

三叶鬼针草的黄酮苷类成分研究

黎平¹, 王业玲¹, 唐丽¹, 郭志永¹, 龙春林^{1,2*}

1. 中央民族大学生命与环境科学学院, 北京 100081

2. 中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650201

摘要: 目的 研究三叶鬼针草 *Bidens pilosa* 的黄酮苷类成分。方法 采用硅胶柱、凝胶柱、中压制备、高速逆流等色谱技术分离和纯化, 通过 UV、IR、1D 和 2D NMR 等谱学分析鉴定化合物的结构。结果 从三叶鬼针草 95%乙醇提取物的醋酸乙酯萃取物中分离得到 6 个黄酮苷类化合物, 分别鉴定为 2(R/S)-异奥卡宁-(3', 4'-二甲醚)-7-O-β-D-葡萄糖苷 (1a/1b)、槲皮素-3, 4'-二甲醚-7-O-吡喃葡萄糖苷 (2)、槲皮素-3, 4'-二甲醚-7-O-芸香糖苷 (3)、(Z)-6-O-(6'-O-乙酰基-β-D-吡喃葡萄糖基)-6, 7, 3', 4'-四羟基橙酮 (4)、海生菊苷 (5)、奥卡宁-4-甲醚-3'-O-β-葡萄糖苷 (6)。结论 化合物 1a/1b 为新化合物, 命名为鬼针草苷 H。

关键词: 鬼针草; 鬼针草苷 H; 槲皮素-3, 4'-二甲醚-7-O-吡喃葡萄糖苷; 海生菊苷; 奥卡宁-4-甲醚-3'-O-β-葡萄糖苷

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)18-2498-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.18.002

Studies on flavonoids from *Bidens pilosa*

LI Ping¹, WANG Ye-ling¹, TANG Li¹, GUO Zhi-yong¹, LONG Chun-lin^{1,2}

1. College of Life and Environmental Sciences, Minzu University of China, Beijing 100081, China

2. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China

Abstract: Objective To study the bioactive flavonoids from *Bidens pilosa*. **Methods** Various chromatographic methods including silica gel and Sephadex LH-20 columns, middle pressure liquid chromatography, and high speed counter current chromatography were applied to isolating and purifying the compounds. Their structures were confirmed based on the physicochemical properties and spectral data. **Results** Six compounds were isolated from the ethyl acetate extract of *B. pilosa*, and their structures were identified as 2(R/S)-isookanin-3, 4'-dimethyl ether-7-O-β-D-glucopyranoside (1a-1b), quercetin-3, 4'-dimethyl ether-7-O-glucoside (2), quercetin 3, 4'-dimethyl ether-7-O-rutinoside (3), (Z)-6-O-(6'-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-6, 7, 3', 4'-tetrahydroxyaurone (4), maritimein (5), and okanin 4-methyl ether-3'-O-β-glucoside (6). **Conclusion** Compound 1a-1b is a novel compound named bidenoside H.

Key words: *Bidens pilosa* L.; bidenoside H; quercetin-3, 4'-dimethyl ether-7-O-glucoside; maritimein; okanin 4-methyl ether-3'-O-β-glucoside

三叶鬼针草 *Bidens pilosa* L. 系菊科 (Compositae) 鬼针草属草本植物, 广泛分布于热带和亚热带地区, 为民间常用草药。据《本草拾遗》记载, 鬼针草具有清利湿热功效, 用于治疗感冒发热、咽喉肿痛、肠炎、阑尾炎、痔疮、跌打损伤、冻疮等^[1]。三叶鬼针草是菊科抗炎类代表性植物之一, 其所含化学成分的结构类型丰富, 主要有黄酮、烯炔、苯丙素及苷类、萜类、有机酸及酯类化合物等^[2-4]。近年来对三叶鬼针草的研究较为深入, 尤其

发现了该植物中富有的聚炔类及苷类和黄酮苷类成分具有良好的降血压作用^[5]。黄酮类化合物是药用植物中一类重要的次生代谢产物, 本研究对三叶鬼针草的黄酮苷类成分进行分离和鉴定, 从三叶鬼针草 95%乙醇提取物中分离得到 6 个黄酮苷类化合物, 分别鉴定为 2(R/S)-异奥卡宁-(3', 4'-二甲醚)-7-O-β-D-葡萄糖苷 [2(R/S)-isookanin-3, 4'-dimethyl ether-7-O-β-D-glucopyranoside, 1a/1b]、槲皮素-3, 4'-二甲醚-7-O-吡喃葡萄糖苷 (quercetin-3,

收稿日期: 2013-03-02

基金项目: 国家外专局、教育部“111工程”项目 (B08044); 国家自然科学基金项目 (31070288, 31161140345); 中央民族大学自主科研项目 (0910KYQN52)

作者简介: 黎平 (1986—), 硕士研究生, 研究方向为民族植物学、民族药物化学。Tel: (010)68936070 E-mail: liping2005hot@126.com

*通信作者 龙春林 (1964—), 中央民族大学教授、中国科学院昆明植物研究所研究员, 主要从事民族植物学、植物种质资源和生物多样性的相关研究。Tel: (010)68930381 E-mail: long@mail.kib.ac.cn

4'-dimethyl ether-7-*O*-glucoside, **2**)、槲皮素-3, 4'-二甲醚-7-*O*-芸香糖苷 (quercetin-3, 4'-dimethyl ether 7-*O*-rutinoside, **3**)、(Z)-6-*O*-(6'-*O*-乙酰基-β-*D*-吡喃葡萄糖基)-6, 7, 3', 4'-四羟基橙酮 [(Z)-6-*O*-(6'-*O*-acetyl-β-*D*-glucopyranosyl)-6, 7, 3', 4'-tetrahydroxy-aurone, **4**]、海生菊苷 (maritimein, **5**)、奥卡宁-4-甲醚-3'-*O*-β-葡萄糖苷 (okanin 4-methyl ether-3'-*O*-β-glucoside, **6**)。化合物 **1a/1b** 为新化合物, 命名为鬼针草苷 H。

1 仪器与材料

Bruker AV-400 型核磁共振仪 (瑞士 Bruker 公司); 中压制备色谱仪 (瑞士布琪有限公司); 高速逆流色谱仪 (上海同田生物技术有限公司); V-550 型紫外光谱仪 (Jasco 公司); VERTEX70 型傅里叶变换红外光谱仪 (德国 Bruker 公司); ESI-MS 为 MSD1100 型质谱仪 (安捷伦科技有限公司); 高分辨率质谱为 LTQ Orbitrap Discovery 型质谱仪 (美国 ThermoFisher 公司); X-4 型显微熔点仪; 薄层色谱硅胶、柱色谱硅胶均为青岛海洋化工厂产品; 凝胶柱填料为 Sephadex LH-20, 柱色谱用 ODS 为日本 YMC 株式会社产品; 所用试剂均为分析纯, 为北京化工厂产品。

实验材料采自海南省万宁市, 由中央民族大学生命与环境科学学院龙春林教授鉴定为菊科鬼针草属植物三叶鬼针草 *Bidens pilosa* L. 的地上部分, 凭证标本 (LCL-1032) 保存于中央民族大学标本室。

2 提取与分离

取药材 (地上部分) 5 kg, 粉碎, 用 95%乙醇热回流提取 3 次, 每次 2 h。减压浓缩得浸膏 687 g, 加入适量的蒸馏水超声溶解成水悬液, 依次用等体积的石油醚、三氯甲烷、醋酸乙酯、正丁醇萃取, 分别浓缩, 得到相应的萃取物。其中醋酸乙酯萃取物 (50 g) 上硅胶色谱柱, 以三氯甲烷-甲醇 (100:0→1:1) 梯度洗脱, 薄层色谱检测合并得到 6 个流分 Fr. A1~A6; 流分 Fr. A5 过 ODS 柱色谱, 甲醇-水梯度洗脱, 40%甲醇洗脱部分浓缩过 Sephadex LH-20 柱得到的 3 个亚流分 Fr. B1~B3, 其中 Fr. B3 经过反复硅胶柱色谱, 得到化合物 **1a/1b** (3 mg); 50%甲醇洗脱部分经硅胶、ODS 柱色谱后得到化合物 **2** (6 mg); 70%甲醇洗脱部分经中压制备色谱得到化合物 **3** (15 mg) 和 **6** (9 mg); 90%甲醇洗脱部分经高速逆流色谱制备分离得到化合物 **4** (18 mg) 和 **5** (14 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1a/1b**: 黄色无定型粉末 (甲醇), mp 246~248 °C, Libermann-Burchard 反应呈阳性。紫外灯 254 nm 下呈黄色荧光, 5% H₂SO₄-乙醇试液显橙红色。红外光谱显示羟基 (3 448.79 cm⁻¹)、羰基 (1 611.21 cm⁻¹)、苯环 (1 513.12~1 384.27 cm⁻¹) 的吸收峰。UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 233, 281。ESI-MS *m/z*: 477.3 [M-H]⁻, 表明该化合物的相对分子质量为 478; 根据高分辨质谱 HR-ESI-MS *m/z*: 477.139 56 [M-H]⁻ (C₂₃H₂₅O₁₁, 计算值为 477.139 6), 确定分子式为 C₂₃H₂₆O₁₁, 不饱和度为 11。

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) 谱提示该化合物是 1 个 *S* 和 *R* 型同分异构体的黄酮苷混合物, 主要表现在重叠的特征峰: 糖的端基质子信号 δ 4.94 (2H, dd, *J* = 7.2, 3.7 Hz), 芳香质子信号 δ 7.38 (2H, dd, *J* = 8.9, 1.7 Hz), 二氢黄酮 2 位质子信号 δ 5.53 (2H, dt, *J* = 7.6, 3.5 Hz, H-2), 3 位重叠的质子信号 δ 3.18 (2H, dd, *J* = 17.0, 11.9 Hz, H-3eq), 2.85 (2H, ddd, *J* = 17.0, 7.2, 3.1 Hz, H-3ax)。¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) 谱中重叠的特征峰有: 黄酮母核碳 δ 80.0, 79.9 (C-2)、δ 43.6, 43.4 (C-3) 及糖端基碳 δ 101.5, 101.4 (C-1') 等。结合文献报道^[6]推测为二氢黄酮苷的 2 个同分异构体 **1a/1b**。¹H-NMR 2 组具有耦合关系的芳香质子分别为 δ 7.38 (d, *J* = 8.9 Hz) 和 6.93 (d, *J* = 8.9 Hz) 的 A 环二取代, δ 7.20 (brs), 7.07 (d, *J* = 8.3 Hz) 及 δ 6.97 (d, *J* = 8.3 Hz) 的 ABX 取代模式, 结合 1 个糖的碳信号 (δ 101.5, 73.4, 76.2, 70.0, 77.0, 60.1) 及 ¹H-NMR 对应的糖端基的质子信号 δ 4.94 (d, *J* = 7.2 Hz), 再根据 ¹H-¹H COSY 谱, 确定了质子之间的相关性。将该化合物的核磁数据与文献报道比对^[7-9], 发现与 isookanin 7-*O*-β-*D*-glucopyranoside 的数据相似, 不同的是化合物 **1a/1b** 结构中多了 4 个甲氧基。

为了确定取代位置和连接方式, 进行了 2D NMR (HMQC、HMBC、NOESY) 试验。根据 HMQC 数据确定了与碳直接相连的质子 (表 1)。HMBC 谱显示, 2 个糖端基质子 δ 4.94 均与 δ 151.1 (C-7) 相关, NOESY 谱显示 δ 4.94 与 δ 6.93 (H-6) 远程空间相关, 说明糖连在二氢黄酮母核的 7 位上, 质子 δ 7.38 (H-5) 与羰基 δ 192.4 相关, COSY 谱可见 H-5 和 H-6 相关, 证实 A 环为 7 位和 8 位取代。甲氧基的取代位置通过 HMBC 谱确证, 其中 2 个甲氧基 δ 3.86 和 δ 3.84 分别与 B 环上的 δ 149.2 (C-3') 和 δ 149.4

表1 化合物 1a/1b 的核磁数据

Table 1 NMR data of compound 1a/1b

碳位	δ_{H}	δ_{C}
2	5.54 (2H, dt, $J = 7.6, 3.5$ Hz)	80.0, 79.9
3	3.20 (2H, dd, $J = 17.0, 12.0$ Hz), 2.85 (2H, ddd, $J = 17.0, 7.2, 3.1$ Hz)	43.6, 43.4
4		192.4
5	7.38 (2H, d, $J = 8.9$ Hz)	117.2
6	6.93 (2H, d, $J = 8.9$ Hz)	109.5
7		150.8
8		135.2
9		150.8
10		116.9
1'		131.6
2'	7.19 (2H, brs)	110.4
3'		149.2
4'		149.4
5'	6.96 (2H, dd, $J = 8.3, 1.6$ Hz)	119.1
6'	7.01 (2H, d, $J = 8.3$ Hz)	110.3
2×OCH ₃	3.86 (6H, s)	55.1
2×OCH ₃	3.84 (6H, s)	55.1
Glc		
1''	4.94 (2H, dd, $J = 7.2, 3.7$ Hz)	101.5, 101.4
2''	3.43 (2H, m)	73.3
3''	3.41 (2H, m)	76.1
4''	3.32 (2H, m)	69.8
5''	3.38 (2H, m)	77.0
6''	3.91 (2H, d, $J = 12.0$ Hz), 3.71 (2H, dd, $J = 12.2, 5.2$ Hz)	60.1

(C-4') 相关, NOESY 谱中, 观察到 H-2'、H-5' 分别与 2 个甲氧基的质子有 NOE 效应, 进一步证明 2 个甲氧基分别连接在 B 环的 C-3 和 C-4 位。另外, C 环中 H-3 与 C-1'、C-2、C-4 显示 HMBC 相关(图 1)。综合上述谱学分析结果, 最终鉴定该化合物为二氢黄酮的 2S 和 2R 同分异构体混合物 2(R/S)-异奥卡宁-(3', 4'-二甲醚)-7-O- β -D-葡萄糖苷, 为新化合物, 命名为鬼针草苷 H。其 2 个同分异构体具有相同的相

对分子质量, 相似的极性, 故不易分离纯化。

化合物 2: 黄色无定形粉末, ESI-MS m/z : 493 $[M+H]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.56 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 7.57 (1H, dd, $J = 9.2, 2.3$ Hz, H-6'), 7.12 (1H, d, $J = 9.3$ Hz, H-5'), 6.79 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 6.45 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6), 5.08 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-1''), 3.87, 3.81 (各 3H, s, -OCH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 156.0 (C-2), 138.2 (C-3), 178.2 (C-4), 160.9 (C-5), 99.2 (C-6), 163.0 (C-7), 94.5 (C-8), 156.0 (C-9), 105.9 (C-10), 122.1 (C-1'), 115.1 (C-2'), 146.3 (C-3'), 150.4 (C-4'), 111.9 (C-5'), 120.4 (C-6'), 99.8 (C-1''), 73.1 (C-2''), 77.1 (C-3''), 69.5 (C-4''), 76.4 (C-5''), 60.6 (C-6''), 59.8 (3-OCH₃), 55.7 (4'-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 2 为槲皮素-3, 4'-二甲醚-7-O-吡喃葡萄糖苷。

化合物 3: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 639 $[M+H]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.65 (1H, brs,

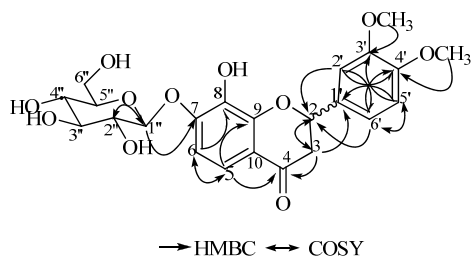


图1 化合物 1a/1b 主要的 HMBC 和 COSY 相关性

Fig. 1 Key HMBC and COSY correlations of compound 1a/1b

5-OH), 9.45 (1H, brs, 3'-OH), 7.56 (1H, s, H-2'), 7.54 (1H, dd, $J=8.3, 2.2$ Hz, H-6'), 7.16 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5'), 6.73 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6), 6.45 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8), 5.44 (1H, d, $J=4.8$ Hz, H-1'''), 5.08 (1H, d, $J=7.3$ Hz, H-1''), 3.86, 3.80 (各 3H, s, -OCH₃), 1.07 (3H, d, $J=6.2$ Hz, H-6'''); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 156.0 (C-2), 138.2 (C-3), 178.2 (C-4), 160.9 (C-5), 99.2 (C-6), 162.9 (C-7), 94.5 (C-8), 156.0 (C-9), 105.9 (C-10), 122.1 (C-1'), 115.2 (C-2'), 146.3 (C-3'), 150.3 (C-4'), 112.0 (C-5'), 120.5 (C-6'), 100.5 (C-1''), 73.0 (C-2''), 76.2 (C-3''), 70.7 (C-4''), 75.6 (C-5''), 66.1 (C-6''), 99.8 (C-1'''), 70.3 (C-2'''), 69.6 (C-3'''), 72.0 (C-4'''), 68.3 (C-5'''), 17.8 (C-6'''), 59.8 (3-OCH₃), 55.6 (4'-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 **3** 为槲皮素-3, 4'-二甲醚-7-*O*-芸香糖苷。

化合物 **4**: 橙色粉末, ESI-MS m/z : 491 [M+H]⁺, m/z : 513 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.47 (1H, d, $J=1.9$ Hz, H-2'), 7.36 (1H, dd, $J=8.3, 1.9$ Hz, H-6'), 7.23 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-4), 7.03 (1H, d, $J=8.6$ Hz, H-5), 6.88 (1H, d, $J=8.3$ Hz, H-5'), 6.72 (1H, s, H-10), 5.02 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-1''), 4.31 (1H, m, H-6''b), 4.12 (1H, dd, $J=11.9, 6.8$ Hz, H-6''a), 3.43 (1H, dd, $J=11.2, 5.4$ Hz, H-2''), 3.39~3.21 (3H, overlapped, H-3'', 4'', 5''), 2.04 (3H, s, -OAc)。以上数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 **4** 为 (Z)-6-*O*-(6'-*O*-乙酰基- β -D-吡喃葡萄糖基)-6, 7, 3', 4'-四羟基橙酮。

化合物 **5**: 橙红色粉末, ESI-MS m/z : 447 [M-H]⁻。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.56 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2'), 7.36 (1H, dd, $J=8.4, 2.0$ Hz, H-6'), 7.25 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-4), 7.14 (1H, d, $J=8.6$ Hz, H-5), 6.87 (1H, d, $J=8.3$ Hz, H-5'), 6.77 (1H, s, H-10), 4.99 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-1''), 3.92 (1H, dd, $J=12.1, 2.0$ Hz, H-6''a), 3.73 (1H, dd, $J=12.1, 5.4$ Hz, H-6''b), 3.61~3.48 (3H, overlapped, H-2'', 3'', 4''), 3.42 (1H, m, H-5'')。以上数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 **5** 为海生菊苷。

化合物 **6**: 橙色粉末, ESI-MS m/z : 465.0 [M+H]⁺, 487.1 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ : 7.79 (1H, d, $J=15.3$ Hz, H- β), 7.65 (1H, d, $J=9.3$ Hz, H-6'), 7.62 (1H, d, $J=15.4$ Hz, H- α), 7.25 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2), 7.22 (1H, dd, $J=8.3, 2.0$ Hz, H-6), 6.99 (1H, d, $J=8.3$ Hz, H-5), 6.85 (1H, d, $J=9.1$ Hz, H-5'), 4.99 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-1''), 3.92 (3H, s, -OCH₃), 3.90 (1H, m, H-6''a), 3.72 (1H, dd, $J=12.1, 5.5$ Hz, H-6''b), 3.54~3.43 (4H, overlapped, H-2'', 3'', 4'', 5'')。以上数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 **6** 为奥卡宁-4-甲醚-3'-*O*- β -葡萄糖苷。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第75卷) [M]. 北京: 科学出版社, 2005.
- [2] Alvarez L, Marquina S, Villarreal M L, *et al.* Bioactive polyacetylenes from *Bidens pilosa* [J]. *Planta Med*, 1996, 62(4): 355-357.
- [3] Ubillas R P, Mendez C D, Jolad S D, *et al.* Antihyperglycemic acetylenic glucosides from *Bidens pilosa* [J]. *Planta Med*, 2000, 66(1): 82-83.
- [4] Wang R, Wu Q X, Shi Y P. Polyacetylenes and flavonoids from the aerial parts of *Bidens pilosa* [J]. *Planta Med*, 2010, 76(9): 893-896.
- [5] Chiang Y M, Chang C L, Chang S L, *et al.* Cytopiloyne, a novel polyacetylenic glucoside from *Bidens pilosa*, functions as a T helper cell modulator [J]. *J Ethnopharmacol*, 2007, 110(3): 532-538.
- [6] Pan J Y, Zhang S, Yan L S, *et al.* Separation of flavanone enantiomers and flavanone glucoside diastereomers from *Balanophora involucreata* Hook. f. by capillary electrophoresis and reversed-phase high-performance liquid chromatography on a C₁₈ column [J]. *J Chromatogr A*, 2008, 1185(1): 117-129.
- [7] 李 帅, 匡海学, 冈田嘉仁, 等. 鬼针草有效成分的研究 (II) [J]. 中草药, 2004, 35(9): 972-975.
- [8] Wang J, Yang H, Lin Z W, *et al.* Flavonoids from *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Sch. -Bip. [J]. *Phytochemistry*, 1997, 46(7): 1275-1278.
- [9] 王建平, 石井永, 惠秋莎, 等. 鬼针草化学成分的研究 [J]. 中草药, 1992, 23(5): 229-231.
- [10] Tiwari K P, Srivastava S S D. Pigments from the stem bark of *Dillenia indica* [J]. *Planta Med*, 1979, 35(2): 188-190.
- [11] Zhao A H, Zhao Q S, Peng L Y, *et al.* A new chalcone glycoside from *Bidens pilosa* [J]. *Acta Bot Yunan*, 2004, 26(1): 121-126.