

黄瑞香茎皮的化学成分研究

廖时余, 蒋建勤*

中国药科大学 天然药物化学教研室, 江苏 南京 211198

摘要: 目的 研究黄瑞香 *Daphne giraldii* 茎皮的化学成分。方法 利用反复硅胶、Sephadex LH-20、ODS 以及 MCI 柱色谱等手段进行分离纯化, 并通过 NMR、MS 等波谱技术进行结构鉴定。结果 从黄瑞香茎皮 95%乙醇提取物中分离得到 7 个化合物, 分别鉴定为正丁基丁香苷 (1)、 β -香树脂酮 (2)、 β -谷甾醇棕榈酸酯 (3)、 β -香树脂醇乙酸酯 (4)、瑞香多林 A (5)、狼毒双香豆素 (6)、木犀草素 (7)。结论 化合物 1 为新化合物, 化合物 2~4、6 为首次从瑞香属植物中分离得到, 化合物 7 为首次从该植物中获得。

关键词: 黄瑞香; 瑞香属; 正丁基丁香苷; β -香树脂醇乙酸酯; 瑞香多林 A

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)07-1263-04

Chemical constituents from stem barks of *Daphne giraldii*

LIAO Shi-yu, JIANG Jian-qin

Department of Natural Medicinal Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents from the stem barks of *Daphne giraldii*. **Methods** The components were isolated and purified by chromatography on silica gel, Sephadex LH-20, ODS, and MCI columns, and their structures were identified by NMR and MS. **Results** Seven compounds were isolated and elucidated as *n*-butylsyringin (1), β -amyrone (2), β -sitosterol palmitate (3), β -amyrin acetate (4), daphnodorin A (5), bicoumastechin (6), and luteolin (7). **Conclusion** Compound 1 is a new compound, compound 7 is firstly obtained from *D. giraldii*, and compounds 2—4 and 6 are isolated from the plants in *Daphne* Linn. for the first time.

Key words: *Daphne giraldii* Nitsche; *Daphne* Linn.; *n*-butylsyringin; β -amyrin acetate; daphnodorin A

黄瑞香 *Daphne giraldii* Nitsche 为瑞香科瑞香属 *Daphne* Linn. 植物, 其茎皮和根皮入药, 具有祛风通络、祛瘀止痛之功效, 临床用于治疗关节炎、镇痛、消炎、手术麻醉等^[1]。本课题组曾对该植物进行过系统的化学成分研究, 并从中发现了 2 个新化合物^[2]。近年来对该属植物的物质基础研究引起了广泛关注^[3], 本实验对黄瑞香乙醇提取物石油醚和正丁醇萃取部位的化学成分进行进一步研究, 分离纯化得到 7 个化合物, 经波谱学方法分别鉴定为正丁基丁香苷 (*n*-butylsyringin, 1)、 β -香树脂酮 (β -amyrone, 2)、 β -谷甾醇棕榈酸酯 (β -sitosterol palmitate, 3)、 β -香树脂醇乙酸酯 (β -amyrin acetate, 4)、瑞香多林 A (daphnodorin A, 5)、狼毒双香豆素 (bicoumastechin, 6)、木犀草素 (luteolin, 7)。

化合物 1 为新化合物, 化合物 2~4、6 为首次从该属植物中分离得到, 化合物 7 为首次从该植物中获得。

1 仪器和材料

X—4 数字显示显微熔点测定仪 (北京泰克仪器有限公司); Brucker AV—300 和 AV—500 型核磁共振仪 (瑞士 Brucker 公司); HP—1100 型质谱仪 (LC/MSD System, ESI Mode, 美国 Agilent 科技公司)。反相硅胶为 YMC Gel ODS-A (50 μ m, YMC Co., Ltd., 日本); MCI 为 MCI GEL CHP20P (75~150 μ m, 日本三菱化学); SephadexTM LH-20 为 GE Healthcare 公司产品。柱色谱用硅胶及薄层用硅胶 GF₂₅₄ 均为青岛海洋化工有限公司产品, 所用溶剂均为分析纯, 由上海凌峰化学试剂有限公司和南京化学试剂有限公司生产。

收稿日期: 2012-05-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81072537)

作者简介: 廖时余 (1985—), 男, 硕士, 研究方向为中药化学。E-mail: lsyfor@yahoo.com.cn

*通讯作者 蒋建勤 Tel: 13913982651 E-mail: nijjq@yahoo.com.cn

网络出版时间: 2012-06-04 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20120604.1101.004.html>

药材购自甘肃, 由甘肃通广药材公司李明军工程师收集, 经中国药科大学中药标本馆宋学华教授鉴定为瑞香科瑞香属植物黄瑞香 *Daphne giraldii* Nische 的干燥茎皮。

2 提取与分离

黄瑞香干燥茎皮 (12 kg) 粉碎, 用 8 倍量 95% 乙醇回流提取 3 次, 每次 3 h, 合并提取液, 减压回收乙醇得粗浸膏。将粗浸膏混悬于蒸馏水中, 依次用石油醚 (沸程 60~90 °C)、醋酸乙酯、正丁醇萃取。石油醚部分 (145 g) 经硅胶柱色谱分离, 石油醚-醋酸乙酯系统梯度洗脱, 得到 8 个部分 Fr. 1~8。Fr. 2 (47 g) 经反复硅胶柱色谱和 Sephadex LH-20 (MeOH-CHCl₃ 1:1) 分离, 得化合物 **2** (130 mg)、**3** (225 mg)、**4** (58 mg)。正丁醇部分经大孔树脂 D-101 分离, 以 20%、40%、60%、80% 乙醇梯度洗脱, 80% 乙醇洗脱部分 (76 g) 经硅胶柱色谱, MCI、ODS 及 Sephadex LH-20 (MeOH) 反复柱色谱, 得化合物 **5** (12 mg)、**6** (4 mg)、**7** (8 mg); 60% 乙醇洗脱部分 55 g 经硅胶柱色谱, MCI、ODS 以及 Sephadex LH-20 反复柱色谱, 分离得化合物 **1** (24 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末 (甲醇), mp 154~156 °C。ESI-MS m/z : 446.0 [M+NH₄]⁺, 463.4 [M+Cl]⁻, 相对分子质量为 428.0, 结合 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 谱确定分子式为 C₂₁H₃₂O₉, 不饱和度为 6。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) 谱中, 在高场区 0.9~1.7 有 3 个饱和 H 信号: δ 0.94 (3H, t, J = 7.5 Hz), 1.41 (2H, m, J = 7.5 Hz), 1.61 (2H, m), 根据其裂分情况和偶合常数, 可能组成片段 CH₃CH₂CH₂-; δ 3.88 (6H, s) 为 2 个甲氧基 (2×CH₃O-) 信号。此外, 在 δ 3.3~4.2 还有 10 个 H 信号 (包括糖上 H 信号, 具体归属见表 1); 4.56 (1H, d, J = 7.5 Hz) 可能为葡萄糖端基氢信号, TLC 原位酸水解检出葡萄糖, 说明该化合物中可能含 1 个葡萄糖。 δ 6.64 (2H, s) 可能为苯环上 2 个对称的氢信号, 处于对位或间位; δ 6.53 (1H, d, J = 16.0 Hz) 和 6.24 (1H, dt, J = 16.0, 6.0 Hz) 显示有反式双键存在, 且化学位移处较低场, 提示双键可能与苯环形成共轭。在 ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) 和 DEPT-135 谱中, 在 δ 103~153 有 4 个不饱和叔碳, 2 个不饱和季碳, 在 δ 56~80 有 5 个连氧叔碳, 3 个连氧仲碳 (除糖 C-6 外, 另有 2 个连氧非糖仲碳), 1 个连氧甲基碳信号, 在 δ 13~32 有 1 个甲基碳和 2 个亚甲基碳。

表 1 化合物 **1** 的 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据

Table 1 ¹H-NMR and ¹³C-NMR data of compound **1**

碳位	δ_H	δ_C
苷元		
1		135.0
2	6.64 (1H, s)	103.7
3		152.7
4		134.3
5		152.7
6	6.64 (1H, s)	103.7
7	6.53 (1H, d, J = 16.0 Hz)	131.4
8	6.24 (1H, dt, J = 16.0, 6.0 Hz)	127.2
9	4.13 (2H, d, J = 5.0 Hz)	71.1
-OMe	3.88 (3H, s)	56.3
-OMe	3.88 (3H, s)	56.3
-O- <i>n</i> -Bu		
1'	3.49 (1H, t, J = 6.5 Hz)	70.5
2'	1.61 (2H, m)	31.9
3'	1.41 (2H, m)	19.4
4'	0.94 (3H, t, J = 7.5 Hz)	13.9
Glu-		
1"	4.56 (1H, d, J = 7.5 Hz)	106.3
2"	3.68 (1H, m)	74.2
3"	3.60 (1H, m)	76.6
4"	3.65 (1H, m)	70.3
5"	3.41 (1H, ddd, J = 9.5, 6.0, 3.5 Hz)	76.0
6"	3.81 (1H, dd, J = 11.5, 6.0 Hz)	62.5
	3.93 (1H, dd, J = 11.5, 5.5 Hz)	

结合 HSQC, 可以明确区分出 1 组葡萄糖的碳信号 (106.3, 74.2, 76.6, 70.3, 76.0, 62.5), 苷元部分 (152.7, 135.0, 134.3, 131.4, 127.2, 103.7) 经与文献数据对照^[4], 可能与紫丁香苷的苷元结构相似; 此外 δ 13.9, 19.4, 31.9 进一步证实 CH₃CH₂CH₂-的存在, 最后 2 个连氧碳信号 δ 70.5, 71.1 的连接情况未能确定。

HMBC 谱 (图 1) 中可见: 2 个甲氧基氢 (δ 3.88, s) 分别与 C-3, 5 (δ 152.7) 远程相关, 证明甲氧基连在 C-3 和 C-5 上。苷元部分 H-1' (δ 3.49) 与 C-9 (δ 71.1), H-9 (δ 4.13) 与 C-1' (δ 70.5) 远程相关, 证明 C-1' 和 C-9 跨氧相连。而 H-8 (δ 6.24) 与 C-1 (δ 135.0) 远程相关, H-7 (δ 6.53) 分别与 C-2, 6 (δ 103.7) 远程相关, 证明 CH₃CH₂CH₂-的连接情况为 CH₃CH₂-CH₂CH₂OCH₂CH=CH-, 且该侧链连在苯环的 C-1 上。糖端基 H-1" (δ 4.56) 与 C-4 (δ 134.3) 远程相关, 证明葡萄糖连在 C-4 上。由此确定化合物 **1** 结构 (图 1), 结合 HMQC 对该化合物进行信号归属, 见表 1。化合物 **1** 为新化合物, 命名为正丁基丁香苷。

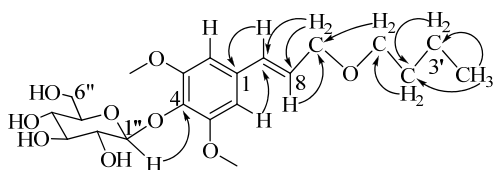


图1 化合物1的结构和主要HMBC相关

Fig. 1 Structure and key HMBC correlations of compound 1

化合物2: 无色针状结晶(氯仿), mp 158~160 °C。¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 5.21 (1H, t, *J* = 3.6 Hz, H-12), 1.14, 1.10, 1.07, 1.06, 1.02, 0.88, 0.87, 0.84 (各 3H, s, 8×-CH₃)。与 β-香树脂酮对照品共薄层 R_f 值相同, 混合熔点不下降。以上数据及理化性质与文献报道一致^[5], 故鉴定化合物2为 β-香树脂酮。

化合物3: 白色晶体(氯仿), mp 87~88 °C。¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 5.37 (1H, d, *J* = 5.1 Hz, H-6), 4.60 (1H, m, H-3), 2.31 (2H, m, H-4), 2.25 (2H, m, H-2'), 2.02 (2H, m, H-12), 1.85 (2H, m, H-2), 1.02 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-21), 0.88 (3H, t, *J* = 6.6 Hz, H-16'), 0.86 (3H, t, *J* = 6.6 Hz, H-29), 0.84 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-26), 0.81 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-27), 0.68 (3H, s, H-18)。与 β-谷甾醇棕榈酸酯对照品共薄层, R_f 值相同, 混合熔点不下降。以上数据与文献报道基本一致^[6], 故鉴定化合物3为 β-谷甾醇棕榈酸酯。

化合物4: 无色块状结晶(氯仿-甲醇), mp 236~238 °C。¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 5.18 (1H, d, *J* = 3.6 Hz, H-12), 4.50 (1H, t, *J* = 7.5 Hz, H-3), 2.05 (3H, s, CH₃CO-), 1.13 (3H, s, H-27), 0.97 (6H, s, H-25, 26), 0.87 (12H, s, H-23, 24, 29, 30), 0.83 (3H, s, H-28); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 37.7 (C-1), 23.6 (C-2), 80.9 (C-3), 37.1 (C-4), 55.3 (C-5), 18.3 (C-6), 32.6 (C-7), 39.8 (C-8), 47.6 (C-9), 34.7 (C-10), 23.5 (C-11), 121.6 (C-12), 145.2 (C-13), 41.7 (C-14), 28.0 (C-15), 26.1 (C-16), 32.5 (C-17), 47.2 (C-18), 46.8 (C-19), 31.1 (C-20), 38.3 (C-21), 36.8 (C-22), 28.4 (C-23), 16.7 (C-24), 15.5 (C-25), 16.8 (C-26), 25.9 (C-27), 26.9 (C-28), 33.3 (C-29), 23.7 (C-30), 171.0 (-CO-), 21.3 (CH₃CO-)。以上数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物4为 β-香树脂醇乙酸酯。

化合物5: 黄色结晶性粉末(甲醇), mp 185~186 °C。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 4.85 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-2), 2.22 (1H, m, H-3a), 1.67 (1H, m, H-3b), 2.65 (2H, m, H-4), 6.58 (1H, s, H-6), 7.39 (2H,

dt, *J* = 8.7, 2.7 Hz, H-2', 6'), 6.76 (2H, dt, *J* = 9.0, 2.7 Hz, H-3', 5'), 5.74 (2H, s, H-7'', 9''), 6.84 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, H-12'', 16''), 6.59 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, H-13'', 15''), 12.33 (1H, brs, 5-OH), 11.47 (1H, brs, 4'-OH), 10.48 (1H, s, 6''-OH), 9.71 (1H, s, 8''-OH), 9.57 (1H, s, 14''-OH), 9.25 (1H, s, 10''-OH); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 76.1 (C-2), 19.6 (C-3), 29.1 (C-4), 104.6 (C-4a), 153.7 (C-5), 89.4 (C-6), 148.3 (C-7), 110.1 (C-8), 152.3 (C-8a), 131.5 (C-1'), 126.0 (C-2', 6'), 114.7 (C-3', 5'), 157.4 (C-4'), 146.4 (C-2''), 117.2 (C-3''), 194.6 (C-4''), 105.8 (C-5''), 165.9 (C-6''), 94.5 (C-7''), 165.9 (C-8''), 94.5 (C-9''), 165.9 (C-10''), 121.3 (C-11''), 126.5 (C-12'', 16''), 115.7 (C-13'', 15''), 156.2 (C-14'')。以上数据与文献报道基本一致^[8], 故化合物5鉴定为瑞香多林A。

化合物6: 黄色结晶性粉末(甲醇), mp 264~265 °C。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 3.80 (3H, s, -OCH₃), 6.24 (1H, d, *J* = 9.5 Hz, H-3'), 6.27 (1H, d, *J* = 9.5 Hz, H-3), 6.88 (1H, s, H-8'), 7.18 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-6), 7.46 (1H, s, H-5'), 7.75 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-5), 7.94 (1H, d, *J* = 9.5 Hz, H-4'), 8.05 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-4), 10.52 (1H, s, -OH); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 56.1 (CH₃O-), 160.1 (C-2), 160.2 (C-2'), 112.6 (C-3), 113.3 (C-3'), 144.1 (C-4), 144.4 (C-4'), 111.5 (C-4a), 112.3 (C-4a'), 128.9 (C-5), 131.3 (C-5'), 108.1 (C-6), 116.7 (C-6'), 159.9 (C-7), 154.9 (C-7'), 111.1 (C-8), 102.1 (C-8'), 152.3 (C-8a), 159.1 (C-8a')。以上理化性质及波谱数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物6为狼毒双香豆素。

化合物7: 黄色粉末(甲醇), mp 328~330 °C。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.96 (1H, s, 5-OH), 10.79 (1H, brs, 7-OH), 9.87 (1H, brs, 4'-OH), 9.36 (1H, brs, 3'-OH), 7.41 (1H, dd, *J* = 8.5, 2.0 Hz, H-6'), 7.39 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 6.89 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5'), 6.66 (1H, s, H-3), 6.44 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.19 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, H-6)。以上数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物7为木犀草素。

4 讨论

为确定化合物1是提取分离过程中的人工产物或天然产物, 利用 HPLC 对黄瑞香乙醇提取物进行分析。取粉碎后的黄瑞香 50 g, 用 8 倍量 95%乙醇回流提取 3 次, 每次 3 h, 合并浓缩成浸膏, 用蒸馏水分散后依次用石油醚、醋酸乙酯萃取, 取水层浓

缩成浸膏，再用甲醇溶解，取上清液用微孔滤膜滤过作为供试品溶液 A；取适量供试品 A，加入适量对照品（化合物 1）作为供试品 B；取化合物 1 适量用甲醇溶解作为对照品溶液 C。

采用 HPLC 对供试品溶液 A、B 和对照品溶液 C 进行检测，色谱条件：Agilent 1260 液相色谱仪；Hedera ODS-25 μm 色谱柱（250 mm $\times$ 4.6 mm）；柱温为室温；流动相为甲醇-水系统，采用梯度洗脱；体积流量 1.0 mL/min；检测波长 265 nm；进样量 10 μL ，检测结果见图 2。

结果表明，化合物 1 在药材乙醇提取物用石油

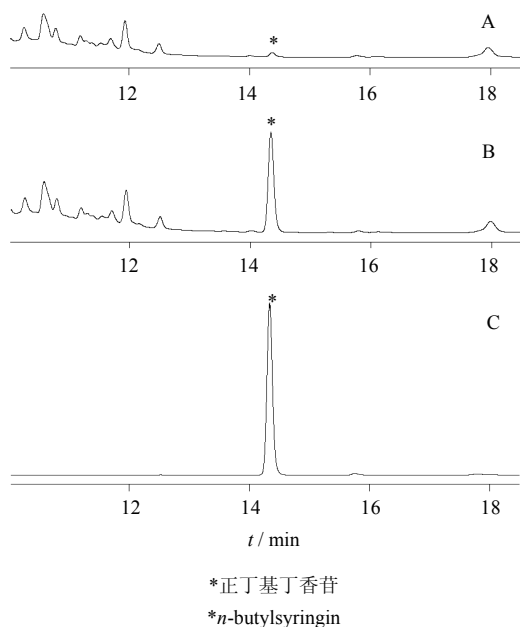


图 2 供试品 (A、B) 与对照品 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of samples (A and B) and reference substance (C)

醚、醋酸乙酯依次萃取后的浸膏中在相应的保留时间存在相应的色谱峰；且在供试品 A 中加入适量化合物 1 后相应保留时间的色谱峰明显增高，因此确定化合物 1 是天然产物，而不是在提取分离过程中使用正丁醇而形成的人工产物。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局中华本草编委会. 中华本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
- [2] Sun W X, Zhang Q, Jiang J Q. Chemical constituents of *Daphne giraldii* Nitsche [J]. *J Integr Plant Biol*, 2006, 48(12): 1498-1501.
- [3] Xu W C, Shen J G, Jiang J Q. Phytochemical and biological studies of the plants from the genus *Daphne* [J]. *Chem Biodiver*, 2011, 8(7): 1215-1233.
- [4] Fukunaga T, Kajikawa I, Nishiya K, *et al.* Studies on the constituents of the Japanese mistletoe, *Viscum album* L. var. *coloratum* Ohwi grown on different host trees [J]. *Chem Pharm Bull*, 1989, 37(5): 1300-1303.
- [5] 项昭保, 陈海生, 陈 薇, 等. 橄榄中三萜类化学成分研究 [J]. 中成药, 2009, 31(12): 1904-1905.
- [6] 蔡晨秋, 赵明波, 唐 丽, 等. 苏木的化学成分研究 [J]. 中草药, 2012, 43(2): 230-233.
- [7] 邓 彬, 穆淑珍, 郝小江. 月腺大戟的化学成分 (英文) [J]. 中国天然药物, 2010, 8(3): 183-185.
- [8] Baba K, Takeuchi K, Hamasaki F, *et al.* Chemical studies on the constituents of the thymelaeaceous plants. I.: Structures of two new flavans from *Daphne odora* Thunb. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1986, 34(2): 595-602.
- [9] Xu Z H, Qin G W, Xu R S. A new bicoumarin from *Stellera chamaejasme* L [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2001, 3(4): 335-340.
- [10] 刘 莹, 李喜凤, 刘艾林, 等. 细皱香薷叶的化学成分研究 [J]. 中草药, 2009, 40(9): 1356-1359.