

## 贯叶金丝桃中一个新的2,3-二氧代黄酮

马 洁, 吉腾飞, 田 晋, 王彦改, 杨建波, 苏亚伦, 王爱国\*

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 北京 100050)

**摘要:** 利用硅胶柱色谱、Sephedax LH-20、制备高效液相色谱等分离、纯化方法, 从贯叶金丝桃 (*Hypericum perforatum* L.) 中分离得到一个新的黄酮类化合物, 其结构经UV、IR、MS、HR-ESI-MS及核磁共振等波谱技术鉴定为: *Rel*-(2*S*,3*R*)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-2-methoxy-3-(2-oxopropyl)chroman-4-one (**1**)。化合物**1**是一个含有一个丙酮基的2,3-二氧代黄酮类化合物, 在自然界中较为罕见。此外, 还对该化合物的可能生源途径进行了推测。

**关键词:** 贯叶金丝桃; 化学成分; 2,3-二氧代黄酮

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2019)12-2286-03

## A new 2,3-dioxoflavonoid from the aerial part of *Hypericum perforatum*

MA Jie, JI Teng-fei, TIAN Jin, WANG Yan-gai, YANG Jian-bo, SU Ya-lun, WANG Ai-guo\*

(State Key Laboratory of Bioactive Substance and Function of Natural Medicines, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

**Abstract:** Phytochemical study of the aerial parts of *Hypericum perforatum* L. resulted in the isolation of an undescribed compound, which was identified as *Rel*-(2*S*,3*R*)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-2-methoxy-3-(2-oxopropyl)chroman-4-one (**1**) by spectroscopic methods including UV, IR, HR-ESI-MS, 1D and 2D NMR spectra. Compound **1** is a new 2,3-dioxo-flavone with an acetonoyl moiety, rarely found in nature. In addition, a plausible biogenetic pathway of **1** was proposed in this article.

**Key words:** *Hypericum perforatum*; chemical constituents; 2,3-dioxoflavone

贯叶金丝桃 *Hypericum perforatum* L. 为藤黄科金丝桃属多年生草本植物, 又名贯叶连翘、圣约翰逊草<sup>[1]</sup>。我国贯叶金丝桃资源十分丰富, 有55种、8个亚种, 分布于甘肃、陕西、四川、安徽、贵州、河南、湖北等地<sup>[2]</sup>。2005年中国药典收录其中<sup>[3]</sup>。贯叶金丝桃中的化学成分主要包括黄酮类、间苯三酚类及萘啶二萜酮类等, 具有抗乙肝病毒、抗AIDS、抗菌、伤口愈合及治疗轻中度抑郁等广泛活性<sup>[4]</sup>。在欧洲用于治疗轻中度抑郁, 已有数百年历史。其开发应用在国际上引起了广泛关注, 现在对该植物的研究仍然是热点之一。

前期研究已从中分离得到多个黄酮及酚酸类化合物<sup>[5]</sup>, 为了进一步寻找和明确该植物中的活性成分, 本文采用硅胶柱色谱、凝胶色谱及制备液相色谱等多种分离技术从贯叶金丝桃地上部分的95%乙醇提取物中分离得到1个新的较罕见的2,3-二氧代黄酮类化合物。通过UV、IR、MS、HR-ESI-MS及核磁共振等波谱技术鉴定为: *Rel*-(2*S*,3*R*)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-2-methoxy-3-(2-oxopropyl)chroman-4-one (图1)。结构中含有一个丙酮基片段, 在自然界中较为罕见存在。此外, 还对化合物**1**的可能生源途径进行了推测 (图2)。

### 结构解析

化合物**1** 淡黄色固体。正离子ESI-MS在 *m/z*

收稿日期: 2019-08-01; 修回日期: 2019-09-07.

基金项目: 北京市自然科学基金青年项目 (7194299); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程 (CAMS-I2M-1-010).

\*通讯作者 Tel / Fax: 86-10-63165327, E-mail: wangaigu@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2019-0618

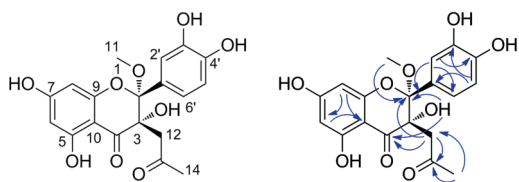


Figure 1 The structure (left) and key HMBC (right) correlations of **1**

391.1 处给出了  $[M+H]^+$  峰, 413.2 处给出了  $[M+Na]^+$  峰, 负离子 ESI-MS 在  $m/z$  389.2 处给出了  $[M-H]^-$  峰, 以及 779.2 处的  $[2M-H]^-$  峰, 提示分子量为 390, HR-ESI-MS 给出了准分子离子峰  $m/z$ : 413.083 8  $[M+Na]^+$ , (计算值为 413.084 3,  $C_{19}H_{18}NaO_9$ ), 确定分子式为  $C_{19}H_{18}O_9$ , 不饱和度为 11。IR 光谱给出了羰基 ( $1637, 1701\text{ cm}^{-1}$ ), 苯环 ( $1511, 1471\text{ cm}^{-1}$ ) 的特征吸收峰。紫外光谱显示 UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  ( $\log\epsilon$ ): 209 (3.75)、290 (3.47)、331 (2.94) nm。提示该化合物属于黄酮类结构骨架。

在  $^1\text{H NMR}$  谱中, 低场区显示一组 ABX 系统质子信号  $[\delta_{\text{H}} 7.22$  (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-2')、 $7.12$  (1H, dd,  $J = 8.4, 2.0$  Hz, H-6')、 $6.91$  (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5')], 一组 AB 自旋质子信号  $[\delta_{\text{H}} 6.13$  (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-8)、 $6.05$  (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-6)], 4 个活泼羟基信号 ( $\delta_{\text{H}} 11.17, 9.92, 8.27, 8.11$ ), 一个羟基信号  $\delta_{\text{H}} 4.93$ , 2 个甲基信号  $\delta_{\text{H}} 2.98$  (3H, s,  $H_3-11$ )、 $1.99$  (3H, s,  $H_3-14$ ), 两个偕偶 AB 偶合特征质子信号  $[\delta_{\text{H}} 2.63$  (1H, d,  $J = 13.8$  Hz, 12-Ha) 和  $2.47$  (1H, d,  $J = 13.8$  Hz, 12-Hb)]。

$^{13}\text{C NMR}$  谱中, 显示了 18 个碳信号, DEPT 谱将这些碳信号区分为 2 个甲基 (1 个连氧甲基碳, 1 个与酮羰基相连碳)、1 个亚甲基、5 个次甲基 (均为  $\text{sp}^2$  杂化碳) 和 11 个季碳 (包括 7 个  $\text{sp}^2$  杂化碳, 1 个羰基碳)。根据以上数据, 推断化合物 **1** 为黄酮类化合物。

$^1\text{H NMR}$  谱中特征的 AB 自旋质子信号说明 A 环为 5,7-二羟基取代, ABX 系统质子信号提示 B 环为 3',4'-二取代。AB 自旋质子信号准确归属  $[\delta_{\text{H}} 6.13$  (H-8),  $6.05$  (H-6)]。并且在 HMBC 图谱中, H-6 与 C-8、C-10, H-8 与 C-6、C-10 相关, H-2' 与 C-4'、C-6', H-5' 与 C-1'、C-3', H-6' 与 C-2'、C-5' 的远程相关进一步得到证实。H<sub>3</sub>-14 与 C-13 相关, 同时结合化学位移说明 C-14 连在 C-13 上; H<sub>2</sub>-12 与 C-13、H<sub>3</sub>-14 与 C-12 相关表明 C-13 所在的乙酰基与 C-12 相连; 同时 H<sub>2</sub>-12 还与 C-2、C-4、C-13 相关, 3-OH 与 C-2、C-3、C-4、C-12 相关提示 C-12 连在季碳 C-3 上; 甲氧基 H<sub>3</sub>-11 仅与 C-2 相关说明 C-11 所在的甲氧基与 C-2 相连; 最后通过 H-2' 与 C-2 相关确定了 B 环芳香环连接在 C-2 上。这样化合物 **1** 的平面结构就确定了, 如图 1 所示。

在化合物 **1** 的 NOESY 谱中, H<sub>2</sub>-12 与 H-2'、H-6' 相关, 表明 H<sub>2</sub>-12 和 B 环处于母核结构的同侧, 推测连在 C-2 的甲氧基和连在 C-3 位的羟基处于母核结构的另外一侧。由此, 确定其相对构型如图所示。  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} \approx 0$  ( $c$  0.2, MeOH), 结合 ECD 谱, 未出现明显的 Cotton 吸收, 推测可能为一对对映异构体。但是因为分离的量较少无法进行手性拆分。故最后确定化合物 **1** 的结构为 *Rel*-(2*S*,3*R*)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-2-methoxy-3-(2-oxopropyl)chroman-4-one。

对化合物 **1** 的生源途径进行了推测<sup>[6]</sup>: 前体化合物是在贯叶金丝桃中已经分离到的含量丰富的槲皮素 (quercetin), 通过迈克尔加成反应得到醌类中间体 **1a**, 再经过甲基转移酶获得甲基化的中间体 **1b**, 然后和乙酰辅酶 A 经过亲核反应生成 **1c**, 再经与丙二酸单酰辅酶 A 缩合等途径得到乙酰乙酸类中间体 **1d**。 **1d** 通过分子内的消除, 生成一分子的 CO<sub>2</sub> 后得到烯醇类中间体 **1e**, 最后通过烯醇转化得到最终产物 **1**。

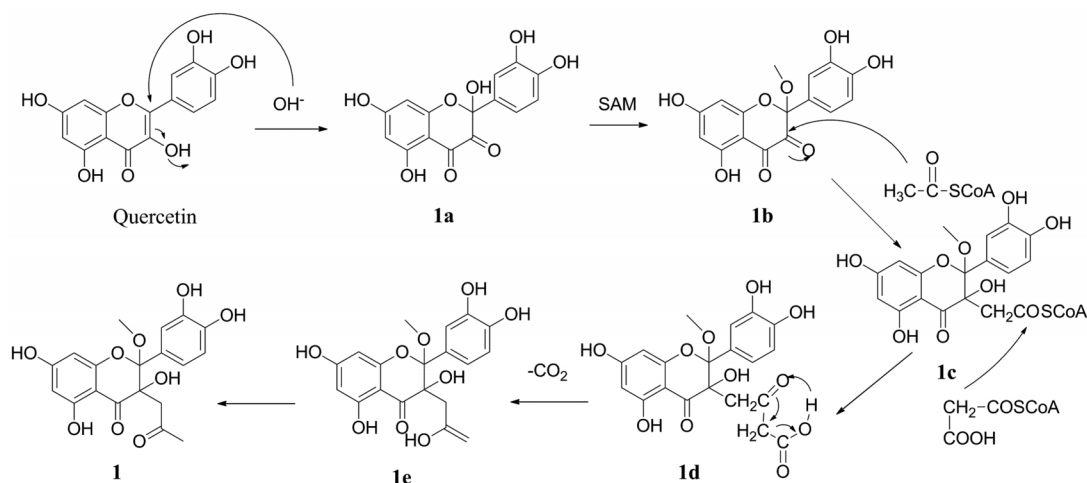


Figure 2 A plausible biogenetic pathways for **1**

**Table 1**  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz) and  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz) data for **1** in  $\text{Me}_2\text{CO}-d_6$ 

Position	Type	$\delta_c$	$\delta_H$ (J, Hz)	Position	Type	$\delta_c$	$\delta_H$ (J, Hz)
1				12	$\text{CH}_2$	48.4	2.63 (d, 13.8, Ha) 2.47 (d, 13.8, Hb)
2	C	109.1		13	C	206.2	
3	C	79.5		14	$\text{CH}_3$	32.2	1.99 s
4	C	198.8		1'	C	126.1	
5	C	164.0		2'	CH	115.4	7.22 (d, 2.0)
6	CH	97.7	6.05 (d, 2.1)	3'	C	147.0	
7	C	167.4		4'	C	145.3	
8	CH	96.9	6.13 (d, 2.1)	5'	CH	116.8	6.91 (d, 8.4)
9	C	158.5		6'	CH	121.4	7.12 (dd, 8.4, 2.0)
10	C	101.6		5-OH			11.17
11	$\text{CH}_3$	51.2	2.98 s	3-OH			4.93

## 实验部分

Agilent1100 系列 LC/MSD Trap-SL 型质谱仪 (Agilent, Waldbronn, Germany); QSTAR Elite 四极杆-飞行时间质谱仪 (AB SCIEX, USA) 测定质谱; Mercury-300、Mercury-400 和 SYS-600 核磁共振仪 (美国 Varian 公司) 测定 NMR; 测定温度: 297 K, 以溶剂峰信号作为内标; JASCO P2000 自动数码旋光仪 (JASCO, Tokyo, Japan) 测定旋光; JASCO V-650 分光光度计测定 UV (JASCO); Nicolet 5700 傅里叶变换红外光谱仪 (显微透射法) 测定 IR (Thermo Electron, Madison, WI, USA); 薄层色谱硅胶 GF<sub>254</sub> 和柱色谱用硅胶 (100~200 目, 200~300 目) 均为青岛海洋化工厂产品; 葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 为 Pharmacia 公司产品; Agilent 1100 和 Shimadzu LC-6AD 高效液相色谱仪 (YMC 公司 Pack ODS-A C<sub>18</sub> 制备柱, 20 mm×250 mm, 5 μm); 所用分析纯和色谱纯试剂为北京化工厂生产。

贯叶金丝桃全草于 2008 年采自新疆维吾尔自治区乌孙山, 经新疆药物所刘发教授鉴定为贯叶金丝桃 *Hypericum perforatum* L., 标本现存于中国医学科学院药物研究所植物标本室, 标本号为 No. ID-S-2250。

### 1 提取分离

干燥的贯叶金丝桃地上部分 20 kg, 粉碎后用 10 倍量的 95% 乙醇加热回流提取 3 次, 每次 2 h, 提取液减压回收溶剂得浸膏 3.5 kg。将浸膏分散于 10 L 水中混悬, 过滤后得到水溶 (HP-W) 和水不溶 (HP-WN) 两部分。水不溶部位 (170 g) 经硅胶柱 (200~300 目, 400 g) 色谱分离, 依次用石油醚、乙酸乙酯、丙酮和甲醇洗脱, 回收溶剂得到相应的洗脱部分 (HP-PE, HP-EtOAc, HP-A, HP-MeOH)。HP-EtOAc (50 g) 经硅胶柱色谱 (200~300 目, 1000 g) 石油醚-丙酮为洗脱剂进行梯度洗脱, 得到 41 个组分 (HPE1-HPE41)。组分

HPE30 (4 g) 通过 Sephadex LH-20 柱色谱, 石油醚-氯仿-甲醇 (5:5:1) 为洗脱剂得到 10 个亚组分 (HPE30a-HPE30j)。HPE30h 部分 (260 mg) 分离纯化, 通过 HPLC 制备 (YMC, 甲醇-水=55:45, 7 mL·min<sup>-1</sup>, λ = 254 nm) 分离得到化合物 **1** (3 mg)。

### 2 结构鉴定

化合物 **1** 淡黄色固体。UV (MeOH) λ<sub>max</sub> (logε): 209 (3.75)、290 (3.47)、331 (2.94) nm; IR ν<sub>max</sub> 3 354 (br s)、1 701、1 637、1 511、1 471、1 293、1 163、829、784 cm<sup>-1</sup>;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ , 300 MHz) and  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ , 100 MHz) 见表 1; (+)-ESI-MS  $m/z$  391.1 [M+H]<sup>+</sup>, 413.2 [M+Na]<sup>+</sup>, (-)-ESI-MS  $m/z$  389.2 [M-H]<sup>-</sup>, 779.2 [2M-H]<sup>-</sup>; 分子式为 C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>O<sub>9</sub>; (+)-HR-ESI-MS  $m/z$ : 413.083 8 [M+Na]<sup>+</sup> (计算值 413.084 3, C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>NaO<sub>9</sub>)。

## References

- [1] Editorial Committee of Flora of China. Flora of China (中国植物志) [M]. Beijing: Science Press, 1990: 21.
- [2] Xie ZW, Yu YQ. Name of Chinese Herbal Medicine (全国中草药名鉴上册) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1996: 350.
- [3] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典一部) [S]. Part 1. Beijing: China Medical Science Press, 2015, 231.
- [4] Barnes J, Anderson LA, Phillipson JD. St John's wort (*Hypericum perforatum* L.): a review of its chemistry, pharmacology and clinical properties [J]. J Pharm Pharmacol, 2001, 53: 583-600.
- [5] Ma J, Yang JB, Ji TF, et al. Chemical constituents from *Hypericum perforatum* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2012, 37: 2408-2412.
- [6] Dewick PM. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach [M]. 3rd Ed. Chichester: John Wiley and Sons, 2009.