

## 黄连花中两个新的三萜皂苷

田景奎, 邹忠梅, 徐丽珍\*, 张宏武, 穆红梅, 杨世林

(中国医学科学院, 中国协和医科大学 药用植物研究所, 北京 100094)

**摘要:** 目的 对黄连花 (*Lysimachia davurica* Ledeb.) 全草的三萜皂苷成分进行分离和结构鉴定。方法 通过大孔树脂纯化, 硅胶和反相硅胶色谱分离正丁醇萃取物中的三萜皂苷; 利用多种波谱技术并结合酸水解方法鉴定其化学结构。结果 分离鉴定了 2 个三萜皂苷, 其结构分别为  $3\beta, 16\alpha, 29$ -三羟基- $13, 28$ -环氧-齐墩果烷- $3-O-\beta-D$ -吡喃葡萄糖基-( $1 \rightarrow 2$ )- $\beta-D$ -吡喃葡萄糖酸甲酯苷(I),  $3\beta, 16\alpha, 28$ -三羟基-齐墩果- $12$ -烯- $3-O-\{\beta-D$ -吡喃葡萄糖基( $1 \rightarrow 2$ )- $\beta-D$ -吡喃葡萄糖醛酸}- $28-O-\beta-D$ -吡喃葡萄糖苷(II)。结论 化合物 I 和 II 为新的三萜皂苷, 分别命名为黄连花皂苷 D 和 J。

**关键词:** 黄连花; 三萜皂苷; 黄连花皂苷 D; 黄连花皂苷 J

中图分类号: R284.1; R284.2 文献标识码: A 文章编号: 0513 - 4870(2004)03 - 0194 - 04

## Two new triterpenoid saponins from *Lysimachia davurica*

TIAN Jing-kui, ZOU Zhong-mei, XU Li-zhen\*, ZHANG Hong-wu, MU Hong-mei, YANG Shi-lin

(Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100094, China)

**Abstract: Aim** To study the triterpenoid saponins in the whole plant of *Lysimachia davurica* Ledeb.

**Methods** Column chromatography (including AB-8 macroporous resin, silica gel and ODS) was used to separate triterpenoid saponins whose structures were elucidated by ESI-MS, NMR (1D and 2D) and hydrolysis methods. **Results** Two new triterpenoid saponins were isolated and established as  $3\beta, 16\alpha, 28$ -trihydroxy-olean- $12$ -en- $3-O-\{\beta-D$ -glucopyranosyl-( $1 \rightarrow 2$ )- $\beta-D$ -glucuronopyranosyl}- $28-O-\beta-D$ -glucopyranoside} (I),  $3\beta, 16\alpha, 28$ -trihydroxy-olean- $12$ -en- $3-O-\{\beta-D$ -glucopyranosyl-( $1 \rightarrow 2$ )- $\beta-D$ -glucuronopyranosyl}- $28-O-\beta-D$ -glucopyranoside} (II). **Conclusion** Compounds I and II are new compounds and named as davuricosides D and J.

**Key words:** *Lysimachia davurica*; triterpenoid saponin; davuricoside D; davuricoside J

黄连花 (*Lysimachia davurica* Ledeb.) 系报春花科 (Primulaceae) 珍珠菜属植物, 主要分布在我国东北地区。药用其全草, 民间用以治疗高血压<sup>[1]</sup>。作者对黄连花全草的化学成分进行了系统研究, 前文报道了有机酸和黄酮类化合物的分离鉴定<sup>[2,3]</sup>。现又从其正丁醇部分分离得到 19 个三萜皂苷, 本文报道其中两个新的三萜皂苷, 即 davuricosides D (I) 和 J (II)。

化合物 I 白色无定形粉末, mp 184 ~ 186 °C (MeOH),  $[\alpha]_D^{20} - 16.00$  (c 0.01, 吡啶), Liebermann-

Burchard 反应阳性, Molish 反应阳性, 薄层酸水解检测含有葡萄糖醛酸和葡萄糖; TOF-MS 显示  $m/z$  849  $[M + Na]^+$ , 827  $[M + H]^+$ , 结合 <sup>1</sup>H NMR 和 <sup>13</sup>C NMR 数据推测其分子式为 C<sub>43</sub>H<sub>70</sub>O<sub>5</sub>, 不饱和度为 9。红外光谱在 1720 cm<sup>-1</sup> 显示有羰基碳存在; <sup>1</sup>H NMR 谱在高场区出现 6 个甲基 ( $\delta$ : 1.55, 1.34, 1.24, 1.24, 1.08, 0.86 均为单峰), <sup>13</sup>C NMR 出现 C-13, C-28 成醚键的特征信号  $\delta$ : 86.6 (C-13)<sup>[4]</sup>, 推测其苷元为 13, 28-环氧-齐墩果烷型结构。除去糖基的信号外, 还有 5 个与氧相连的碳信号, 分析 HMBC 和 HMQC 谱将 5 个与氧相连的碳信号  $\delta$ : 89.4, 86.6, 78.0, 77.0, 75.0 分别归属为 C-3, C-13, C-28, C-16 和 C-29; C-16 上的羟基为  $\alpha$  构型 (如为  $\beta$  构型取代, C-16 的化学位移为 64.0 左右)<sup>[4]</sup>; C-20 位上 (C-29 或 C-30) 有 C-29 羟基取代, 即

收稿日期: 2003-05-29.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39870085); 国家“九五”攻关课题 (96-901-06-37)。

\* 通讯作者 Tel: 86-10-62899705, Fax: 86-10-62896313, E-mail: xulizh@hotmail.com

C-20 上的羟甲基为  $\alpha$  构型(如为  $\beta$  构型取代,即 C-30 的化学位移为 65.0 左右)<sup>[51]</sup>;通过 HMQC 推定 3-H 化学位移为  $\delta$  3.25(1H, dd,  $J = 4.5, 11.5$  Hz),与  $2\alpha$ -H 的偶合常数为 4.5 Hz,故确定 3-H 为  $\alpha$  取代(如为  $\beta$  取代,则  $J = 5.0 \sim 5.5$  Hz)<sup>[61]</sup>。根据以上分析,推断其苷元为  $3\beta, 16\alpha, 29$ -三羟基-13, 28-环氧-齐墩果烷。

<sup>13</sup>CNMR 谱出现 2 个糖基的端基碳信号( $\delta$  105.3, 106.0), <sup>1</sup>HNMR 中也观察到相应 2 个糖基的端基质子信号[ $\delta$ : 5.37(1H, d,  $J = 7.0$  Hz), 4.95(1H, d,  $J = 7.0$  Hz)],通过 HMQC, HMBC, <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY 谱归属两个糖基的 <sup>1</sup>HNMR 和 <sup>13</sup>CNMR 信号(表 1),结合端基质子偶合常数的数据,推测糖基分别为  $\beta$ -D-吡喃葡萄糖醛酸甲酯基和  $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基。因为与  $\beta$ -D-吡喃葡萄糖醛酸的羰基信号相比,  $\beta$ -D-吡喃葡萄糖醛酸甲酯基的羰基信号向高场位移了  $\delta$  6.0 左右, HMBC 谱也显示羰基与甲氧基的 H 有远程相关(图 1),因此,  $\beta$ -D-吡喃葡萄糖醛酸甲酯化。HMBC 谱上可以看到  $\beta$ -D-吡喃葡萄糖醛酸甲酯端基质子( $\delta$  4.95)与  $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基端基质子( $\delta$  5.37)分别与苷元 C-3( $\delta$  89.4)、 $\beta$ -D-吡喃葡萄糖醛酸甲酯 C-2'( $\delta$  82.3) 远程相关(图 1),从而可以确定苷元 3 位连接糖基的位置及顺序。综上所述,此化合物的结构鉴定为:  $3\beta, 16\alpha, 29$ -三羟基-13, 28-环氧-齐墩果烷-3-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖酸甲酯苷[ $3\beta, 16\alpha, 29$ -trihydroxy-13, 28-epoxy-oleanane-3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-(6-methyl ester)- $\beta$ -D-glucuronopyranoside],为一新化合物,命名为黄连花皂苷 D(davuricoside D)。

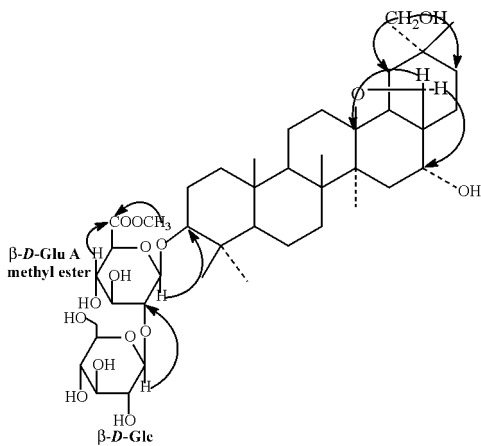


Figure 1 Structure and key HMBC correlations of I

层酸水解检测含有葡萄糖醛酸和葡萄糖。(+) -ESI-MS 显示  $m/z$  981.5[ $M + Na$ ]<sup>+</sup>, (-) -ESI-MS 显示  $m/z$  957.9[ $M - H$ ]<sup>-</sup>,结合 <sup>1</sup>HNMR 和 <sup>13</sup>CNMR 数据推测其分子式为 C<sub>48</sub>H<sub>78</sub>O<sub>9</sub>, 不饱和度为 10。<sup>1</sup>HNMR 显示 7 个甲基信号( $\delta$ : 1.69, 1.15, 1.05, 0.92, 0.92, 0.91, 0.80 均为单峰),一个烯氢信号 5.27(1H, br s, 12-H), <sup>13</sup>CNMR 有  $\delta$ : 144.5, 122.4 两个烯碳特征信号<sup>[41]</sup>,推测化合物可能为  $\Delta^{12}$ -齐墩果烯结构。与已知化合物 primulagenin A 的 <sup>13</sup>CNMR 进行比较(表 1)<sup>[71]</sup>,两者基本相同,区别在于 II C-3, C-22 和 C-28 的  $\delta$  值分别向低场位移了  $\delta$  11.1, 5.4 和 8.8,说明 II 苷元的 C-3 和 C-28 被苷化,形成双糖链皂苷。通过 HMQC 推定 3-H 值为 3.23(1H, br d,  $J = 11.5$  Hz),并且为  $\alpha$  取代。另外,在 II 的 <sup>13</sup>CNMR 中,除糖基及 C-3 含氧碳信号外,还有两个与氧相连的 C 信号( $\delta$  73.1, 79.0),在 HMBC 中这两个碳都与另一个碳上的 H 远程相关(图 2),结合其他远程相关,推断 C-28 为  $\delta$  79.0, C-16 为  $\delta$  73.1,与已知化合物 primulagenin A 相同,进一步证明其苷元为  $3\beta, 16\alpha, 28$ -三羟基-齐墩果-12-烯。

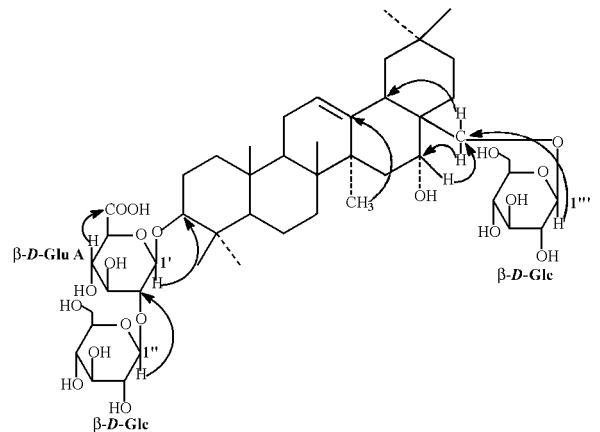


Figure 2 Structure and key HMBC correlations of II

<sup>13</sup>CNMR 显示 3 个糖基的端基碳信号( $\delta$  105.5, 105.2, 104.8), <sup>1</sup>HNMR 也观察到 3 个端基质子信号[ $\delta$ : 5.32(1H, d,  $J = 7.0$  Hz), 4.81(1H, d,  $J = 7.0$  Hz), 4.79(1H, d,  $J = 7.0$  Hz)]。分析 <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY, HMQC, HMBC 谱使 3 个糖残基 <sup>1</sup>HNMR 和 <sup>13</sup>CNMR 信号得到归属(表 1),结合端基质子偶合常数,确定 3 个糖基分别为两个  $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基和 1 个  $\beta$ -D-吡喃葡萄糖醛酸基。HMBC 显示  $\beta$ -D-吡喃葡萄糖醛酸基的端基 H( $\delta$  4.81)与苷元 C-3( $\delta$  89.2) 远程相关;  $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基的端基 H( $\delta$  5.32)与  $\beta$ -D-吡喃葡萄糖醛酸基的 C-2'( $\delta$  81.7) 远程相关,从而可以确定苷元 3 位连

化合物 II 白色无定形粉末, mp 229 ~ 232 °C (MeOH-H<sub>2</sub>O 9:1), [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> - 20.79 (c 0.04, 吡啶), Liebermann-Burchard 反应及 Molish 反应均为阳性,薄

接糖基的位置和连接顺序。而另一  $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基的端基 H ( $\delta$  4.79) 与苷元 C<sub>28</sub> ( $\delta$  79.0) 远程相关, 从而可以确定苷元 28 位连接糖基的位置 (图 2)。综合分析, 推断化合物 II 的结构为:  $3\beta, 16\alpha, 28$ -三羟基-齐墩果-12-烯-3-O- $\{\beta$ -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖醛酸}-28-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷 $\{3\beta, 16\alpha, 28$ -trihydroxy-olean-12-en-3-O- $\{\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl}-28-O- $\beta$ -D-glucopyranoside $\}$ 。为一新化合物, 命名为黄连花皂苷 J (davuriconoside J)。

### 实验部分

熔点用 Fisher-Johns 熔点测定仪(温度未校正), 红外光谱用 Perkin-Elmer 983G 红外光谱仪, 核磁共振用 Bruker ARX500 核磁共振仪(TMS 内标), 质谱用 VGZAB-2F 质谱测定仪和 Zabspec E 质谱测定仪; 旋光度用 Perkin-Elmer 241 型旋光仪; 柱色谱用硅胶(100~200 目和 200~300 目), 青岛海洋化工厂生产; RP-C<sub>18</sub> 硅胶(30~50  $\mu$ m) 由 Alltech 公司生产; 大孔树脂 AB-8, 由天津南开大学化工厂生产; 黄连花采自吉林省安图县, 原植物由本所资源室郭宝林博士鉴定为 *Lysimachia davurica* Ledeb. 的干燥全草。

#### 1 提取与分离

黄连花干燥的全草 16 kg, 95% EtOH 和 50% EtOH 回流提取 3 次, 合并滤液, 减压浓缩得浸膏。浸膏混溶于水, 分别以石油醚, CHCl<sub>3</sub>, EtOAc, *n*-BuOH 萃取, 回收萃取液得各个部分浸膏。*n*-BuOH 浸膏 460 g, 经大孔树脂 AB-8 柱, 用 H<sub>2</sub>O 洗去杂质, 以 95% EtOH 洗脱, 得总皂苷 27.7 g, 总皂苷经硅胶柱色谱, CHCl<sub>3</sub>-MeOH (含 5% 水) 梯度洗脱, 得 7 个流份。其中第 2 流份经反复硅胶柱色谱, CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O (75: 25: 7) 洗脱, 得化合物 I; 第 6 流份常压反相硅胶柱色谱, MeOH-H<sub>2</sub>O (43: 57) 洗脱, 得化合物 II。

#### 2 结构鉴定

化合物 I 白色无定形粉末, mp 184~186 °C (MeOH),  $[\alpha]_D^{20}$  -16.00 (c 0.01, 吡啶), Liebermann-Burchard 反应阳性, Molish 反应阳性, 薄层酸水解检测含有葡萄糖醛酸和葡萄糖; IR (KBr) cm<sup>-1</sup>: 3330 (OH), 2950, 2880, 1730 (C=O), 1470, 1345, 1220, 1050, 920; TOF-MS  $m/z$ : 849.5 [M+Na]<sup>+</sup>, 827.3 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N<sub>4</sub>d<sub>5</sub>)  $\delta$ : 5.37 (1H, d, J = 7.0 Hz, 1''-H), 4.95 (1H, d, J = 7.0 Hz, 1'-H), 4.23 (1H, m, 16-H), 3.74 (2H, s, 29-H<sub>2</sub>), 3.72 (3H, s, glu A

Me), 3.62 (1H, d, J = 7.5 Hz, 28-Ha), 3.26 (1H, d, J = 7.5 Hz, 28-Hb), 3.25 (1H, dd, J = 4.5, 11.5 Hz, 3-H), 1.55 (3H, s, Me-27), 1.34 (3H, s, Me-26), 1.24 (3H, s, Me-30), 1.24 (3H, s, Me-23), 1.08 (3H, s, Me-24), 0.86 (3H, s, Me-25); <sup>13</sup>C NMR 数据见表 1。

Table 1 <sup>13</sup>C NMR data of compounds I (125 MHz) and II (500 MHz, in pyridine-d<sub>5</sub>)

C	I	Primulagenin A	II	C	I	II
1	39.8	38.8	38.7	3-O-glu A		
				1'	105.3	104.8
2	26.8	26.4	26.2	2'	82.3	81.7
3	89.4	78.1	89.2	3'	77.6	77.7
4	39.3	39.6	39.3	4'	71.9	73.8
5	55.8	55.9	55.6	5'	77.3	78.0
6	18.6	18.7	18.2	6'	170.4	176.0
					52.1 (OCH <sub>3</sub> )	
7	34.6	33.3	32.1	glc		
				1''	106.0	105.2
8	44.7	40.0	39.8	2''	76.8	76.5
9	50.9	47.0	46.8	3''	77.0	78.2
10	37.1	36.8	36.5	4''	72.9	71.4
11	20.4	23.8	23.5	5''	78.0	78.2
12	37.0	122.5	122.4	6''	62.9	62.5
13	86.6	145.1	144.5	28-O-glc		
				1'''		105.5
14	45.3	41.9	41.6	2'''		74.8
15	37.6	34.6	34.4	3'''		77.5
16	77.0	74.1	73.1	4'''		71.3
17	42.6	40.8	40.0	5'''		78.2
18	52.1	42.4	42.9	6'''		62.4
19	28.0	48.2	47.7			
20	50.6	30.3	30.8			
21	33.0	36.8	36.3			
22	32.4	31.1	36.5			
23	30.0	28.2	27.8			
24	16.6	16.7	16.5			
25	16.5	15.6	15.6			
26	18.0	17.1	16.9			
27	19.7	27.2	27.2			
28	78.0	70.2	79.0			
29	75.0	33.4	33.1			
30	19.3	24.8	24.8			

化合物 II 白色无定形粉末, mp 229~232 °C (MeOH-H<sub>2</sub>O 9: 1),  $[\alpha]_D^{20}$  -20.79 (c 0.04, 吡啶), Liebermann-Burchard 反应阳性, Molish 反应阳性, 薄层酸水解检测含有葡萄糖醛酸和葡萄糖; IR (KBr) cm<sup>-1</sup>: 3630 (COOH), 3200 (OH), 2970, 2880, 1730 (C=O), 1630, 1485, 1315, 1230, 1070, 940; (+)-ESI-MS  $m/z$ : 981.5 [M+Na]<sup>+</sup>, (-)-ESI-MS  $m/z$ : 957.9 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N<sub>4</sub>d<sub>5</sub>)  $\delta$ : 5.27 (1H, br s,

12-H), 5.32(1 H, d,  $J = 7.0$  Hz, 1''-H), 4.81(1 H, d,  $J = 7.0$  Hz, 1'-H), 4.79(1 H, d,  $J = 7.0$  Hz, 1'''-H), 4.23(1 H, m, 16-H), 4.03(1 H, d,  $J = 8.0$  Hz, 28-Ha), 3.88(1 H, d,  $J = 8.0$  Hz, 28-Hb), 3.23(1 H, br d,  $J = 11.0$  Hz, 3-H), 1.69(3 H, s, Me-27), 1.15(3 H, s, Me-23), 1.05(3 H, s, Me-24), 0.92(3 H, s, Me-29), 0.92(3 H, s, Me-30), 0.91(3 H, s, Me-26), 0.80(3 H, s, Me-25); <sup>13</sup>CNMR数据见表1。

## References:

- [1] Tian JK, Xu LZ, Zou ZM, *et al.* Development of medicinal plants of *Lysimachia* genus [J]. *Foreign Med Sci (Sect Tradit Chin Med)* (国外医学 - 中医中药分册), 2002, **24**:80 - 85.
- [2] Tian JK, Xu LZ, Zou ZM, *et al.* Study on the components of *Lysimachia davurica* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, **32**(11):967 - 969.
- [3] Tian JK, Xu LZ, Zou ZM, *et al.* Study on the components of *Lysimachia davurica* (II) [J]. *Bull Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2002, **27**(4):283 - 284.
- [4] Mahato SB, Kundu AP. <sup>13</sup>CNMR spectra of pentacyclic triterpenoids — a compilation and some salient features [J]. *Phytochemistry*, 1994, **37**(6):1517 - 1575.
- [5] Jia ZH, Koike K, Ohimoto T, *et al.* Triterpene saponins from *Mysine pellucida* [J]. *Phytochemistry*, 1994, **37**(5):1389 - 1396.
- [6] Yu DQ, Yang JS. *Handbook of Analytical Chemistry (The Seventh Fascicule)* (分析化学手册 - 第七册) [M]. Vol 7. Beijing: Chemical Industry Press, 1999.428 - 444,793 - 799.
- [7] Reznicek G, Jurenitsch J, Robien W. Saponins in *Cyclamamen* species configuration of cyclamiretin C and structure of isocyclamin [J]. *Phytochemistry*, 1989, **28**(3):825 - 828.