

## 忍冬叶的化学成分

刘婵娟, 陈四平\*

(承德医学院, 河北 承德 067000)

[摘要] 目的: 研究忍冬 *Lonicera japonica* 叶中的化学成分。方法: 采用大孔树脂柱色谱法、聚酰胺柱色谱法、制备薄层色谱法、制备液相等, 进行分离纯化, 并通过理化常数测定和波谱分析鉴定了其化学结构。结果: 从忍冬叶水提物中分离得到 6 个化合物, 并鉴定其结构为: 忍冬苷(lonicerin, ), 3, 5-二咖啡酰基奎宁酸(3, 5-dicaffeoylquinic acid, ), 4, 5-二咖啡酰基奎宁酸(4, 5-dicaffeoylquinic acid, ), 1, 5-二咖啡酰基奎宁酸(1, 5-dicaffeoylquinic acid, ), -谷甾醇(-sitosterol, ), 胡萝卜苷(-daucosterol, )。结论: 化合物 , , 为首次从忍冬叶中分离得到。

[关键词] 忍冬叶; 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(2010)17-0090-03

## Studies on Chemical Constituents of Leaves of *Lonicera japonica*

LIU Chan-juan, CHEN Si-ping\*

(Chengde Medical University, Chengde 067000, China)

**[Abstract] Objective:** To investigate the chemical constituents in leaves of *Lonicera japonica*. **Method:** Column chromatography with macroporous resin and versamide, TLC and prep-HPLC were used to isolate compounds. Physicochemical constants and spectroscopic analysis were employed for the structural elucidation. **Result:** Six compounds were isolated and elucidated as lonicerin( ), 3, 5-dicaffeoylquinic acid( ), 4, 5-dicaffeoylquinic acid( ), 1, 5-dicaffeoylquinic acid( ), -sitosterol( ), -daucosterol( ), **Conclusion:** Compounds , compounds , compounds are isolated from Leaves of *L. japonica* for the first time.

**[Key words]** leaves of *Lonicera japonica*; chemical constituents; identification

金银花为忍冬属忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的花蕾, 其原植物忍冬科忍冬属植物忍冬 *L. japonica* 的干燥叶片被视为非药用部位而长期处于废置状态。近年来有研究报道, 忍冬叶的药理活性与金银花相当或优于金银花, 其功效除受绿原酸含量的影响外, 还与其他活性成分有关, 如咖啡酰基奎宁酸类、黄酮类, 均为活性成分。明李时珍云“忍冬茎叶及花功用皆同”<sup>[1]</sup>, 其所引附方, 也是茎叶、花均可入药。为有效利用这一资源, 本研究对忍冬叶

化学成分进行提取分离, 并通过理化常数测定和波谱分析鉴定了其化学结构。

### 1 仪器与药材

Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); Shimadzu10AS 半制备型高效液相色谱仪(日本岛津); CHRIST 试验型冻干机(德国 MARTIN CHRIST); 申光 WRS-1B 数字熔点仪(上海精密科学仪器公司); EQUINOX55 型红外分光光谱仪(KBr 压片); 核磁共振谱用 Bruker ACF2300, AV2500 型核磁共振仪测定(TMS 为内标); Micromass 公司高效液相色谱-质谱联用仪为 Waters Q-TOF micro<sup>TM</sup> (Waters2695 型高效液相色谱仪, Waters2487 紫外检测器, micromass Q-TOF 质谱); 大孔吸附树脂 AB-8 (天津南开大学化工厂); 薄层色谱硅胶(青岛海洋化工厂); 聚酰胺 60 ~80 目(浙江省台州市路桥四甲

[收稿日期] 20100908(009)

[基金项目] 河北省重大技术创新专项计划项目(07276444Z)

[第一作者] 刘婵娟, 硕士, 从事中药化学与新药研究, Tel: 15133877092

[通讯作者] \* 陈四平, 研究员, E-mail: chensp9106@126.com

生化塑料厂); 4, 5-二咖啡酰基奎宁酸对照品购自中国药品生物制品检定所, 1, 5-二咖啡酰基奎宁酸对照品为实验室自制。

忍冬叶经承德医学院赵春颖副研究员鉴定为忍冬科忍冬属植物忍冬 *L. japonica* 干燥叶片, 产地为山东平邑。

## 2 提取分离

取干燥的忍冬叶药材 1.25 kg, 加水浸泡过夜, 12 倍量水煎煮 3 次, 每次煎煮 1 h, 合并浓缩至 6 L, 盐酸调上清液 pH 1~2, 离心取上清液过 AB-8 型大孔树脂(原药材与树脂质量比为 1:1), 水洗 0.5 h, 再以 50% 乙醇洗脱至无色, 收集醇洗部分, 冷冻干燥, 得忍冬叶粗提物 70 g。依次以等体积石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取, 减压浓缩回收溶剂, 得到石油醚萃取物 2 g, 乙酸乙酯萃取物 10 g, 正丁醇萃取物 21 g。取乙酸乙酯部分 5 g, 经聚酰胺柱色谱, 以乙醇-水梯度洗脱, 经制备薄层色谱、制备液相得化合物 (50 mg), (70 mg), (20 mg), (4 mg), (10 mg), (30 mg)。

## 3 结构鉴定

化合物 黄色粉末 (MeOH), mp 218~220, 三氯化铁-铁氰化钾反应阳性, 提示有酚羟基存在; 紫外 (365 nm) 下显黄色荧光; 盐酸-镁粉反应阳性, 提示为黄酮类化合物; Molish 反应呈阳性, 提示为黄酮苷类化合物, 酸水解, 薄层检识出葡萄糖和鼠李糖; UV<sub>max</sub> (MeOH, nm): 254, 266, 348; ESI-MS  $m/z$  593.3 [M-H]<sup>-</sup>, 示相对分子质量为 594, 分子式为 C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>15</sub>。<sup>13</sup>C-NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 164.6 (C-2), 103.6 (C-3), 182.0 (C-4), 161.3 (C-5), 97.8 (C-6), 162.6 (C-7), 94.5 (C-8), 157.3 (C-9), 105.4 (C-10), 145.9 (C-3), 150.0 (C-4), 116.1 (C-5), 119.2 (C-6)。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 6.38 (d, 1H,  $J=2.0$  Hz, 6-H), 6.74 (d, 1H,  $J=2.0$  Hz, 8-H), 示 A 环为 5, 7-二取代; 6.90 (d, 1H,  $J=8.2$  Hz, 5-H), 7.41 (d, 1H,  $J=2.1$  Hz, 2-H), 7.44 (dd, 1H,  $J=2.1$  Hz, 6-H), 示 B 环为 ABX 自旋系统, 其他<sup>13</sup>C-NMR 数据和<sup>1</sup>H-NMR 数据与文献 [2-4] 报道的忍冬苷数据对照基本一致, 鉴定化合物为忍冬苷 (lonicerin)。

化合物 淡黄色无定形粉末 (甲醇), 分子式 C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>O<sub>12</sub>, 三氯化铁-乙醇溶液显墨绿色, UV<sub>365</sub> nm 显蓝色荧光, mp 139~141。UV<sub>max</sub> (MeOH) nm:

218, 234 sh, 244, 297 sh, 326 IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3413 (OH), 2960, 2930, 1725 (C=O), 1687 (C=O), 1602, 1517 (Ar), 1276, 977; ESI-TOF-MS,  $m/z$  515 [M-H]<sup>-</sup>, <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 2 个咖啡酰取代基: 7.48 (1 H, d,  $J=16$  Hz, H-7), 7.49 (1 H, d,  $J=16$  Hz, H-7), 6.23 (1 H, d,  $J=16$  Hz, H-8), 6.23 (1 H, d,  $J=16$  Hz, H-8), 示有 2 个反式烯氢存在。7.09 (1 H, d,  $J=1.5$  Hz, H-2), 7.07 (1 H, d,  $J=1.5$  Hz, H-2), 7.06 (1 H, dd,  $J=1.5$  Hz,  $J=8.1$  Hz, H-6), 6.98 (1 H, dd,  $J=1.5$  Hz,  $J=8.1$  Hz, H-6), 6.80 (1 H, d,  $J=8.1$  Hz, H-5), 6.79 (1 H, d,  $J=8.1$  Hz, H-5), 示为 2 个 ABX 自旋系统, 表明 2 个 1, 3, 4 取代苯环。奎宁酸: 5.24 (1 H, ddd,  $J=3.8$  Hz,  $J=3.2$  Hz,  $J=3.0$  Hz, H-3), 5.20 (1 H, ddd,  $J=3.8$  Hz,  $J=9.5$  Hz,  $J=10.5$  Hz, H-5), 3.75 (1 H, dd,  $J=3.8$  Hz,  $J=9.5$  Hz, H-4), 2.51 (1 H, dd,  $J=3.0$  Hz,  $J=15$  Hz, H-2), 2.50 (1 H, dd,  $J=3.8$  Hz,  $J=13.2$  Hz, H-6), 2.50 (1 H, dd,  $J=3.2$  Hz,  $J=15$  Hz, H-2), 2.16 (1 H, dd,  $J=10.5$  Hz,  $J=13.2$  Hz, H-6)。经<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY 谱进一步确认其归属, <sup>13</sup>C-NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 177.7 (C-7), 169.5 (C-9), 169.1 (C-9), 119.0 (C-8), 119.1 (C-8), 148.8 (C-7), 147.9 (C-7), 124.3 (C-6), 124.1 (C-6), 118.1 (C-5, C-5), 151.6 (C-4), 151.4 (C-4), 147.9 (C-3), 147.6 (C-3), 117.8 (C-2), 117.5 (C-2), 128.7 (C-1), 128.6 (C-1), 74.3 (C-1), 32.1 (C-2), 70.3 (C-3), 69.9 (C-4), 74.1 (C-5), 32.1 (C-6), 以上<sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR 数据与文献 [5] 报道 3, 5-二咖啡酰基奎宁酸数据基本一致。经 HMQC, HMBC 进一步确认其归属。因此化合物的化学结构为 3, 5-二咖啡酰基奎宁酸 (3, 5-dicaffeoylquinic acid)。

化合物 淡黄色冻干粉, 分子式 C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>O<sub>12</sub>, 三氯化铁-乙醇溶液显墨绿色, UV<sub>365</sub> nm 显蓝色荧光, mp 129~130。UV<sub>max</sub> nm: 219, 234 sh, 244, 298 sh, 328 IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3406 (OH), 2953, 2346, 1697 (C=O), 1631 (C=O), 1603, 1517 (Ar), 1275, 980; ESI-TOF-MS,  $m/z$  515 [M-H]<sup>-</sup>, 353 [M-162]<sup>-</sup>, <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 2 个咖啡酰取代基: 7.48 (1 H, d,  $J=16$  Hz, H-7), 7.42 (1 H, d,  $J=16$  Hz, H-7), 6.24 (1 H, d,  $J=16$  Hz, H-8), 6.14 (1 H, d,  $J=16$  Hz, H-8), 示有 2 个反式烯氢存

在, 7.02 (1 H, d,  $J=1.5$  Hz, H-2), 7.00 (1 H, d,  $J=1.5$  Hz, H-2), 6.98 (1 H, dd,  $J=1.5$  Hz,  $J=8.1$  Hz, H-6), 6.99 (1 H, dd,  $J=1.5$  Hz,  $J=8.1$  Hz, H-6), 6.75 (1 H, d,  $J=8.1$  Hz, H-5), 6.73 (1 H, d,  $J=8.1$  Hz, H-5), 示为 2 个 ABX 自旋系统, 表明 2 个 1, 3, 4 取代苯环。奎宁酸: 12.50 (1 H, br, COOH), 5.36 (1 H, ddd,  $J=1.15$  Hz,  $J=9.5$  Hz,  $J=3.8$  Hz, H-5), 5.11 (1 H, ddd,  $J=3.8$  Hz,  $J=9.5$  Hz,  $J=1.15$  Hz, H-4), 4.17 (1 H, dd,  $J=3.8$  Hz,  $J=9.5$  Hz, H-3), 经  $^1\text{H}-^1\text{H}$  COSY 谱进一步确认其归属。 $^{13}\text{C}$ -NMR (600 MHz DMSO- $d_6$ ): 174.8 (C-7), 166.0 (C-1), 165.6 (C-1), 148.5 (C-7, C-7), 145.6 (C-6, C-6), 131.6 (C-3, C-3), 125.4 (C-4, C-4), 121.5 (C-9), 121.4 (C-9), 115.8 (C-8), 115.7 (C-8), 114.8 (C-5, C-5), 113.8 (C-2), 113.6 (C-2), 73.6 (C-1), 73.4 (C-4), 71.2 (C-5), 67.4 (C-3), 38.6 (C-2), 38.5 (C-6)。经 HMQC, HMBC 进一步确认其归属。因此化合物的化学结构为 4, 5-二咖啡酰基奎宁酸 (4, 5-dicaffeoylquinic acid), 以上  $^1\text{H}$ -NMR,  $^{13}\text{C}$ -NMR 数据与文献 [5-6] 报道 4, 5-二咖啡酰基奎宁酸数据基本一致。化合物的 HPLC 图与 4, 5-二咖啡酰基奎宁酸对照品的 HPLC 图一致, 化合物与 4, 5-二咖啡酰基奎宁酸对照品混合熔点测定不下降, 与 4, 5-二咖啡酰基奎宁酸对照品混合物共薄层色谱显示单一斑点, 故确定该化合物为 4, 5-二咖啡酰基奎宁酸 (4, 5-dicaffeoylquinic acid)。

化合物 淡黄色冻干粉, 三氯化铁-乙醇溶液显墨绿色, UV365 nm 显蓝色荧光, 其紫外-可见吸收图谱与 1, 5-二咖啡酰基奎宁酸对照品的紫外-可见吸收图谱一致。经分析型 HPLC 测定化合物与 1, 5-二咖啡酰基奎宁酸对照品的 HPLC 图一致, 化合物与 1, 5-二咖啡酰基奎宁酸对照品混合熔点测定不下降, 与 1, 5-二咖啡酰基奎宁酸对照品混合物共薄层色谱显示单一斑点, 故确定该化合物为 1, 5-二咖啡酰基奎宁酸 (1, 5-dicaffeoylquinic acid)。

化合物 为白色冻干粉, 紫外灯下无荧光,

10% 硫酸乙醇显紫红色, mp 283 ~285。ESI-MS:  $m/z$  579 [M + Na] $^+$ , 597 [M + K] $^+$ , 414 [M-162] $^+$ 。 $^{13}\text{C}$ -NMR (600 MHz DMSO- $d_6$ ): Glu: 103.6 (C-1), 75.0 (C-2), 80.1 (C-3), 71.4 (C-4), 79.4 (C-5), 63.6 (C-6), 其他数据碳谱数据与文献 [7] 报道的胡萝卜苷碳谱数据基本一致, 鉴定化合物 为胡萝卜苷 (-daucosterol)。

化合物 为白色冻干粉, 紫外灯下无荧光, 分子式  $\text{C}_{29}\text{H}_{52}\text{O}$ , mp 134 ~136。10% 硫酸乙醇显紫红色。IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3 441 (-OH), 2 961, 2 866, 2 935, 1 465 (- $\text{CH}_2$ ), 1 376 (- $\text{CH}_3$ ), 1 059 (C-O), 801 (- $\text{CHMe}_2$ )。 $^{13}\text{C}$ -NMR (600 MHz DMSO- $d_6$ ): 121.9 (C-6), 43.1 (C-24), 42.3 (C-4), 42.2 (C-13), 31.9 (C-7), 31.8 (C-8), 31.7 (C-2), 25.2 (C-23), 24.3 (C-15), 17.1 (C-21)。其他数据碳谱数据与文献 [8] 报道的 -谷甾醇碳谱数据一致, 鉴定化合物 为 -谷甾醇 (-sitosterol)。

#### [参考文献]

- [1] 林国通. 中药学 [M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1985: 64.
- [2] 马俊利, 李宁, 李锐. 忍冬叶的化学成分 [J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(11): 868.
- [3] 柴兴云, 李萍, 唐力英. 山银花化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2004, 29(9): 865.
- [4] 中国科学院上海药物所植物化学研究室. 黄酮体化合物鉴定手册 [M]. 北京: 科学出版社, 1981: 632.
- [5] 滕荣伟, 周志宏, 王德祖, 等. 白花刺参中的咖啡酰基奎宁酸成分 [J]. 波谱学杂志, 2002, 19(2): 167.
- [6] Tolonen A, Joutsamo T, Mattila S, et al. Identification of isomeric dicaffeoylquinic acids from *eleutherococcus senticosus* using HPLC-ESI/TOF/PMS and  $^1\text{H}$ -NMR methods [J]. *Phytochem Anal*, 2002, 13: 316.
- [7] 赵军, 李湘萍, 赵昱, 等. 咖啡酰基奎宁酸类化合物研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(11): 869.
- [8] 叶冠, 彭华, 范明松, 等. 十齿花化学成分研究 [J]. 中草药, 2008, 6(39): 808.

[责任编辑 邹晓翠]