

杜仲叶黄酮类化学成分

唐芳瑞¹,张忠立¹,左月明¹,陈兰英¹,罗军²,刘荣华^{1*},李于益¹

(1. 江西中医药大学,南昌 330006; 2. 南昌大学第二附属医院康复医学科,南昌 330006)

[摘要] 目的:研究杜仲叶中的黄酮类化学成分。方法:采用各种柱色谱方法分离纯化,通过理化常数测定和光谱分析鉴定黄酮类化合物的结构。结果:从杜仲叶中分离并鉴定了 8 个黄酮类化合物,分别为槲皮素(1)、芦丁(2)、金丝桃苷(3)、槲皮苷(4)、异槲皮苷(5)、quercetin-3-O-sambubioside (6)、kaempferol-3-O-sambubioside (7)、quercetin-3-O-α-L-arabinopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside(8)。结论:化合物 4 和 7 为首次从杜仲叶中分离得到。

[关键词] 杜仲叶; 黄酮类; 化学成分; 结构鉴定
[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)05-0090-03
[doi] 10.11653/syjf2014050090
[网络出版地址] http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20131218.1411.010.html
[网络出版时间] 2013-12-18 14:11

Chemical Components of Flavonoids of Eucommiae Folium

TANG Fang-rui¹, ZHANG Zhong-li¹, ZUO Yue-ming¹, CHEN Lan-ying¹,
LUO Jun², LIU Rong-hua^{1*}, LI Yu-yi¹

(1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China;
2. Dept of Rehabilitative Medicine, the Second Affiliated Hospital of
Nanchang University, Nanchang 330006, China)

[Abstract] Objective: To investigate the chemical components of flavonoids of Eucommiae Folium. Method: Various column chromatography were used in the isolation and purification, physiochemical constant determination and spectral analysis were adopted to determine the chemical structures of flavonoids. Result: Eight flavonoids were isolated from Eucommiae Folium, quercetin (1), rutin (2), hyperin (3), quercetin-3-O-α-L-rhamnopyloside (4), quercetin-3-O-β-D-glucopyranoside (5), quercetin-3-O-sambubioside (6), kaempferol-3-O-sambubioside (7), quercetin-3-O-α-L-arabinopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside (8). Conclusion: 4 and 7 compounds were first isolated from this plant.

[Key words] Eucommiae Folium; flavonoids; chemical constituents; structure identification

杜仲叶为杜仲科植物杜仲的干燥叶,其味甘、微辛,性温,归肝、肾经,具补肝肾、强筋骨、降血压、安

胎等诸多功效^[1]。杜仲是国家二级珍稀树种,杜仲皮一般需生长 15~20 年。从资源的角度来讲,杜仲药材的大量使用必然会导致资源的破坏。而杜仲叶的资源丰富、易得,所以近年来国内外学者对杜仲叶的研究工作不断深入。有研究报道对杜仲叶和杜仲皮中的化学成分的比较发现,许多成分在含量上存在差异,并且在不同萃取溶剂中所含的化学成分也不尽相同,两者差别最大的主要在极性较大的成分上,这一部分物质杜仲叶中含有一些杜仲皮中未曾发现的成分^[2-4]。通过本课题组系统的研究杜仲皮与杜仲叶的化学成分,探寻杜仲皮及其叶的特征性

[收稿日期] 20130607(005)
[基金项目] 国家自然科学基金项目(81160508);“道地药材及特色中药资源杜仲研究”校级专项课题(ZX1020)
[第一作者] 唐芳瑞,在读硕士,从事中药活性物质基础与质量控制研究, Tel: 13667083240, E-mail: tangfangrui@163.com
[通讯作者] *刘荣华,博士,教授,硕士生导师,从事药效物质基础、分子机制和质量评价等研究, E-mail: rhliu@163.com

成分和差异性成分,为寻找在临床研究领域杜仲叶可以部分替代杜仲皮的应用提供理论依据。笔者对杜仲叶进行了全面系统的研究,共分离得到10个黄酮类化合物,经理化常数测定、NMR和MS等方法解析鉴定8个化合物,分别为槲皮素(**1**)、芦丁(**2**)、金丝桃苷(**3**)、槲皮苷(**4**)、异槲皮苷(**5**)、quercetin-3-*O*-sambubioside(**6**)、kaempferol-3-*O*-sambubioside(**7**)、quercetin-3-*O*- α -*L*-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -*D*-glucopyranoside(**8**),其中化合物**4**和**7**为首次从杜仲叶中分离得到。

1 材料

Micromass ZabSpec 型高分辨磁质谱仪(美国 Waters 公司),INOVA-500 和 Bruker-400 型超导核磁共振光谱仪(瑞士 Bruker 公司),Waters 2695 Alliance Separations Module 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),Lichrospher C₁₈ 柱(10 mm $\times$ 250 mm, 10 μ m)色谱柱,LC3000 型制备高效液相色谱仪(北京创新通恒科技有限公司)。

薄层层析和柱层析硅胶 200 目(青岛海洋化工厂),Sephadex LH-20(美国 GE 公司),提取分离用试剂均为分析纯,制备 HPLC 用甲醇为色谱纯(美国 TEDIA 天地试剂公司),水为重蒸水。

杜仲叶药材采自江西省吉安市峡江县普正集团杜仲种植基地,由江西中医药大学药学科左月明副教授鉴定为杜仲科植物杜仲 *Eucommia ulmoides* Oliv. 的干燥叶。

2 提取分离

杜仲叶 40 kg,粉碎,用 8 倍量 70% 乙醇回流提取 2 次,每次 2 h,减压浓缩提取液得浸膏 4.2 kg。取浸膏 3.5 kg 用水混悬,依次用石油醚、三氯甲烷、醋酸乙酯和正丁醇分别萃取得到石油醚部位浸膏 118 g、三氯甲烷部位浸膏 495 g、醋酸乙酯部位浸膏 332 g 和正丁醇部位浸膏 1 469 g。将醋酸乙酯部位浸膏,经硅胶柱色谱分离,以三氯甲烷-甲醇(100:1~0:1)梯度洗脱,相同部分合并,得 42 个流份(Fr. 1~Fr. 42),Fr. 12~Fr. 30 进行反复硅胶柱色谱,聚酰胺柱色谱及制备高效液相柱色谱分离纯化,得到化合物**1**(8 mg),**3**(6 mg),**4**(5 mg),**5**(9 mg)。另将正丁醇部位浸膏进行硅胶柱色谱,以三氯甲烷-甲醇(100:1~0:1)梯度洗脱,相同部分合并,得 55 个流份(Fr. 1~Fr. 55),Fr. 20~Fr. 40 经制备高效液相柱色谱分离纯化,甲醇-水洗脱,得化合物**2**(11 mg),**6**(12 mg),**7**(10 mg),**8**(15 mg)。

3 结构鉴定

化合物**1** 黄绿色粉末(甲醇),mp 313~314 $^{\circ}\text{C}$,EI-MS m/z :302 [$\text{M}]^{+}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 12.51(1H, 5-OH), 10.79(1H, s, 7-OH), 9.60(1H, brs, 3'-OH), 9.37(1H, s, 4'-OH), 7.69(1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 7.55(1H, dd, J = 2.0, 8.4 Hz, H-6'), 6.90(1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 6.42(1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 6.20(1H, d, J = 2.0 Hz, H-6)。以上数据与文献[5]报道的基本一致,故鉴定为槲皮素(quercetin)。

化合物**2** 黄色粉末(甲醇),ESI-MS m/z :611 [$\text{M} + \text{H}]^{+}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 12.61(1H, s, 5-OH), 10.84(1H, s, 7-OH), 9.68(1H, brs, 3'-OH), 9.18(1H, s, 4'-OH), 7.55(1H, dd, J = 2.0, 8.4 Hz, H-6'), 7.54(1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.85(1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 6.39(1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 6.20(1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 5.35(1H, d, J = 7.2 Hz, Glu-H-1''), 4.39(1H, s, Rha-H-1'''), 1.00(3H, d, J = 6.4 Hz, Rha-CH₃-6''')。以上数据与文献[5]报道的基本一致,故鉴定为芦丁(rutin)。

化合物**3** 淡黄色粉末(甲醇),mp 269~270 $^{\circ}\text{C}$,ESI-MS m/z : 487 [$\text{M} + \text{Na}]^{+}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 12.63(1H, s, 5-OH), 10.85(1H, s, 7-OH), 9.72(1H, brs, 3'-OH), 9.14(1H, s, 4'-OH), 7.66(1H, dd, J = 2.0, 8.4 Hz, H-6'), 7.52(1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.81(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), 5.37(1H, d, J = 7.6 Hz, Gal-H-1'')。 $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 156.2(C-2), 133.4(C-3), 177.4(C-4), 161.2(C-5), 98.6(C-6), 164.1(C-7), 93.4(C-8), 156.1(C-9), 103.9(C-10), 121.0(C-1'), 115.1(C-2'), 144.8(C-3'), 148.4(C-4'), 115.9(C-5'), 122.0(C-6'), 101.7(C-1''), 75.8(C-2''), 73.1(C-3''), 71.1(C-4''), 67.9(C-5''), 60.1(C-6'')。以上数据与文献[6-7]报道一致,故鉴定化合物**3**为金丝桃苷(hyperin)。

化合物**4** 淡黄色粉末(甲醇),mp 265~269 $^{\circ}\text{C}$,ESI-MS m/z : 471 [$\text{M} + \text{Na}]^{+}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 12.66(1H, s, 5-OH), 10.88(1H, s, 7-OH), 9.72(1H, brs, 4'-OH), 9.35(1H, s, 3'-OH), 7.30(1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 7.26(1H, dd, J = 2.0, 8.4 Hz, H-6'), 6.87(1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 6.40(1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 6.21(1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 5.25(1H, s, H-1''), 0.81(3H, d,

$J = 6.4\text{ Hz}$, Rha-CH₃)。 ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ : 157.3 (C-2), 134.1 (C-3), 177.7 (C-4), 161.2 (C-5), 98.6 (C-6), 164.2 (C-7), 93.6 (C-8), 156.3 (C-9), 104.0 (C-10), 120.7 (C-1'), 115.4 (C-2'), 145.2 (C-3'), 148.4 (C-4'), 115.6 (C-5'), 121.1 (C-6'), 101.8 (C-1''), 70.3 (C-2''), 70.5 (C-3''), 71.1 (C-4''), 70.0 (C-5''), 17.5 (C-6'')。以上数据与文献[8-9]报道一致,故鉴定化合物 **4** 为槲皮苷(querctin-3-*O*- α -*L*-rhamnopyloside)。

化合物 **5** 淡黄色粉末(丙酮), ESI-MS m/z : 465 [M + H]⁺。 ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 12.64 (1H, s, 5-OH), 10.76 (1H, s, 7-OH), 9.26 (2H, brs, 3', 4'-OH), 7.59 (1H, dd, $J = 2.0, 8.4\text{ Hz}$, H-6'), 7.57 (1H, d, $J = 2.0\text{ Hz}$, H-2'), 6.84 (1H, d, $J = 8.4\text{ Hz}$, H-5'), 6.40 (1H, d, $J = 2.0\text{ Hz}$, H-8), 6.19 (1H, d, $J = 2.0\text{ Hz}$, H-6), 5.46 (1H, d, $J = 7.6\text{ Hz}$, Glu-H-1'')。以上数据与文献[10]报道一致,故鉴定化合物 **5** 为异槲皮苷(querctin-3-*O*- β -*D*-glucopyranoside)。

化合物 **6** 黄色粉末(甲醇)。 ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 12.65 (1H, s, 5-OH), 10.63 (1H, s, 7-OH), 9.38 (2H, brs, 3', 4'-OH), 7.59 (1H, dd, $J = 2.0, 8.4\text{ Hz}$, H-6'), 7.57 (1H, d, $J = 2.0\text{ Hz}$, H-2'), 6.85 (1H, d, $J = 8.4\text{ Hz}$, H-5'), 6.41 (1H, d, $J = 2.0\text{ Hz}$, H-8), 6.21 (1H, d, $J = 2.0\text{ Hz}$, H-6), 5.47 (1H, d, $J = 7.6\text{ Hz}$, Glu-H-1''), 4.27 (1H, s, Xyl-H-1''')。以上数据与文献[11-12]报道的基本一致,故鉴定为 querctin-3-*O*-sambubioside。

化合物 **7** 黄色粉末(甲醇)。 ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 12.62 (1H, s, 5-OH), 10.37 (1H, s, 7-OH), 9.40 (1H, brs, 4'-OH), 8.04 (2H, d, $J = 8.8\text{ Hz}$, H-2', 6'), 6.88 (2H, d, $J = 8.8\text{ Hz}$, H-3', 5'), 6.43 (1H, d, $J = 2.0\text{ Hz}$, H-8), 6.21 (1H, d, $J = 2.0\text{ Hz}$, H-6), 5.46 (1H, d, $J = 7.2\text{ Hz}$, Glu-H-1''), 4.27 (1H, s, Xyl-H-1''')。以上数据与文献[12]报道的基本一致,故鉴定为 kaempherol-3-*O*-sambubioside。

化合物 **8** 黄色粉末(甲醇)。 ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 12.64 (1H, s, 5-OH), 9.40 (2H, brs, 3', 4'-OH), 7.59 (1H, dd, $J = 2.0, 8.4\text{ Hz}$, H-6'),

7.56 (1H, d, $J = 2.0\text{ Hz}$, H-2'), 6.84 (1H, d, $J = 8.4\text{ Hz}$, H-5'), 6.40 (1H, d, $J = 2.0\text{ Hz}$, H-8), 6.20 (1H, d, $J = 2.0\text{ Hz}$, H-6), 5.46 (1H, d, $J = 7.6\text{ Hz}$, Glu-H-1''), 4.54 (1H, d, $J = 8.0\text{ Hz}$, Ara-H-1''')。以上数据与文献[13]报道的基本一致,故鉴定为 querctin-3-*O*- α -*L*-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -*D*-glucopyranoside。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:154.
- [2] 赖娟华, 徐丽瑛, 饶华, 等. 杜仲叶化学成分和药理作用研究概况[J]. 实用中西医结合临床, 2004, 4(2):67.
- [3] 晏媛, 郭丹. 杜仲叶的化学成分及药理活性研究进展[J]. 中成药, 2003, 25(6):491.
- [4] 姚丽娜. 杜仲的化学成分研究[D]. 天津:天津大学, 2010:1.
- [5] 张忠立, 左月明, 杨雅琴, 等. 梔子中的黄酮类化学成分研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(4):79.
- [6] 唐文照, 苏东敏, 庾石山, 等. 中药八角果实中的黄酮类成分研究[J]. 中草药, 2008, 39(10):1452.
- [7] 张园园, 陈晓辉, 金哲史, 等. 普通鹿蹄草的化学成分研究Ⅱ[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(1):96.
- [8] 于明, 李占林, 李宁, 等. 头花蓼的化学成分[J]. 沈阳药科大学学报, 2008, 25(8):633.
- [9] 汪念, 朱斌, 绳慧峰, 等. 尼泊尔酸模的化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(19):132.
- [10] 吕芳, 徐筱杰. 粗糙黄堇化学成分的研究[J]. 中草药, 2007, 38(7):990.
- [11] 邓梦茹. 杜仲叶化学成分分离及指纹图谱研究[D]. 长沙:中南大学, 2012:13.
- [12] Chika Takamura, Tetsuya Hirata, Yasuyo Yamaguchi, et al. Studies on the chemical constituents of green leaves of *Eucommia ulmoides* Oliv. [J]. J Nat Med, 2007, 61(2):220.
- [13] 孙兰萍, 马龙, 张斌, 等. 杜仲黄酮类化合物的研究进展[J]. 食品工业科技, 2009, 30(3):359.

[责任编辑 邹晓翠]