

小花清风藤中 2 个新的化学成分

周强¹, 杜伟东¹, 李志峰^{1,3*}, 王琦², 李艳¹, 冯育林², 杨世林²

1. 江西中医药大学, 江西 南昌 330006

2. 创新药物与高效节能降耗制药设备国家重点实验室, 江西 南昌 330006

3. 南昌市中药与天然药物活性成分研究重点实验室, 江西 南昌 330006

摘要: 目的 研究小花清风藤 *Sabia parviflora* 的化学成分。方法 利用硅胶柱色谱、中低压液相色谱、凝胶色谱、HP20 树脂以及半制备型高效液相色谱等多种色谱技术进行分离, 运用现代光谱技术鉴定化合物结构。结果 从小花清风藤中分离得到 2 个化合物, 分别为生物碱类化合物 1-[1-羟基-2-(二甲基氨基)乙基]-3,4-菲二醇-4-O-β-D-葡萄糖苷 (1), 酚酸苷类化合物 3,5-二甲氧基-4-羟基苯甲酸-4-O-α-D-芹糖基-(1→2)-O-α-L-鼠李糖苷 (2)。结论 化合物 1、2 均为未见报道的新化合物, 分别命名为清风藤碱苷和清风藤酸苷。

关键词: 清风藤属; 小花清风藤; 生物碱; 酚酸类; 清风藤碱苷; 清风藤酸苷

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2022)07-1939-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.07.002

Two new compounds from *Sabia parviflora*

ZHOU Qiang¹, DU Wei-dong¹, LI Zhi-feng^{1,3}, WANG Qi², LI Yan¹, FENG Yu-lin², YANG Shi-lin²

1. Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330006, China

2. State Key Laboratory of Innovative Drug and Efficient Energy-Saving Pharmaceutical Equipment, Nanchang 330006, China

3. Nanchang Key Laboratory of Active Ingredients of Traditional Chinese Medicine and Natural Medicine, Nanchang 330006, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from *Sabia parviflora*. **Methods** Various column chromatographic techniques were used to separate and purify the chemical constituents which structures were elucidated by spectral analysis. **Results** Two compounds were isolated from *S. parviflora*, compound 1 is an alkaloid and compound 2 was a phenolic acid. And they were identified as 1-[1-hydroxy-2-(dimethylamino)ethyl]-3,4-phenanthrenediol-4-O-β-D-glucoside (1), 3,5-dimethoxy-4-hydroxybenzoic acid-4-O-α-D-apinosyl-(1→2)-O-α-L-rhamnoside (2). **Conclusion** Compounds 1 and 2 are new compounds, named as sabia alkali glycoside and sabia acid glycoside.

Key words: *Sabia* Colebr.; *Sabia parviflora* Wall. ex Roxb.; alkaloid; phenolic acids; sabia alkali glycoside; sabia acid glycoside

小花清风藤为清风藤科 (Sabiaceae) 清风藤属 *Sabia* Colebr. 植物小花清风藤 *S. parviflora* Wall. ex Roxb. 的干燥茎和叶, 主要分布于广西、贵州、云南等地, 是布依族、苗族药物, 俗称“小黄药、雅希强 (布依族语)、黄肿药、黄眼药”等^[1-3]。其味苦, 性微寒, 具有清热利湿、止血之功效。用于湿热黄疸、外伤出血^[4-7]。本课题组前期对小花清风藤醇提

取物经 HP-20 树脂的 70% 乙醇洗脱部位进行化学成分研究, 发现其主要含有酚酸类、木脂素类以及生物碱类化合物^[8-11]。在此基础上, 为进一步研究其化学成分, 本实验继续对小花清风藤醇提取物经 HP-20 树脂的 30% 乙醇洗脱部位进行研究, 采用硅胶柱色谱、凝胶柱色谱、中低压液相色谱以及高效液相色谱技术进行分离, 采用波谱学方法与理化性

收稿日期: 2021-12-17

基金项目: 国家重点研发计划资助项目 (2019YFC1712302); 国家重点研发计划资助项目 (2019YFC1712304); 国家自然科学基金资助项目 (81960701); 江西省主要学科学术与技术带头人培养计划 (20194BCJ22020); 南昌市优势科技创新团队 (洪科学 (2018) 274 号); 南昌市“双百计划”创新人才培养类 (洪科学 (2020) 137 号); 江西中医药大学校级创新创业训练计划项目 (202110412151)

作者简介: 周强 (1996—), 男, 硕士研究生, 从事中药活性成分研究。Tel: 14796858706 E-mail: 14796858706@163.com

*通信作者: 李志峰, 教授, 博士生导师, 从事中药活性物质基础及新药研究。E-mail: wangqilizhifeng@126.com

质相结合分离鉴定出 2 个未见报道的新化合物，分别为生物碱类化合物 1-[1-羟基-2-(二甲基氨基)乙基]-3,4-菲二醇-4- O - β -D-葡萄糖苷 (1-[1-hydroxy-2-(dimethylamino)ethyl]-3,4-phenanthrenediol-4- O - β -D-glucoside, **1**), 酚酸苷类化合物 3,5-二甲氧基-4-羟基苯甲酸-4- O - α -D-芹糖基-(1 \rightarrow 2)- O - α -L-鼠李糖苷 [3,5-dimethoxy-4-hydroxybenzoic acid-4- O - α -D-apinosyl-(1 \rightarrow 2)- O - α -L-rhamnoside, **2**], 分别命名为清风藤碱苷和清风藤酸苷。

1 仪器与材料

Bruker avance 600 型核磁共振仪 (德国布鲁克公司); Triple TOF 5600 高分辨质谱仪 (美国 ABSciex 公司); EYALA 旋转蒸发器 (日本 Eyala 公司); DHG-9036A 型电热恒温鼓风干燥箱 (上海精宏实验设备有限公司); EL204 电子天平 [梅特勒托利多仪器 (上海) 有限公司]; LC-XR20UPLC/HPLC (日本岛津公司); Agilent 1100 Series 制备液相色谱 (美国 Agilent 公司); Waters 2487 制备液相色谱 (美国 Waters 公司); DAION HP20 树脂 (日本三菱公司); 半制备液相和制备液相所用试剂为色谱纯, 其他均为分析纯。

小花清风藤药材于 2014 年 6 月采自贵州省安顺市紫云县猫营镇, 由江西中医药大学钟国跃教授鉴定为清风藤属植物小花清风藤 *S. parviflora* Wall. ex Roxb. 的干燥茎和叶, 标本 (WSZ201412) 保存在江西中医药大学。

2 提取与分离

取 17 kg 小花清风藤药材, 10 倍量 70% 乙醇回流提取 3 次, 时间分别为 3.0、1.5、1.5 h, 合并提取液, 滤过, 减压浓缩至无醇味。用 95% 乙醇将浓缩液中乙醇体积分数稀释至约 20%, 之后经 HP-20 大孔树脂分离, 采用 30%、50%、70%、95% 乙醇洗脱得 30% 乙醇洗脱部位 258 g、50% 乙醇洗脱部位 94 g、70% 乙醇洗脱部位 38 g 和 95% 乙醇洗脱部位 79 g。取小花清风藤 30% 乙醇洗脱部分 (258 g), 向其中分次少量加入 60 mL 甲醇充分溶解, 滤过后, 利用中压反相 ODS 硅胶柱分离。甲醇-水 (20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%) 洗脱得到 7 个流分 A~G。A 经制备型高效液相分离纯化, 以甲醇-水 (12:88) 等度洗脱, 得到化合物 **1** (10 mL/min, t_R =36 min, 2.0 mg)。F 经中低压 ODS 柱色谱, 甲醇-水 (20%、40%、60%、80%、100%) 分别洗脱, 40% 甲醇洗脱液, 以甲

醇-水 (36:64) 等度洗脱, 得到化合物 **2** (20 mL/min, t_R =30 min, 4.1 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末, 易溶于水不易溶于甲醇, 通过 Q-TOF-MS 得到分子离子峰为 m/z 459.189 3 ($[M-H]^-$, 计算值 458.184 9), 推断分子式为 $C_{24}H_{29}NO_8$ 。从氢谱中 (表 1) 可以观察到 7 个芳香环上的质子信号, 其中 1 个五取代的芳香质子信号 δ_H 7.47 (1H, s, H-2), 4 个邻二取代芳香质子信号 δ_H 9.85 (1H, d, J =8.6 Hz, H-5), 7.52 (1H, dt, J =8.4, 1.8 Hz, H-6), 7.56 (1H, dt, J =7.8, 1.2 Hz, H-7), 7.86 (1H, dd, J =7.8, 1.2 Hz, H-8), 四取代的 2 个邻位芳香质子信号 δ_H 7.65 (1H, d, J =9.3 Hz, H-9), 7.88 (1H, d, J =9.2 Hz, H-10), 其中质子信号 (δ_H 9.85) 是菲环上 5 位碳上的质子移向低场区的特征峰。再结合碳谱中 14 个芳香环上的碳原子, 推测结构中含有菲环且 3, 4 位具有邻二氧取代。 δ_H 4.92 (1H, d, J =7.9 Hz) 为葡萄糖端基上质子信号, 再由偶合常数 7.9 Hz 推断葡萄糖为 β 构型, 同样碳谱中亦可见葡萄糖上的 6 个碳信号 δ_C 105.9, 74.8, 76.6, 70.1, 77.7, 61.3,

表 1 化合物 **1** 的核磁共振波谱数据 (600/150 MHz, DMSO- d_6)
Table 1 NMR data of compound **1** (600/150 MHz, DMSO- d_6)

碳位	δ_H	δ_C
1		138.6
2	7.47 (s)	116.4
3		148.5
4		140.7
4a		125.4
5	9.85 (d, J =8.6 Hz)	130.0
5a		129.5
6	7.52 (dt, J =8.4, 1.8 Hz)	127.9
7	7.56 (dt, J =7.8, 1.2 Hz)	126.8
8	7.86 (dd, J =7.8, 1.2 Hz)	125.6
8a		132.6
9	7.65 (d, J =9.3 Hz)	123.5
10	7.88 (d, J =9.2 Hz)	122.0
10a		124.9
11	5.45 (m)	67.6
12	2.39 (m)	67.5
1'	4.92 (d, J =7.9 Hz)	105.9
2'	3.61 (m)	74.8
3'	3.26 (m)	76.6
4'	3.19 (m)	70.1
5'	3.04 (m)	77.7
6'	3.27 (m), 3.37 (m)	61.3
N-CH ₃	2.31 (s)	46.1

其中 δ_C 105.9 为端基碳信号。 δ_H 2.31 (6H, s) 为氮上取代的 2 个甲基质子信号, 相对应的碳信号 δ_C 46.1, 结合分子式, 通过 HSQC 谱发现剩余 1 个次甲基信号 δ_C 67.6, δ_H 5.45 (1H, m, H-11), 1 个亚甲基碳信号 δ_C 67.5, δ_H 2.39 (2H, m, H-12), HMBC 谱中 δ_H 2.31 (6H, s) 与 C-12 (δ_C 67.5), δ_H 7.47 (1H, s) 与 C-11 (δ_C 67.6) 存在远程相关, 再结合化学位移数据 67.5 可能为连氧碳信号, 以及质谱推测可能含有氮元素, 参考文献中 Fenfangjine F^[12]数据推测可能含有结构片段-CH(OH)-CH₂-N-(CH₃)₂。另外, HMBC 谱(图 1)中观察到 δ_H 4.92 (1H, d, J = 7.9 Hz, H-1') 与 C-4 (δ_C 140.7) 的相关峰, 确定了糖苷键的连接位点在 C-4 位。以上数据再通过与文献中 Fenfangjine F 数据对比, 发现连糖的 α 位以及邻位碳信号有所差异, 进一步验证上述鉴定结果。最终将化合物 1 鉴定为 1-[1-羟基-2-(二甲基氨基)乙基]-3,4-菲二醇-4- O - β -D-葡萄糖苷。

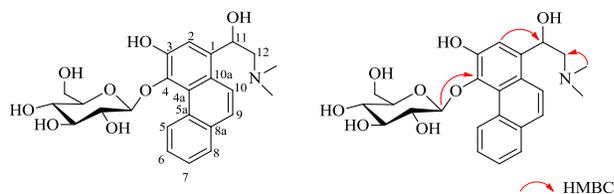


图 1 化合物 1 结构及主要的 HMBC (H→C) 相关
Fig. 1 Structure and key HMBC (H→C) correlations of compound 1

化合物 2: 黄色结晶(甲醇), 易溶于甲醇, 通过 Q-TOF-MS 得到分子离子峰为 m/z 476.153 0 ([M-H]⁻, 计算值 475.035 1), 推断分子式为 C₂₀H₂₈O₁₃。 ¹H-NMR 中 δ_H 7.26 (2H, s) 提示结构中可能含有 1,3,4,5-对称四取代的芳环, δ_H 3.74 (6H, s) 为苯环上的 2 个甲氧基信号, δ_H 5.19 (1H, d, J = 1.6 Hz) 为鼠李糖端基氢质子信号, δ_H 5.09 (1H, d, J = 2.4 Hz) 为芹糖端基氢质子信号, δ_H 1.09 (3H, s) 为鼠李糖上甲基质子信号。其 ¹³C-NMR (表 2) 显示结构包含 20 个碳信号, 其中有 11 个糖上的碳原子信号 δ_C 101.6, 70.2, 18.2, 72.4, 70.7, 77.2, 110.8, 74.0, 79.5, 64.1, 76.3, 2 个甲氧基 δ_C 56.3, 1 个羧基 δ_C 174.7, 其余为苯环上碳信号 δ_C 130.1, 106.8, 152.5, 136.6, 其中 δ_C 106.8, 152.5 分别为 2 个碳重叠, 亦进一步证实具有 1,3,4,5-对称四取代的芳环, 再经与文献数据^[13-14]对照可鉴定苷元部分为 3,5-二甲氧基-4-羟基苯甲酸。剩余 11 个糖碳信号依据化学位移以及苷化位移的影响, 推测可能为鼠李糖与芹糖,

表 2 化合物 2 的核磁共振波谱数据 (600/150 MHz, DMSO-*d*₆)
Table 2 NMR data of compound 2 (600/150 MHz, DMSO-*d*₆)

碳位	δ_H	δ_C
1		130.1
2, 6	7.26 (s)	106.8
3, 5		152.5
4		136.6
-COOH		174.7
1'	5.19 (d, J = 1.6 Hz)	101.6
2'	3.96 (q, J = 1.7 Hz)	77.2
3'	3.71 (dd, J = 3.3, 9.5 Hz)	70.7
4'	3.21 (t, J = 9.5 Hz)	72.4
5'	4.03 (dd, J = 6.2, 9.5 Hz)	70.2
6'	1.09 (d, J = 6.2 Hz)	18.2
1''	5.09 (d, J = 2.4 Hz)	110.8
2''	3.73 (m)	76.3
3''		79.5
4''	3.62 (d, J = 9.2 Hz), 3.82 (d, J = 9.3 Hz)	74.0
5''	3.31 (d, J = 11.2 Hz), 3.38 (d, J = 11.2 Hz)	64.1
-OCH ₃	3.74 (s)	56.3

连接方式为鼠李糖端基与苷元部分 4-羟基成苷, 而芹糖通过端基与鼠李糖 2 位相连接, 再依据文献报道^[13-14]中鼠李糖和芹糖数据, 结合 HMBC 谱(图 2)中相关峰 (δ_H 5.19/ δ_C 136.6) 得知鼠李糖连于苷元的 C-4 位, 根据相关峰 (δ_H 5.09/ δ_C 77.2) 确定芹糖连于鼠李糖的 C-2' 位, 进一步验证推测。由 δ_H 5.09 (1H, d, J = 2.4 Hz) 和 δ_C 110.8, 76.3, 79.5, 74.0, 64.1 依据文献中芹糖^[15]数据, 得知芹糖为 α -D-芹糖。再由 δ_H 5.19 (1H, d, J = 1.6 Hz), 依据文献中鼠李糖^[16]数据, 得知鼠李糖为 α -L-鼠李糖。最终将化合物 2 鉴定为 3,5-二甲氧基-4-羟基苯甲酸-4- O - α -D-芹糖基-(1→2)- O - α -L-鼠李糖苷。

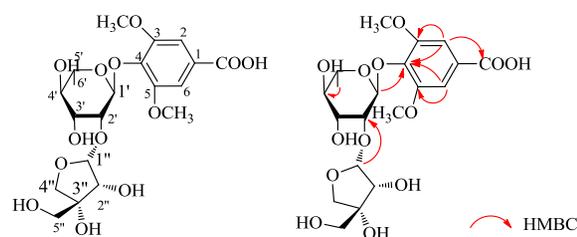


图 2 化合物 2 结构及主要的 HMBC (H→C) 相关
Fig. 2 Structure and key HMBC (H→C) correlations of compound 2

4 讨论

本实验利用各种色谱分离技术,从小花清风藤中分离得到2个新化合物,并结合质谱、核磁共振波谱等分析手段对其化学结构进行阐明。该实验进一步丰富了小花清风藤的化学成分,对该植物化学成分的深入挖掘及其专属性成分的发​​现具有重要指导意义。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 唐继方, 邓朝义, 卢永成. 黔西南州小花清风藤资源分布及利用状况调查 [J]. 贵州林业科技, 2002(3): 8-10.
- [2] 李朝斗. 贵州产清风藤科入药植物 [J]. 中药通报, 1987(8): 5-6.
- [3] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第47卷1分册) [M]. 北京: 科学出版社, 1985: 93.
- [4] 曲新艳, 张会敏, 张晓娟, 等. 小花清风藤水提物体内抗流感病毒的研究 [J]. 生物技术通讯, 2015, 26(6): 802-804.
- [5] 杨莹, 张永萍, 梁光义. 小花清风藤胶囊的保肝作用研究及其急毒实验 [J]. 中国现代应用药学, 2013, 30(11): 1166-1170.
- [6] 刘易蓉, 邱晓春, 陈惠. 小花清风藤保肝作用实验研究 [J]. 中国药房, 2008, 19(30): 2341-2342.
- [7] 陈艳, 黄滔, 苑春茂, 等. 小花清风藤化学成分的研究 [J]. 中草药, 2015, 46(21): 3146-3150.
- [8] 赵兰君, 王玉伟, 李志峰, 等. 小花清风藤化学成分分离与鉴定 [J]. 中草药, 2018, 49(3): 544-548.
- [9] 樊东辉, 李志峰, 赵兰君, 等. 小花清风藤茎叶的化学成分研究 [J]. 中药材, 2018, 41(6): 1372-1375.
- [10] Fan D H, Wang Q, Wang Y W, *et al.* New compounds inhibiting lipid accumulation from the stems of *Sabia parviflora* [J]. *Fitoterapia*, 2018, 128: 218-223.
- [11] 杜伟东, 吴蓓, 李志峰, 等. 小花清风藤化学成分分离与鉴定(II) [J]. 中草药, 2019, 50(18): 4277-4280.
- [12] Wang R Z, Zhou J, Shi G R, *et al.* Aporphine and phenanthrene alkaloids with antioxidant activity from the roots of *Stephania tetrandra* [J]. *Fitoterapia*, 2020, 143: 104551.
- [13] Wang Y L, Li Y J, Wang A M, *et al.* Two new phenolic glycosides from *Inula cappa* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2010, 12(9): 765-769.
- [14] Uchikura T, Sugiwaki H, Yoshimura M, *et al.* Characterization of UV-sensitive marker constituents of *Polygala* root for TLC: Applications in quality control of single crude drug extract preparations [J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2018, 66(12): 1174-1180.
- [15] Park J H, Jung Y J, Jung J W, *et al.* A new flavonoid glycoside from the root bark of *Morus alba* L. [J]. *Nat Prod Res*, 2014, 28(21): 1859-1863.
- [16] 冉新辉, 倪伟, 魏刚, 等. 多穗金粟兰中一个新的酚昔 [J]. 云南植物研究, 2010, 32(1): 83-86.

[责任编辑 王文倩]