙酯-甲酸-水 (9:1:1~7:2:3) 作展开剂, 1% FeCl₃-1% 铁氰化钾 (2:1, 用前混合) 作显色剂。

柳兰于 1996 年 7 月采自湖北神农架地区, 由河南中医学院中药系中药鉴定室王中会副教授鉴定为柳叶菜科植物柳兰 *C. angustifolium* (L.) Scop.

2 提取与分离

柳兰全草 4 kg 经碾碎, 70% 丙酮浸泡, 渗漉, 反复 4 次, 合并提取液, 减压浓缩至 2 L, 分两次上 Diaion HP-20 柱, 依次用 20%, 40%, 60% 甲醇、70% 丙酮洗脱。将以上各洗脱液置旋转薄膜蒸发器浓缩, 抽成干粉。将 Diaion HP-20 水洗脱部分用 Toyopearl HW-40 MCI gel CHP-20P 反复柱色谱分离, 以甲醇-水系统梯度洗脱, 根据 TLC 检识合并斑点相同的部分, 得化合物 IX, IV, I, V; 将 Diaion HP-20 20% MeOH 部分用水溶解后, 经 Toyopearl HW-40 (C) 柱色谱, 用甲醇-水系统梯度洗脱, H₂O 部分经反复上 Toyopearl HW-40 (C) 及 MCI gel CHP-20P, 得单体 VIII。40% MeOH 部分经反复 Toyopearl HW-40 (C), MCI gel CHP-20P 柱色谱, 得单体 II, III, VI。将 Diaion HP-40 60% MeOH 部分用水溶解后, 经 Toyopearl HW-40 (C) 柱色谱, 用甲醇-水系统梯度洗脱得化合物 VII。

3 结构鉴定

化合物 II: 灰白色无定型粉末, 溶于甲醇、丙酮, 与 FeCl₃ 试剂反应显蓝绿色, 明胶试剂反应阳性。¹H-NMR (Me₂CO-d₆, 400 MHz): δ 7.15 (2H, s, galloyl), δ 7.08 (2H, s, galloyl), δ 5.73 (1H, d, J = 7.6 Hz, glu-H), δ 4.54 (1H, dd, J = 12.6, 5.4 Hz, glu-H_b), δ 4.41 (1H, dd, J = 12.6, 4.0 Hz, glu-H_c), δ 4.40~3.50 (3H, glu-H_a~H_c), glu-H 信号显著向低场移动, 说明一个 galloyl 与 glu C-1 位相连, 构型为 β 型, C-6 上的两个 H 信号分别向低场迁移至 4.54, 4.41; 说明一个 galloyl 与 glucose C-6 位相连, 与文献^[4]对照确定该化合物为 1, 6-di-O-galloyl- β -D-glucose。

化合物 III: 无定型粉末, 溶于甲醇、丙酮, 与 FeCl₃ 试剂显蓝绿色。¹H-NMR (Me₂CO-d₆, 400 MHz): δ 7.19 (2H, s) 为一个 galloyl 的特征信号, 6.72 (1H, s), 6.70 (1H, s) 为一个 HHDP 的特征信号, 5.73 (1H, d, J = 8.0 Hz) 为 glu-H 被酰化而向低场位移的信号, 说明 galloyl 与 glu-C 相连, 端基构型为 β 型, 5.21 (1H, dd, J = 13.2, 6.0 Hz, glu-H_b), 4.90 (1H, dd, J = 10.8, 9.0 Hz, glu-H_c), 3.74 (1H, d, J = 13.2 Hz, glu-H_a), H-6, H-4 明显向低场位移, 为 HHDP 连 C-4, 6 位特征信号, 与文献^[5]对照, 化合物 III 的结构为 1-O-galloyl-4, 6-HHDP- β -D-glucose。

化合物 V: 土黄色无定形粉末, 溶于丙酮、甲醇水, 与 FeCl₃ 试剂反应显蓝黑色, 明胶反应为阳性, α, α' 联吡啶反应为阴性, 为小分子可水解鞣质单元

体。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , δ)谱中在芳香区域 6.03~ 6.45出现了 8个质子的信号,为两个 HHDP基中的 4个芳氢在形成 anomer后的特征; 5.40~ 3.50有相当于两个葡萄糖核的 14个质子信号,其中的 H- α 为 5.40(1H, d, $J=3.3$ Hz), H- β 为 5.08(1H, d, $J=8.0$ Hz),与 C-OH被酰化后使其相应的质子信号出现在 6.0~ 6.2相比处于显著高场,进一步说明 C-OH是游离的,即该化合物的为 2, 3, 4, 6-O-di-HHDP-D-glucose (pedunculagin) $^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, DMSO , δ)谱中 170~ 165出现了 4对羰基信号,为 2个 HHDP基在 anomer中的特征吸收; 150~ 100为两个 HHDP基的芳香碳吸收; 100~ 60为两种葡萄糖异构体的 12个碳的信号,最后经与文献^[6]对照,确定该化合物为 pedunculagin

化合物VI: 褐色无定形粉末,溶于丙酮、甲醇、水。遇 FeCl_3 试剂显蓝黑色,明胶反应为阳性, α, α' -联吡啶反应为阴性。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{Me}_2\text{CO-d}_6$, δ): 7.06, 7.05, 6.98, 6.94(各 2H, s, galloyl), 6.65, 6.65, 6.46, 6.43, (各 1H, s, HHDP), 5.57 (1H, d, $J=4.0$ Hz, glu H-1), 5.11 (1H, dd, $J=4.0, 10.0$ Hz, H-2), 5.88(1H, t, $J=10.0$ Hz, H-3), 5.11(1H, t, $J=10.0$ Hz, H-4), 4.67(1H, ddd, $J=1.5, 6.5, 10.0$ Hz, H-5), 5.28(1H, dd, $J=6.5, 13.0$ Hz, H-6), 3.77(1H, dd, $J=1.5, 13.0$ Hz, H-6', α -anomer); 5.13(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-1), 5.24(1H, dd, $J=8.0, 10.0$ Hz, H-2), 5.61(1H, t, $J=10.0$ Hz, H-3), 5.11(1H, t, $J=10.0$ Hz, H-4), 4.27(1H, ddd, $J=1.0, 6.5, 10.0$ Hz, H-5), 5.30(1H, dd, $J=6.5, 13.0$ Hz, H-6), 3.84(1H, dd, $J=1.0, 13.0$ Hz, H-6', β -anomer)。以上数据与文献^[6]对照,确定为 tellimagrandin I。

化合物VII: 褐色无定形粉末,溶于丙酮、甲醇和水。遇 FeCl_3 试剂显蓝黑色,明胶反应为阳性, α, α' -联吡啶反应为阳性,说明为可水解鞣质二体或二聚体以上。光谱数据与文献^[7]对照,确定为 woodfordin I。

化合物VIII: 浅黄色无定型粉末,溶于丙酮、甲醇、水,与 FeCl_3 试剂反应显蓝黑色。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O , δ): 7.68(1H, d, $J=16$ Hz), 6.32(1H, d, $J=16$ Hz)为苯丙烯酸中反式烯 H的特征信号,

7.12(1H, d, $J=1.2$ Hz), 7.07(1H, dd, $J=1.2, 8.4$ Hz), 6.87(1H, d, $J=8.4$ Hz)为芳香环上 ABX系统特征信号,以上 5个 H信号与咖啡酰基的信号相似, 5.26(1H, m), 4.12(1H, d, $J=2.8$ Hz), 3.80(1H, dd, $J=3.2, 9.6$ Hz), 2.2~ 1.9(4H, m, 2CH₂)的信号,该部分为奎尼酸信号, 5.26(1H, m)为奎尼酸 3-OH被酰化后向低场移动的信号; $^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, MeOD , δ): 182.3(C-7), 168.7(C-9'), 149.4(C-7'), 146.8(C-8', 1'), 127.9(C-4'), 122.9(C-3'), 116.4(C-2'), 115.7(C-5'), 115.0(C-6'), 75.9 73.2 72.4 70.1分别是奎尼酸的四个连有羟基的碳, 37.4(C-2, 6),故确定该化合物的结构为绿原酸(VIII)。

化合物IX: 无色针晶,溶于丙酮、甲醇、水,与 FeCl_3 试剂反应显蓝黑色, $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O , δ)谱仅在 6.88处有一单峰,提示可能是没食子酸,经与对照品 TLC对照,确定为没食子酸

References

- [1] Liu Y Z, Wang C F, Zhang Z Z, *et al.* Studies on chemical constituents of *Chamaenerion angustifolium* I. Flavonoids from *chamaenerion angustifolium* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(4): 289-291.
- [2] Gong Y H. *Nuclear Magnetic Resonance Chemical Shift of Natural Organic Compounds* (天然有机化合物的核磁共振化学位移) [M]. Kunming Yunnan Science and Technology Press, 1986.
- [3] Hatano T, Kira R, Yasuhara T, *et al.* Structures of isorugosin B, and the orientation of valoneoylg group in the related monomeric, dimeric and trimeric hydrolysable tannins [J]. *Heterocycles*, 1988, 27(9): 2081-2085.
- [4] Lee S, Tanaka T, Nonaka G, *et al.* Tannins and related compounds. CV. Monomeric and dimeric hydrolysable tannins having a dehydrohexahydroxydiphenyl groups, supinanolin, euphorosopin, euphorhelin and jolkianin, from *Euphorbia* species [J]. *Chem Pharm Bull*, 1991, 39(3): 630-638.
- [5] Hashimoto F, Nonaka G, Nishioka I. Tannins and related compounds. IX V II. Novel chalan-flavan dimmers assamicains A, B and C, and a new flavan 3-ol and proanthocyanidins from the fresh leaves of *Camellia sinensis* L. var. *assamica* Kitamura [J]. *Chem Pharm Bull*, 1989, 37(1): 77-85.
- [6] Okuda T, Yoshida T, Ashida M, *et al.* Tannins of *Casuarina* and *Stachyurus* species. Part I. Structures of pedunculagin, casuarictin, strictinin, casuarinin and stachyurin [J]. *J Chem Soc Perkin Trans I Org Chem*. 1983, (8): 1765-1772.
- [7] Yoshida T, Chou T, Nitta A, *et al.* Tannins and related polyphenols of lythraceous plants III. Hydrolyzable tannins digomers with macrocyclic structures, and accompanying tannins from *Woodfordia fruticosa* (L.) Kurz. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1992, 40(8): 2023-2080.