

• 化学成分 •

藏药绿萝花中1个新的香豆素

李 敏¹, 杨 静², 朱继孝¹, 钟国跃¹

1. 江西中医药大学, 中药资源与民族药研究中心, 江西 南昌 330004

2. 山东金城医药集团股份有限公司, 山东 淄博 255000

摘要:目的 研究结香属藏药绿萝花(滇结香 *Edgeworthia gardneri* 干燥花蕾)的化学成分。方法 利用硅胶、AB-8 大孔树脂、sephadex LH-20、pre-HPLC 等色谱方法对绿萝花进行分离纯化, 根据理化常数测定及波谱数据分析鉴定化合物结构。结果 从绿萝花 70%乙醇提取物中分离得到 4 个化合物, 分别鉴定为绿萝花苷 C (1)、西瑞香素-5-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖基-(1→2)-β-*D*-吡喃葡萄糖苷 (2)、(3*S*)-1,2,3,4-四氢-β-咔啉-3-羧酸 (3)、二氢山柰酚 (4)。结论 化合物 1 为新化合物, 化合物 4 为首次从该属植物中分离得到。

关键词: 绿萝花; 新香豆素; 绿萝花苷 C; (3*S*)-1,2,3,4-四氢-β-咔啉-3-羧酸; 二氢山柰酚

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)16-4109-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.16.001

A new coumarin from flowers of *Edgeworthia gardneri*LI Min¹, YANG Jing², ZHU Ji-xiao¹, ZHONG Guo-yue¹

1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Research Center of Chinese Herbal Medicine and Ethnic Medicine, Nanchang 330004, China

2. Shandong Jincheng Pharmaceutical Group Co., Ltd., Zibo 255000, China

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents from the flowers of *Edgeworthia gardneri*. **Methods** The chemical constituents were isolated and purified by column chromatography on silica gel, AB-8 macroporous resin, sephadex LH-20, pre-HPLC. Their structures were determined on the basis of physicochemical properties and spectral analysis. **Results** Four compounds were isolated from the flowers of *E. gardneri* and elucidated as gardnerol C (1), daphnoretin-5-*O*-β-*D*-glucopyranosyl-(1→2)-β-*D*-glucopyranoside (2), (3*S*)-1,2,3,4-tetrahydro-β-carboline-3-carboxylic acid (3), and dihydrokaempferol (4). **Conclusion** Compound 1 is a new coumarin named gardnerol C, and compound 4 is obtained from the genus for the first time.

Key words: flowers of *Edgeworthia gardneri*; coumarin; gardnerol C; (3*S*)-1,2,3,4-tetrahydro-β-carboline-3-carboxylic acid; dihydrokaempferol

藏药绿萝花为瑞香科结香属植物滇结香 *Edgeworthia gardneri* (Wall.) Meisn 的干燥花蕾, 在我国藏区常用于糖尿病、高血压、冠心病及脉管炎等疾病的治疗及预防, 有着广泛的民间用药基础。据现代化学及药理研究报道, 绿萝花中的化学成分以香豆素类及黄酮类化合物为特征性成分, 另有少量有机酸、三萜、生物碱及挥发油等, 诸多文献表明绿萝花提取物具有良好的降糖作用^[1-6]。本课题组前期研究表明绿萝花中的多个香豆素类化合物、黄酮类化合物银假苷和有机酸类化合物十五烷酸均可显

著激活抗 2 型糖尿病的胰岛素增敏靶点 PPAR-γ^[7-8]。为了寻找其降糖主要成分, 阐明其药效物质基础, 更好地开发利用民族药资源, 本研究对绿萝花干燥花蕾进行了化学成分的研究, 得到 4 个化合物, 分别鉴定为绿萝花苷 C (gardnerol C, 1)、西瑞香素-5-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖基-(1→2)-吡喃葡萄糖苷 [daphnoretin-5-*O*-β-*D*-glucopyranosyl-(1→2)-β-*D*-glucopyranoside, 2]、(3*S*)-1,2,3,4-四氢-β-咔啉-3-羧酸 [(3*S*)-1,2,3,4-tetrahydro-β-carboline-3-carboxylic acid, 3]、二氢山柰酚 (dihydrokaempferol, 4)。其

收稿日期: 2020-04-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81460650); 江西省卫生计生委中医药科研计划资助项目 (2018A391)

作者简介: 李 敏, 博士, 讲师, 从事天然产物活性成分研究。Tel: (0791)87119065 E-mail: 84492393@qq.com

中化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **4** 为首次从该属植物中分离得到。

1 仪器与材料

AV-600 核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); 旋转蒸发仪 (瑞士步琪公司); 薄层色谱用硅胶 GF₂₅₄ 柱色谱硅胶、200~300 目柱色谱硅胶 (青岛海洋化工有限公司); AB-8 大孔树脂 (日本三菱化学公司); Sephadex LH-20 (瑞士 Pharmacia 公司); 岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪、LC-6AD 半制备色谱仪 (日本岛津公司); 色谱甲醇 (美国 TEDIA 公司); 5C₁₈-MS-II 分析柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm, 日本 YMC 株式会社); 5C₁₈-MS-II 制备柱 (250 mm×20 mm, 5 μm, 日本 YMC 株式会社); 所用试剂均为分析纯 (西陇化工股份有限公司)。

绿萝花药材采自西藏自治区, 经江西中医药大学钟国跃研究员鉴定为瑞香科结香属植物滇结香 *Edgeworthia gardneri* (Wall.) Meisn 的干燥花蕾; 样本 (JUTCM-NPR-201402) 保存于江西中医药大学中药资源与民族药研究中心。

2 方法

2.1 提取与分离

绿萝花 3 kg, 70% 乙醇回流提取 2 次, 每次 2 h, 60 °C 减压浓缩, 得到浸膏 432.0 g, 加水分散至无明显颗粒, 等体积石油醚萃取至上清液透明无色, 萃取液减压浓缩得石油醚萃取部位 54.5 g, 萃取部位采用 AB-8 大孔树脂柱色谱, 经纯水及 30%、60%、90% 乙醇洗脱, 洗脱液减压浓缩, 分别得到水部位 130.0 g、30% 乙醇部位 127.5 g、60% 乙醇部位 107.3 g、90% 乙醇部位 14.4 g。60% 乙醇部位 50 g (留样 57.3 g) 硅胶柱色谱 (200~300 目, 500 g), 以二氯甲烷-甲醇体系 (1:0→0:1) 梯度洗脱, 得到 Fr. 1~6。流分 Fr. 1 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱得化合物 **1** (9.4 mg)、**3** (20.2 mg), 流分 Fr. 2 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱得流分 Fr. 2.1~2.5, 流分 Fr. 2.1 经 pre-HPLC (甲醇-水 40:60, 体积流量 2 mL/min, 波长 320 nm) 洗脱得化合物 **2** (14.7 mg, $t_R=15.5$ min), 流分 Fr. 2.3 经反复 Sephadex LH-20 凝胶柱 (100% 甲醇) 色谱得化合物 **4** (12.8 mg)。

2.2 酸水解

化合物 **1** (2 mg) 溶解于 3.5% 盐酸的 50% 二氧六环溶液 (30 mL) 中, 在 95 °C 下加热 2 h。水解液浓缩干燥后用水 (30 mL) 溶解分散, 加入等体积吡啶萃取, 吡啶萃取液中加 *L*-半胱氨酸甲酯盐酸

盐和六甲基二硅锌/Me₃SiCl (3:1) 于 60 °C 搅拌 30 min, 反应停止后衍生物经正己烷萃取, GC 法分析有机层, 与 *D*-葡萄糖标准品对照, 确定化合物 **1** 中所含糖为 *D*-葡萄糖 ($t_R=20.421$ min)。色谱条件: 毛细管柱 HP-5 (30 m×0.25 mm, 0.25 μm), 气化温度 250 °C; 程序升温条件: 初始温度 160 °C, 升温至 280 °C, 保持 10 min; 检测器 FID; 检测温度 280 °C; 氮气为载气。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末, HR-ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z : 519.153 4 [M+H]⁺ (计算值 519.154 2), 分子式为 C₂₅H₂₆O₁₂。UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 216, 292, 327; IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 1 091, 1 105, 1 571, 1 611, 1 620, 1 685, 3 403, 3 623。

¹H-NMR 谱中, 低场区显示 1 组香豆素 3,4-位质子的特征信号 δ_H 7.69 (1H, d, $J=9.6$ Hz), 6.07 (1H, d, $J=9.6$ Hz); 1 组 ABX 偶合系统芳香质子信号: δ_H 7.33 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-5), 6.73 (1H, dd, $J=8.0, 2.0$ Hz, H-6), 6.69 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8); 二者提示化合物 **1** 结构中可能存在 7-位取代的香豆素结构片段。另 2 组 ABX 偶合系统信号 δ_H 6.67 (d, $J=2.0$ Hz, H-3')、6.40 (1H, dd, $J=8.0, 2.0$ Hz, H-5')、7.04 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-6') 及 δ_H 4.73 (1H, d, $J=3.5$ Hz, H-7')、2.85 (1H, dd, $J=11.5, 3.5$ Hz, H-8'a)、3.12 (1H, d, $J=11.5$ Hz, H-8'b) 提示了 1 个 1',3',4'-取代, 7'-取代的苯丙素结构片段。此外, ¹H-NMR 谱中还给出 1 个 β 构型的葡萄糖质子信号 δ_H 4.79 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-1'') 及 1 个甲氧基质子信号 δ_H 3.66 (3H, s, -OCH₃)。

¹³C-NMR 谱显示 25 个碳信号, 与 HR-ESI-MS 所得分子式结果一致。HMBC 谱中 (图 1), H-5 (δ_H

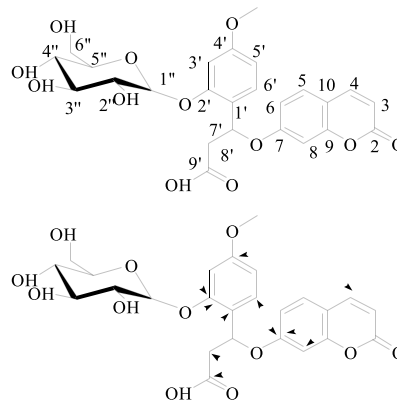


图 1 化合物 **1** 的结构和主要 HMBC 相关

Fig 1 Structure and key HMBC correlations of compound **1**

7.33) 与 C-4 (δ_C 144.4)、C-7 (δ_C 162.2)、C-8 (δ_C 155.5) 相关, 进一步证明 7-取代香豆素片的存在; H-7' (δ_H 4.73) 与 C-1' (δ_C 119.1), H-8' (δ_H 2.85) 与 C-9' (δ_C 175.5) 相关证明了 3-(2-羟基-4-甲氧基苯基)-3-羟基-丙酸片的存在。H-1'' (δ_H 4.79) 与 C-2' (δ_C 156.4) 相关, 表明葡萄糖 C-1'' 位与 C-2' 相连, H-7' (δ_H 4.73) 与 C-7 (δ_C 162.2) 相关, 表明 7-取代香豆素与 C-7' 相连。综上所述, 化合物 **1** 结构鉴定为 3-(4-甲氧基-2-*O*- β -D-吡喃葡萄糖基)-苯基-3-[(2-氧代-7-苯并吡喃) 氧基] 丙酸, 为新化合物, 命名为绿萝花苷 C, 核磁数据见表 1。

化合物 **2**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 715 [$M+Na$]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 8.45 (1H, d, J =

表 1 化合物 **1** 的 ¹H-、¹³C-NMR 波谱数据 (600/150 MHz, CD₃OD)

Table 1 ¹H and ¹³C-NMR data of compound **1** (600/150 MHz, CD₃OD)

碳位	δ_C	δ_H
2	162.2	
3	112.5	6.07 (d, J = 9.6 Hz)
4	144.4	7.69 (d, J = 9.6 Hz)
5	128.6	7.33 (d, J = 8.0 Hz)
6	113.2	6.73 (dd, J = 8.0, 2.0 Hz)
7	162.2	
8	101.8	6.69 (d, J = 2.0 Hz)
9	155.5	
10	112.5	
1'	119.1	
2'	156.4	
3'	102.5	6.65 (d, J = 2.0 Hz)
4'	160.0	
5'	106.7	6.40 (dd, J = 8.0, 2.0 Hz)
6'	131.5	7.04 (d, J = 8.0 Hz)
7'	79.1	4.73 (d, J = 3.5 Hz)
8'	32.2	2.85 (dd, J = 11.5, 3.5 Hz), 3.12 (d, J = 11.5 Hz)
9'	175.5	
OCH ₃	54.2	3.66 (s)
1''	101.2	4.79 (d, J = 8.0 Hz)
2''	73.3	3.48 (m)
3''	76.5	3.33 (m)
4''	69.8	3.30 (m)
5''	76.9	3.36 (m)
6''	61.2	3.58 (m), 3.81 (m)

9.7 Hz, H-4), 7.83 (1H, s, H-4'), 7.21 (1H, s, H-5'), 6.85 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-8), 6.85 (1H, s, H-8'), 6.80 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-6), 6.27 (1H, d, J = 9.7 Hz, H-3), 5.14 (1H, d, J = 7.7 Hz, H-1''), 4.59 (1H, d, J = 7.9 Hz, H-1'''), 3.81 (3H, s, -OCH₃), 3.71~2.95 (6H, m, H-2''~6''), 3.70~2.95 (6H, m, H-2'''~6'''); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 160.2 (C-2), 160.1 (C-2'), 156.9 (C-7), 155.4 (C-9), 154.8 (C-5), 150.3 (C-9'), 147.4 (C-7'), 145.6 (C-6'), 140.0 (C-4), 135.7 (C-3'), 130.6 (C-4'), 112.3 (C-3), 110.3 (C-10'), 109.4 (C-5'), 105.8 (C-10), 104.5 (C-1'''), 102.7 (C-8'), 99.7 (C-6), 98.7 (C-1''), 97.7 (C-8), 81.6 (C-2''), 77.2 (C-5'''), 77.1 (C-5''), 76.4 (C-3''), 76.4 (C-3'''), 74.5 (C-2'''), 69.6 (C-4''), 69.0 (C-4'''), 60.8 (C-6''), 60.2 (C-6'), 56.0 (-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 **2** 为西瑞香素-5-*O*- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **3**: 无色针状结晶 (甲醇), ESI-MS m/z : 215 [$M-H$]⁻。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.89 (1H, s, -NH), 7.44 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-5), 7.33 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-8), 7.08 (1H, m, H-7), 6.99 (1H, m, H-6), 4.19 (2H, dd, J = 15.6, 15.6 Hz, H-1), 3.59 (1H, dd, J = 10.3, 5.4 Hz, H-3), 3.19 (1H, m, H-4), 2.81 (1H, m, H-4); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 169.9 (-COOH), 136.6 (C-8a), 127.5 (C-1a), 126.5 (C-5a), 121.7 (C-7), 119.2 (C-6), 118.2 (C-5), 111.5 (C-8), 107.0 (C-4a), 57.0 (C-3), 40.7 (C-1), 23.0 (C-4)。以上数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **3** 为 (3*S*)-1,2,3,4-四氢- β -吡啶-3-羧酸。

化合物 **4**: 黄色结晶 (甲醇), ESI-MS m/z : 311 [$M+Na$]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.32 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2', 6'), 6.81 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3', 5'), 5.90 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 5.86 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 4.95 (1H, d, J = 11.6 Hz, H-2), 4.52 (1H, d, J = 11.6 Hz, H-3); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 198.0 (C-4), 185.2 (C-2), 168.7 (C-7), 165.2 (C-5), 164.5 (C-9), 159.2 (C-4'), 130.3 (C-2', 6'), 129.2 (C-1'), 116.0 (C-3', 5'), 102.0 (C-10), 97.3 (C-6), 96.5 (C-8), 73.5 (C-3)。以上数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 **4** 为二氢山柰酚。

参考文献

- [1] Ma Y Y, Zhao D G, Zhou A Y, et al. α -Glucosidase

- inhibition and antihyperglycemic activity of phenolics from the flowers of *Edgeworthia gardneri* [J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(37): 8162-8169.
- [2] 南彩云, 朱继孝, 李 敏, 等. 滇结香花的化学成分研究 [J]. 中药材, 2017, 40(7): 1618-1621.
- [3] 南彩云, 卢燕香, 李 敏, 等. 结香属药用植物化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中成药, 2018, 40(1): 166-171.
- [4] 张晓英, 张致英, 王鹏翔, 等. 绿萝花提取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制及降血糖作用 [J]. 中药药理与临床, 2014, 30(3): 107-111.
- [5] 耿 燕, 阳红梅, 许泓瑜, 等. 滇结香花对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性 [J]. 食品与生物技术学报, 2013, 32(9): 967-971.
- [6] 罗小文, 顾 健, 张 斌, 等. 藏药绿萝花不同活性部位降血糖实验研究 [J]. 中药材, 2012, 35(4): 612-614.
- [7] 李 敏, 南彩云, 朱继孝, 等. 绿萝花中抗 2 型糖尿病 PPARs 激动剂的筛选 [J]. 中成药, 2018, 40(10): 2285-2288.
- [8] 南彩云, 朱继孝, 李 敏, 等. 藏药绿萝花相关单体对 3T3-L1 细胞内 PPARs 蛋白表达的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2019, 40(10): 282-288.
- [9] Zhao D G, Zhou A Y, Du Z Y, *et al.* Coumarins with α -glucosidase and α -amylase inhibitory activities from the flower of *Edgeworthia gardneri* [J]. *Fitoterapia*, 2015, 107: 122-127.
- [10] 匡海学, 杨 欣, 辛 萍, 等. 西瓜霜抗菌有效部位的化学成分研究 [J]. 中药材, 2014, 37(4): 621-624.
- [11] 任 杰, 潘善庆, 赵小芳, 等. 野茉莉叶化学成分研究 [J]. 中草药, 2019, 50(1): 30-35.