

金丝桃化学成分的研究

徐晓诗¹, 滕海达², 符元泽¹, 李庆庆¹, 李 竣^{1*}, 杨光忠^{3*}

1. 中南民族大学药学院, 湖北 武汉 430074

2. 中南民族大学化学与材料科学学院, 湖北 武汉 430074

3. 中南民族大学 民族药国家实验教学示范中心, 湖北 武汉 430074

摘要: 目的 研究金丝桃 *Hypericum monogynum* 地上部分的化学成分。方法 采用溶剂提取法, 正、反相硅胶柱色谱及高效液相等多种色谱技术对其化学成分进行分离纯化, 并根据理化性质和现代波谱技术对其进行结构鉴定。结果 从金丝桃氯仿提取物中分离得到 6 个化合物, 分别鉴定为金丝桃素甲 (1)、 β -谷甾醇 (2)、 $5\alpha,8\alpha$ -epidioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol (3)、isocudranianthone B (4)、白桦脂酸 (5)、2-hydroxydiplopterol (6)。结论 化合物 1 为新化合物, 化合物 3、4、6 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 金丝桃; 三萜; 甾体; 金丝桃素甲; 白桦脂酸; 2-hydroxydiplopterol

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)04-0798-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.04.002

Chemical constituents from *Hypericum monogynum*

XU Xiao-shi¹, TENG Hai-da², FU Yuan-ze¹, LI Qing-qing¹, LI Jun¹, YANG Guang-zhong³

1. College of Pharmacy, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074, China

2. College of Chemistry and Materials Science, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074, China

3. National Demonstration Center for Experimental Ethnopharmacology Education, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents of *Hypericum monogynum*. **Methods** The chemical constituents were isolated and purified by solvent extraction method, the normal and reverse phase silica gel column chromatography and semi-preparative high performance liquid chromatography. **Results** Six compounds were isolated from the chloroform extract of *H. monogynum*. Their structures were identified as hypermongone A (1), β -sitosterol (2), $5\alpha,8\alpha$ -epidioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol (3), isocudranianthone B (4), betulinic acid (5), and 2-hydroxydiplopterol (6) by the physicochemical properties and modern spectroscopic methods. **Conclusion** Compound 1 is a new compound, and compounds 3, 4, and 6 are isolated from *H. monogynum* for the first time.

Key words: *Hypericum monogynum* L.; triterpenoids; steroids; hypermongone A; betulinic acid; 2-hydroxydiplopterol

金丝桃 *Hypericum monogynum* L. 为藤黄科 (Guttiferae) 金丝桃属 *Hypericum* Linn. 植物, 该属植物在全球范围内约有 500 种, 我国约有 50 种, 主要分布在华东、华中、华南、川东北以及陕甘南。其花、根、叶均可入药, 具有抗风湿、治肝炎、抗菌消炎、治疗支气管炎、止血生肌等作用, 现代药理表明该植物提取物具有抗氧化、抗菌和抗病毒等多种活性^[1-2]。国内外学者对金丝桃进行化学成分研究, 其

主要的化学成分包括间苯三酚、黄酮、吡啶和萜类等多种结构类型, 呈现出结构类型的多样性^[3-9]。

为进一步从该植物中寻找结构新颖和具有一定药理活性的化合物, 本实验利用正、反相硅胶柱色谱, 半制备高效液相色谱等多种分离手段, 从其氯仿提取物中分离得到 6 个化合物, 分别鉴定为金丝桃素甲 (hypermongone A, 1)、 β -谷甾醇 (β -sitosterol, 2)、 $5\alpha,8\alpha$ -epidioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol

收稿日期: 2018-09-23

基金项目: 国家重大新药创制科技重大专项 (2017Z09301060); 中央高校基本科研业务费资助项目 (CZP18004)

作者简介: 徐晓诗, 女, 硕士, 主要从事天然药物化学的研究。E-mail: 596313638@qq.com

*通信作者 杨光忠, 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 主要从事天然药物化学的研究。Tel: (027)67841196 E-mail: yanggz888@126.com

李 竣, 男, 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要从事天然药物化学的研究。E-mail: lijun-pharm@hotmail.com

(3)、isocudraniaxanthone B (4)、白桦脂酸 (betulinic acid, 5)、2-hydroxydiplopterol (6); 其中化合物 1 为新化合物, 化合物 3、4、6 为首次从该植物中分离得到。

1 仪器与试剂

Ultimate 3000 半制备型高效液相色谱仪 (美国戴安公司, VWD, DAD 检测器); YMC-Pack ODS-A 半制备型色谱柱 (250 mm × 10 mm, 5 μm); M-600/500 型核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司); AX224ZH/E 型电子天平 [奥豪斯仪器 (常州) 有限公司]; Q Exactive 高分辨质谱仪 (赛默飞世尔科技有限公司); 柱色谱硅胶 (200~300、300~400 目, 青岛海洋化工厂); 石油醚、醋酸乙酯、正丁醇、乙醇、甲醇 (分析纯, 国药集团); 95% 工业乙醇 (武汉兴和达商贸有限公司); 甲醇 (色谱级, Sigma 公司); 乙腈 (色谱级, 中国昌泰兴业有限公司)。

金丝桃采集于湖北省利川县, 由中南民族大学生命科学学院刘虹博士鉴定为藤黄科金丝桃属植物金丝桃 *Hypericum monogynum* L.。凭证标本 (20160912) 保存于中南民族大学药学院标本室。

2 提取与分离

取金丝桃地上部分 0.84 kg, 粉碎后用 95% 的工业乙醇室温浸泡 3 次, 每次 24 h。将 3 次提取液滤过、合并滤液, 减压浓缩得浸膏 (103.8 g)。浸膏加水混悬后用氯仿进行萃取, 得氯仿提取物 (45 g)。取氯仿层提取物进行硅胶柱色谱, 以石油醚-醋酸乙酯为流动相梯度洗脱 (50 : 1、19 : 1、10 : 1、9 : 1、8 : 2、7 : 3、6 : 4、1 : 1、3 : 7、2 : 8、0 : 1), 收集各洗脱液, 薄层色谱 (TLC) 检测、合并相同流分得到 10 个组分 (Fr. A~J)。Fr. E 重结晶后得到化合物 2 (10 mg)。Fr. F (3.7 g) 经反相硅胶柱色谱 (ODS, 50 μm), 以水-甲醇为流动相梯度洗脱 (7 : 3、5 : 5、3 : 7、1 : 9、0 : 10), 共收集到 6 个组分 (Fr. F.1~F.6), Fr. F.5 重结晶得到化合物 5 (15 mg)。合并 Fr. G 和 Fr. H (6.46 g) 经反相硅胶柱色谱 (ODS, 50 μm), 以水-甲醇为流动相梯度洗脱 (7 : 3、5 : 5、3 : 7、1 : 9、0 : 10), 共收集到 5 个组分 (Fr. GH.1~GH.5), Fr. GH.3 (60.4 mg) 经半制备 HPLC (乙腈-水 46 : 54) 分别得到化合物 1 (18.0 mg, $t_R=13.6$ min); Fr. GH.4 进行正相硅胶柱色谱, 以氯仿-石油醚为流动相梯度洗脱 (1 : 1、6 : 4、7 : 3、8 : 2、10 : 1、20 : 1、50 : 1), 共收集到 6 个组分 (Fr. GH.4.1~GH.4.6), Fr. GH.4.4 重结晶得到化合物 6 (8 mg), Fr. GH.4.5 经半

制备 HPLC (乙腈-水 95 : 5) 分别得到化合物 3 (4.8 mg, $t_R=27.4$ min) 和 4 (1.2 mg, $t_R=22.3$ min)。

3 结构鉴定

化合物 1: 白色粉末, $[\alpha]_D^{20} -89.66^\circ$ (c 0.20, MeOH), UV 图谱给出最大吸收波长为 298.1、253.8、224.1 nm, 说明该化合物存在着苯环和 α,β -不饱和羰基的结构单元。由 HR-EI-MS 得到分子离子峰 m/z 296.089 9 $[M]^+$ (计算值 296.089 6), 推断化合物 1 的分子式为 $C_{14}H_{16}O_7$, 不饱和度为 7, 由 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) 图谱可知有 1 个 1,2,4-三取代的苯环特征信号 [δ_H 6.74 (1H, d, $J=3.0$ Hz), 7.10 (1H, d, $J=9.0$ Hz), 6.70 (1H, dd, $J=3.0, 9.0$ Hz)], 1 个三取代双键质子的信号 [δ_H 5.68 (1H, s)], 1 个连氧次甲基质子信号 [δ_H 4.38 (1H, dd, $J=5.0, 12.5$ Hz)], 2 个甲氧基信号 [δ_H 3.55 (3H, s), 3.77 (3H, s)]。由 ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) 图谱可知有 1 个 α,β -不饱和共轭羰基的信号 [δ_C 165.4 (s), 108.5 (d), 197.8 (s)], 1 个半缩酮信号 [δ_C 95.0 (s)], 3 个 sp^2 杂化的季碳 [δ_C 135.1 (s), 157.5 (s), 142.8 (s)], 3 个 sp^2 杂化的次甲基 [δ_C 103.3 (d), 111.6 (d), 119.5 (d)], 1 个连氧次甲基 [δ_C 73.1 (d)], 1 个亚甲基 [δ_C 44.1 (t)], 2 个甲氧基 [δ_C 53.8 (q), 56.5 (q)], 综上所述可以推出结构中存在片段 A、B-1 和 B-2 (图 1)。由 HSQC 谱和 1H - 1H COSY 谱可知 H-4 [δ_H 2.63 (1H, dd, $J=5.0, 16.0$ Hz), 2.83 (1H, dd, $J=12.5, 16.0$ Hz)] 与 H-5 [δ_H 4.38 (1H, dd, $J=5.0, 12.5$ Hz)] 相关, 推出结构片段 B-3 (图 1)。除去已有结构片段 1 个苯环和 1 个 α,β 不饱和共轭羰基, 可知化合物 1 还剩余 1 个不饱和度。由 HMBC 谱可知 H-2 和 C-4 (44.1), C-6 (95.0) 相关, H-4 和 C-3 (197.8), C-6 (95.0) 相关, 说明 B-1 和 B-3 通过 C-3 和 C-4 相连, 以及 B-1 和 B-3 分别通过 C-1 和 C-5 与 B-2 相连, 这样构建了具有 α,β 不饱和共轭羰基的六元环的结构片段 B (图 1)。2 个甲氧基的信号分别同 C-6 和 C-9 相关,

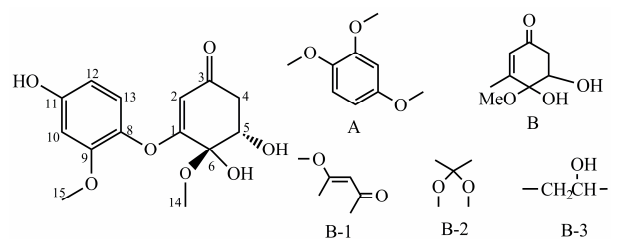


图 1 化合物 1 的结构及其结构推导片段
Fig. 1 Structure and fragments of compound 1

可知 2 个甲氧基分别连在 C-6 位和 C-9 位上, ROSEY 进一步证实了上述推断。同 2-methoxy-*p*-hydroquinone 的碳谱数据比较^[10], 发现化合物 1 的 C-8 向高场位移了 $\delta 4$, C-9 和 C-13 位分别向低场位移 $\delta 8$ 和 5, 因而片段 A 和 B 通过醚键在 C-1 和 C-8 上相连^[11], 其相对立体化学通过 ROESY 谱确定, 14-OMe 与 H-5 相关, 因而 5 位和 6 位的羟基处于顺式, 化合物 1 的结构鉴定如图 2 所示, 具体核磁数据见表 1,

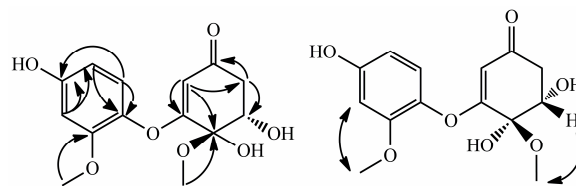


图 2 化合物 1 的主要 HMBC (→) 和 ROESY (↔) 相关
Fig. 2 Key HMBC (→) and ROESY (↔) correlations of compound 1

表 1 化合物 1 的 ¹H- 和 ¹³C-NMR 数据 (500/125 MHz, methanol-*d*₄)
Table 1 ¹H- and ¹³C-NMR data of compound 1 (500/125 MHz, methanol-*d*₄)

碳位	δ_C	δ_H	碳位	δ_C	δ_H
1	165.4		9	157.5	
2	108.5	5.68 (s)	10	103.3	6.74 (d, $J = 3.0$ Hz)
3	197.8		11	142.8	
4	44.1	2.63 (dd, $J = 5.0, 16.0$ Hz), 2.83 (dd, $J = 12.5, 16.0$ Hz)	12	111.6	6.70 (dd, $J = 3.0, 9.0$ Hz)
5	73.1	4.38 (dd, $J = 5.0, 12.5$ Hz)	13	119.5	7.10 (d, $J = 9.0$ Hz)
6	95.0		14	53.8	3.55 (s)
8	135.1		15	56.5	3.77 (s)

为 1 个新化合物, 命名为金丝桃素甲。

化合物 2: 白色晶体 (氯仿), HR-ESI-MS m/z : 415.393 37 $[M+H]^+$ (计算值 415.393 44, C₂₉H₅₁O)。分子式为 C₂₉H₅₀O, ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 0.67 (3H, s, 18-CH₃), 0.80 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, 27-CH₃), 0.83 (3H, d, $J = 7$ Hz, 26-CH₃), 0.84 (3H, d, $J = 7.5$ Hz, 29-CH₃), 0.91 (3H, d, $J = 7.5$ Hz, 21-CH₃), 1.00 (3H, s, 19-CH₃), 3.52 (1H, m, H-3), 5.34 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, H-6); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 37.4 (C-1), 31.8 (C-2), 72.1 (C-3), 42.5 (C-4), 141.0 (C-5), 121.9 (C-6), 32.1 (C-7), 32.1 (C-8), 50.3 (C-9), 36.7 (C-10), 26.2 (C-11), 39.9 (C-12), 42.5 (C-13), 56.9 (C-14), 24.5 (C-15), 28.4 (C-16), 56.2 (C-17), 12.0 (C-18), 19.6 (C-19), 36.3 (C-20), 19.2 (C-21), 34.1 (C-22), 23.2 (C-23), 46.0 (C-24), 29.3 (C-25), 12.2 (C-26), 20.0 (C-27), 21.2 (C-28), 18.9 (C-29)。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 2 为 β -谷甾醇。

化合物 3: 针状结晶 (氯仿), HR-ESI-MS m/z : 429.336 46 $[M+H]^+$ (计算值 429.336 32, C₂₈H₄₅O₃)。分子式为 C₂₈H₄₄O₃, ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 6.50 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6), 6.24 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-7), 5.21 (1H, m, H-23), 5.13 (1H, m, H-22), 3.96 (1H, m, H-3), 0.99 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, 21-CH₃), 0.90

(3H, d, $J = 7.2$ Hz, 28-CH₃), 0.88 (3H, s, 19-CH₃), 0.83 (3H d, $J = 6.6$ Hz, 27-CH₃), 0.80 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, 26-CH₃), 0.81 (3H, s, 18-CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 37.1 (C-1), 30.3 (C-2), 66.6 (C-3), 34.9 (C-4), 82.4 (C-5), 135.4 (C-6), 130.9 (C-7), 79.6 (C-8), 51.2 (C-9), 37.1 (C-10), 20.8 (C-11), 39.5 (C-12), 44.7 (C-13), 51.9 (C-14), 23.6 (C-15), 28.7 (C-16), 56.4 (C-17), 13.1 (C-18), 18.4 (C-19), 40.0 (C-20), 21.1 (C-21), 135.6 (C-22), 132.5 (C-23), 42.9 (C-24), 33.2 (C-25), 19.8 (C-26), 20.2 (C-27), 17.8 (C-28)。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 3 为 5 α ,8 α -epidioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol。

化合物 4: 黄色粉末, HR-ESI-MS m/z : 343.117 49 $[M+H]^+$ (计算值 343.117 61, C₁₉H₁₉O₆)。分子式为 C₁₉H₁₈O₆, ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.56 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-4), 6.87 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-3), 6.41 (1H, s, H-2), 6.39 (1H, dd, $J = 10.8, 17.4$ Hz, H-14), 4.90 (1H, dd, $J = 1.2, 17.4$ Hz, H-15a), 4.82 (1H, dd, $J = 10.8, 1.2$ Hz, H-15b), 3.83 (3H, s, 16-CH₃), 1.70 (6H, s, 12, 13-CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 163.6 (C-1), 96.4 (C-2), 166.9 (C-3), 114.7 (C-4), 156.7 (C-4a), 134.4 (C-5), 153.1 (C-6), 113.7 (C-7), 117.3 (C-8), 115.2 (C-8a), 182.8 (C-9), 104.1 (C-9a), 147.9 (C-10a), 42.5 (C-11), 30.3

(C-12), 30.3 (C-13), 152.9 (C-14), 107.5 (C-15)。以上数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 4 为 isocudraniaxanthone B。

化合物 5: 白色晶体 (氯仿), HR-ESI-MS m/z : 479.349 67 $[M + Na]^+$ (计算值 479.349 57, $C_{30}H_{48}O_3Na$)。分子式为 $C_{30}H_{48}O_3$, 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.74 (3H, s, 27- CH_3), 0.81 (3H, s, 26- CH_3), 0.92 (3H, s, 25- CH_3), 0.95 (3H, s, 24- CH_3), 0.97 (3H, s, 23- CH_3), 1.68 (3H, s, 30- CH_3), 4.60 (1H, s, H-29a), 4.73 (1H, s, H-29b); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 38.8 (C-1), 27.5 (C-2), 79.2 (C-3), 39.0 (C-4), 55.5 (C-5), 18.4 (C-6), 34.4 (C-7), 40.8 (C-8), 50.6 (C-9), 37.3 (C-10), 21.0 (C-11), 25.6 (C-12), 38.5 (C-13), 42.6 (C-14), 30.7 (C-15), 32.2 (C-16), 56.4 (C-17), 49.4 (C-18), 47.0 (C-19), 150.6 (C-20), 29.8 (C-21), 37.2 (C-22), 28.1 (C-23), 15.5 (C-24), 16.2 (C-25), 16.3 (C-26), 14.8 (C-27), 180.1 (C-28), 109.9 (C-29), 19.5 (C-30)。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 5 为 betulinic acid。

化合物 6: 白色晶体 (氯仿), HR-ESI-MS m/z : 427.393 46 $[M - H_2O + H]^+$ (计算值 427.393 44, $C_{30}H_{51}O$)。分子式为 $C_{30}H_{52}O_2$, 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.75 (3H, s, 28- CH_3), 0.83 (3H, s, 24- CH_3), 0.85 (3H, s, 25- CH_3), 0.91 (3H, s, 23- CH_3), 0.94 (3H, s, 26- CH_3), 0.94 (3H, s, 27- CH_3), 1.17 (3H, s, 30- CH_3), 1.20 (3H, s, 29- CH_3), 1.07 (1H, t, $J = 11.4$ Hz, H-3), 1.93 (1H, m, H-16), 2.05 (1H, m, H-1), 2.21 (1H, m, H-21), 3.86 (1H, m, H-2); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 49.8 (C-1), 65.5 (C-2), 51.3 (C-3), 35.1 (C-4), 55.7 (C-5), 18.6 (C-6), 33.3 (C-7), 42.0 (C-8), 50.4 (C-9), 39.3 (C-10), 21.2 (C-11), 24.2 (C-12), 49.9 (C-13), 42.0 (C-14), 34.3 (C-15), 22.0 (C-16), 54.0 (C-17), 44.2 (C-18), 41.3 (C-19), 26.8 (C-20), 51.2 (C-21), 74.2 (C-22), 33.6 (C-23), 22.6 (C-24), 16.3 (C-25), 17.1 (C-26), 17.2 (C-27), 16.9 (C-28), 31.0 (C-29), 28.8 (C-30)。以上数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 6 为 2-hydroxy-diplopterol。

参考文献

- [1] 潘映红, 郭宝林. 国产金丝桃属药用植物资源现状及利用前景 [J]. 中药材, 1993, 16(3): 14-18.
- [2] 肖志勇, 穆青. 金丝桃属植物化学成分研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(2): 344-355.

- [3] Zeng Y R, Yi P, Gu W, *et al.* Hypermonis A and B, two 6-norpolyprenylated acylphloroglucinols with unprecedented skeletons from *Hypericum monogynum* [J]. *Org Biomol Chem*, 2018, 16(22): 4195-4198.
- [4] Zeng Y R, Wang L P, Hu Z X, *et al.* Chromanopyrones and a flavone from *Hypericum monogynum* [J]. *Fitoterapia*, 2018, 125: 59-64.
- [5] Xu W J, Luo J, Li R J, *et al.* Furanmonogones A and B: Two rearranged-acylphloroglucinols with a 4,5-*seco*-3 (2H)-furanone core from the flowers of *Hypericum monogynum* [J]. *Org Chem Front*, 2016, 4(2): 313-317.
- [6] Xu W J, Li R J, Quasie O, *et al.* Polyprenylated tetraoxygenated xanthenes from the roots of *Hypericum monogynum* and their neuroprotective activities [J]. *J Nat Prod*, 2016, 79(8): 1971-1981.
- [7] Xu W J, Zhu M D, Wang X B, *et al.* Hypermongones A-J, rare methylated polycyclic polyprenylatedacylphloroglucinols from the flowers of *Hypericum monogynum* [J]. *J Nat Prod*, 2015, 78(5): 1093-1100.
- [8] Arfan M, Raziq N, Aljancic L, *et al.* Secondary metabolites of *Hypericum monogynum* from pakistan [J]. *J Serb Chem Soc*, 2009, 74(2): 129-132.
- [9] 王静, 彭树林, 王明奎, 等. 金丝桃的化学成分 [J]. 中国中药杂志, 2002, 27(2): 120-122.
- [10] Smith T J, Weame R H, Wallis A F A. Preparation and properties of chlorinated syringic acids, acetosyringones, acetoguaiacones and methoxy-*p*-hydroquinones-components of pulp bleaching effluents [J]. *Chemosphere*, 1995, 30(1): 69-80.
- [11] 裴月湖, 娄红祥. 天然药物化学 [M]. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2016.
- [12] 刘坤, 贾艳菊, 槐雅萍. 离舌橐吾干燥根中1个新的三萜皂苷 [J]. 中草药, 2018, 49(18): 4216-4219.
- [13] 陈玉, 刘流, 牛艳芬. 灵芝化学成分的研究 [J]. 中南民族大学学报, 2016, 35(2): 10-14.
- [14] Motomasa K, Taifo M, Naoki Y, *et al.* Indonesian medicinal plants. xxi. inhibitors of Na^+/H^+ exchanger from the bark of *erythrina variegata* and the roots of *maclura cochinchinensis* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1997, 45(10): 1615-1619.
- [15] 刘育辰, 陈有根, 王丹, 等. 甘草化学成分研究 [J]. 药物分析杂志, 2011, 31(7): 1251-1254.
- [16] Wang W L, Liu P P, Zhang Y P, *et al.* 2-Hydroxydiplopterol, a new cytotoxic pentacyclic triterpenoid from the halotolerant fungus *aspergillus varicolor* B-17 [J]. *Arch Pharm Res*, 2009, 32(9): 1211-1214.