

八仙花叶中环烯醚萜类化合物的结构鉴定

陈亚军, 王知斌, 于莹, 高岩, 杨春娟, 笔雪艳, 匡海学*

黑龙江中医药大学 教育部北药基础与应用研究重点实验室/黑龙江省中药天然药物药效物质基础研究重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘要: 目的 对八仙花 *Hydrangea macrophylla* 叶的化学成分进行研究。方法 采用硅胶柱色谱、ODS 柱色谱和 HPLC 等方法进行分离纯化, 并通过 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 、MS 等波谱学技术确定化合物结构。结果 从八仙花叶提取物中分离得到 11 个环烯醚萜类化合物, 分别鉴定为断马钱子苷乙基甲基缩醛 (1)、断马钱子苷二甲基缩醛 (2)、断氧化马钱子苷 (3)、7-去氧马钱子酸 (4)、马钱子酸 (5)、8-表马钱子苷 (6)、马钱子苷 (7)、7-脱氢马钱子苷 (8)、獐牙菜苷 (9)、表断马钱子苷半缩醛内酯 (10)、断马钱子苷半缩醛内酯 (11)。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为八仙花叶苷。化合物 3、8 为八仙花属植物中首次分离得到。

关键词: 八仙花; 环烯醚萜; 断马钱子苷乙基甲基缩醛; 八仙花叶苷; 断氧化马钱子苷; 7-脱氢马钱子苷

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)02-0232-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.02.002

Structural identification of iridoids from leaves of *Hydrangea macrophylla*

CHEN Ya-jun, WANG Zhi-bin, YU Ying, GAO Yan, YANG Chun-juan, BI Xue-yan, KUANG Hai-xue

Key Laboratory of Chinese Materia Medica (Ministry of Education), Heilongjiang University of Chinese Medicine, Heilongjiang Key Laboratory of TCM Pharmacodynamic Material Bases, Harbin 150040, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents of the leaves of *Hydrangea macrophylla*. **Methods** The chemical constituents were separated and purified by various isolation methods (silica gel, ODS, and HPLC column chromatography), and their structures were determined by the analysis of spectral data ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, and MS). **Results** Eleven compounds were obtained and elucidated as following: secologanin ethyl methyl acetal (1), secologanin dimethyl acetal (2), secoxyloganin (3), 7-deoxyloganic acid (4), loganic acid (5), 8-*epi*-loganin (6), loganin (7), 7-dehydrologanin (8), sweroside (9), *epi*-vogeloside (10), and vogeloside (11). **Conclusion** Compound 1 is a new compound, named as macrophyoside. Compounds 3 and 8 are isolated for the first time from the plants of *Hydrangea* Linn.

Key words: *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser.; iridoid; secologanin ethyl methyl acetal; macrophyoside; secoxyloganin; 7-dehydrologanin

八仙花 *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser. 又名绣球花、紫阳花, 为虎耳草科 (Saxifragaceae) 绣球属 *Hydrangea* Linn. 植物。八仙花为落叶灌木, 枝粗壮, 叶近革质大而稍厚, 边缘有粗锯齿, 叶面鲜绿色, 叶背黄绿色。花丰满密集, 为粉红色、淡蓝色或白色。八仙花产于我国长江以南各省区, 民间常用其全草治疗痢疾、心热惊悸等疾病, 现代药

理及临床研究表明八仙花叶具有很好的抗疟、抗过敏、调血脂、降血糖^[1]等作用。因此对八仙花叶中所含的化学成分进行系统的研究, 有利于进一步探究其生物活性。本实验对八仙花叶的化学成分进行了较为系统的研究, 从其正丁醇部分分离得到 11 个环烯醚萜类化合物, 分别鉴定为断马钱子苷乙基甲基缩醛 (secologanin ethyl methyl acetal, 1)、断

收稿日期: 2016-07-14

基金项目: 教育部博士点基金项目 (20132327120002); 黑龙江中医药大学“优秀创新人才”支持项目 (2012RCD05); 黑龙江中医药大学“杰出人才培养”基金项目 (2012cj02)

作者简介: 陈亚军 (1992—), 女, 黑龙江鹤岗人, 在读研究生, 研究方向为中药天然药物药效物质基础。E-mail: 524758669@qq.com

*通信作者 匡海学 (1955—), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事中药性味理论和中药天然药物药效物质基础研究。

Tel: (0451)87267188 E-mail: hxkuang@yahoo.com

马钱子苷二甲基缩醛 (secologanin dimethyl acetal, **2**)、断氧化马钱子苷 (secoxyloganin, **3**)、7-去氧马钱子酸 (7-deoxyloganic acid, **4**)、马钱子酸 (loganic acid, **5**)、8-表马钱子苷 (8-*epi*-loganin, **6**)、马钱子苷 (loganin, **7**)、7-脱氢马钱子苷 (7-dehydrologanin, **8**)、獐牙菜苷 (sweroside, **9**)、表断马钱子苷半缩醛内酯 (*epi*-vogeloside, **10**)、断马钱子苷半缩醛内酯 (vogeloside, **11**)。其中化合物 **1** 为新化合物, 命名为八仙花叶苷。化合物 **3**、**8** 为八仙花属植物中首次分离得到。

1 仪器与材料

JNM-ECA600 型核磁共振仪 (TMS 为内标, 日本电子株式会社, 日本); Waters 2535 制备型高效液相色谱仪、Waters 2414 型视差检测器 (沃特斯公司, 美国); 薄层色谱和柱色谱硅胶 (青岛海洋化工厂产品); 反相 ODS (Fuji Silysia Chemical 有限公司, 日本); 高效液相色谱所用试剂为色谱级, 其他试剂均为分析纯。

八仙花叶于 2013 年 9 月采集于中国四川省石柱县, 由黑龙江中医药大学王振月教授鉴定为八仙花 *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser. 的叶。样本 (HLJZY-100905) 保存于黑龙江中医药大学中药化学教研室。

2 提取与分离

八仙花的干燥叶 2.0 kg 经甲醇提取 3 次, 每次 3 h, 合并提取液, 浓缩干燥得甲醇提取物 452.3 g。将甲醇提取物加水悬浮, 依次以等体积醋酸乙酯和正丁醇萃取 3 次, 减压回收溶剂, 得正丁醇提取物 125.5 g。正丁醇提取物经硅胶柱色谱, 氯仿-甲醇-水 (15:3:1→甲醇) 梯度洗脱, 得到 6 个组分 Fr. 1~6。Fr. 2 经中压 ODS 柱色谱, 甲醇-水 (10:90→70:30) 梯度洗脱, 得到 5 个组分 Fr. 2-1~2-5。Fr. 2-3 经制备型 HPLC, 甲醇-水 (40:60) 等度洗脱, 得到化合物 **8** (21.8 mg)。Fr. 2-4 经制备型 HPLC, 乙腈-水 (15:85) 等度洗脱得化合物 **1** (17.2 mg) 和 **10** (15.1 mg)。Fr. 2-5 经制备型 HPLC, 甲醇-水 (45:55) 等度洗脱, 得到化合物 **11** (23.3 mg)。Fr. 3 组分经中压 ODS 柱色谱, 甲醇-水 (10:90→70:30) 梯度洗脱, 得到 3 个组分 Fr. 3-1~3-3, Fr. 3-3 经制备型 HPLC, 甲醇-水 (12:88) 等度洗脱得化合物 **9** (7.1 mg)。Fr. 4 经中压 ODS 柱色谱, 甲醇-水 (10:90→70:30) 梯度洗脱, 得到 7 个组分 Fr. 4-1~4-7, Fr. 4-3 经制备型 HPLC, 乙腈-水

(10:90) 等度洗脱得化合物 **2** (238.2 mg) 和 **7** (99.2 mg)。Fr. 4-4 经制备型 HPLC, 以甲醇-水 (35:65) 等度洗脱得化合物 **3** (17.2 mg) 和 **6** (10.3 mg)。Fr. 5 经中压 ODS 柱色谱, 甲醇-水 (10:90→70:30) 梯度洗脱, 得到 5 个组分 Fr. 5-1~5-5, Fr. 5-3 经制备型 HPLC, 甲醇-水 (25:75) 等度洗脱得到化合物 **4** (1.8 g)、**5** (51.2 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末, $[\alpha]_D^{25}$ -113.1° (*c* 0.15, 甲醇), HR-FAB-MS *m/z*: 471.188 9 $[M + Na]^+$ ($C_{20}H_{31}O_{11}Na^+$, 计算值 471.189 7)。UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 233; IR ν_{max}^{KBr} (cm^{-1}): 3 408, 1 708, 1 631, 1 287, 1 074 处的吸收峰提示该结构中存在羟基、羰基、醚键等。

化合物 **1** 的 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) 谱中 δ_H 7.41 (1H, s) 是环烯醚萜 3-H 特征信号, 且 C_4 有 COOR 取代基; δ_H 5.49 (d, *J* = 4.8 Hz) 是环烯醚萜 1 位缩醛质子信号; δ_H 5.31 (1H, dd, *J* = 17.6, 1.4 Hz) 和 5.26 (1H, dd, *J* = 10.3, 1.4 Hz) 是末端双键的质子信号; δ_H 4.66 (d, *J* = 7.6 Hz) 为糖端基质子信号。 ^{13}C -NMR 谱中可见 20 个碳信号, 其中羰基碳信号为 δ_C 169.2; 2 个烯碳信号为 δ_C 135.9, 119.8; δ_C 153.2 为环烯醚萜类化合物 3 位连氧烯碳信号; 1 位和 7 位 2 个双连氧碳信号为 δ_C 97.9, 103.5; 1 分子糖的碳信号为 δ_C 100.6, 74.6, 78.1, 71.5, 78.5, 62.7。据 1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 可以初步推测出分子中含有 1 分子葡萄糖, ^{13}C -NMR 谱数据见表 1。

化合物 **1** 用 1 mol/L 盐酸水解, 水液经处理并用 HPLC 分析, 旋光检测器检测, 鉴定为 *D*-葡萄糖, 由端基质子的偶合常数 (*J* = 7.6 Hz) 可知糖的端基为 β 构型。

通过 HMQC 谱确定氢和碳的直接连接情况。在 DQF COSY 谱中, δ_H 4.56 和 δ_H 2.09、1.62 相关, δ_H 2.92 与 δ_H 2.09、1.62 和 2.67 相关, δ_H 2.67 和 δ_H 5.73 相关, δ_H 5.73 与 δ_H 5.31、5.26 相关, 可以确定骨架中 C-7、6、5、9 和 10 的连接方式; δ_H 1.17 和 δ_H 3.73、3.61 相关, 可以确定 C-2" 和 C-3" 相连。通过 HMBC 谱可知, δ_H 7.41 与 δ_C 169.2、97.9 相关, δ_H 2.92 与 δ_C 153.2、97.9 相关, δ_H 2.67 与 δ_C 111.8、97.9 相关, 由此可确定苷元上六元环的结构。 δ_H 4.66 与 δ_C 97.9 相关, 说明 β -*D*-葡萄糖连接在 C-1 位。 δ_H 5.31、5.26 和 δ_C 45.4 相关, δ_H 5.73 与 δ_C 29.4 相关, 说明末端双键连接在 C-9 位。 δ_H 4.56 与 δ_C 29.4 相关, δ_H 2.09、1.62 与 δ_C 3.28 相关, 说明 C-6 和 C-7

表 1 化合物 1~11 的 ^{13}C -NMR 数据 (150 MHz, CD_3OD)
Table 1 ^{13}C -NMR data of compounds 1—11 (150 MHz, CD_3OD)

碳位	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	97.9	97.9	97.4	97.9	97.6	96.2	97.7	95.4	98.0	98.6	98.0
3	153.2	153.3	153.6	152.8	152.1	152.5	152.1	153.3	153.9	154.5	154.1
4	111.8	111.7	109.9	113.0	114.0	114.1	114.0	111.1	106.1	105.4	105.2
5	29.4	29.4	28.4	35.3	32.0	31.0	32.2	28.3	28.5	22.9	25.3
6	33.7	33.3	35.0	33.4	42.6	41.2	42.7	43.5	26.0	30.3	31.7
7	103.5	104.5	176.2	34.2	75.1	79.3	75.1	220.7	69.7	103.4	105.5
8	135.9	135.8	134.3	36.5	42.0	45.2	42.2	44.7	133.4	133.4	133.1
9	45.4	45.4	45.1	49.0	46.4	43.0	46.5	46.6	43.8	43.0	43.8
10	119.8	119.8	120.7	20.9	13.4	14.4	13.5	13.7	120.9	121.1	121.2
11	169.2	169.2	168.8	171.1	170.9	169.2	169.6	168.9	168.5	167.5	167.7
-OCH ₃	51.7	51.7	51.7			51.7	51.7	51.8		57.0	57.1
1'	100.2	100.1	99.8	100.2	99.9	99.7	100.1	100.2	99.7	100.4	99.8
2'	74.7	74.7	74.4	74.8	75.1	74.8	74.7	74.7	74.8	74.7	74.8
3'	78.1	78.1	77.7	78.0	77.9	78.0	78.0	78.0	77.9	78.1	77.9
4'	71.6	71.6	71.3	71.6	71.5	71.8	71.6	71.6	71.6	71.5	71.6
5'	78.4	78.4	78.1	78.3	78.2	78.4	78.3	78.4	78.4	78.4	78.4
6'	62.8	62.8	62.6	62.8	62.7	63.0	62.8	62.8	62.7	62.7	62.7
1''	52.2	52.6									
2''	63.3	54.0									
3''	15.6										

的结构片段连接在 C-5 位。 δ_{H} 3.28、3.73 和 3.61 与 δ_{C} 103.5 相关, 可确定 -OCH₃ 和 -CH₂CH₃ 连接在 C-7 位。由此可推断出化合物 1 的结构, 关键的 DQF COSY 和 HMBC 见图 1。

NOSEY 谱中显示, H-7 与 H-5、H-9 存在 NOE 相关, 说 H-5、H-9 处在同一平面上。同时, H-1 与 H-6 相关, H-6 与 H-8 相关, 而 H-6 与 H-9 不相关, 推测 1 位的 H 为 α 构型, 5 位和 9 位的 H 为 β 构型。NOSEY 谱中没有观察到与 7 位碳连的甲基和乙氧基的相关峰, 所以不能确定 7 位碳的构型。

通过对比化合物 1 和断马钱子苷二甲基缩醛^[2] (化合物 2) 的核磁数据可以判断, 化合物 1 仅比化

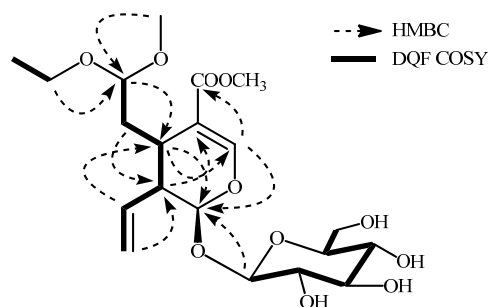


图 1 化合物 1 主要的 HMBC 和 DQF COSY 相关
Fig. 1 Key HMBC and DQF COSY correlations of compound 1

合物 2 缺少 1 个 OCH₃ 信号, 多 1 个 OCH₂CH₃ 信号。综合分析, 化合物 1 的化学结构被确定为断马钱子苷乙基甲基缩醛 (图 2), 经检索为新化合物。

化合物 1 的 ^1H -NMR 谱数据为 δ : 5.49 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-1), 7.41 (1H, s, H-3), 2.92 (1H, ddd, $J = 8.3, 6.9, 6.8$ Hz, H-5), 2.09 (1H, ddd, $J = 13.7, 6.9, 6.8$ Hz, H-6a), 1.62 (1H, ddd, $J = 13.7, 8.3, 4.2$ Hz, H-6b), 4.56 (1H, dd, $J = 6.8, 4.2$ Hz, H-7), 5.73 (1H, ddd, $J = 17.6, 10.3, 8.9$ Hz, H-8), 2.67 (1H, ddd, $J = 8.9, 6.8, 4.8$ Hz, H-9), 5.31 (1H, dd, $J = 17.6, 1.4$ Hz, H-10a), 5.26 (1H, dd, $J = 10.3, 1.4$ Hz, H-10b) 3.69 (3H, s, H-OCH₃), 4.66 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'), 3.18 (1H, dd, $J = 8.9, 7.6$ Hz, H-2'), 3.35 (1H, dd, $J = 9.6, 8.9$ Hz, H-3'), 3.27 (1H, dd, $J = 9.6, 8.9$ Hz, H-4'), 3.29 (1H, overlapped, H-5'), 3.89 (1H, dd, $J = 11.7, 2.1$ Hz, H-6'a), 3.66 (1H, dd, $J = 11.7, 5.5$ Hz, H-6'b), 3.28 (3H, s, H-1''), 1.17 (3H, t, $J = 7.6, 6.9$ Hz, H-2''), 3.73 (1H, m, H-3''a), 3.61 (1H, m, H-3''b)。

化合物 2: 白色粉末, FAB-MS: m/z 457 [$\text{M} + \text{Na}$]⁺。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 5.50 (1H, d, $J = 5.5$ Hz, H-1), 7.42 (1H, s, H-3), 2.91 (1H, ddd, $J = 8.3, 6.9, 6.8$ Hz, H-5), 2.06 (1H, ddd, $J = 13.7, 6.9, 6.8$ Hz, H-6a), 1.63 (1H, ddd, $J = 13.7, 8.3, 4.1$ Hz, H-6b),

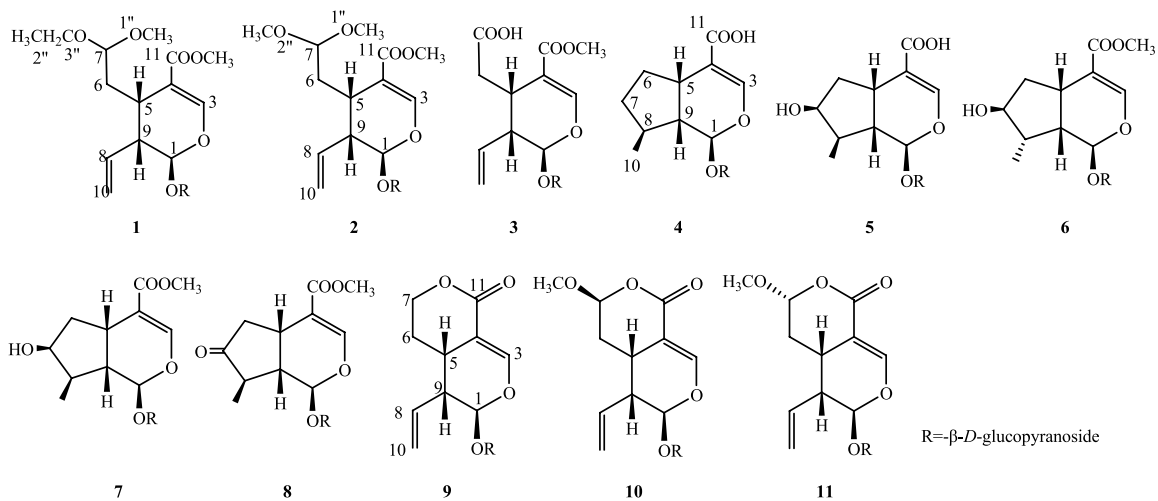


图 2 化合物 1~11 的结构

Fig. 2 Structures of compounds 1—11

4.69 (1H, dd, $J = 6.8, 4.1$ Hz, H-7), 5.72 (1H, ddd, $J = 17.6, 10.3, 8.9$ Hz, H-8), 2.67 (1H, ddd, $J = 8.9, 6.8, 5.5$ Hz, H-9), 5.30 (1H, dd, $J = 17.6, 1.4$ Hz, H-10a), 5.26 (1H, dd, $J = 10.3, 1.4$ Hz, H-10b), 3.69 (3H, s, OCH₃), 4.67 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'), 3.19 (1H, dd, $J = 8.9, 7.6$ Hz, H-2'), 3.35 (1H, dd, $J = 9.6, 8.9$ Hz, H-3'), 3.27 (1H, dd, $J = 9.6, 8.9$ Hz, H-4'), 3.89 (1H, dd, $J = 11.7, 1.8$ Hz, H-6'a), 3.66 (1H, dd, $J = 11.7, 6.2$ Hz, H-6'b), 3.26 (3H, s, H-1''), 3.29 (3H, s, H-2''). ¹³C-NMR 谱数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[2], 故鉴定化合物 2 为断马钱子苷二甲基缩醛。

将化合物的核磁和质谱数据与已知文献中的数据对比, 将化合物 3~11 分别鉴定为断氧化马钱子苷^[3]、7-去氧马钱子酸^[4]、马钱子酸^[5]、8-表马钱子苷^[6]、马钱子苷^[7]、7-脱氢马钱子苷^[8]、獐牙菜苷^[9]、表断马钱子苷半缩醛内酯^[10]和断马钱子苷半缩醛内酯^[11], ¹³C-NMR 谱数据见表 1。

参考文献

[1] Ishih A, Nagata T, Kobayashi F, *et al.* Cytokine and antibody production during the course of resolution in *Plasmodium yoelii* 17XL-infected BALB/c mice treated with febrifugine and isofebrifugine mixture from leaves of *Hydrangea macrophylla* var. *otaksa* [J]. *Parasitol Res*, 2004, 94(3): 176-182.
 [2] Kakuda R, Imai M, Yaoita Y, *et al.* Secoiridoid glycosides from the flower buds of *Lonicera japonica* [J]. *Phytochemistry*, 2000, 55(8): 879-881.

[3] Calis I, Sticher O. Secoiridoid glucosides from *Lonicera periclymenum* [J]. *Phytochemistry*, 1984, 23(11): 2539-2540.
 [4] Teng R W, Wang D Z, Wu Y S, *et al.* NMR assignments and single-crystal X-ray diffraction analysis of deoxyloganic acid [J]. *Magn Reson Chem*, 2005, 43(1): 92-96.
 [5] Yang X L, Jiang M Y, Hsieh K L, *et al.* Chemical constituents from the seeds of *Morinda citrifolia* [J]. *Chin J Nat Med*, 2009, 7(2): 119-122.
 [6] Háznagy-Radnai E, Wéber E, Czigle S, *et al.* Identification of iridoids, flavonoids and triterpenes from the methanolic extract of *Melampyrum bihariense* A. Kern. and the antioxidant activity of the extract [J]. *Chromatographia*, 2014, 77(17): 1153-1159.
 [7] 朱伟明, 何红平, 王跃虎, 等. 药用植物盆架树中的马钱子苷及其衍生物 [J]. *植物分类与资源学报*, 2004, 26(6): 683-686.
 [8] Gross G A, Sticher O, Anklin C, *et al.* Ein neues esteriridoidglycosid aus *Sambucus ebulus* L. (Caprifoliaceae). 1. Mitteilung über die inhaltsstoffe der zwergholunderwurzel [J]. *Helve Chim Acta*, 1986, 69(1): 156-162.
 [9] 李雨蔚, 李荣娇, 袁绿益, 等. 西藏秦艽花的化学成分研究 [J]. *中草药*, 2015, 46(14): 2052-2056.
 [10] Chai X, Su Y F, Yan S L, *et al.* Chemical constituents of the roots of *Triosteum pinnatifidum* [J]. *Chem Nat Compd*, 2014, 50(6): 1149-1152.
 [11] 李 畅, 戴 毅, 张金博, 等. 金银花中 1 个新的环烯醚萜苷类化合物 [J]. *中草药*, 2013, 44(21): 2951-2954.