

灰毡毛忍冬花蕾乙醇提取物中酚酸类化学成分

姚静远^{1,2}, 单宇², 鲁正熹³, 吴君芝^{1,2}, 王湘莹⁴, 王晓明⁴, 冯煦², 陈雨^{1,2,①}

[1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210023; 2. 江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园)
江苏省植物资源研究与利用重点实验室 江苏省中药材生态种植与高值化利用工程研究中心, 江苏 南京 210014;
3. 江苏卫生健康职业学院, 江苏 南京 210029; 4. 湖南省林业科学院, 湖南 长沙 410004]

摘要: 从灰毡毛忍冬(*Lonicera macranthoides* Hand.-Mazz.) 花蕾乙醇提取物中分离并鉴定出9个酚酸类化合物, 分别为咖啡酸(1)、绿原酸(2)、4-*O*-咖啡酰奎宁酸(3)、5-*O*-咖啡酰奎宁酸(4)、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸(5)、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸(6)、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸(7)、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸乙酯(8)和4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸乙酯(9)。化合物4,5,6,7,8和9均为首次从灰毡毛忍冬中分离获得。

关键词: 灰毡毛忍冬; 花蕾; 乙醇提取物; 酚酸类; 结构鉴定

中图分类号: Q946; R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2023)01-0092-03

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2023.01.11

Chemical constituents of phenolic acids of ethanol extract from flower buds of *Lonicera macranthoides* YAO Jingyuan^{1,2}, SHAN Yu², LU Zhengxi³, WU Junzhi^{1,2}, WANG Xiangying⁴, WANG Xiaoming⁴, FENG Xu², CHEN Yu^{1,2,①} [1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 2. Jiangsu Key Laboratory for the Research and Utilization of Plant Resources, Jiangsu Provincial Engineering Research Center for Ecological Planting and High-value Utilization of Traditional Chinese Medicine, Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences (Nanjing Botanical Garden Mem. Sun Yat-Sen), Nanjing 210014, China; 3. Jiangsu Health Vocational College, Nanjing 210029, China; 4. Hunan Academy of Forestry, Changsha 410004, China], *J. Plant Resour. & Environ.*, 2023, 32(1): 92-94

Abstract: Nine phenolic acid compounds were isolated and identified from ethanol extract of flower buds of *Lonicera macranthoides* Hand.-Mazz., viz. caffeic acid (1), chlorogenic acid (2), 4-*O*-caffeoylquinic acid (3), 5-*O*-caffeoylquinic acid (4), 3,5-*O*-dicaffeoylquinic acid (5), 3,4-*O*-dicaffeoylquinic acid (6), 4,5-*O*-dicaffeoylquinic acid (7), 3,4-*O*-dicaffeoylquinic acid ethyl ester (8), and 4,5-*O*-dicaffeoylquinic acid ethyl ester (9), respectively. Compound 4, 5, 6, 7, 8, and 9 are isolated from *L. macranthoides* for the first time.

Key words: *Lonicera macranthoides* Hand.-Mazz.; flower bud; ethanol extract; phenolic acids; structure identification

灰毡毛忍冬(*Lonicera macranthoides* Hand.-Mazz.)为忍冬科(Caprifoliaceae)忍冬属(*Lonicera* Linn.)藤本植物,为“山银花”中药材的主要来源植物之一^[1],其主要成分为酚酸类、皂苷类、环烯醚萜类以及黄酮类化合物^[2-5],其中,酚酸类成分作为灰毡毛忍冬主要药用成分之一,具有抗病毒、抗肿瘤、保肝、抗氧化、抗炎和抗菌^[2]等药理活性。本研究通过对灰毡毛忍冬花蕾体积分数70%乙醇提取物进行液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)分析,根据酚酸类物质的质谱特征碎片离子峰和紫外吸收光谱特征峰,从该提取物中鉴定到若干未知酚酸类衍生物,并对其中的酚酸类化学成分进行进一步的分离和结构测定,以期为深入开发利用灰毡毛忍冬酚酸类成分提供物质基础。

1 材料和方法

1.1 材料

灰毡毛忍冬品种‘花瑶晚熟’(‘Huayao Serotino-matura’)花蕾于2020年7月采自湖南隆回县,人工栽培,并经江苏省中国科学院植物研究所田梅助理研究员鉴定。灰毡毛忍冬花蕾采摘后分多层置于50℃烘箱内干燥20h,备用。

主要仪器:ZF-20D暗箱式紫外分析仪(郑州龙翔仪器有限公司);Bruker AV-300/500核磁共振光谱仪(瑞士Bruker公司);Agilent 1100高效液相色谱仪,Agilent 1100 LC/MSD SL液相质谱联用仪(美国Agilent公司);Shimadzu LC-20 AR半制

收稿日期: 2022-06-22

基金项目: 江苏省林业科技创新与推广项目(LYKJ[2021]18); 江苏省植物资源研究与利用重点实验室开放基金项目(JSPKLB201924); 江苏省高等学校自然科学研究项目(19KJB360008)

作者简介: 姚静远(1998—),女,河南驻马店人,硕士研究生,主要从事植物天然产物化学方面的研究。

①通信作者 E-mail: ychen@jib.ac.cn

引用格式: 姚静远, 单宇, 鲁正熹, 等. 灰毡毛忍冬花蕾乙醇提取物中酚酸类化学成分[J]. 植物资源与环境学报, 2023, 32(1): 92-94.

备型高效液相色谱仪(日本 Shimadzu 公司)。

主要试剂:柱层析硅胶(青岛海洋化工有限公司), RP-18(日本 YMC 公司, 12 nm), Sephadex LH-20(美国 Pharmacia 公司), 柱色谱试剂均为分析纯(国药集团化学试剂有限公司), 高效液相色谱试剂均为色谱纯(美国 TEDIA 公司)。

1.2 方法

1.2.1 化合物分离 取 8 kg 样品, 用体积分数 70% 乙醇回流提取 3 次, 每次 3 h; 提取液合并后减压浓缩至无醇味, 经 D101 型大孔树脂柱分离, 依次用超纯水、体积分数 30% 乙醇、体积分数 70% 乙醇和体积分数 95% 乙醇洗脱得到 Fr. I (1 200 g)、Fr. II (132 g)、Fr. III (600 g) 和 Fr. IV (30 g) 4 个部分。Fr. II 部分经 RP-18 反相柱层析(填料 600 g) 分离, 依次用体积分数 10% 乙醇、体积分数 20% 乙醇、体积分数 30% 乙醇和体积分数 95% 乙醇洗脱, 合并组分相似的洗脱液, 浓缩后得 Fr. II-A、Fr. II-B(24 g)、Fr. II-C(32 g) 和 Fr. II-D 4 个部分。运用 RP-8 反相柱层析和半制备型高效液相色谱仪分离等方法, 从 Fr. II-B 部分分离得到化合物 1(250 mg)、化合物 2(1.5 g)、化合物 3(70 mg) 和化合物 4(40 mg), 从 Fr. II-C 部分分离得到化合物 5(72 mg)、化合物 6(40 mg)、化合物 7(62 mg)、化合物 8(54 mg) 和化合物 9(68 mg)。将所得到的化合物的理化性质和波谱数据与相关文献数据对比, 确定化合物结构。

1.2.2 高效液相条件 Agilent Eclipse CDS-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm, 美国 Agilent 公司), 柱温 30 °C, 流动相为甲醇-体积分数 0.4% 乙酸的混合溶液(体积比 15 : 85), 流速 0.8 mL·min⁻¹, 检测波长 330 nm。

2 结 果

化合物 1: 浅黄色粉末(甲醇), 薄层层析(TLC)紫外光(波长 365 nm) 下显蓝色荧光, 高效液相检测与咖啡酸标准品保留时间相同($t_R = 31.45$ min), 故鉴定为咖啡酸(caffeic acid)。

化合物 2: 灰白色粉末(甲醇), TLC 紫外光(波长 365 nm) 下显蓝色荧光, 喷三氯化铁试液显污绿色。ESI-MS m/z : 353 [M-H]⁻, 相对分子质量 354, 分子式 C₁₆H₁₈O₉。¹H-NMR (C₅D₅N, 500 MHz) δ : 7.95(1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-7'), 7.46(1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 7.13(1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5'), 7.03(1H, dd, $J = 8.1, 2.1$ Hz, H-6'), 6.55(1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8'), 6.20(1H, m, H-3), 4.76(1H, m, H-5), 4.30(1H, dd, $J = 8.3, 3.1$ Hz, H-4), 2.93~2.68(4H, m, H-2, 6); ¹³C-NMR (C₅D₅N, 125 MHz) δ : 177.2(C-7), 167.2(C-9'), 147.6(C-4'), 145.9(C-7'), 145.7(C-3'), 126.9(C-1'), 121.9(C-6'), 116.7(C-5'), 115.8(C-8'), 115.5(C-2'), 76.0(C-1), 73.6(C-4), 72.3(C-3), 71.2(C-5), 39.3(C-2), 38.8(C-6)。以上波谱数据与文献[6]基本一致, 故鉴定为绿原酸(chlorogenic acid)。

化合物 3: 浅黄色粉末(甲醇), TLC 紫外光(波长 365 nm) 下显蓝色荧光, 喷三氯化铁试液显污绿色。高效液相检测与

4-O-咖啡酰奎宁酸标准品保留时间相同($t_R = 22.95$ min), 故鉴定为 4-O-咖啡酰奎宁酸(4-O-caffeoylquinic acid)。

化合物 4: 白色粉末(甲醇), TLC 紫外光(波长 365 nm) 下显蓝色荧光, 喷三氯化铁试液显污绿色。ESI-MS m/z : 353 [M-H]⁻, 相对分子质量 354, 分子式 C₁₆H₁₈O₉。¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 7.46(1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-7'), 7.01(1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 6.96(1H, dd, $J = 8.1, 2.1$ Hz, H-6'), 6.76(1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5'), 6.18(1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8'), 5.17(1H, m, H-5), 4.82(1H, m, H-3), 3.86(1H, m, H-4), 2.02~1.85(4H, m, H-2, 6); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ : 175.9(C-7), 165.9(C-9'), 148.1(C-4'), 145.5(C-7'), 144.2(C-3'), 125.6(C-1'), 120.9(C-6'), 115.7(C-5'), 115.0(C-8'), 114.5(C-2'), 72.8(C-1), 72.2(C-4), 70.9(C-3), 67.2(C-5), 38.9(C-2), 35.1(C-6)。以上波谱数据与文献[7]基本一致, 故鉴定为 5-O-咖啡酰奎宁酸(5-O-caffeoylquinic acid)。

化合物 5: 淡黄色粉末(甲醇), TLC 紫外光(波长 365 nm) 下显蓝色荧光, 喷三氯化铁试液显污绿色。ESI-MS m/z : 515 [M-H]⁻, 相对分子质量 516, 分子式 C₂₅H₂₄O₁₂。¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ : 7.46, 7.44 (each 1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-7', H-7''), 7.04~6.93(4H, m, H-2', H-2'', H-6', H-6''), 6.73, 6.72 (each 1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5', H-5''), 6.23, 6.18 (each 1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8', H-8''), 5.41(1H, m, H-5), 4.93(1H, m, H-3), 3.75(1H, m, H-4), 2.19(2H, m, Heq-2, 6), 1.96(2H, m, Hax-2, 6)。¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ : 175.7(C-7), 165.9(C-9', C-9''), 148.4(C-4', C-4''), 145.5(C-3', C-3''), 145.2(C-7', C-7''), 125.5(C-1', C-1''), 121.3(C-6', C-6''), 115.7(C-5', C-5''), 114.7(C-2', C-2''), 113.9(C-8'), 113.5(C-8''), 73.5(C-1), 72.6(C-5), 68.3(C-4), 64.2(C-3), 38.6(C-2), 35.6(C-6), 以上波谱数据与文献[8-9]基本一致, 故鉴定为 3,5-O-二咖啡酰奎宁酸(3,5-O-dicaffeoylquinic acid)。

化合物 6: 淡黄色粉末(甲醇), TLC 紫外光(波长 365 nm) 下显蓝色荧光, 喷三氯化铁试液显污绿色。ESI-MS m/z : 515 [M-H]⁻, 相对分子质量 516, 分子式 C₂₅H₂₄O₁₂。¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ : 7.49, 7.43 (each 1H, d, $J = 5.9$ Hz, H-7', H-7''), 7.02, 7.01 (each 1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2', H-2''), 6.98, 6.95 (each 1H, dd, $J = 2.1, 8.2$ Hz, H-6', H-6''), 6.74(2H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5', H-5''), 6.24, 6.14 (each 1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8', H-8''), 5.36(1H, m, H-3), 5.11(1H, d, $J = 6.1$ Hz, H-4), 4.37(1H, dd, $J = 7.7, 3.0$ Hz, H-5), 2.17(2H, m, H-2), 2.04(1H, m, Heq-6), 1.92(1H, m, Hax-6); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ : 174.5(C-7), 165.9, 165.4(C-9', C-9''), 145.5(C-3', C-3''), 148.4(C-4', C-4''), 145.4(C-7', C-7''), 125.4(C-1', C-1''), 121.4(C-6'), 121.3(C-6''), 115.7(C-5', C-5''), 114.8(C-2', C-2''), 113.8(C-8'), 113.6(C-8''), 73.4(C-1), 73.1(C-4), 67.5(C-5), 66.1(C-3), 37.4(C-2), 37.0(C-6), 以上波谱数据与文献[10]基本一致, 故鉴定为 3,4-O-二咖啡

酰奎宁酸(3,4-*O*-dicafeoylquinic acid)。

化合物7:淡黄色粉末(甲醇),TLC紫外光(波长365 nm)下显蓝色荧光,喷三氯化铁试液显污绿色。ESI-MS m/z :515 [M-H]⁻,相对分子质量516,分子式C₂₅H₂₄O₁₂。¹H-NMR(DMSO-*d*₆,300 MHz)δ:7.48,7.43(each 1H,d,*J*=15.8 Hz,H-7',H-7''),7.06,7.03(each 1H,d,*J*=1.8 Hz,H-2',H-2''),7.01,6.98(each 1H,dd,*J*=1.7,8.3 Hz,H-6',H-6''),6.77,6.76(each 1H,d,*J*=8.1 Hz,H-5',H-5''),6.24,6.16(each 1H,d,*J*=15.9 Hz,H-8',H-8''),5.24(1H,m,H-5),5.15(1H,m,H-4),3.82(1H,m,H-3),2.10(2H,m,Heq-2,6),1.94(2H,m,Hax-2,6);¹³C-NMR(DMSO-*d*₆,75 MHz)δ:175.5(C-7),166.1(C-9'),165.6(C-9''),148.3(C-4'),148.2(C-4''),145.5(C-3',C-3''),145.0(C-7'),144.6(C-7''),125.6(C-1'),125.5(C-1''),121.3(C-6'),121.1(C-6''),115.8(C-5'),115.7(C-5''),114.8(C-2',C-2''),114.7(C-8',C-8''),72.5(C-1),70.1(C-4,C-5),67.8(C-3),36.2(C-2),34.8(C-6),以上波谱数据与文献[11]基本一致,故鉴定为4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸(4,5-*O*-dicafeoylquinic acid)。

化合物8:淡黄色粉末(甲醇),TLC紫外光(波长365 nm)下显蓝色荧光,喷三氯化铁试液显污绿色。ESI-MS m/z :543 [M-H]⁻,545[M+H]⁺,相对分子质量544,分子式C₂₇H₂₈O₁₂。¹H-NMR(DMSO-*d*₆,300 MHz)δ:7.51,7.42(each 1H,d,*J*=15.8 Hz,H-7',H-7''),7.04,7.02(each 1H,d,*J*=1.9 Hz,H-2',H-2''),6.98,6.95(each 1H,dd,*J*=2.1,8.1 Hz,H-6',H-6''),6.75(2H,d,*J*=8.1 Hz,H-5',H-5''),6.26,6.13(each 1H,d,*J*=15.9 Hz,H-8',H-8''),5.27(1H,m,H-3),4.96(1H,dd,*J*=6.6,3.0 Hz,H-4),4.09(1H,d,*J*=6.1 Hz,H-5),4.04(2H,m,-CH₂CH₃),2.26(2H,m,H-2),2.01(1H,m,Heq-6),1.89(1H,m,Hax-6),1.15(3H,t,-CH₂CH₃)。¹³C-NMR(DMSO-*d*₆,75 MHz)δ:172.8(C-7),165.8(C-9'),165.2(C-9''),148.6(C-4'),148.5(C-4''),145.6(C-3'),145.5(C-3''),145.4(C-7',C-7''),125.4(C-1'),125.2(C-1''),121.4(C-6'),121.3(C-6''),115.7(C-5',C-5''),114.8(C-2'),114.7(C-2''),113.8(C-8'),113.3(C-8''),73.1(C-1),72.2(C-4),67.7(C-5),65.4(C-3),60.5(C-8),37.6(C-2),36.1(C-6),13.8(C-9),以上波谱数据与文献[12]基本一致,故鉴定为3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸乙酯(3,4-*O*-dicafeoylquinic acid ethyl ester)。

化合物9:淡黄色粉末(甲醇),TLC紫外光(波长365 nm)下显蓝色荧光,喷三氯化铁试液显污绿色。ESI-MS m/z :543 [M-H]⁻,545[M+H]⁺,相对分子质量544,分子式C₂₇H₂₈O₁₂。¹H-NMR(DMSO-*d*₆,300 MHz)δ:7.51,7.43(each 1H,d,*J*=15.8 Hz,H-7',H-7''),7.04~6.93(4H,m,H-2',H-2''),H-6',H-6''),6.77(2H,d,*J*=8.1 Hz,H-5',H-5''),6.25,6.13(each 1H,d,*J*=15.9 Hz,H-8',H-8''),5.20(1H,m,H-5),5.08(1H,m,H-4),4.07(2H,m,-CH₂CH₃),3.85(1H,m,H-3),2.06

(2H,m,Heq-2,6),1.96(2H,m,Hax-2,6),1.15(3H,t,-CH₂CH₃)。¹³C-NMR(DMSO-*d*₆,75 MHz)δ:173.1(C-7),165.9(C-9'),165.2(C-9''),148.5(C-4'),148.3(C-4''),145.6(C-3',C-3''),145.2(C-7'),144.9(C-7''),125.6(C-1'),125.3(C-1''),115.8(C-5'),115.7(C-5''),121.3(C-6'),121.1(C-6''),114.7(C-2'),114.6(C-2''),114.5(C-8'),113.6(C-8''),72.4(C-1),70.9(C-4),69.9(C-5),66.7(C-3),60.3(C-8),34.7(C-2),34.4(C-6),13.9(C-9),以上波谱数据与文献[13]基本一致,故鉴定为4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸乙酯(4,5-*O*-dicafeoylquinic acid ethyl ester)。

本研究从灰毡毛忍冬花蕾乙醇提取物中分离得到9个酚酸类化合物,丰富了灰毡毛忍冬中的酚酸类成分。其中,化合物4,5,6,7,8和9均为首次从灰毡毛忍冬中分离获得。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020年版(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 32.
- [2] 刘文娟, 陈雨, 马鑫, 等. 灰毡毛忍冬化学成分研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2013, 32(1): 6-10.
- [3] LYU H, LIU W, BAI B, et al. Prenyleudesmanes and a hexanorlanostane from the roots of *Lonicera macranthoides* [J]. *Molecules*, 2019, 24(23): 4276.
- [4] CHEN Y, FENG X, JIA X D, et al. Triterpene glycosides from *Lonicera*. Isolation and structural determination of seven glycosides from flower buds of *Lonicera macranthoides* [J]. *Chemistry of Natural Compounds*, 2008, 44(1): 39-43.
- [5] CHEN Y, SHAN Y, ZHAO Y Y, et al. Two new triterpenoid saponins from *Lonicera macranthoides* [J]. *Chinese Chemical Letters*, 2012, 23(3): 325-328.
- [6] 陈雨, 赵友谊, 吴双, 等. 灰毡毛忍冬花蕾水溶性化学成分研究[J]. 中药材, 2012, 35(2): 231-234.
- [7] 崔琦. 金花葵花抗炎化学成分分离、结构鉴定及其绿色提取分离新工艺[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2020: 31.
- [8] 宋洋. 无梗五加根化学成分的分离、分析和四种木脂素成分的药动学研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2012: 33-34.
- [9] MORADI-AFRAPOLI F, SAREMI G, NASSERI S, et al. Isolation of two isochlorogenic acid isomers from phenolic rich fraction of *Artemisia turanica* Krasch. [J]. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2020, 19(4): 59-66.
- [10] 尹永芹, 沈志滨, 孔令义. 巴西甘薯叶化学成分研究[J]. 中药材, 2008, 31(10): 1501-1503.
- [11] 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): 167-174.
- [12] 王嘉琪, 刘洋, 杨永芬, 等. 白花败酱草抗氧化成分研究[J]. 中草药, 2019, 50(21): 5206-5211.
- [13] 葛雯, 李海波, 王振中, 等. 热毒宁注射液解热抗炎活性成分研究(V)[J]. 中草药, 2019, 50(17): 4189-4199.

(责任编辑: 张明霞)