

## 山银花化学成分研究

温建辉<sup>1,2,3</sup>, 倪付勇<sup>1,2,3</sup>, 赵祎武<sup>1,2,3</sup>, 黄文哲<sup>1,2,3</sup>, 王振中<sup>1,2,3</sup>, 萧伟<sup>1,2,3\*</sup>

1. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

2. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001

3. 中药提取精制新技术重点研究室, 江苏 连云港 222001

**摘要:** 目的 研究华南忍冬 *Lonicera confusa* 干燥花蕾(山银花)的化学成分。方法 利用反复硅胶柱色谱, Sephadex LH-20、中压柱色谱及半制备液相色谱等方法分离纯化; 通过核磁共振谱、质谱等光谱数据鉴定化合物结构。结果 分离得到 10 个化合物, 分别鉴定为绿原酸(1)、槲皮素(2)、木犀草素(3)、木犀草素-3'-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷(4)、芹菜素-7-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷(5)、反式桂皮酸(6)、对羟基苯甲醛(7)、2,5-二羟基苯甲酸-5-*O*- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷(8)、苄基- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷(9)、脱落酸(10)。结论 化合物 4~10 首次从山银花中分离得到。

**关键词:** 山银花; 木犀草素-3'-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷; 苄基- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷; 对羟基苯甲醛; 脱落酸

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)13-1883-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.13.005

## Chemical constituents from flower buds of *Lonicera confusa*

WEN Jian-hui<sup>1,2,3</sup>, NI Fu-yong<sup>1,2,3</sup>, ZHAO Yi-wu<sup>1,2,3</sup>, HUANG Wen-zhe<sup>1,2,3</sup>, WANG Zhen-zhong<sup>1,2,3</sup>, XIAO Wei<sup>1,2,3</sup>

1. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

2. State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222001, China

3. The Key Laboratory for the New Technique Research of TCM Extraction and Purification, Lianyungang 222001, China

**Abstract: Objective** To investigate the chemical constituents in the flower buds of *Lonicera confusa*. **Methods** The chemical constituents were isolated by repeated silica gel chromatography, Sephadex LH-20, medium pressure column chromatography, and semi-preparative HPLC, and their structures were elucidated by spectroscopic analyses and comparison of NMR data with those reported in literature. **Results** Ten compounds were isolated and identified to be chlorogenic acid (1), quercetin (2), luteolin (3), luteolin-3'-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (4), apigenin-7-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (5), *trans*-cinnamic acid (6), *p*-hydroxy benzaldehyde (7), gentisic acid-5-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (8), benzyl- $\beta$ -D-glucoside (9), and abscisic acid (10). **Conclusion** Compounds 4—10 are obtained from this plant for the first time.

**Key words:** *Lonicera confusa* (Sweet) DC.; luteolin-3'-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside; benzyl- $\beta$ -D-glucoside; *p*-hydroxy benzaldehyde; abscisic acid

山银花为忍冬科 (Caprifoliaceae) 忍冬属 *Lonicera* Linn. 植物华南忍冬 *Lonicera confusa* (Sweet) DC. 的干燥花蕾, 具有清热解毒之功效, 药用历史悠久<sup>[1]</sup>。临床上山银花主要用于治疗痈肿疔疮、喉痹、丹毒、热毒血痢、风热感冒、温热发病等症<sup>[2]</sup>; 主要有挥发油类、黄酮类、有机酸类、苷类等化学成分<sup>[3]</sup>。本实验通过对山银花提取物进行系

统化学成分研究, 分离得到 10 个化合物, 分别鉴定为绿原酸 (chlorogenic acid, 1)、槲皮素 (quercetin, 2)、木犀草素 (luteolin, 3)、木犀草素-3'-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷 (luteolin-3'-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside, 4)、芹菜素-7-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷 (apigenin-7-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside, 5)、反式桂皮酸 (*trans*-cinnamic acid, 6)、对羟基苯甲醛 (*p*-hydroxy benzaldehyde, 7)、

收稿日期: 2015-03-25

基金项目: 科技部重大新药创制: 现代中药创新集群与数字制药技术平台 (2013ZX09402203)

作者简介: 温建辉, 男, 研究员, 从事天然产物化学研究。Tel: (0518)81152323 E-mail: wenjianhui001@sohu.com

\*通信作者 萧伟, 男, 研究员级高级工程师, 博士, 研究方向为中药新药的研究与开发。

2,5-二羟基苯甲酸-5-*O*- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷 (gentisic acid-5-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside, **8**)、苄基- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷 (benzyl- $\beta$ -D-glucoside, **9**)、脱落酸 (abscisic acid, **10**)。其中化合物 **4**~**10** 首次从山银花中分离得到。

### 1 材料与仪器

Agilent 1260 高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司), 配自动进样器、四元泵、MWD 检测器, 制备柱 (美国 Agilent 公司, 250 mm $\times$ 21.2 mm, 7  $\mu$ m); Bruker-AV-400 型核磁共振光谱仪; AE240 电子分析天平 (瑞士 Mettler 公司)。MULTISKAN MK3 型酶标仪 (Thermo Scientific, 美国); Agilent 1290-6538 液质联用仪 (美国 Agilent 公司); XT5 显微熔点测定仪 (北京科仪电光仪器厂); 2051 型紫外-可见光分光光度计; Sephadex LH-20 (Pharmacia 公司); 柱色谱硅胶 (200~300 目, 青岛海洋化工厂); 甲醇、乙腈 (色谱纯, Oceanpak 公司, 瑞典); 甲酸 (分析纯, 南京化学试剂有限公司); 95%乙醇 (食用级, 连云港长和酒业有限公司); 水 (三蒸水, 自制); 分析纯试剂 (南京化学试剂有限公司)。

山银花药材于 2013 年 5 月购自安徽亳州 (产地湖南溆浦), 经南京中医药大学吴启南教授鉴定为忍冬科植物华南忍冬 *Lonicera confuse* (Sweet) DC. 的干燥花蕾, 标本 (20130506) 保存于江苏康缘药业股份有限公司标本室。

### 2 提取与分离

取山银花 10.0 kg, 以 8 倍量 70%乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h, 提取液浓缩, 得流浸膏 7 L, 将其混悬于水中, 依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取, 分别得到石油醚部位 (146 g)、醋酸乙酯部位 (268 g)、正丁醇部位 (234 g)。醋酸乙酯萃取物经硅胶柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (100:0 $\rightarrow$ 0:100) 进行梯度洗脱, 经 TLC 检识合并得到 10 个部分 (Fr. 1~10)。Fr. 2 经反复硅胶柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (100:1 $\rightarrow$ 8:1) 梯度洗脱, 再经 Sephadex LH-20 柱色谱, 以二氯甲烷-甲醇 (1:1) 洗脱纯化, 得到化合物 **1** (20 mg)、**2** (16 mg)、**3** (13 mg)。

Fr. 9 经反复硅胶柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (100:1 $\rightarrow$ 0:100) 梯度洗脱, 得到 8 个部分 Fr. 9-1~9-8, Fr. 9-5 经反复硅胶柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (18:1) 洗脱, 再经 HPLC 制备液相纯化, 以 17%乙腈作为流动相, 体积流量 20 mL/min, 进样量 600  $\mu$ L, 柱温为室温, 检测波长 210、230、326 nm 得到化合

物 **9** (10 mg); Fr. 9-7 经 Sephadex LH-20 柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (1:1) 洗脱, 再经 HPLC 制备液相纯化, 以 15%乙腈作为流动相, 体积流量 20 mL/min, 进样量 500  $\mu$ L, 柱温为室温, 检测波长 210、230、326 nm 得到化合物 **10** (5 mg)。

Fr. 10 经反复硅胶柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (100:1 $\rightarrow$ 0:100) 梯度洗脱, 得到 8 个部分 Fr. 10-1~10-8。Fr. 10-2 经 Sephadex LH-20 柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (1:1) 洗脱, 再经 HPLC 制备液相纯化, 以 20%乙腈作为流动相, 体积流量 20 mL/min, 进样量 500  $\mu$ L, 柱温为室温, 检测波长 210、230、326 nm 得到化合物 **6** (9 mg)、**8** (6 mg); Fr. 10-5 经 Sephadex LH-20 柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (1:1) 洗脱, 再经 HPLC 制备液相纯化, 以 18%乙腈作为流动相, 体积流量 20 mL/min, 进样量 500  $\mu$ L, 柱温为室温, 检测波长 210、230、326 nm 得到化合物 **4** (10 mg)、**5** (6 mg)、**7** (5 mg)。

### 3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末, mp 207~209  $^{\circ}$ C, ESI-MS  $m/z$ : 353  $[M-H]^{-}$ ,  $^1H$ -NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 7.55 (1H, d,  $J$  = 16.0 Hz, H-7'), 7.04 (1H, d,  $J$  = 2.0 Hz, H-2'), 6.96 (1H, dd,  $J$  = 8.4, 2.0 Hz, H-6'), 6.77 (1H, d,  $J$  = 8.4 Hz, H-5'), 6.25 (1H, d,  $J$  = 16.0 Hz, H-8'), 5.32 (1H, m, H-3), 4.15 (1H, m, H-5), 3.72 (1H, dd,  $J$  = 8.4, 3.2 Hz, H-4), 2.23~2.04 (4H, m, H-2, 6);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 177.8 (COOH), 169.4 (C-9'), 150.4 (C-4'), 147.9 (C-7'), 147.6 (C-3'), 128.6 (C-1'), 123.8 (C-6'), 117.2 (C-5', 8'), 116.0 (C-2'), 76.9 (C-1), 74.3 (C-4), 72.8 (C-5), 72.1 (C-3), 39.6 (C-2), 39.0 (C-6)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[4]</sup>, 故鉴定化合物 **1** 为绿原酸。

化合物 **2**: 黄色粉末, mp 315~316  $^{\circ}$ C, ESI-MS  $m/z$ : 303  $[M-H]^{-}$ ,  $^1H$ -NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 6.30 (1H, d,  $J$  = 1.8 Hz, H-6), 6.51 (1H, d,  $J$  = 1.8 Hz, H-8), 6.99 (1H, d,  $J$  = 8.1 Hz, H-5'), 7.67 (1H, dd,  $J$  = 8.1, 2.4 Hz, H-6'), 7.81 (1H, d,  $J$  = 2.4 Hz, H-2'), 9.39 (1H, s, 3-OH), 10.78 (1H, s, 7-OH), 12.15 (1H, s, 5-OH);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 94.4 (C-8), 99.1 (C-6), 104.1 (C-10), 115.8 (C-2'), 116.2 (C-5'), 120.9 (C-6'), 121.4 (C-1'), 136.7 (C-3), 162.3 (C-9), 145.7 (C-3'), 146.9 (C-2), 148.3 (C-4'), 157.7 (C-7), 176.5 (C-4)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[5]</sup>, 故鉴定化合物 **2** 为槲皮素。

化合物 **3**: 黄色粉末, mp 328~330 °C, ESI-MS  $m/z$ : 287  $[M-H]^-$ 。 $^1H$ -NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 6.20 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-6), 6.45 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-8), 6.69 (1H, s, H-3), 6.91 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5'), 7.44 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-2'), 7.53 (1H, dd,  $J = 8.4$ , 2.0 Hz, H-6'), 9.63, 9.94, 10.80, 12.99 (4H, s, 4×-OH);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 94.0 (C-6), 99.0 (C-8), 103.0 (C-3), 103.9 (C-10), 113.6 (C-5'), 116.2 (C-2'), 119.2 (C-6'), 121.7 (C-1'), 145.9 (C-2), 157.5 (C-3'), 161.7 (C-5), 164.1 (C-9), 181.8 (C-4)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[6]</sup>, 故鉴定化合物 **3** 为木犀草素。

化合物 **4**: 黄色粉末。 $^1H$ -NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 13.00 (1H, s, 5-OH), 10.00 (1H, s, 7-OH), 9.44 (1H, s, 4'-OH), 7.43 (1H, dd,  $J = 1.8$ , 7.8 Hz, H-6'), 7.41 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-2'), 6.91 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-5'), 6.76 (1H, s, H-3), 6.74 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-8), 6.38 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-6), 5.13 (1H, d,  $J = 1.6$  Hz, H-1''), 3.20~3.79 (4H, m, H-2''~H-5''), 1.20 (1H, d,  $J = 6.6$  Hz, H-6'')。以上数据与文献报道基本一致<sup>[7]</sup>, 故鉴定化合物 **4** 为木犀草素-3'-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷。

化合物 **5**: 淡黄色粉末。 $^1H$ -NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 12.98 (1H, s, 5-OH), 7.92 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-2', H-6'), 6.92 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-3', 5'), 6.85 (1H, s, H-3), 6.83 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-8), 6.52 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-6), 5.02 (1H, d,  $J = 2.5$  Hz, H-1''), 3.75 (1H, m, H-5''), 3.48 (2H, m, H-3'', H-4''), 3.20 (1H, m, H-2''), 1.19 (3H, d,  $J = 6.0$  Hz, H-6'');  $^{13}C$ -NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 182.1 (C-4), 163.5 (C-2), 162.9 (C-7), 161.3 (C-5, 4'), 156.6 (C-9), 128.5 (C-2', 6'), 121.3 (C-1'), 116.1 (C-3', 5'), 103.7 (C-10), 102.9 (C-3), 100.7 (C-6), 94.9 (C-8), 100.7 (C-1''), 71.7 (C-2''), 70.7 (C-3''), 72.1 (C-4''), 68.2 (C-5''), 17.6 (C-6'')。以上数据与文献报道基本一致<sup>[8]</sup>, 故鉴定化合物 **5** 为芹菜素-7-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷。

化合物 **6**: 无色针晶 (甲醇), mp 133~135 °C, ESI-MS  $m/z$  147  $[M-H]^-$ 。 $^1H$ -NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 7.80 (1H, d,  $J = 15.9$  Hz, H-7), 7.56 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-2, 6), 7.43 (3H, m, H-3~5), 6.48 (1H, d,  $J = 15.9$  Hz, H-8);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 172.1 (C=O), 147.1 (C-3), 134.1 (C-1'), 130.7 (C-4'), 128.9 (C-2', 6'), 128.3 (C-3', 5'), 117.1 (C-2)。以上数

据与文献报道基本一致<sup>[9]</sup>, 故鉴定化合物 **6** 为反式桂皮酸。

化合物 **7**: 白色针晶 (丙酮), mp 105~106 °C, ESI-MS  $m/z$ : 121  $[M-H]^-$ 。 $^1H$ -NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 9.75 (1H, s, H-7), 7.75 (2H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-2, 6), 6.86 (2H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-3, 5);  $^{13}C$ -NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz)  $\delta$ : 193.1 (C-7), 165.4 (C-4), 133.7 (C-2, 6), 130.6 (C-1), 117.6 (C-3, 5)。由以上数据与文献报道一致<sup>[10]</sup>, 故鉴定化合物 **7** 为对羟基苯甲醛。

化合物 **8**: 无色胶状物。 $^1H$ -NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.53 (1H, d,  $J = 3.0$  Hz, H-6), 7.04 (1H, dd,  $J = 3.0$ , 8.4 Hz, H-4), 6.67 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-3), 4.71 (1H, d,  $J = 7.2$  Hz, H-1'), 3.84 (1H, d,  $J = 12.0$  Hz, H-6'a), 3.67 (1H, dd,  $J = 3.6$ , 12.0 Hz, H-6'b), 3.35~3.41 (4H, m, H-2'~5');  $^{13}C$ -NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 175.7 (C-7), 158.0 (C-5), 150.9 (C-2), 123.8 (C-4), 120.2 (C-1), 119.6 (C-6), 117.5 (C-3), 103.7 (C-1'), 75.0 (C-2'), 78.0 (C-3'), 71.3 (C-4'), 77.9 (C-5'), 62.5 (C-6')。以上数据与文献报道基本一致<sup>[11]</sup>, 故鉴定化合物 **8** 为 2,5-二羟基苯甲酸-5-*O*- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **9**: 白色无定形粉末; ESI-MS  $m/z$ : 293  $[M+Na]^+$ 。 $^1H$ -NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.32 (2H, d,  $J = 7.5$  Hz, H-2, 6), 7.23 (2H, t,  $J = 7.5$  Hz, H-3, 5), 7.17 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz, H-4), 4.83 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz, H-7a), 4.57 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz, H-7b), 4.26 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-1'), 3.80 (1H, dd,  $J = 2.0$ , 11.5 Hz, H-6'a), 3.59 (1H, dd,  $J = 5.5$ , 11.5 Hz, H-6'b), 3.27~3.14 (5H, m, H-2'~5');  $^{13}C$ -NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 137.9 (C-1), 128.1 (C-2, 6), 128.0 (C-3, 5), 127.5 (C-4), 102.1 (C-1'), 76.9 (C-5'), 76.9 (C-3'), 74.0 (C-2'), 70.6 (C-7), 70.5 (C-4'), 61.6 (C-6')。以上数据与文献报道基本一致<sup>[12]</sup>, 故鉴定化合物 **9** 为苜蓿- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **10**: 白色无定形粉末, ESI-MS  $m/z$ : 287  $[M+Na]^+$ 。 $^1H$ -NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 7.92 (1H, d,  $J = 16.0$  Hz, H-4), 6.38 (1H, d,  $J = 16.0$  Hz, H-5), 5.82 (1H, s, H-8), 5.75 (1H, s, H-2), 2.54 (1H, d,  $J = 17.0$  Hz, H-10a), 2.14 (1H, d,  $J = 17.0$  Hz, H-10b), 2.05 (3H, s, 15-CH<sub>3</sub>), 1.90 (3H, s, 14-CH<sub>3</sub>), 1.07 (3H, s, 12-CH<sub>3</sub>), 1.03 (3H, s, 13-CH<sub>3</sub>);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 197.2 (C-9), 167.1 (C-1), 163.1 (C-3), 151.0 (C-7), 138.3 (C-5), 128.6 (C-4), 127.3

(C-8), 118.6 (C-2), 80.0 (C-6), 50.3 (C-10), 42.2 (C-11), 24.7 (C-14), 23.5 (C-13), 21.2 (C-15), 19.1 (C-12)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[13]</sup>, 故鉴定化合物 **10** 为脱落酸。

#### 参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编委会. 中国植物志 (第七十二卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1988.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [3] 栗时颖, 郑 兴, 廖瑞芳. 山银花研究进展 [J]. 南华大学学报, 2009, 37(6): 744-746.
- [4] 孙燕荣, 董俊兴, 吴曙光. 杜仲化学成分研究 [J]. 中药材, 2004, 27(5): 341-342.
- [5] 冯子明, 李福双, 徐建富, 等. 白背叶根化学成分研究 [J]. 中草药, 2012, 43(8): 1489-1491.
- [6] 杨峻山. 天然有机化合物结构信息手册 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2011.
- [7] Nakanishi T, Inatomi Y, Arai S, *et al.* New luteolin 3'-O-acylated rhamnosides from leaves of *Bursera graveolens* [J]. *Heterocycles*, 2003, 60(9): 2077-2083.
- [8] 张现涛, 汪 豪, 殷志琦, 等. 华东唐松草的化学成分 [J]. 中国药科大学学报, 2007, 38(1): 21-24.
- [9] 张 建, 何晓伟, 高璟春, 等. 滑叶山姜的化学成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2003, 38(7): 502-503.
- [10] 罗 川, 张万年. 米邦塔仙人掌化学成分研究 (I) [J]. 中草药, 2011, 42(3): 437-439.
- [11] Yahara S, Satoshiro M, Nishioka I, *et al.* Isolation and characterization of phenolic compounds from *Coptidis rhizome* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1985, 33(2): 527-531.
- [12] 吴 斌, 林文辉. 昙花化学成分的研究 [J]. 中国药学杂志, 2010, 45(7): 496-499.
- [13] 蒋 艳, 李云芳, 刘亚丽, 等. 华中五味子藤茎化学成分研究 [J]. 中成药, 2013, 35(11): 2439-2442.