

鲁桑枝中黄酮类成分研究

钟雪敏¹, 黄晓君², 陈凌云¹, 沈梅¹, 石俊敏³, 贺丽苹⁴, 韩伟立^{1*}

1. 南方医科大学公共卫生学院 卫生检测中心, 广东省热带病研究重点实验室, 广东 广州 510515

2. 暨南大学药学院 中药及天然药物研究所, 广东 广州 510632

3. 南方医科大学 中心实验室, 广东 广州 510515

4. 华南农业大学 测试中心, 广东 广州 510642

摘要: 目的 研究鲁桑 *Morus multicaulis* 枝中的化学成分。方法 采用多种色谱技术进行分离纯化, 通过理化性质和波谱学数据对其进行结构鉴定。结果 从鲁桑枝 90%乙醇提取物中得到 6 个黄酮类成分, 分别鉴定为桑枝酮 A (1)、carpachromene (2)、补骨脂乙素 (3)、异甘草素 (4)、芹菜素 (5) 和槲皮素 (6), 其中化合物 1 的绝对构型通过圆二色谱量子化学计算得到了确定。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为桑枝酮 A, 化合物 2~4 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 鲁桑; 黄酮; 桑枝酮 A; 圆二色谱; 补骨脂乙素; 异甘草素

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)08-1898-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.08.018

Flavonoids from twigs of *Morus multicaulis*

ZHONG Xue-min¹, HUANG Xiao-jun², CHEN Ling-yun¹, SHEN Mei¹, SHI Jun-min³, HE Li-ping⁴, HAN Wei-li¹

1. Guangdong Key Laboratory of Tropical Disease Research, Department of inspection and quarantine, School of Public Health, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

2. Institute of Traditional Chinese Medicine & Natural Products, College of Pharmacy, Jinan University, Guangzhou 510632, China

3. Central Laboratory, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

4. Instrumental Analysis & Research Center, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

Abstract: **Objective** To investigate the chemical compounds from the twigs of *Morus multicaulis*. **Methods** The chemical constituents were isolated by various chromatographic methods from 90% ethanol aqueous extract of *M. multicaulis* and the structures were elucidated by a combined analysis of physicochemical properties, as well as spectroscopic methods including UV, IR, MS ECD and NMR. **Results** Six flavonoids were isolated and the structures were identified as moritwigsone A (1), carpachromene (2), isobavachalcone (3), isoliquiritigenin (4), apigenin (5), and quercitrin (6). The absolute configuration of compound 1 was determined by electronic circular dichroism (ECD) calculation. **Conclusion** Compound 1 is a new compound, named moritwigsone A, and compounds 2—4 are isolated from this plant for the first time.

Key words: *Morus multicaulis* Perr.; flavonoid; moritwigsone A; electronic circular dichroism; isobavachalcone; isoliquiritigenin

鲁桑枝为桑科 (Morus) 桑属植物鲁桑 *Morus multicaulis* Perr. 的干燥嫩枝, 同属植物白桑枝为《中国药典》收录的传统中药。《中华本草》^[1]记载桑枝具有祛风湿、通经络、行水气的功效。现代药理研究表明桑枝具有降血糖、抗炎、利尿等活性。国内外对白桑枝化学成分研究较多^[2-4], 其次广东

桑、川桑和黑桑等桑属植物资源中的桑枝化学成分也有报道^[5-7], 从中发现其富含黄酮、Diels-Alder 加合物、香豆素和多羟基生物碱等成分, 而鲁桑枝化学成分的研究相对较少。为促进桑树资源的综合利用, 本实验对鲁桑枝 90%乙醇水提取物的醋酸乙酯部位的化学成分进行了研究, 从中分离并鉴定了

收稿日期: 2018-11-09

基金项目: 广东省自然科学基金项目 (2016A030313541); 南方医科大学公卫学院院长基金项目 (GW201832)

作者简介: 钟雪敏 (1995—), 女, 本科生, 研究方向为活性天然产物研究与开发。E-mail: 779289295@qq.com

*通信作者 韩伟立, 博士, 讲师, 从事中药及活性天然产物研究与开发。Tel: (020)61648564 E-mail: picese.14@gmail.com

6个黄酮类化合物,分别为桑枝酮A(moritwigsone A, **1**)、carpachromene(**2**)、补骨脂乙素(isobavachalcone, **3**)、异甘草素(isoliquiritigenin, **4**)、芹菜素(apigenin, **5**)和槲皮素(quercitrin, **6**),其中,化合物**1**为新化合物,**2**~**4**为首次从该植物中分离得到。

1 仪器与材料

Bruker Vertex 70 傅里叶变换红外光谱仪(KBr压片)、Bruker AV-400/600 核磁共振仪(TMS为内标),Bruker公司;Chirascan 圆二色谱仪(英国应用光学物理公司);Orbitrap Fusion Tribrid 高分辨质谱仪(Thermo Scientific公司);岛津LC-20A分析型液相色谱仪(日本岛津公司);Agilent 1260 半制备型高效液相色谱仪(美国Agilent公司);柱色谱用硅胶(青岛海洋化工厂);Sephadex LH-20(Pharmacia公司);ODS(YMC公司);硅胶GF₂₅₄薄层预制板(烟台化学工业研究所);液相色谱仪所用试剂为分析纯。

植物样本于2013年7月采自广东省广州市,经山西中医学院中药鉴定教研室王兵讲师鉴定为鲁桑 *Morus multicaulis* Perr. 的枝,样本(20130725)存放于南方医科大学公共卫生学院检验检疫学系。

2 提取与分离

干燥的鲁桑枝8.5 kg 粉碎,用90%乙醇水加热回流提取3次,每次3 h,合并提取液后经减压浓缩,得总浸膏约550 g。浸膏用水分散后,依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取。醋酸乙酯部位经减压浓缩得浸膏约60 g,经硅胶柱色谱,三氯甲烷-甲醇(100:0→0:100)梯度洗脱,洗脱液经薄层色谱检测合并,得到11个主流分(Fr. A~K)。

Fr. D 经硅胶柱色谱三氯甲烷-甲醇(95:5→80:20)梯度洗脱得到7个流分(Fr. D1~7)。Fr. D3 经 Sephadex LH-20 柱色谱,三氯甲烷-甲醇(1:1)等度洗脱,得到化合物**2**(7.3 mg)。Fr. D5 经 ODS 柱色谱,甲醇-水(1:9→1:1)梯度洗脱,再经 Sephadex LH-20 柱色谱,甲醇-水(1:1)洗脱得到化合物**1**(5.8 mg)和**3**(6.7 mg)。Fr. G 经 ODS 柱色谱,甲醇-水(1:9→1:1)梯度洗脱,到5个流分(Fr. G1~5),Fr. G3 再经制备液相色谱,甲醇-水(60:40)等度洗脱,体积流量为5 mL/min,得到化合物**4**(8.7 mg)和**5**(6.3 mg)。Fr. H 经 Sephadex LH-20 柱色谱分离,三氯甲烷-甲醇(1:1)等度洗脱,得到化合物**6**(7.3 mg)。

3 结构鉴定

化合物**1**: 浅黄色无定形粉末,与碱蒸气(氨)反应呈阳性;UV(甲醇)光谱在232, 299, 341 nm 处有最大吸收;IR(KBr)谱图提示化合物结构中含有羟基(3 133 cm⁻¹)、羰基(1 655 cm⁻¹)和芳香环结构片段(1 606, 1 560, 1 509, 1 474 cm⁻¹);HR-ESI-MS 谱显示化合物准分子离子峰为 *m/z* 419.150 3 [M-H]⁻(计算值 C₂₅H₂₃O₆, 419.150 0),可确定该化合物的分子式为 C₂₅H₂₄O₆, 以上信息提示化合物**1**为黄酮类化合物。

化合物**1**的¹H-NMR谱(600 MHz, DMSO-*d*₆)中显示出2个酚羟基的特征质子信号[δ_{H} 13.37(1H, s)和10.39(1H, s)];1组不饱和ABX偶合系统的特征质子信号[δ_{H} 6.64(1H, dd, *J* = 10.1, 0.8 Hz), 6.57(1H, d, *J* = 0.8 Hz), 5.73(1H, d, *J* = 10.1 Hz)];1组苯环对位取代质子信号[δ_{H} 7.94(2H, d, *J* = 8.8 Hz), 6.93(2H, d, *J* = 8.8 Hz)];3个甲基质子信号[δ_{H} 1.41(3H, s), 1.07(3H, s), 1.08(3H, s)]。综合化合物**1**的¹³C-NMR谱(150 MHz, DMSO-*d*₆)和DEPT 135谱可知其中含有25个碳信号,包括1个羰基碳信号(δ_{C} 181.9)、5个氧化的芳香碳信号(δ_{C} 163.9, 161.3, 159.0, 156.4, 155.4)、1个亚甲基碳信号(δ_{C} 43.5)、3个甲基碳信号(δ_{C} 26.3, 29.8, 29.9)。综合¹H-NMR、¹³C-NMR、¹H-¹H COSY、HSQC和HMBC谱信息,对化合物**1**的碳氢信号进行了全归属(表1)。

化合物**1**的波谱数据与已知二氢黄酮类化合物 mimulone D^[8]相似,仅在归属于黄酮母核C环上的C₂、C₃、C₄及C_{1'}位核磁信号具明显差别,以上信息提示化合物**1**的C₂-C₃位为不饱和烯键结构,而 mimulone D 此处为饱和碳碳键。在HMBC谱(图1)中,可观察到H-3位不饱和烯键质子(δ_{H} 6.83)与C-4位羰基碳(δ_{C} 181.9)及C-1'位(δ_{C} 121.0)芳香碳有关,进一步证实了上述结构。

此外,在HMBC谱中,可观测到H-1"位质子(δ_{H} 6.64)与C-7(δ_{C} 159.0)相关;H-2"位质子(δ_{H} 5.73)与C-5"(δ_{C} 43.5)、C-3"(δ_{C} 80.1)相关;H-5"位质子(δ_{H} 2.39)与C-6"(δ_{C} 118.8)、C-3"(δ_{C} 80.1)相关;H-6"位质子(δ_{H} 5.53)与C-7"(δ_{C} 143.5)相关;H-7"位质子(δ_{H} 5.62)与C-8"(δ_{C} 68.8)相关;H-4"(δ_{H} 1.41)与C-3"(δ_{C} 80.1)相关;H-9"(δ_{H} 1.07)和10"(δ_{H} 1.08)与C-7"(δ_{C} 159.0)相关,结合¹H-¹H COSY谱中观测到H-1"与H-2"相关信号,黄酮母核外的2个异戊烯基结构片段得到确认。综

表 1 化合物 1 的 ^1H - 和 ^{13}C -NMR 数据 (600/150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)
Table 1 ^1H - and ^{13}C -NMR spectral data of compound 1 (600/150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)

碳位	δ_{C}	δ_{H}	碳位	δ_{C}	δ_{H}
2	163.9		6'	128.5	7.94 (d, $J = 8.8$ Hz)
3	102.9	6.83 (s)	1''	115.2	6.64 (dd, $J = 10.1, 0.8$ Hz)
4	181.9		2''	127.6	5.73 (d, $J = 10.1$ Hz)
4a	104.5		3''	80.1	
5	155.4		4''	26.3	1.41 (s)
6	104.9		5''	43.5	2.39 (d, $J = 7.2$ Hz)
7	159.0		6''	118.8	5.53 (m)
8	94.7	6.57 (d, $J = 0.8$ Hz)	7''	143.5	5.62 (brd, $J = 15.5$ Hz)
8a	156.4		8''	68.8	
1'	121.0		9''	29.9	1.07 (s)
2'	128.5	7.94 (d, $J = 8.8$ Hz)	10''	29.8	1.08 (s)
3'	116.0	6.93 (d, $J = 8.8$ Hz)	5-OH		13.37 (s)
4'	161.3		4'-OH		10.39 (s)
5'	116.0	6.93 (d, $J = 8.8$ Hz)	8''-OH		4.43 (s)

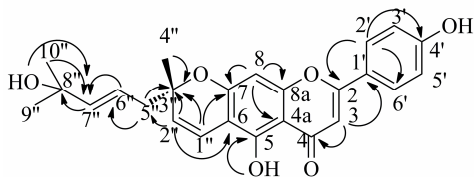


图 1 化合物 1 的主要 HMBC ($\text{H} \rightarrow \text{C}$) 相关信号
Fig. 1 Key HMBC ($\text{H} \rightarrow \text{C}$) correlations of compound 1

合以上信息确定了化合物 1 的平面结构。

C_6'' - C_7'' 烯键的空间构型通过 $\text{H}_{7''}$ 耦合常数 ($J = 15.5$ Hz) 及红外光谱中烯烃碳氢面外弯曲振动特征吸收峰 (974 cm^{-1}) 确定其为反式构型。化合物 1 在 C_3'' 位具有 1 个手性中心, 其立体构型通过实验圆二色谱 (ECD) 结果与计算 ECD 结果比对进行确定。采用 SYBYL-X 2.1.1 软件对其构象进行分析, 利用高斯 09 软件对化合物构象进行几何优化、频率和 ECD 计算。计算采用 B3LYP 泛函, 6-31+G (d) 原子基组, 溶剂化模式为极化连续模型 PCM (甲醇)。运用 SpecDis 1.70.1 软件得到化合物 1 的 R 和 S 2 种构型计算 ECD 图。如图 2 所示, C_3'' 位 S 构型的理论计算 ECD 数据与实验结果最为接近, 故推测 C_3'' 位为 S 构型。至此, 化合物 1 的结构被确定为 (2*S*)-5-羟基-2-[(2*E*)-4-羟基-4-甲基戊-2-烯-1-基]-8-(4-羟基苯基)-2-甲基-2*H*,6*H*-苯并 [1,2-*b*:5,4-*b'*]二吡喃-6-酮, 经检索该化合物为未经文献报道的新

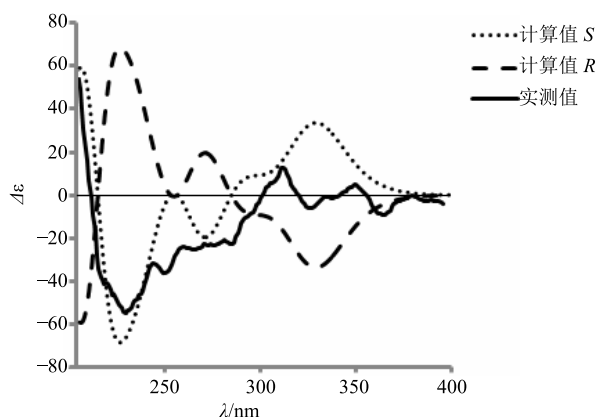


图 2 化合物 1 计算及实测 ECD 光谱图
Fig. 2 Experimental and calculated ECD spectra of compound 1

化合物, 命名为桑枝酮 A。

化合物 2: 黄色粉末 (甲醇), ESI-MS m/z : 359 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, ^1H -NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 7.90 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-2', 6'), 6.92 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-3', 5'), 6.80 (1H, s, H-3), 6.56 (1H, s, H-8), 6.55 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-1''), 5.75 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-2''), 1.43 (6H, s, H-4'', 5''); ^{13}C -NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 182.0 (C-3), 164.0 (C-7), 161.4 (C-5), 158.6 (C-2), 156.4 (C-4'), 155.5 (C-8a), 128.9 (C-2''), 128.5 (C-2', 6'), 121.0 (C-1'), 116.0 (C-3', 5'), 114.6 (C-1''), 104.8 (C-6), 104.6 (C-4a), 102.9 (C-3), 95.0 (C-8), 77.9 (C-3''), 27.8 (C-4''), 27.8 (C-5'')。以上数据

与文献数据^[9]比对, 鉴定化合物 **2** 为 carpachromene。

化合物 **3**: 黄色粉末 (甲醇), ESI-MS m/z : 325 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.84 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-6'), 7.79 (1H, d, $J = 15.3$ Hz, H- β), 7.62 (1H, d, $J = 15.3$ Hz, H- α), 7.61 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2, 6), 6.84 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3, 5), 6.43 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-5'), 5.23 (1H, m, H-2''), 3.34 (2H, m, H-1''), 1.78 (3H, s, H-5''), 1.66 (3H, s, H-4''); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 193.2 (C = O), 164.5 (C-4'), 163.2 (C-2''), 161.0 (C-4), 144.8 (C- β), 131.4 (C-3''), 131.2 (C-2, 6), 130.0 (C-6'), 127.4 (C-1), 123.1 (C-2''), 118.1 (C- α), 116.5 (C-3, C-5), 116.1 (C-3'), 114.1 (C-1'), 107.7 (C-5''), 25.4 (C-5''), 22.1 (C-1''), 17.4 (C-4'')。以上数据与文献报道^[10]的数据比对, 鉴定化合物 **3** 为补骨脂乙素。

化合物 **4**: 黄色粉末 (甲醇), ESI-MS m/z : 257 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.94 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-6'), 7.76 (1H, d, $J = 15.0$ Hz, H- β), 7.59 (1H, d, $J = 15.0$ Hz, H- α), 7.58 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2, 6), 6.83 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3, 5), 6.38 (1H, dd, $J = 9.0, 2.4$ Hz, H-5'), 6.26 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-3'); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 193.5 (C = O), 167.5 (C-4'), 166.6 (C-2'), 161.6 (C-4), 145.6 (C- β), 133.4 (C-6'), 131.8 (C-2, 6), 127.9 (C-1), 118.4 (C- α), 116.9 (C-3, 5), 114.7 (C-1'), 109.2 (C-5'), 103.8 (C-3')。以上数据与文献报道^[11]的数据比对, 鉴定化合物 **4** 为异甘草素。

化合物 **5**: 黄色针状结晶 (甲醇), UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 213, 269, 336; 1H -NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 13.00 (1H, s, OH), 7.92 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2', 6'), 6.92 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3', 5'), 6.78 (1H, s, H-3), 6.48 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 6.19 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8); ^{13}C -NMR (100 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 181.7 (C-4), 164.1 (C-7), 163.7 (C-2), 161.4 (C-8a), 161.1 (C-4'), 157.2 (C-5), 128.4 (C-2', 6'), 121.1 (C-1'), 115.9 (C-3', 5'), 103.6 (C-4a), 98.8 (C-6), 102.8 (C-3), 93.9 (C-8)。以上数据与文献报道^[12]的数据比对, 鉴定化合物 **5** 为芹菜素。

化合物 **6**: 淡黄色粉末 (甲醇), UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 207, 256, 372; ESI-MS m/z : 301 $[M-H]^-$; 1H -NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 12.48 (1H, s, 5-OH), 9.30~

9.20 (2H, brs, 3, 3'-OH), 7.68 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 7.55 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz, H-6'), 6.88 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.40 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.19 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6); ^{13}C -NMR (100 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 175.8 (C-4), 163.8 (C-7), 160.6 (C-8a), 156.1 (C-5), 147.6 (C-4'), 146.7 (C-2), 145.0 (C-3'), 135.6 (C-3), 121.9 (C-1'), 119.9 (C-6'), 115.5 (C-5'), 115.0 (C-2'), 102.9 (C-4a), 98.1 (C-6), 93.3 (C-8)。以上数据与文献报道^[13]的数据比对, 鉴定化合物 **6** 为槲皮素。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 (第2卷) [M]. 上海: 上海科学出版社, 1999.
- [2] Hnk T, Nguyen V T, Kim J A, et al. Anti-inflammatory activities of compounds from twigs of *Morus alba* [J]. *Fitoterapia*, 2017, 120: 17-24.
- [3] 艾文, 何厚洪, 杜昕, 等. 桑枝化学成分的研究 [J]. 中成药, 2017, 39(9): 1861-1866.
- [4] 陈震, 汪仁芸, 朱丽莲, 等. 桑枝水提取物化学成分的研究 [J]. 中草药, 2000, 31(7): 24-25.
- [5] 许延兰, 李续娥, 邹宇晓, 等. 广东桑枝的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(21): 2499-2502.
- [6] Wang M, Gao L X, Wang J, et al. Diels-Alder adducts with PTP1B inhibition from *Morus notabilis* [J]. *Phytochemistry*, 2015, 109: 140-146.
- [7] Xu L J, Yu M H, Huang C Y, et al. Isoprenylated flavonoids from *Morus nigra* and their PPAR γ agonistic activities [J]. *Fitoterapia*, 2018, 127: 109-114.
- [8] Navrátilová A, Schneiderová K, Veselá D, et al. Minor C-geranylated flavanones from *Paulownia tomentosa* fruits with MRSA antibacterial activity [J]. *Phytochemistry*, 2013, 89(3): 104-113.
- [9] 宋敬丽, 高慧, 袁林, 等. 大叶藤黄化学成分研究 [J]. 安徽农业科学, 2015, 43(32): 222-224.
- [10] Pistelli L, Spera K, Flamini G, et al. Isoflavonoids and chalcones from *Anthyllis hermanniae* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 42(5): 1455-1458.
- [11] 何轶, 鲁静, 林瑞超. 板蓝根化学成分研究 [J]. 中草药, 2003, 34(9): 777-778.
- [12] 张红伟, 张琳, 孙晓飞, 等. 垫状卷柏化学成分研究 [J]. 亚太传统医药, 2008, 4(6): 36-37.
- [13] 于德泉, 杨峻山. 分析化学手册 (第7分册) [M]. 第2版. 北京: 化学工业出版社, 1999.