

金银花化学成分研究

倪付勇, 温建辉, 李明, 赵祎武, 王振中, 萧伟*

江苏康缘药业股份有限公司, 中药制药过程新技术国家重点实验室, 中药提取精制新技术重点研究室, 江苏 连云港 222001

摘要: 目的 研究金银花(忍冬 *Lonicera japonica* 干燥花蕾)的化学成分。方法 反复利用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20、中压柱色谱及制备液相色谱等方法分离纯化;通过 MS、¹H-NMR 及 ¹³C-NMR 等技术鉴定化合物结构。结果 从金银花醋酸酯部位分离得到 12 个化合物, 分别鉴定为对羟基苯甲酸(1)、香草酸(2)、槲皮素-3-*O*- α -L-吡喃鼠李糖苷(3)、山柰酚-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷(4)、3',4',7-三羟基-3,5-二甲氧基黄酮(5)、异鼠李素(6)、金丝桃苷(7)、槲皮素-7-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷(8)、环裂马钱子酸(9)、断氧马钱子苷半缩醛内酯(10)、5-*O*-咖啡酰奎宁酸甲酯(11)、豆甾醇(12)。结论 化合物 5 首次从忍冬属植物中分离得到;化合物 1~4、6、11、12 首次从金银花中分离得到。

关键词: 金银花; 香草酸; 山柰酚-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷; 3',4',7-三羟基-3,5-二甲氧基黄酮; 异鼠李素

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)18-3689-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.18.004

Chemical constituents from flower buds of *Lonicera japonica*

NI Fu-yong, WEN Jian-hui, LI Ming, ZHAO Yi-wu, WANG Zhen-zhong, XIAO Wei

The Key Laboratory for the New Technique Research of TCM Extraction and Purification, State Key Laboratory of New-Tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents of the flower buds of *Lonicera japonica*. **Methods** The chemical constituents were isolated by repeated silica gel chromatography, Sephadex LH-20, medium pressure column chromatography and preparative HPLC, and their structures were elucidated by spectroscopic analyses and comparison of MS, ¹H-NMR and ¹³C-NMR data with those reported in literature. **Results** Twelve compounds from the EtOAc fraction of *L. japonica* included *p*-hydroxybenzoic acid (1), vanillic acid (2), quercetin-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside (3), kaempferol-3-*O*- β -D-glucopyranoside (4), 3',4',7-trihydroxy-3,5-dimethoxyflavone (5), isorhamnetin (6), hyperoside (7), quercetin-7-*O*- β -D-glucopyranoside (8), secologanic acid (9), vogelosiide (10), 5-*O*-caffeoylquinic acidmethylster (11) and stigmaterol (12). **Conclusion** Compound 5 is obtained from the plant in *Lonicera* Linn. for the first time; Compounds 1—4, 6, 11 and 12 are obtained from this plants for the first time.

Key words: flower buds of *Lonicera japonica*; vanillic acid; kaempferol-3-*O*- β -D-glucopyranoside; 3',4',7-trihydroxy-3,5-dimethoxyflavone; isorhamnetin

金银花为忍冬科(Caprifoliaceae)忍冬属 *Lonicera* Linn. 植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾, 药用历史悠久, 具有清热解毒、凉散风热之功效。临床上主要用于治疗痈肿疔疮、喉痹、热毒血痢、风热感冒、温热发病等症^[1]。化学成分主要有挥发油类、黄酮类、有机酸类、苷类等^[2]。本实验从金银花醋酸酯部位分离鉴定了 12 个化合物, 分别为对羟基苯甲酸(*p*-hydroxybenzoic acid,

1)、香草酸(vanillic acid, 2)、槲皮素-3-*O*- α -L-吡喃鼠李糖苷(quercetin-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside, 3)、山柰酚-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷(kaempferol-3-*O*- β -D-glucopyranoside, 4)、3',4',7-三羟基-3,5-二甲氧基黄酮(3',4',7-trihydroxy-3,5-dimethoxyflavone, 5)、异鼠李素(isorhamnetin, 6)、金丝桃苷(hyperoside, 7)、槲皮素-7-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷(quercetin-7-*O*- β -D-glucopyranoside, 8)、环裂马钱

收稿日期: 2017-03-23

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: 倪付勇, 男, 助理研究员, 从事天然产物化学研究。Tel: (0518)81152323 E-mail: nifuyong163@163.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。Tel: (0518)81152337 E-mail: kanionlunwen@163.com

子酸 (secologanic acid, **9**)、断氧马钱子苷半缩醛内酯 (vogeloside, **10**)、5-*O*-咖啡酰奎宁酸甲酯 (5-*O*-caffeoylquinic acid methyl ester, **11**)、豆甾醇 (stigmasterol, **12**)。化合物 **5** 首次从忍冬属植物中分离得到; 化合物 **1~4**、**6**、**11**、**12** 首次从金银花中分离得到。

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×21.2 mm, 5 μm); 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 (美国 Thermo Scientific 公司); 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); 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)。

金银花药材购自安徽亳州药材市场, 经连云港康济大药房连锁有限公司吴舟执业药师鉴定为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花。

2 提取与分离

取金银花 10.0 kg, 以 10 倍量 75%乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h, 提取液浓缩, 得流浸膏 5 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 (109 g)、醋酸乙酯部位 (296 g)、正丁醇部位 (257 g)。醋酸乙酯萃取物经硅胶柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (100:0→0:100) 梯度洗脱, 经 TLC 检识合并得到 6 个部分 (Fr. 1~6)。Fr. 1 经反复硅胶柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (100:1→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, 重结晶得化合物 **12** (13 mg)。

Fr. 2~6 部位经反复硅胶柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (100:1→0:100) 梯度洗脱, 结合 Sephadex LH-20 柱色谱、重结晶及半制备液相, 分离得到化合物 **1** (12 mg)、**2** (10 mg)、**3** (19 mg)、**4** (16 mg)、**5** (7 mg)、**6** (13 mg)、**7** (9 mg)、**8** (17 mg)、**9** (21 mg)、**10** (15 mg)、**11** (18 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色针晶 (醋酸乙酯), mp 213~

215 °C, ESI-MS m/z : 137 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.89 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-2, 6), 6.82 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-3, 5); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 170.2 (-COOH), 122.8 (C-1), 133.1 (C-2, 6), 116.1 (C-3, 5), 163.4 (C-4)。以上数据与文献报道基本一致^[3], 故鉴定化合物 **1** 为对羟基苯甲酸。

化合物 **2**: 无色针晶 (甲醇), mp 208~210 °C, ESI-MS m/z : 167 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 3.89 (3H, s, 3-OCH₃), 6.84 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-5), 7.56 (2H, m, H-2, 6); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 170.0 (COOH), 152.4 (C-4), 148.4 (C-3), 125.1 (C-6), 123.0 (C-1), 115.7 (C-5), 113.7 (C-2), 56.5 (OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[4], 故鉴定化合物 **2** 为香草酸。

化合物 **3**: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 447 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 6.20 (1H, d, J = 1.0 Hz, H-6), 6.38 (1H, d, J = 1.0 Hz, H-8), 6.86 (1H, d, J = 8.3 Hz, H-5'), 7.25 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-2'), 7.26 (1H, dd, J = 8.3, 1.5 Hz, H-6'), 12.64 (1H, s, 5-OH), Rha: 0.80 (3H, d, J = 5.0 Hz, H-6''), 5.23 (1H, d, J = 5.0 Hz, H-1''); ^{13}C -NMR (100 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 93.8 (C-8), 98.9 (C-6), 104.3 (C-10), 115.5 (C-5'), 115.7 (C-2'), 120.8 (C-6'), 121.2 (C-1'), 134.3 (C-3), 145.3 (C-3'), 148.5 (C-4'), 156.3 (C-2), 156.6 (C-9), 161.4 (C-5), 164.3 (C-7), 177.8 (C-4), Rha: 17.6 (C-6''), 70.1 (C-5''), 70.4 (C-2''), 70.7 (C-3''), 71.2 (C-4''), 101.9 (C-1'')。以上数据与文献报道基本一致^[5], 故鉴定化合物 **3** 为槲皮素-3-*O*- α -L-吡喃鼠李糖苷。

化合物 **4**: 淡黄色粉末, ESI-MS m/z : 447 $[M-H]^-$, 1H -NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 5.46 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-1''), 6.22 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 6.43 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 6.88 (2H, d, J = 9.0 Hz, H-3', 5'), 8.04 (2H, d, J = 9.0 Hz, H-2', 6'), 10.18 (1H, s, 4'-OH), 10.86 (1H, s, 7-OH), 12.60 (1H, s, 5-OH), Glc: 3.08~3.58 (6H, m, H-2''~6''); ^{13}C -NMR (100 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 93.6 (C-8), 98.6 (C-6), 104.0 (C-10), 115.0 (C-3', 5'), 120.7 (C-1'), 130.8 (C-2', 6'), 133.2 (C-3), 156.2 (C-2), 156.5 (C-9), 159.9 (C-4'), 161.2 (C-5), 164.0 (C-7), 177.4 (C-4), Glc: 60.8 (C-6''), 69.9 (C-4''), 74.2 (C-2''), 76.4 (C-3''), 77.4 (C-5''), 100.8 (C-1'')。以上数据与文献报道基本一致^[6], 故鉴定化合物 **4** 为山柰酚-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **5**: 黄色片状结晶 (甲醇), mp 278 °C, $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 6.32 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-6), 6.42 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-8), 7.49 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.87 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 7.36 (1H, dd, $J = 2.0, 8.5$ Hz, H-6'), 3.70 (3H, s, 3-OCH₃), 3.80 (3H, s, 5-OCH₃), 9.34 (1H, s, 4'-OH), 9.63 (1H, s, 3'-OH), 10.70 (1H, s, 7-OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 56.0 (3-OCH₃), 59.3 (5-OCH₃), 94.7 (C-8), 96.0 (C-6), 107.5 (C-10), 115.7 (C-2'), 115.8 (C-5'), 121.2 (C-1'), 121.4 (C-6'), 139.8 (C-3), 145.0 (C-3'), 148.0 (C-4'), 151.8 (C-2), 158.0 (C-9), 160.5 (C-5), 162.4 (C-7), 172.0 (C-4)。以上数据与文献报道基本一致^[7], 故鉴定化合物 **5** 为 3',4',7-三羟基-3,5-二甲氧基黄酮。

化合物 **6**: 黄色粉末。ESI-MS m/z : 315 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 7.76 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 7.69 (1H, dd, $J = 8.5, 2.1$ Hz, H-6'), 6.94 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 6.48 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.20 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 3.85 (3H, s, 3'-OCH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 183.4 (C-4), 164.8 (C-7), 163.4 (C-2), 161.5 (C-5), 157.3 (C-9), 149.4 (C-4'), 146.9 (C-3'), 121.9 (C-1'), 121.6 (C-6'), 115.2 (C-5'), 113.2 (C-2'), 104.2 (C-3), 103.6 (C-10), 99.0 (C-6), 93.8 (C-8), 59.8 (-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[8], 故鉴定化合物 **6** 为异鼠李素。

化合物 **7**: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 487 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 7.67 (1H, dd, $J = 8.5, 2.3$ Hz, H-6'), 7.53 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-2'), 6.82 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 6.40 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.20 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.38 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1''); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 60.7 (C-6''), 67.8 (C-4''), 71.1 (C-2''), 73.1 (C-3''), 75.8 (C-5''), 93.4 (C-8), 98.6 (C-6), 101.7 (C-1''), 103.8 (C-10), 115.1 (C-5'), 115.9 (C-2'), 121.9 (C-6'), 121.0 (C-1'), 133.4 (C-3), 144.7 (C-4'), 148.4 (C-3'), 156.1 (C-2), 156.2 (C-9), 161.1 (C-5), 164.0 (C-7), 177.4 (C-4)。以上数据与文献报道基本一致^[8], 故鉴定化合物 **7** 为金丝桃苷。

化合物 **8**: 淡黄色粉末, $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 12.60 (1H, s, 5-OH), 7.58 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 7.57 (1H, dd, $J = 2.0, 8.8$ Hz, H-6'), 6.84 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-5'), 6.38 (1H, d, $J = 2.0$ Hz,

H-8), 6.16 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.44 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, Glc-H-1''), 3.05~3.60 (6H, m, H-2'~6')。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **8** 为槲皮素-7- O - β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **9**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 375 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.44 (1H, brs, H-3), 5.62 (1H, m, H-8), 5.45 (1H, d, $J = 3.8$ Hz, H-1), 5.23 (1H, m, H-10), 4.64 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 3.86 (1H, dd, $J = 11.9, 1.8$ Hz, H-6'), 3.65 (1H, dd, $J = 11.9, 5.6$ Hz, H-6'), 3.32 (1H, m, H-5), 2.91 (1H, dd, $J = 16.5, 4.9$ Hz, H-6), 2.23 (1H, dd, $J = 16.5, 8.8$ Hz, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 168.4 (C-11), 153.4 (C-3), 133.5 (C-8), 120.1 (C-10), 105.3 (C-4), 103.1 (C-7), 100.1 (C-1'), 98.6 (C-1), 78.5 (C-3'), 78.0 (C-5'), 74.7 (C-2'), 71.5 (C-4'), 62.7 (C-6'), 43.5 (C-9), 30.5 (C-6), 23.9 (C-5)。以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **9** 为环裂马钱子酸。

化合物 **10**: 白色固体, ESI-MS m/z : 389 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 5.52 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-1), 7.56 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-3), 3.07 (1H, m, H-9a), 1.95 (1H, m, H-6 α), 1.42 (1H, m, H-6 β), 5.29 (1H, s, H-7), 5.46 (1H, m, H-8), 2.66 (1H, m, H-9b), 5.27 (1H, dd, $J = 2.4, 10.0$ Hz, H-10 α), 5.24 (1H, dd, $J = 2.0, 12.0$ Hz, H-10 β), 3.52 (1H, s, -OCH₃), 4.64 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 97.9 (C-1), 154.1 (C-3), 105.4 (C-4), 25.3 (C-5), 31.6 (C-6), 105.3 (C-7), 133.0 (C-8), 43.6 (C-9), 121.2 (C-10), 167.5 (C-11), 57.1 (-OCH₃), 99.6 (C-1'), 74.6 (C-2'), 77.8 (C-3'), 71.4 (C-4'), 78.3 (C-5'), 62.6 (C-6')。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **10** 为断氧马钱子苷半缩醛内酯。

化合物 **11**: 白色无定形粉末, ESI-MS m/z : 367 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 7.03 (1H, s, H-2'), 6.72 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.92 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6), 7.45 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7'), 6.18 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 34.8 (C-2), 38.2 (C-6), 51.4 (C-8), 67.6 (C-5), 69.9 (C-3), 70.2 (C-4), 72.6 (C-1), 114.3 (C-2'), 114.6 (C-8'), 115.8 (C-5'), 121.6 (C-6'), 125.0 (C-1'), 144.7 (C-3'), 145.7 (C-7'), 146.0 (C-4'), 166.4 (C-9'), 174.1 (C-7)。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **11** 为 5- O -咖啡酰奎宁酸甲酯。

化合物 **12**: 无色针晶(氯仿), mp 153~155 °C, ESI-MS m/z : 411 $[M-H]^-$ 。 ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 12.0 (C-18), 12.2 (C-29), 19.1 (C-26), 19.3 (C-19), 21.0 (C-21), 21.1 (C-11), 21.2 (C-27), 24.4 (C-15), 25.3 (C-28), 28.9 (C-16), 31.5 (C-2), 31.9 (C-25), 36.5 (C-10), 37.3 (C-1), 39.7 (C-12), 40.4 (C-24), 42.2 (C-13), 42.3 (C-4), 50.3 (C-9), 51.2 (C-24), 56.0 (C-14), 56.9 (C-17), 71.8 (C-3), 121.7 (C-6), 129.4 (C-23), 138.5 (C-22), 140.8 (C-5)。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **12** 为豆甾醇。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 宋亚玲, 倪付勇, 赵祎武, 等. 金银花化学成分研究进展 [J]. 中草药, 2014, 45(24): 3656-3664.
- [3] 倪付勇, 陈 重, 许琼明, 等. 高山红景天化学成分研究 [J]. 中草药, 2013, 44(7): 798-802.
- [4] 傅志勤, 黄泽豪, 林 婧, 等. 蛇附子化学成分及抗氧化活性研究 [J]. 中草药, 2015, 46(11): 1583-1588.
- [5] 谢百波, 许福泉, 李良波, 等. 元宝槭树叶中的黄酮苷 [J]. 云南植物研究, 2005, 27(3): 232-234.
- [6] 蔡玉鑫, 阿依别克·马利克, 肖正华. 罗布麻花化学成分研究 [J]. 中草药, 2007, 38(9): 1306-1307.
- [7] 宋鹤桥, 潘玉银, 汪伟光, 等. 马缨杜鹃化学成分研究 [J]. 中药材, 2009, 32(12): 1840-1843.
- [8] 李海波, 于 洋, 王振中, 等. 热毒宁注射液抗病毒活性成分研究 (I) [J]. 中草药, 2014, 45(12): 1682-1688.
- [9] 张树军, 宋 鑫, 姚 佳, 等. 柞树叶化学成分 [J]. 中草药, 2013, 44(6): 665-670.
- [10] 李海波, 于 洋, 王振中, 等. 热毒宁注射液化学成分研究 (II) [J]. 中草药, 2015, 46(11): 1597-1602.
- [11] 王 楠, 杨秀伟. 复方双黄连粉针剂金银花中间体化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(12): 1613-1619.
- [12] 黄明菊, 曾光尧, 谭健兵, 等. 肿节风中黄酮苷类成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(14): 1700-1702.
- [13] 刘晶晶, 陈 辛, 魏志奇, 等. 川木通的化学成分及鉴别研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2010, 22(6): 998-1000.