

藏药柳茶叶乙醇水提取物中化学成分的鉴定

闫志慧^{a,b} 陈立书^a 朱全飞^{a*} 姜珂^{c*} 陈竹^a 杨永建^b 王大成^d

(^a重庆医药高等专科学校 重庆 401331; ^b兰州大学药学院 兰州 730000;

^c中国人民解放军 324 医院 重庆 400020; ^d吉林大学畜牧兽医学院 长春 130062)

摘 要 采用多种色谱分离技术对藏药柳茶叶 80% 乙醇提取物进行分离纯化,得到了 9 个化合物。根据其理化性质与 NMR 谱数据对化合物进行了结构鉴定,分别为金丝桃苷(hyperoside, I)、槲皮素(quercetin, II)、芸香苷(rutin, III)、槲皮素-3-O- β -D-吡喃葡萄糖苷(quercetin-3-O- β -D-glucopyranoside, IV)、儿茶素(catechin, V)、香草酸(vanillic acid, VI)、熊果苷(arbutin, VII)、异阿魏酸(isoferulic acid, VIII)和胡萝卜苷(daucosterol, IX)。化合物中除 IV、VIII 和 IX 外,其余 6 个化合物为首次从该属植物中分离鉴别。

关键词 柳茶叶,化学成分,黄酮,分离,鉴别

中图分类号:0629.9

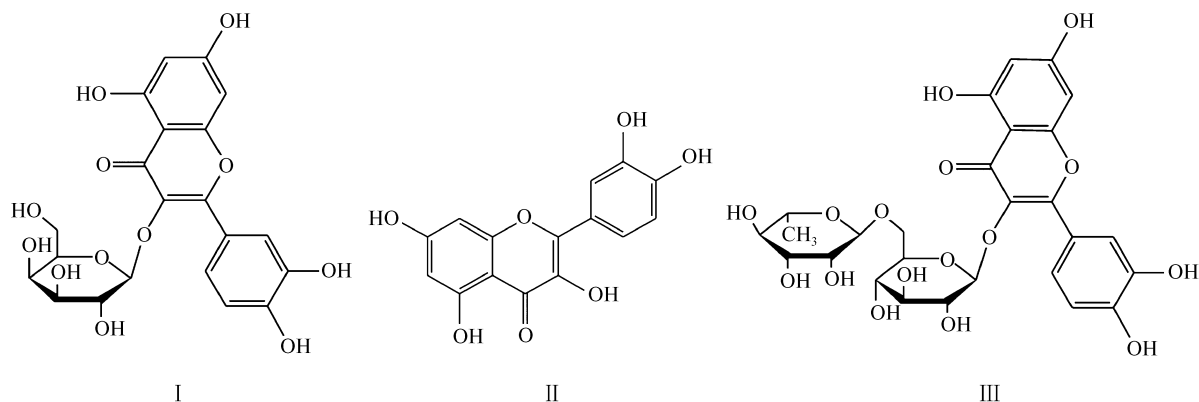
文献标识码:A

文章编号:1000-0518(2014)02-0237-05

DOI:10.3724/SP.J.1095.2014.30135

柳茶是蔷薇科 (*Rosaceae*) 鲜卑花属 (*Sibiraea*) 植物窄叶鲜卑花 *Sibiraea angustata* (Rehd.) Hand-Mazz. 的叶和嫩枝, 为藏民族民间常用药, 具有消食导滞、疏散风热、调节脂质代谢^[1] 和保护肝脏^[2] 等功效。窄叶鲜卑花生长于海拔 3000 ~ 4000 m 的高原, 分布于甘肃、青海、四川以及云南等省, 资源丰富。现阶段对其研究主要集中在药理活性, 及萜类化学成分的分析鉴别^[3,4], 对其它类型化学成分的研究报道较少。

为了进一步研究该植物的药效物质基础,本文相继用大孔树脂柱色谱、硅胶柱色谱、凝胶柱色谱及高效液相色谱等分离方法对柳茶叶 80% 乙醇提取物的乙酸乙酯及正丁醇提取物的化学成分进行分离和鉴定出 9 个化合物,分别为金丝桃苷(hyperoside, I)、槲皮素(quercetin, II)、芸香苷(rutin, III)、槲皮素 3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷(quercetin-3-*O*- β -D-glucopyranoside, IV)、儿茶素(catechin, V)、香草酸(vanillic acid, VI)、熊果苷(arbutin, VII)、异阿魏酸(isoferulic acid, VIII)和胡萝卜苷(daucosterol, IX),化合物的结构式见 Scheme 1。

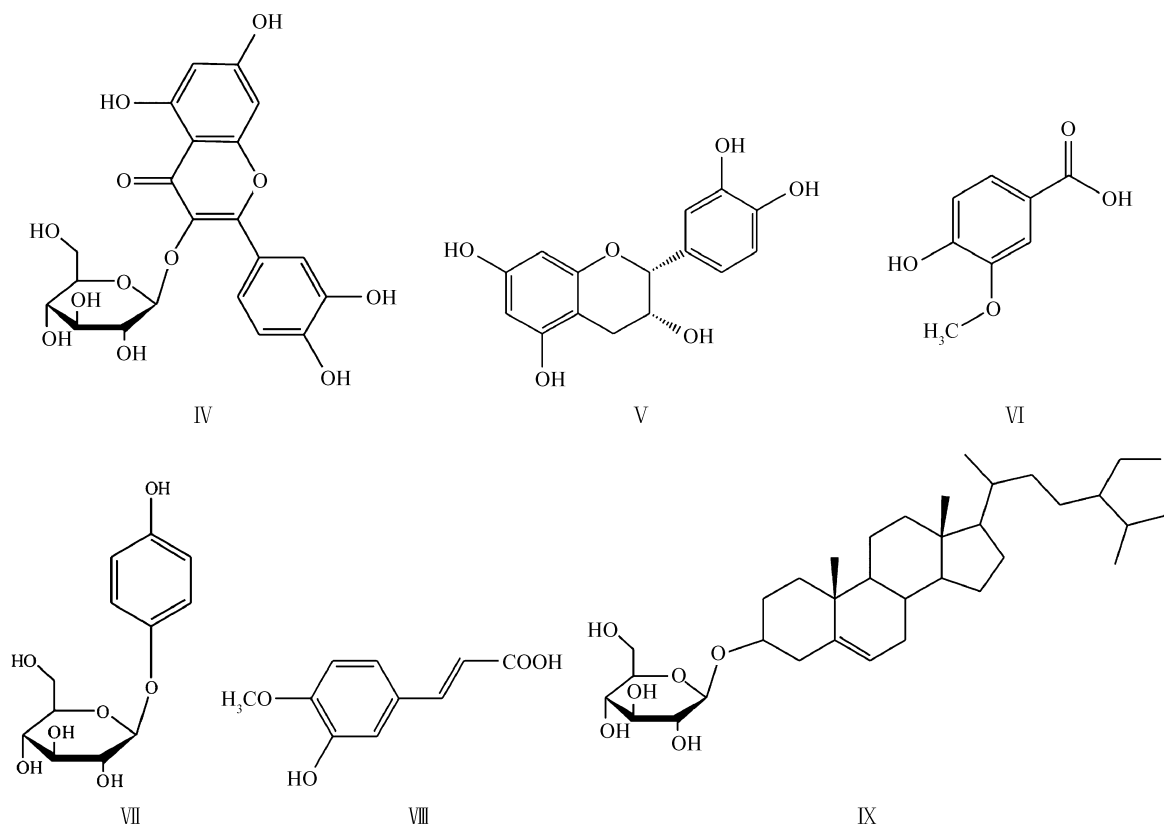


2013-03-18 收稿, 2013-04-15 修回, 2013-05-02 接受

甘肃省科技支撑计划-社会发展计划项目(0804NKCA120);重庆市卫生局医学科研计划项目(2011-1-114)

通讯联系人:朱全飞,讲师; Tel/Fax:023-65317958; E-mail:396435070@qq.com; 研究方向:天然药物化学

共同通讯联系人:姜珂,主管技师; Tel/Fax:023-68762106; E-mail:45032009@qq.com; 研究方向:天然药物化学



Scheme 1 Chemical structures of compound I ~ IX

1 实验部分

1.1 材料和仪器

柳茶药材采自甘肃省甘南藏族自治州合作市市郊,经兰州大学药学院生药研究所杨永建教授鉴定为鲜卑花属植物窄叶鲜卑花 *Sibiraea angustata* (Rehd.) Hand-Mazz. 的叶。

薄层色谱用硅胶 GF₂₅₄ (青岛海立信精细化工有限公司),柱色谱用硅胶粒径 50 ~ 75 μm (青岛海洋化工厂),Sephadex LH-20 (Amersham Pharmacia Biotech AB),D101 型大孔树脂 (天津南开化工厂),反相十八烷基键合硅胶 (ODS) (北京绿百草公司),制备柱为 Kromasil-C₁₈ (250 mm × 10 mm, 5 μm); ZF-C 型三用紫外分析仪 (上海康和光电仪器有限公司); QPZ010 型精密显微熔点测定仪 (北京福荣凡科技发展有限公司),温度计未校正; Bruker-AV-400 核磁共振仪 (瑞士 Bruker 公司)。

1.2 实验方法

取柳茶叶干燥药材 1.5 kg,粉碎后用 80% 乙醇溶液回流提取 3 次,每次 1 h。将提取液减压浓缩,得浸膏 337 g。用蒸馏水将浸膏混悬,依次用石油醚 (60 ~ 90 °C),乙酸乙酯,正丁醇萃取。分别将乙酸乙酯及正丁醇的萃取液减压浓缩,分别得浸膏 48 和 63 g。将乙酸乙酯提取浸膏上硅胶柱,用氯仿-甲醇 (体积比 1:0 ~ 0:1) 梯度洗脱,共得到 7 个部分样品。将部分 4、5 分别经硅胶柱和凝胶柱色谱分离及反复重结晶得到化合物 II (12.7 mg)、V (12.7 mg)、VI (9.8 mg)、VIII (17.7 mg) 及 IX (24.7 mg)。正丁醇浸膏上硅胶柱,采用乙酸乙酯-甲醇 (体积比 1:0 ~ 0:1) 为流动相进行梯度洗脱,共得到 8 个部分样品。将部分 4 经硅胶柱和凝胶柱色谱以及高效液相柱色谱分离纯化得化合物 I (14.6 mg) 和 IV (13.5 mg)。将部分 6 分别用硅胶柱和凝胶柱色谱分离及反复重结晶得到化合物 III (7.7 mg) 和 VII (20.3 mg)。

2 结果与讨论

化合物 I: 黄色粉末, mp 230 ~ 232 °C, HCl-Mg 反应、FeCl₃ 反应和 Molish 反应均呈阳性。¹H NMR

(DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 6.20 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-6), 6.40 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-8), 7.52 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.80 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 7.66 (1H, dd, J = 8.4, 2.0 Hz, H-6'), 5.37 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-1''); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 156.3 (C-2), 133.4 (C-3), 177.5 (C-4), 161.2 (C-5), 98.6 (C-6), 164.1 (C-7), 93.5 (C-8), 156.3 (C-9), 103.9 (C-10), 121.1 (C-1'), 115.9 (C-2'), 144.8 (C-3'), 148.4 (C-4'), 115.1 (C-5'), 122.0 (C-6'), 101.8 (C-1''), 71.2 (C-2''), 73.2 (C-3''), 67.9 (C-4''), 75.8 (C-5''), 60.1 (C-6'')。以上数据与文献^[5]报道的槲皮素-3- O - β -D-半乳糖苷, 即金丝桃苷的数据一致, 故确定该化合物为金丝桃苷 (hyperoside)。

化合物 II: 黄色粉末, mp 305 ~ 307 °C, HCl-Mg 反应和 FeCl₃ 反应均呈阳性。¹H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 6.20 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 6.40 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 7.68 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.84 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 7.53 (1H, dd, J = 8.4, 2.0 Hz, H-6'); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 146.7 (C-2), 135.7 (C-3), 175.5 (C-4), 160.2 (C-5), 98.6 (C-6), 163.8 (C-7), 93.3 (C-8), 156.1 (C-9), 103.1 (C-10), 121.9 (C-1'), 115.6 (C-2'), 144.9 (C-3'), 147.8 (C-4'), 115.1 (C-5'), 120.0 (C-6')。以上数据与文献^[6]报道的槲皮素的数据一致, 故确定该化合物为槲皮素 (quercetin)。

化合物 III: 黄色粉末, mp 190 ~ 192 °C, HCl-Mg 反应、FeCl₃ 反应及 Molish 反应均呈阳性。¹H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 6.19 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-6), 6.38 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-8), 7.53 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.84 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 7.54 (1H, dd, J = 8.4, 2.0 Hz, H-6'), 5.35 (1H, d, J = 7.4 Hz, H-1''), 5.24 (1H, s, H-1'); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 156.4 (C-2), 133.3 (C-3), 177.3 (C-4), 161.2 (C-5), 98.7 (C-6), 164.1 (C-7), 93.6 (C-8), 156.6 (C-9), 103.9 (C-10), 121.6 (C-1'), 115.2 (C-2'), 144.7 (C-3'), 148.4 (C-4'), 116.2 (C-5'), 121.2 (C-6'), 101.2 (C-1''), 74.1 (C-2''), 76.4 (C-3''), 70.4 (C-4''), 75.9 (C-5''), 66.9 (C-6''), 100.7 (C-1'''), 70.6 (C-2'''), 70.0 (C-3'''), 71.8 (C-4'''), 68.2 (C-5'''), 17.7 (C-6'')。以上数据与文献^[6]报道的芸香苷的数据一致, 故鉴定该化合物为芸香苷 (rutin)。

化合物 IV: 黄色粉末, mp 226 ~ 228 °C, HCl-Mg 反应、FeCl₃ 反应和 Molish 反应均呈阳性。¹H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 6.20 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-6), 6.40 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-8), 7.54 (2H, m, H₂-2', 6'), 6.84 (1H, d, J = 9.2 Hz, H-5'), 5.47 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-1''); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 156.1 (C-2), 133.3 (C-3), 177.4 (C-4), 161.2 (C-5), 98.7 (C-6), 164.2 (C-7), 93.5 (C-8), 156.3 (C-9), 103.9 (C-10), 121.1 (C-1'), 115.2 (C-2'), 144.8 (C-3'), 148.4 (C-4'), 116.2 (C-5'), 121.6 (C-6'), 100.9 (C-1''), 74.1 (C-2''), 76.5 (C-3''), 69.9 (C-4''), 77.5 (C-5''), 61.0 (C-6'')。以上数据与文献^[7]报道的槲皮素-3- O - β -D-葡萄糖苷的数据一致, 故鉴定该化合物为槲皮素-3- O - β -D-葡萄糖苷 (quercetin-3- O - β -D-glucopyranoside)。

化合物 V: 无色针晶, mp 260 ~ 262 °C, FeCl₃ 反应呈阳性。¹H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 6.68 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 6.59 (1H, dd, J = 8.0, 1.6 Hz, H-6'), 6.72 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-2'), 5.68 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 5.88 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 4.47 (1H, d, J = 7.2 Hz, H-2), 3.81 (1H, m, H-3), 2.65 (1H, dd, J = 16.0, 7.2 Hz, H-4), 2.35 (1H, dd, J = 16.0, 8.0 Hz, H-4); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 80.9 (C-2), 66.3 (C-3), 27.8 (C-4), 155.3 (C-5), 95.1 (C-6), 156.4 (C-7), 93.8 (C-8), 156.1 (C-9), 99.0 (C-10), 130.6 (C-1'), 115.0 (C-2'), 144.8 (C-3'), 144.8 (C-4'), 114.5 (C-5'), 118.4 (C-6')。以上数据与文献^[8]报道的儿茶素的数据一致, 故鉴定该化合物为儿茶素 (catechin)。

化合物 VI: 白色针晶, mp 210 ~ 212 °C, 溴甲酚绿反应和 FeCl₃ 反应均呈阳性, Gibbs 反应呈阴性。¹H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 12.45 (1H, s, COOH), 6.84 (1H, d, J = 1.2 Hz, H-2), 7.44 (2H, m, H-5, 6), 3.80 (3H, s, OCH₃); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 121.6 (C-1), 115.0 (C-2), 147.2 (C-3), 151.1 (C-4), 112.7 (C-5), 123.5 (C-6), 167.2 (C=O), 55.5 (OCH₃)。以上数据与文献^[9]报道的香草酸的数据一致, 故鉴定该化合物为香草酸 (vanillic acid)。

化合物 VII: 白色针晶, mp 199 ~ 200 °C, FeCl₃ 反应和 Molish 反应均呈阳性。¹H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 4.63 (1H, d, J = 7.2 Hz, H-1'), 6.65 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-3, 5), 6.86 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-

2,6); ^{13}C NMR(DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 150.4(C-1), 117.7(C-2,6), 115.4(C-3,5), 152.2(C-4), 101.7(C-1'), 73.3(C-2'), 76.9(C-3'), 69.8(C-4'), 76.6(C-5'), 60.8(C-6')。以上数据与文献^[10]报道的熊果苷的数据一致,故鉴定该化合物为熊果苷(arbutin)。

化合物Ⅷ:无色针晶,mp 214~216℃,溴甲酚绿反应、 FeCl_3 反应和 Gibbs 反应均呈阳性。 ^1H NMR(DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 11.90(1H, s, COOH), 9.32(1H, s, OH), 7.09(1H, br. s, H-6), 7.07(1H, s, H-2), 6.94(1H, br. d, J = 8.8 Hz, H-5), 7.44(1H, d, J = 16.0 Hz, H-7), 6.24(1H, d, J = 16.0 Hz, H-8), 3.80(3H, s, OCH_3); ^{13}C NMR(DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 127.1(C-1), 116.4(C-2), 146.7(C-3), 149.8(C-4), 112.0(C-5), 120.9(C-6), 114.1(C- α), 144.0(C- β), 167.8(C=O), 55.6(OCH_3)。以上数据与文献^[11]报道的异阿魏酸的数据一致,故鉴定该化合物为异阿魏酸(isoferulic acid)。

化合物Ⅸ:白色粉末,mp 287~288℃,Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应均呈阳性。经与对照品胡萝卜苷共薄层层析,在3种展开剂系统中,展开行为完全一致,混合后测定熔点不下降,故鉴定该化合物为胡萝卜苷(daucosterol)。

3 结 论

从藏药柳茶叶的80%乙醇提取物中,分离得到9个化合物,其中5个为黄酮类成分,分别为金丝桃苷(hyperoside, I)、槲皮素(querctetin, II)、芸香苷(rutin, III)、槲皮素 3- O - β -D-吡喃葡萄糖苷(querctetin-3- O - β -D-glucopyranoside, IV)和儿茶素(catechin, V),其余4个成分分别为香草酸(vanillic acid, VI)、熊果苷(arbutin, VII)、异阿魏酸(isoferulic acid, VIII)和胡萝卜苷(daucosterol, IX)。除IV、VIII和IX外,其余6个化合物均为首次从该属植物中分离得到。

参 考 文 献

- [1] WANG Jiabing, CHAI Chengkui, CHEN Ping, *et al.* Effects of Extract from *Sibiraea angustata*(Rehd.) Hand-Mazz on Lipid Metabolism in Rats with Simple Obesity[J]. *Tradit Chinese Drug Res Clin Pharmacol*, 2010, **21**(2): 148-149 (in Chinese).
王佳冰, 柴成奎, 陈平, 等. 藏药柳茶提取物对单纯性肥胖大鼠脂质代谢的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2010, **21**(2): 148-149.
- [2] WANG Jingyu, MA Xiaoyan, XIA Miao, *et al.* Study on Protective Effect and Mechanism of Liucha Extract on Hepatic Injury of Rats Induced by Non-alcoholic Fatty Liver Disease[J]. *Chinese J Clin Pharmacol*, 2011, **27**(3): 191-194 (in Chinese).
王晶宇, 马晓燕, 夏苗, 等. 藏药柳茶提取物对非酒精性脂肪肝病大鼠肝脏保护作用及其机制研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2011, **27**(3): 191-194.
- [3] Ito Yoshiaki, Kamo Satoshi, Sadhu Samir Kumar, *et al.* Structure of New Monoterpene Glycoside from *Sibiraea angustata* RCHD. and Its Anti-obestic Effect[J]. *Chem Pharm Bull*, 2009, **57**(3): 294-297.
- [4] Li B, Lee J, Hayashi Kyoko, *et al.* Two New Monoterpenes from *Sibiraea Angustata*[J]. *J Nat Med*, 2010, **64**: 89-92.
- [5] XU Wendong, LIN Houwen, QIU Feng, *et al.* Studies on Chemical Constituents of *Duchesnea Indica* Focke[J]. *Chinese J Pharm J*, 2007, **42**(13): 981-983 (in Chinese).
许文东, 林厚文, 邱峰, 等. 蛇莓黄酮苷类化学成分研究[J]. 中国药理学杂志, 2007, **42**(13): 981-983.
- [6] LU Benqiang, ZHANG Yongyong, LUO Jiabo. Studies on Chemical Constituents from Shuanghuanglian Injection[J]. *Li Shi-Zhen Med Mater Med Res*, 2007, **18**(5): 1113-1114 (in Chinese).
吕本强, 张永勇, 罗佳波. 双黄连粉针剂的化学成分研究[J]. 时珍国医国药, 2007, **18**(5): 1113-1114.
- [7] WANG Zhuju, TANG Liying, FU Meihong, *et al.* Studies on Flavonoids in *Prunella Vulgaris*[J]. *Li Shi-Zhen Med Mater Med Res*, 2008, **19**(8): 1966-1967 (in Chinese).
王祝举, 唐力英, 付梅红, 等. 夏枯草中的黄酮类化合物研究[J]. 时珍国医国药, 2008, **19**(8): 1966-1967.
- [8] CUI Yanjun, LIU Ping, CHEN Ruoyun. Studies on The Active Constituents in Vine Stem of *Spatholobus Suberectus*[J]. *China J Chinese Mater Med*, 2005, **30**(2): 121-123 (in Chinese).
崔艳君, 刘屏, 陈若芸. 鸡血藤有效成分研究[J]. 中国中药杂志, 2005, **30**(2): 121-123.
- [9] YIN Zhiqi, YE Wencai, ZHAO Shouxun. Studies on Chemical Constituents from *Hypericum Perforatum* of China Origin[J]. *J China Pharm Univ*, 2002, **33**(4): 277-279 (in Chinese).
殷志琦, 叶文才, 赵守训. 国产贯叶连翘化学成分的研究[J]. 中国药科大学学报, 2002, **33**(4): 277-279.
- [10] Zhong X N, Otsuka H, Ide T, *et al.* Hydroquinone Glycosides from Leaves of *Myrsine Seguinii*[J]. *Phytochemistry*, 1998, **49**

(7);2149-2153.

- [11] TAO Tingting, SEI Yasuo, WANG Tianzhi, *et al.* Chemical Constituents of *Sibiraea Angustata* [J]. *Chinese J Nat Med*, 2006, 4(4):257-259 (in Chinese).

陶婷婷, 濑井康雄, 王天志, 等. 窄叶鲜卑花的化学成分[J]. 中国天然药物, 2006, 4(4):257-259.

Determination of the Chemical Constituents in Aqueous Alcohol Extract of *Sibiraea Angustata*(Rehd.) Leaf Hand-Mazz.

YAN Zhihui^{a,b}, CHEN Lishu^a, ZHU Tongfei^{a*}, JIANG Ke^{c*},

CHEN Zhu^a, YANG Yongjian^b, WANG Dacheng^d

(^aChongqing Medical and Pharmaceutical College, Chongqing 401331, China;

^bPharmaceutical College of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China;

^cNo. 324 Hospital of PLA, Chongqing 400020, China;

^dCollege of Animal Science and Veterinary Medicine, Jilin University, Changchun 130062, China)

Abstract To determine the chemical constituents from *Sibiraea angustata*(Rehd.) Hand-Mazz, its 80% ethanol extract was isolated and purified by chromatograph over silica gel, Sephadex LH-20 and HPLC, *etc.* Nine compounds were isolated and identified as hyperoside(I), quercetin(II), rutin(III), quercetin-3-O- β -D-glucopyranoside(IV), catechin(V), vanillic acid(VI), arbutin(VII), isoferulic acid(VIII), daucosterol(IX). Their chemical structures were determined by chemical methods, NMR spectral data. Compounds I ~ III and V ~ VII were isolated from the leaves of *Sibiraea angustata*(Rehd.) Hand-Mazz. for the first time.

Keywords *Sibiraea angustata*(Rehd.) Hand-Mazz., chemical constituent, flavonoids, isolation, identification

Received 2013-03-18; Revised 2013-04-15; Accepted 2013-05-02

Supported by the Gansu Science and Technology Support Program-social Development Projects(0804NKCA120); Chongqing Health Bureau Medical Scientific Research Projects(2011-1-114)

Corresponding author: ZHU Tongfei; Tel/Fax: 023-65317958; E-mail: 396435070@qq.com; Research interests: natural pharmaceutical chemistry

Co-corresponding author: JIANG Ke, competent technician; Tel/Fax: 023-68762106; E-mail: 45032009@qq.com; Research interests: natural pharmaceutical chemistry