

## 杜仲叶化学成分 II

张忠立<sup>1</sup>, 左月明<sup>1</sup>, 李于益<sup>1</sup>, 陈兰英<sup>1</sup>, 罗军<sup>2</sup>, 刘荣华<sup>1\*</sup>

(1. 江西中医药大学, 南昌 330004; 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化合物的结构。结果: 从杜仲叶中分离并鉴定了 10 个化合物, 分别为牛蒡子苷(1), 表松脂素(2), 二羟基脱氢二松柏醇(3), 3, 4-二羟基-苯甲酸(4), *D*-核糖-1, 4-内酯(5), *L*-核糖-1, 4-内酯(6), 尿苷(7),  $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -*D*-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -*D*-呋喃果糖苷(8), 杜仲醇(9), 1-脱氧杜仲醇(10)。结论: 化合物 1, 4~8 为首次从杜仲叶中分离得到。

**[关键词]** 杜仲叶; 化学成分; 杜仲醇

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)20-0118-03

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014200118

## Chemical Constituents of Eucommiae Folium II

ZHANG Zhong-li<sup>1</sup>, ZUO Yue-ming<sup>1</sup>, LI Yu-yi<sup>1</sup>, CHEN Lan-ying<sup>1</sup>, LUO Jun<sup>2</sup>, LIU Rong-hua<sup>1\*</sup>

(1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;

2. Dept of Rehabilitative Medicine, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the chemical constituents of Eucommiae Folium. **Method:** The compounds were isolated and purified by various column chromatography techniques, the chemical structures were elucidated by physicochemical properties and spectral analysis. **Result:** Ten compounds were isolated and identified as arctiin (1), epipinosin (2), dihydroxydehydrodiconiferyl (3), 3, 4-dihydroxy-benzoic acid (4), *D*-ribose-1, 4-lactone (5), *L*-ribose-1, 4-lactone (6), uridine (7),  $\beta$ -*D*-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -*D*-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -*D*-fructofuranoside (8), eucommiol (9), 1-deoxyeucommiol (10). **Conclusion:** Compounds 1, 4-8 were isolated from this plant for the first time.

**[Key words]** Eucommiae Folium; chemical constituents; eucommiol

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<sup>[1]</sup>。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比较发现, 许多成分不仅在含量上存在差异, 在极性较大的成分上杜仲叶中含有一些

杜仲皮中未曾发现的成分<sup>[2-4]</sup>。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 60 多个化合物, 经理化常数测定、NMR 和 MS 等方法解析鉴定其中 10 个化合物, 分别为牛蒡子苷(1), 表松脂素(2), 二羟基脱氢二松柏醇(3), 3, 4-二羟基-苯甲酸(4), *D*-核糖-1, 4-内酯(5), *L*-核

**[收稿日期]** 20140402(008)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81160508);“江西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]** 张忠立, 硕士, 讲师, 从事天然药物的化学成分及其作用机制研究, Tel: 0791-87118993, E-mail: zzl51518@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: rhlh@163.com

糖-1,4-内酯(6),尿苷(7), $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-呋喃果糖苷(8),杜仲醇(9),1-脱氧杜仲醇(10),其中化合物1,4~8为首次从杜仲叶中分离得到。

### 1 材料

Micromass ZabSpec 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),2695 Alliance Separations Module 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),Lichrospher C<sub>18</sub>柱(10 mm $\times$ 250 mm,10  $\mu$ 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)。

薄层色谱和柱色谱硅胶 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. 10~Fr. 40 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 2(2 mg),3(2 mg),5(5 mg),6(5 mg),9(3 mg),10(4 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. 15~Fr. 45 经制备高效液相柱色谱分离纯化,甲醇-水洗脱,得化合物 1(2 mg),4(2 mg),7(3 mg),8(3 mg)。

### 3 结构鉴定

化合物 1 白色粉末(甲醇)。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>,400 MHz) $\delta$ :6.98(1H,d, $J$ =8.4 Hz,H-5'),6.83(1H,d, $J$ =8.4 Hz,H-5),6.78(1H,d, $J$ =2.0 Hz,H-2'),6.67(1H,dd, $J$ =2.0,8.4 Hz,H-6'),6.66(1H,d, $J$ =2.0 Hz,H-2),6.60(1H,dd, $J$ =2.0,8.4 Hz,

H-6),4.84(1H,d, $J$ =7.4 Hz,Glu-H-1''),4.09(1H,dd, $J$ =7.6,8.4 Hz,H-9'a),3.88(1H,m,H-9'b),3.71(3H,s,4'-OCH<sub>3</sub>),3.70(6H,s,3,3'-2 $\times$ OCH<sub>3</sub>),2.81(1H,dd, $J$ =4.4,13.2 Hz,H-7a),2.74(1H,dd, $J$ =4.4,13.2 Hz,H-7b),2.54(1H,m,H-7'a),2.51(1H,m,H-8),2.47(1H,m,H-7'b),2.42(1H,m,H-8');<sup>13</sup>C-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>,100 MHz) $\delta$ :178.4(C-9),148.6(C-3,3'),147.3(C-4'),145.2(C-4),131.7(C-1'),131.1(C-1),121.3(C-6),120.4(C-6'),114.8(C-5'),113.7(C-2'),112.3(C-2),111.8(C-5),100.1(Glu-C-1''),77.0(C-3''),76.8(C-5''),73.2(C-2''),70.6(C-9'),69.6(C-4''),60.6(C-6''),55.6(4'-OCH<sub>3</sub>),55.4(3'-OCH<sub>3</sub>),55.3(3-OCH<sub>3</sub>),45.5(C-8),40.7(C-8'),36.8(C-7'),33.5(C-7)。以上数据与文献[5]报道的基本一致,故鉴定为牛蒡子苷(arctiin)。

化合物 2 白色粉末(甲醇)。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>,400 MHz) $\delta$ :6.82(2H,d, $J$ =1.6 Hz,H-2,2'),6.71(2H,d, $J$ =8.0 Hz,H-5,5'),6.66(2H,dd, $J$ =1.6,8.0 Hz,H-6,6'),4.71(2H,d, $J$ =9.2 Hz,H-7,7'),4.46(4H,d, $J$ =6.4 Hz,H-9,9'),3.74(6H,s,3,3'-2 $\times$ OCH<sub>3</sub>),3.08(2H,m,H-8,8')。以上数据与文献[6]报道的基本一致,故鉴定为表松脂素(epipinosin)。

化合物 3 无色油状物。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>,400 MHz) $\delta$ :7.02(1H,d, $J$ =8.0 Hz,H-5),6.82(1H,d, $J$ =1.6 Hz,H-2'),6.70(1H,dd, $J$ =2.0,8.0 Hz,H-6),6.67(1H,d, $J$ =2.0 Hz,H-2),6.66(1H,d, $J$ =1.6 Hz,H-6'),4.62(1H,d, $J$ =7.2 Hz,H-7),4.60(1H,d,H-7'),4.43(2H,d,H-9),4.40(2H,d,H-9'),3.96(1H,d, $J$ =6.0 Hz,H-8'),3.10(1H,m,H-8),3.74(3H,s,3-OCH<sub>3</sub>),3.51(3H,s,3'-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献[7]报道的基本一致,故鉴定为二羟基脱氢二松柏醇(dihydroxydehydrodiconiferyl)。

化合物 4 白色粉末(甲醇)。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>,400 MHz) $\delta$ :9.51(1H,brs,COOH),7.32(1H,s,H-2),7.27(1H,d, $J$ =8.0 Hz,H-6),6.76(1H,d, $J$ =8.0 Hz,H-5)。以上数据与文献[8]报道一致,故鉴定为 3,4-二羟基-苯甲酸(3,4-dihydroxy-benzoic acid)。

化合物 5 白色粉末(甲醇)。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>,400 MHz) $\delta$ :5.45(1H,d, $J$ =4.6 Hz,H-2),5.24(1H,dd $\approx$ t, $J$ =5.2 Hz,H-4),4.38(1H,dd, $J$ =4.6,5.2 Hz,H-3),3.60(1H,d, $J$ =5.2 Hz,H-5a),3.45

(1H, d,  $J = 5.2$  Hz, H-5b);  $^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$ : 177.0 (C-1), 69.1 (C-2), 71.8 (C-3), 75.9 (C-4), 63.2 (C-5)。以上数据与文献[9]报道一致,故鉴定为 *D*-核糖-1,4-内酯 (*D*-ribo-1,4-lactone)。

化合物 6 白色粉末(甲醇)。 $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$ : 5.38 (1H, d,  $J = 2.8$  Hz, H-2), 4.36 (1H, dd  $\approx$  t,  $J = 6.8$  Hz, H-4), 4.27 (1H, dd,  $J = 2.8, 6.8$  Hz, H-3), 3.55 (1H, d,  $J = 6.8$  Hz, H-5a), 3.42 (1H, d,  $J = 5.2$  Hz, H-5b);  $^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$ : 176.4 (C-1), 68.3 (C-2), 69.4 (C-3), 71.7 (C-4), 62.7 (C-5)。以上数据与文献[9]报道一致,故鉴定为 *L*-核糖-1,4-内酯 (*L*-ribo-1,4-lactone)。

化合物 7 白色粉末(甲醇)。 $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$ : 7.88 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-6), 5.77 (1H, d,  $J = 5.4$  Hz, H-1'), 5.63 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-5), 3.53 ~ 4.02 (5H, m, 糖上的氢);  $^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$ : 163.1 (C-4), 150.7 (C-2), 140.7 (C-6), 101.7 (C-5), 87.6 (C-1'), 69.8 (C-2'), 73.5 (C-3'), 84.8 (C-4'), 60.8 (C-5')。以上数据与文献[10]报道的基本一致,故鉴定为尿苷 (uridine)。

化合物 8 白色粉末(甲醇)。 $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$ : 5.06 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz, H-1), 4.32 (1H, d,  $J = 3.2$  Hz, H-3'), 4.68 (1H, d,  $J = 5.6$  Hz, H-1'), 4.24 ~ 4.71 (11H, m, 糖上的羟基氢), 3.23 ~ 3.83 (19H, m, 糖上的其他氢);  $^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$ : 102.0 (C-1), 69.8 (C-2), 75.6 (C-3), 67.7 (C-4), 75.7 (C-5), 62.8 (C-6), 98.0 (C-1'), 64.3 (C-2'), 82.9 (C-3'), 63.7 (C-4'), 69.2 (C-5'), 61.0 (C-6'), 63.0 (C-1''), 104.1 (C-2''), 80.8 (C-3''), 75.3 (C-4''), 81.9 (C-5''), 62.9 (C-6'')。以上数据与文献[11]报道的基本一致,故鉴定为  $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -*D*-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -*D*-呋喃果糖苷 [ $\beta$ -*D*-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -*D*-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -*D*-fructofuranoside]。

化合物 9 无色油状物,ESI-MS  $m/z$  189 [M + H] $^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$ : 3.88 (1H, m, H-1), 2.52 (1H, m, H-2), 2.15 (1H, dd,  $J = 3.2, 16.4$  Hz, H-5a), 2.58 (1H, dd,  $J = 6.8, 16.4$  Hz, H-5b), 1.28 (1H, m, H-2'a), 1.77 (1H, m, H-2'b), 3.85 (1H, d,  $J = 12.5$  Hz, H-3'a), 4.06 (1H, d,  $J = 12.5$  Hz, H-3'b), 3.97 (2H, t, H-2''), 3.47 (2H, q, H-4');  $^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$ : 74.8 (C-1), 52.6 (C-2), 135.4 (C-3), 137.5 (C-4), 42.3 (C-5),

34.2 (C-2'), 55.3 (C-3'), 59.8 (C-4'), 57.0 (C-2'')。以上数据与文献[12]报道一致,故鉴定为杜仲醇 (eucommiol)。

化合物 10 无色油状物,ESI-MS  $m/z$  173 [M + H] $^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$ : 1.90 (1H, m, H-1a), 1.40 (1H, m, H-1b), 2.75 (1H, m, H-2), 1.83 (1H, m, H-5a), 1.20 (1H, m, H-5b), 2.29 (2H, m, H-2'), 3.86 (1H, d,  $J = 12.5$  Hz, H-3'a), 4.08 (1H, d,  $J = 12.5$  Hz, H-3'b), 3.99 (2H, dd,  $J = 9.6, 12.5$  Hz, H-2''), 3.44 (2H, m, H-4');  $^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$ : 28.0 (C-1), 43.0 (C-2), 137.8 (C-3), 139.7 (C-4), 36.2 (C-5), 32.7 (C-2'), 55.2 (C-3'), 59.7 (C-4'), 57.1 (C-2'')。以上数据与文献[12]报道一致,故鉴定为 1-脱氧杜仲醇 (1-deoxyeucommiol)。

### [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] 齐艳明. 牛蒡化学成分研究[D]. 齐齐哈尔:齐齐哈尔大学, 2012.
- [6] 刘可鑫, 周翎, 刘攀峰, 等. 盐制对杜仲化学成分含量变化的影响[J]. 中成药, 2011, 33(2):280.
- [7] Deyama T, Ikawa T, Kigagawa S, et al. Part V. Isolation of dihydroxydehydrodiconiferyl alcohol isomers and phenolic compounds[J]. Chem Pharm Bull, 1987, 35(5):1785.
- [8] 王素娟, 裴月湖. 白桦叶化学成分的研究[J]. 沈阳药科大学学报, 2000, 17(4):256.
- [9] Susana Dias Lucas, Amelia Pilar Rauter, Hans Peter Wessel. Synthesis of 3-methoxyoxetane  $\delta$ -amino acids with *D*-lyxo, *D*-ribo, and *D*-arabino configurations[J]. J Carbohy Chem, 2008, 27:172.
- [10] 王磊, 张朝凤, 王峥涛, 等. 晶帽石斛化学成分研究[J]. 中草药, 2011, 42(1):31.
- [11] Tatsuya Abe, Kenichi Horiuchi, Hiroto Kikuchi, et al. Structural confirmation of oligosaccharides newly isolated from sugar beet molasses [J]. Chem Cent J, 2012, 6:89.
- [12] 彭金年. 杜仲醇的提取分离及合成积累动态研究[D]. 咸阳:西北农业大学, 2004:16.

[责任编辑 邹晓翠]