

加拿大杨树芽化学成分的研究*

□王想想 周立东** 南 垚 孟庆伟

(中国医学科学院药用植物研究所 北京 100094)

摘要:目的: 研究加拿大杨树芽的化学成分。方法: 用色谱方法分离加拿大杨树芽的乙酸乙酯提取物。结果: 分离得到 11 个化合物, 根据理化性质和波谱数据并与文献对照, 分别鉴定为: 球松素 (pinostrobin, 1)、白杨素 (chrysin, 2)、山柰素 (kaempferol, 3)、芹菜素 (apigenin, 4)、异鼠李素 (isorhamnetin, 5)、异阿魏酸 (isoferulic acid, 6)、槲皮素 (quercetin, 7)、3-O-甲基槲皮素 (3-O-methyl quercetin, 8)、咖啡酸 (caffeic acid, 9)、高良姜素-7-O-β-D-葡萄糖苷 (galangin-7-glucoside, 10)、白杨素-7-O-β-D-葡萄糖苷 (chrysin-7-glucoside, 11)。结论: 化合物 3、5、8 和 10 首次从该属植物中分离得到。

关键词: 加拿大杨 化学成分 黄酮

加拿大杨 (*Populus canadensis* Moench.) 为杨柳科杨属黑杨组 (Sect. *Aigeitos* Duby) 植物, 在我国有广泛分布。杨树和蜂胶关系密切, 是北温带蜂胶主要胶源植物^[1]。近年来, 蜂胶在我国医药和保健品行业中得到广泛运用。蜂胶的化学成分研究比较深入, 但其胶源植物研究较少 (尤其是芽)^[2]。为了探明杨树芽内在成分, 对其进行系统研究。从加杨树芽乙酸乙酯部分分离得到 11 个化合物, 分别是: 球松素 (pinostrobin, 1)、白杨素 (chrysin, 2)、山柰素 (kaempferol, 3)、芹菜素 (apigenin, 4)、异鼠李素 (isorhamnetin, 5)、异阿魏酸 (isoferulic acid, 6)、槲皮素 (quercetin, 7)、3-O-甲基槲皮素 (3-O-methyl quercetin, 8)、咖啡酸 (caffeic acid, 9)、高良姜素-7-O-β-D-葡萄糖苷 (galangin-7-glucoside, 10)、白杨素-7-O-β-D-葡萄糖苷 (chrysin-7-glucoside, 11)。

一、仪器、试剂及材料

熔点用 Fisher-Johns 熔点仪测定; UV 用 SHI-

MADZU UV-2550 型紫外可见分光光度仪测定; IR 用 SHIMADZU FTIR-8400S 型红外光谱仪测定 (KBr 压片); 核磁用 BRUKER 核磁共振仪 (500MHz) 测定, TMS 为内标; MS 用 AutoSpec Ultima ToF 质谱仪测定; Sephadex LH-20 凝胶为 Pharmacia 公司产品; 所用柱色谱硅胶及 GF254 薄层板均为青岛海洋化工厂生产; 聚酰胺薄层板为浙江四甲生化塑料厂生产。所用试剂均为分析纯, 北京化工厂生产。所用标准对照品购于中国药品生物制品检定所。加杨原植物经本所标本馆米泰康先生鉴定。

二、提取和分离

加杨树芽 (6.5kg) 冷冻粉碎, 以 95% 和 70% 乙醇渗漉提取各 3 次, 减压回收渗漉液, 浓缩液在水浴上加热挥发至无醇味, 得浸膏 4380g。乙醇提取物用少量水分散, 分别用石油醚 (60~90)、二氯甲烷、乙酸乙酯和正丁醇依次萃取。取乙酸乙酯部分 (约 77g) 经硅胶 (80~100 目) 柱层析, 以氯仿-甲醇梯度洗脱, 氯仿-甲醇 (99:1) 得化合物 (1) 50mg、化合物 (2) 31mg, 氯仿-甲醇 (98:2, 97:3) 部分经 Sephadex LH-20 分离

收稿日期: 2007-08-30

修回日期: 2007-10-21

* 科技部科研院所社会公益研究专项 (2004DIB4J144): 中国蜂胶质量评价技术和标准研究, 负责人: 赵静。

** 联系人: 周立东, 研究员, 硕士生导师, 主要研究方向: 天然药物化学, Tel: 010-62813152, E-mail: ldzhou@implad.ac.cn。

纯化得到化合物(3) 3mg、化合物(4) 16mg、化合物(5) 7mg、化合物(6) 38mg。氯仿- 甲醇(95 5) 经反复硅胶柱层析(200 ~300 目) 和 Sephedex LH- 20 得到化合物(7) 140mg、化合物(8) 53mg、化合物(9) 271mg。氯仿- 甲醇(9 1) 部分经 Sephedex LH- 20 分离纯化得化合物(10) 45mg、化合物(11) 16mg。

三、结构鉴定

化合物 1 和 3 分别为二氢黄酮(醇) 类化合物, 见表 1。化合物 2、4、5、7、8、10 和 11 结构母核为黄酮(醇) 类化合物, 化合物 2、4、11 为黄酮类化合物, 而 5、7、8 为黄酮醇类化合物, 其中化合物 10、11 的 7 位连有 β-D- 葡萄糖, 见表 2。化合物 6、9 以肉桂酸为结构母核, 不同之处在于对位上的取代基, 见表 3。

1. 化合物 1

白色片状结晶(CH₃OH), mp101 ~102 , 盐酸镁粉反应呈阳性。EI- MS m/z: 270[M]⁺, 269[M- H]⁺, 193[M- B]⁺, 167[A₁+H]⁺, 166[A₁]⁺, 138[A₁- CO]⁺, 104[B₁]⁺, 103[B₁- H]⁺, 77[B]⁺。上述数据与球松素文献报道一致^[3]。点样于聚酰胺板上, 用球松素对照品对照, 用多种溶剂体系展开, 均显示相同 R_f 值, 故将该化合物鉴定为球松素(pinostrobin)。

2. 化合物 2

黄色颗粒(CH₃OH), mp 210 ~211 , 盐酸镁粉反应呈阳性。EI- MS m/z: 254[M]⁺, 226[M- CO]⁺, 152[A₁]⁺, 124[A₁- CO]⁺, 102[B₁]⁺, 77[B₂- CO]⁺。上述数据与白杨素文献报道一致^[3]。点样于聚酰胺板上, 用白杨素对照品对照, 用多种溶剂体系展开, 均显示相同 R_f 值。故将该化合物鉴定为白杨素(chrysin)。

3. 化合物 3

黄色颗粒(CH₃OH), mp 274 ~276 , 盐酸镁粉反应呈阳性。UV λ_{max}^{n m} 266, 366 (MeOH); 279, 320, 421 (NaOMe); 269, 304sh, 424 (AlCl₃); 269, 304sh, 352, 423 (AlCl₃/HCl); 275, 304, 387 (NaOAc); 267, 290, 367 (NaOAc/H₃BO₃)。EI- MS m/z286[M]⁺, 258[M- CO]⁺, 257[M- CO- H]⁺, 229[M- CO- H- CO]⁺, 153[A₁+H]⁺, 121[B₂]⁺。氢谱数据见表 4。上述数据与文献一致^[4,5], 故鉴定为山

柰素(kaempferol)。

4. 化合物 4

淡黄色粉末(CH₃OH), mp > 300 。盐酸镁粉反应呈阳性。UV λ_{max}^{n m} 268, 334(MeOH); 275, 325, 392 (NaOMe); 276, 302, 348, 383(AlCl₃); 278, 301, 342, 383 (AlCl₃/HCl); 275, 301sh, 381(NaOAc), 268, 341(NaOAc/

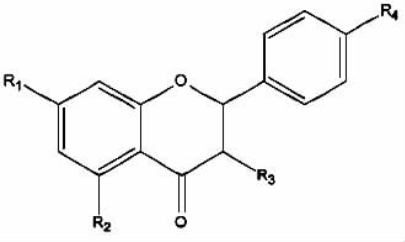


表 1 化合物 1、3 的结构

序号	名称	分子式	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
1	Pinostrobin	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	OMe	OH	H	H
3	Kaempferol	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	OH	OH	OH	OH

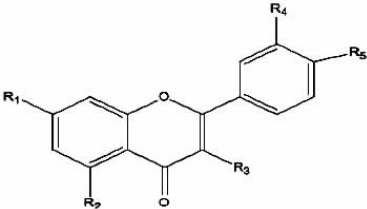


表 2 化合物 2、4、5、7、8、10、11 的结构

序号	名称	分子式	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
2	Chrysin	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	OH	OH	H	H	H
4	Apigenin	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	OH	OH	H	H	OH
5	Isorhamnetin	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	OH	OH	OH	OMe	OH
7	Quercetin	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	OH	OH	OH	OH	OH
8	3- O- methyl quercetin	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	OH	OH	OMe	OH	OH
10	Galangin- 7- glucoside	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	Glu	OH	OH	H	H
11	Chrysin- 7- glucoside	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	Glu	OH	H	H	H

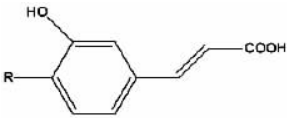


表 3 化合物 6、9 的结构

序号	名称	分子式	R
6	Isoferulic acid	C ₁₀ H ₁₀ H ₄	OMe
9	Caffeic acid	C ₉ H ₈ O ₄	OH

表 4 化合物 3、7、8、11 的核磁氢谱数据

碳 位	3 CD ₃ OD	7(DMSO- d ₆)	8 CD ₃ OD	10(DMSO- d ₆)	11 CD ₃ COCD ₃
3	- -	9.32(s OH)	3.78(s OCH ₃)	10.92(s OH)	6.84(s)
5	- -	12.47(s OH)	- -	12.51(s OH)	12.84(s OH)
6	6.18(d, J=2Hz)	6.17(d, J=2Hz)	6.19(d, J=2Hz)	6.23(d, J=2Hz)	6.46(d, J=2Hz)
7	- -	10.74(s OH)	- -	- -	- -
8	6.39(d, J=2Hz)	6.38(d, J=1.5Hz)	6.39(d, J=2Hz)	6.45(d, J=2Hz)	6.84(d, J=2Hz)
2 ′	8.08(d, J=9Hz)	7.66(d, J=2Hz)	7.61(d, J=2Hz)	8.09- 8.12(m)	8.06- 8.08(m)
3 ′	6.89(d, J=9Hz)	9.26(s OH)	- -	7.50- 7.56(m)	7.58- 7.63(m)
4 ′	- -	9.54(s OH)	- -	7.50- 7.56(m)	7.58- 7.63(m)
5 ′	6.89(d, J=9Hz)	6.87(d, J=8.5Hz)	6.88(1H, d, J=8.5Hz)	7.50- 7.56(m)	7.58- 7.63(m)
6 ′	8.08(d, J=9Hz)	7.52(dd, J=2Hz, 8.5Hz)	7.52(dd, J=2Hz, 8.5Hz)	8.09- 8.12(m)	8.06- 8.08(m)
糖端基质子	- -	- -	- -	5.49(d, J=7.5Hz)	5.17(d, J=7.5Hz)

H₃BO₃)。EI- MS m/z 270[M]⁺, 242[M- CO]⁺, 153[A₁+H]⁺, 152[A₁]⁺, 124[A₁- CO]⁺, 121[B₂]⁺, 118[B₁]⁺。上述数据与芹菜素文献报道一致^[4,7]。点样于聚酰胺板上, 用芹菜素对照品对照, 用多种溶剂体系展开, 均显示相同 Rf 值, 故鉴定为芹菜素(apigenin)。

5. 化合物 5

黄色粉末(CH₃COCH₃), mp > 300 。盐酸镁粉反应呈阳性。UV λ_n $\frac{n}{m}_{max}$ 255, 370(MeOH); 285, 324, 436 (NaOMe); 264, 358, 429(AlCl₃); 265, 358, 426(AlCl₃/HCl); 274, 320, 404 (NaOAc); 258, 272sh, 309, 379 (NaOAc/H₃BO₃)。EI- MS m/z 316[M]⁺, 301[M- CH₃]⁺, 287[M- CO- H]⁺, 153[A₁+H]⁺。上述数据与异鼠李素文献报道一致^[4,7]。点样于聚酰胺板上, 用异鼠李素对照品对照, 用多种溶剂体系展开, 均显示相同 Rf 值, 故鉴定为异鼠李素(isorhamnetin)。

6. 化合物 6

白色针晶 (CH₃COCH₃), mp 220 ~222 。UV λ_n $\frac{n}{m}_{max}$ 208, 291, 320(MeOH)。EI- MS m/z: 194[M]⁺, 179[M- CH₃]⁺, 161 [M- CH₃- H₂O]⁺, 151, 133, 105, 77。 ¹H- NMR (DMSO- d₆): δ 7.9 (3H, s, CH₃O-), 6.22 (1H, d, J=16Hz, H- 2), 6.93 (1H, d, J=8Hz, H- 5), 7.06(1H, dd, J=2Hz, 8Hz, H- 6), 7.08(1H, d, J=2Hz, H- 2), 7.43(1H, d, J=16Hz, H- 1)。点样于聚酰胺板上, 与异阿魏酸对照品对照, 用多种溶剂体系展开, 均显示相同 Rf 值, 结

合文献数据鉴定为异阿魏酸(isoferulic acid)^[8]。

7. 化合物 7

黄色粉末(CH₃OH), mp>300 。盐酸镁粉反应呈阳性。UV λ_n $\frac{n}{m}_{max}$ 256, 371 (MeOH); 330 (NaOMe); 266, 361, 426 (AlCl₃); 272, 332 (AlCl₃/HCl) ; 277, 445 (NaOAc); 261, 390(NaOAc/H₃BO₃)。EI- MS m/z 302[M]⁺。氢谱数据见表 4。以上数据与槲皮素文献报道一致^[4,9]。点样于聚酰胺板上, 用槲皮素标准品对照, 用多种溶剂体系展开, 均显示相同 Rf 值, 故鉴定为槲皮素(quercetin)。

8. 化合物 8

黄色片状结晶(CH₃COCH₃), mp 258 ~260 。盐酸镁粉反应呈阳性。UV λ_n $\frac{n}{m}_{max}$ 256, 358 (MeOH); 271, 329, 407(NaOMe); 276, 336, 436(AlCl₃); 268, 299, 345, 402 (AlCl₃/HCl); 273, 410 (NaOAc); 261, 377 (NaOAc/H₃BO₃)。EI- MS m/z 316[M]⁺, 315[M- H]⁺, 298 [M- H₂O]⁺, 273[M- COCH₃]⁺, 153 [A₁+H]⁺, 137[B₂]⁺, 109 [B₂- CO]⁺。氢谱数据见表 4。以上数据跟文献报道一致^[4,6], 故鉴定为 3- O- 甲基槲皮素 (3- O- methyl quercetin)。

9. 化合物 9

淡黄色片状结晶(CH₃OH), mp 206 ~208 , 三氯化铁反应阳性。EI- MS m/z: 180[M]⁺, 163[M- OH]⁺, 136 [M- COOH+H]⁺; ¹H- NMR(DMSO- d₆): δ 6.15(1H, d, J=

16Hz, 反式构型, H-2), 6.74(1H, d, J=8Hz, H-5), 6.95(1H, dd, J=2Hz, 8Hz, H-6), 7.01(1H, d, J=2Hz, H-2), 9.08(1H, s, H-3'), 9.48(1H, s, H-4'), 12.07(1H, s, -COOH), 以上数据与咖啡酸文献报道一致^[10], 故鉴定为咖啡酸 (caffeic acid)。

10. 化合物 10

黄色粉末 (CH_3COCH_3), mp 240~242, 盐酸镁粉反应阳性。UV $\lambda_{\text{max}} \frac{n}{m}$ 265, 310 (MeOH); 275, 365 (NaOMe); 265, 336 (AlCl_3); 265, 311 (AlCl_3/HCl); 275, 365 (NaOAc); 266, 313 (NaOAc/ H_3BO_3)。FAB-MS m/z : 455 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 271 $[\text{M}-162+\text{H}]^+$ 。氢谱数据见表 4。 ^{13}C -NMR ($\text{DMSO}-d_6$): 156.0 (C-2), 134.4 (C-3), 177.8 (C-4), 161.4 (C-5), 99.0 (C-6), 164.5 (C-7), 93.9 (C-8), 156.8 (C-9), 104.4 (C-10), 130.8 (C-1'), 128.3 (C-2', 6'), 129.1 (C-3', 5'), 130.5 (C-4'), 100.9 (C-1''), 74.3 (C-2''), 76.5 (C-3''), 70.1 (C-4''), 77.6 (C-5''), 61.0 (C-6'')。酸水解反应, 检出高良姜素和葡萄糖。参考文献报道^[11], 鉴定为高良姜素-7-O- β -D-葡萄糖苷 (galangin-7-glucoside)。

11. 化合物 11

淡黄色粉末 (CH_3COCH_3), mp 237~239, 盐酸镁粉反应阳性。UV $\lambda_{\text{max}} \frac{n}{m}$ 268 (MeOH); 279, 370 (NaOMe); 249, 281, 325, 38 (AlCl_3); 250, 282, 322, 381 (AlCl_3/HCl); 270 (NaOAc); 268 (NaOAc/ H_3BO_3)。FAB-MS m/z : 439 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 417 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。氢谱数据见表 4。 ^{13}C -NMR (CD_3COCD_3): 164.3 (C-2), 106.7 (C-3), 183.1 (C-4),

162.6 (C-5), 100.5 (C-6), 164.8 (C-7), 95.5 (C-8), 158.2 (C-9), 106.1 (C-10), 131.9 (C-1'), 127.0 (C-2', 6'), 129.7 (C-3', 5'), 132.6 (C-4'), 101.1 (C-1''), 74.3 (C-2''), 77.6 (C-3''), 70.9 (C-4''), 77.8 (C-5''), 62.3 (C-6'')。酸水解反应, 检出白杨素和葡萄糖。参考文献报道^[12], 鉴定为白杨素-7-O- β -D-葡萄糖苷 (chrysin-7-glucoside)。

参考文献

- 王想想, 周立东. 蜂胶与其胶源植物的化学成分相关性研究综述. 中药材, 2007, 30(4): 487~492.
- 王欣, 王强, 徐国均, 等. 杨属植物化学成分和药理作用的研究进展. 天然产物研究与开发, 1999, 11(1): 65~74.
- 周立东, 郭伽, 余竟光, 等. 北京蜂胶的黄酮类成分. 中国中药杂志, 1999, 24(3): 162~165.
- 中国医学科学院上海药物研究所植化室. 黄酮体化合物鉴定手册. 北京: 科学出版社, 1981. 472, 434, 491, 479, 487.
- 周立东, 余竟光, 郭伽, 等. 蚂蝗七根的化学成分研究. 中国中药杂志, 2001, 26(2): 114~117.
- 陈英杰, 裴玉萍, 龚德强, 等. 仙人掌肉质茎成分的分离与结构鉴定. 沈阳药科大学学报, 2000, 17(4): 267~268.
- 丛浦珠, 苏克曼. 分析化学手册 (第二版) · 第九分册. 北京: 化学工业出版社, 2000. 728, 732.
- 周伯旭, 孟宪纾. 轮叶婆婆纳化学成分的研究. 中国中药杂志, 1992, 17(1): 35~36.
- 李康, 贾英, 杨芳芳, 等. 灯盏花的化学成分研究. 沈阳药科大学学报, 2001, 18(4): 266~267.
- 何磊, 王友绍, 王清吉, 等. 药用红树植物角果木化学成分研究. 中国药理学杂志, 2006, 41(5): 341~343.
- 安宁, 杨世林, 邹忠梅, 等. 高良姜黄酮类化学成分的研究. 中草药, 2006, 37(5): 663~664.
- 刘翠泽, 张沿军, 于永方, 等. 黄芩茎叶化学成分的研究. 承德医学院学报, 1996, 13(2): 106~107.

Chemical Constituents of *P. Canadensis* Moench. Buds

Wang Xiangxiang, Zhou Lidong, Nan Yao, Meng Qinwei

(Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100094, P.R.C)

This is a study of the chemical constituents of *P. canadensis* Moench. buds. In the study, the constituents of *P. canadensis* buds were separated using different chromatographic techniques, and their structures unveiled based on spectral analysis and physicochemical properties. Eleven compounds were isolated and identified as 1) pinostrobin; 2)

(Continued on Page 63)

三、结果与讨论

1. 提取溶剂浓度的选择

本实验曾选用 30%~90% 的乙醇为提取溶剂采用回流法进行提取,结果表明,以 80%乙醇回流提取时的总黄酮含量高于其他溶剂提取,故选用 80%乙醇为提取溶剂。

2. 提取方法的选择

在确定提取溶剂浓度后,分别采用回流法和渗漉法进行提取,结果以回流法提取所得总黄酮含量较高,故选用回流法进行提取。

3. 提取温度的选择

本法曾分别在提取温度在 40~80 时进行提取,结果表明,提取温度在 40~70 时,随着提取温度的增加,总黄酮含量呈增加的趋势,以 70 时含量最高;而 80 时总黄酮含量却相对减少,可能因为在该温度下,乙醇大量挥发,从而导致提取溶剂的量减

少,不利于黄酮的溶出,所以提取温度不宜过高。

4. 测定方法的选择

本实验采用以 NaNO_2 - $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ - NaOH 体系为显色剂,利用紫外分光光度法测定总黄酮,操作简便,重现性好,结果可靠。

参考文献

- 1 江苏新医学院. 中药大辞典 (下册). 上海: 上海科学技术出版社, 1977: 1878.
- 2 Shi J G, et al. Phytochemistry. 1995,40:1299.
- 3 范云柏, 赵玉英, 李艳梅等. 地构叶化学成分的研究. 天然产物研究与开发, 1996, 8(4): 20~23.
- 4 Yan-Mei Li, Yu-Ying Zhao, Yun-Bai Fan et al. Flavonoids from *Speranskia tuberculata*. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, 1997, 6(2):70~74.
- 5 王孟歌, 田宝娟, 乔凤霞等. 山楂叶中总黄酮含量的测定. 光谱实验室, 2006, 23(4): 755~757.
- 6 刘艳清, 鲁湘鄂, 张广. 叶子花中总黄酮提取方法研究. 中药材, 2007, 30(3): 353~355.

Measuring Total Flavonoids in *Speranskia tuberculata* Using UV

Wang Dan, Sun Jiaming, Wang Guijin, Zhang Hui

(Development Center of Traditional Chinese Medicine and Bioengineering,
Changchun University of Traditional Chinese Medicine, Changchun 130117)

The study is designed to establish a method for measuring the total flavonoids in *Speranskia tuberculata*. In the study, the contents of total flavonoids in *Speranskia tuberculata* were measured using UV-spectrophotometry with a detection wavelength of 510nm, borrowing the Rutin as a contrast. Test results show that *Speranskia tuberculata* has a total flavonoids of 1.42%, with a fine linear relationship in the range of 0.008~0.040mg/mL ($r=0.9999$), an average recovery 99.86%, and an RSD of 1.21%($n=6$). Authors believe that the method is simple, quick, stable, and reliable, desirable for measuring the total flavonoids in *Speranskia tuberculata*.

Keywords: *Speranskia tuberculata*, Total flavonoids; rutin; UV-spectrophotometry; Content

(责任编辑: 郭屹, 责任译审: 邹春申)

(Continued from Page 67)

chrysin; 3)kaempferol; 4)apigenin; 5)isorhamnetin; 6)isoferulic acid; 7)quercetin; 8)3-O-methyl quercetin; 9)caffeic acid; 10)galangin-7-glucoside; and 11) chrysin-7-glucoside. It is worth mentioning that 3), 5), 8), and 10) were isolated from *Populus L.* for the first time.

Keywords: *Populus canadensis* Moench.; chemical constituents; flavonoids

(责任编辑: 王瑀, 责任译审: 邹春申)