

湖北大戟中的鞣质类成分

阮汉利, 周雪峰, 张勇慧, 皮慧芳, 吴继洲

(华中科技大学同济医学院药学院, 湖北 武汉 430030)

大戟属是大戟科中最大的一个属, 全世界约有 2 000 余种, 我国有 80 多种。大戟属植物主要含有二萜酯类、三萜、甾醇、黄酮、鞣质和酚性成分, 民间主要用于除疣、抗肿瘤等^[1]。湖北大戟 *Euphorbia hylonoma* Hand. -Mazz. 又名冷水七、九牛造、翻天印、震天雷, 为大戟属植物, 具有通便利水、积破瘀、止痛的功效, 用于治疗二便不通、肝癌和肝硬化腹水等症^[1]。前期研究表明, 湖北大戟中含有萜类、甾体和鞣质等成分, 包括 3, 3', 4-三甲基鞣花酸、 β -amyrin、physcin、stigmast-4-en-3 β -ol-one、 β -谷甾醇和 euphorhylonal A 等^[2,3]。对产于湖北神农架地区的湖北大戟进行了研究, 从醋酸乙酯部分中得到 7 种成分, 分别鉴定为 3, 3', 4'-三甲基鞣花酸(I)、4-甲基-没食子酸(II)、没食子酸(III)、3, 3'-二甲基鞣花酸 4'-O- β -D-吡喃木糖苷(IV)、3, 3'-二甲基鞣花酸(V)、1, 2, 3, 4, 6-五氧没食子酰基- β -D-葡萄糖(VI)和蔗糖(VII)。化合物 II~VI 为首次从该植物中得到。

1 仪器与材料

熔点用 X-4 型显微熔点测定仪测定, 温度未校正; IR 光谱用岛津 IR-460 红外光谱测定仪测定, 溴化钾压片。核磁共振谱由 Bruker AM-400Dak RX-500 型核磁共振仪测定(TMS 为内标); 其中氢核磁共振(¹H-NMR)在 400 MHz 或 500 MHz 下测定, 碳核磁共振(¹³C-NMR)在 100 MHz 或 125 MHz 下测定; EI-MS 谱用美国 Finnigan DSQ 四极杆质谱仪测定, 电子能量 70 eV, 扫描范围 50~1000 Da; FAB-MS 质谱用美国 VG Auto Spec-3000 质谱仪测定, 采用甘油(Gly, MW=92)做基质, 扫描范围 50~1 000 Da, 扫描速度 5 sec/dec; 柱色谱材料(200~300 目)和薄层色谱用硅胶(GF254)为青岛海洋化工厂生产。

实验用湖北大戟根于 2001 年 11 月采自湖北神农架地区, 由神农架药品检验所石世贵主任药师采集并鉴定, 植物标本保存于药学院天然药物化学教

研室, 标本号 200129。

2 提取与分离

湖北大戟根干质量 11 kg, 粉碎用 95%乙醇反复回流提取, 得总浸膏 3.3 kg。加适量水稀释, 醋酸乙酯萃取, 萃取液浓缩后得醋酸乙酯部分 322 g, 该浸膏与 300 g 硅胶拌样, 湿法上 1 kg 硅胶柱, 以不同比例的石油醚-醋酸乙酯-甲醇进行梯度洗脱, 按等体积接样(500 mL), 共得 300 份。第 52~84 份经反复重结晶得化合物 I; 第 85~106 份经反复硅胶柱色谱和重结晶得化合物 II; 第 117~119 份经反复硅胶柱色谱和重结晶得化合物 III; 第 243~249 份经反复重结晶得化合物 IV; 第 215~232 份经反复硅胶柱色谱和反相 C₁₈柱色谱得化合物 V 和 VI; 第 268 份经重结晶得化合物 VII。

3 结构鉴定

化合物 I: 白色无定形粉末。微溶于乙醇、甲醇, 溶于吡啶、二甲基亚砜。三氯化铁反应阳性, 在 254 nm 有蓝色荧光。EI-MS 显示其分子离子峰 M⁺ 为 344, 结合 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 得知该化合物的分子式为 C₁₇H₁₂O₈。在该化合物的 ¹H-NMR 的低场区, 可以观察到 2 个氢的信号, 分别为 δ 7.55(1H, s) 和 7.48(1H, s), 中高场有 3 个甲氧基信号, 分别为 δ 4.05(3H, s, 3'-OCH₃), 4.03(3H, s, 3-OCH₃) 和 3.97(3H, s, 4-OCH₃)。在该化合物的 DEPT 谱中的低场区有 12 个季碳, 其 δ 值分别为 158.1, 157.9, 153.5, 152.5, 141.1, 140.9, 140.5, 140.1, 113.1, 112.1, 111.5, 110.8 和 2 个次甲基碳, 其 δ 值分别为 111.6 和 107.5; 与氢谱相对应, 在碳谱的中高场区也有 3 个甲氧基, 其 δ 值分别为 60.9(3'-OCH₃), 60.6(3-OCH₃), 56.5(4-OCH₃)。以上波谱特征提示该化合物为鞣花酸的三甲氧基取代物。以上数据与文献报道的 3, 3', 4'-三甲基鞣花酸的数据一致^[2], 故鉴定化合物 I 为 3, 3', 4'-三甲基鞣花酸(3, 3', 4'-trimethyllellagic acid)。

化合物 II: 白色羽毛状结晶。溶于乙醇、甲醇。碘

熏为粉红色至棕色斑点。EI-MS 显示其分子离子峰 M^+ 为 184, 结合 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 得知该化合物的分子式为 $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_5$ 。化合物 I 的 IR 光谱显示有羧基的特征吸收峰 ($3\ 600\sim 2\ 400\ \text{cm}^{-1}$, $1\ 703\ \text{cm}^{-1}$)。EI-MS 光谱显示分子离子峰 $M^+ (m/z)$ 为 184 和主要碎片峰 m/z 153 ($M-\text{OCH}_3$), 125 ($153-\text{C}=\text{O}$)。在该化合物的 $^1\text{H-NMR}$ 的低场区, 仅能观察到 1 个氢的信号, 其 δ 值为 7.05 (2H, s), 中高场有一个甲氧基信号, 为 δ 3.80 (3H, s, $2-\text{OCH}_3$)。在该化合物的 DEPT 谱中的低场区有 5 个季碳, 其 δ 值分别为 169.0 (COOH), 146.4 (C-3, 5), 139.7 (C-4), 121.4 (C-1); 2 个次甲基碳, 其 δ 值为 110.1 (C-2, 6)。鉴定化合物 I 为 4-甲基-没食子酸 (4-methyl gallic acid)^[4]。

化合物 II: 无色棱柱状结晶。溶于乙醇、甲醇。碘熏为棕色斑点。EI-MS、 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据与文献一致^[5], 鉴定化合物 II 为没食子酸 (gallic acid)。

化合物 IV: 淡黄色无定形粉末, 难溶于氯仿、醋酸乙酯、甲醇、乙醇等有机溶剂及水, 易溶于 DM-SO。在 365 nm 荧光灯下呈亮白色荧光。TOF-MS 得其分子离子峰为 $[M-1]^+ 461$ 及 $[2M-1]^+ 923$, 结合 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 得其分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_2$ 。从该化合物的 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 特征初步判断为鞣花酸类鞣质的木糖苷。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, in CD_3OD) 显示有 2 个芳氢 δ 7.69 (1H, s, H-5'), 7.43 (1H, s, H-5), 2 个甲氧基 δ 4.07 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 4.03 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 1 个糖的端基氢信号 δ 5.11 (1H, d, $J=7.15\ \text{Hz}$, H-1'') 及糖上其他氢的信号 δ 3.83 (1H, dd, $J=4.8, 10.8\ \text{Hz}$, H-5b), 3.35 (4H, m), 由糖的 δ 值判断其为木糖。根据 HMBC 和 HMQC 等二维谱, 对该化合物的碳谱数据进行了归属。 $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, in CDOD) δ : 158.2 (C-7'), 158.1 (C-), 152.7 (C-4), 151.1 (C-4'), 141.9 (C-3'), 140.8 (C-3), 141.4, 140.1 (C-2, 2'), 114.0 (C-6'), 112.5 (C-1'), 112.0 (CH-5'), 111.6 (C-6), 111.5 (CH-5), 110.9 (C-1), 101.9 (C-1''), 76.0 (C-3''), 73.0 (CH-2''), 69.2 (CH-4''), 65.7 (CH₂-5'')。在 ROESY 谱中, δ 5.11 糖的端基氢与 δ 7.69 的芳香氢相关, 说明糖位于 4' 位而不是 3' 位, 且说明 δ 7.69 的芳氢是与糖相连的芳环上的氢。另外在 ROESY 谱中, 无甲氧基和芳香氢的相关峰, 说明芳氢不与甲氧基相邻, 甲氧基位于 3 位而不是 4 位。综上所述, 鉴定化合物 IV 为 3, 3'-二甲氧基鞣花酸 4'- O - β -D-吡喃木糖苷 (3, 3'-di- O -methylellagic acid

4'- O - β -D-xylopyranoside)^[6]。

化合物 V: 白色无定型粉末。溶于氯仿、醋酸乙酯、石油醚等有机溶剂, 微溶于乙醇、甲醇、溶于吡啶、二甲基亚砷。三氯化铁反应阳性, 在 254 nm 有蓝色荧光。该化合物分自植物的正丁醇部位, 与 I 总是相伴存在, 不易分离。最终采用反相 C_{18} 柱将其分纯。该化合物在有机溶剂中易变为淡绿色, 需要避光低温保存。在 $^1\text{H-NMR}$ 低场区, 可以观察到 2 个氢的重叠信号, 为 δ 7.47 (2H, s), 中高场有两个重叠的甲氧基信号, 其 δ 值为 4.01 (6H, s, OCH_3 -3, 3')。在该化合物的 DEPT 谱中的低场区有 12 个季碳 (共有 6 组信号, 两两重叠), 其 δ 值分别为 158.6 (C-7, 7'), 153.8, 140.7, 140.6, 111.9, 110.5, 两个次甲基碳 (重叠), 其 δ 值为 111.0; 与氢谱相对应, 在碳谱的中高场区仅有一个甲氧基信号, 代表 2 个甲氧基, 其 δ 值为 60.0 (OCH_3 -3, 3')。以上波谱特征提示该化合物为对称的鞣花酸的二甲氧基衍生物。对照文献推定化合物 V 为 3, 3'-二甲基鞣花酸 (3, 3'-dimethylellagic acid)^[7]。

化合物 VI: 褐色块状物质。难溶于氯仿、醋酸乙酯等有机溶剂, 易溶于甲醇、乙醇及水。与 FeCl_3 显色呈深蓝色。FAB-MS 得其分子离子峰为 $[M-1]^+ 939$, 结合 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 得其分子式为 $\text{C}_{41}\text{H}_{32}\text{O}_{26}$ 。从该化合物的 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 特征初步判断为可水解鞣质。在 $^1\text{H-NMR}$ 谱中, 可以观察到 5 组芳环质子信号, 分别为 δ 7.11 (2H, s), 7.05 (2H, s), 6.98 (2H, s), 6.95 (2H, s), 6.90 (2H, s)。中高场区, 有一个 β -D 吡喃葡萄糖的信号: δ 6.22 (1H, d, $J=8.2\ \text{Hz}$, H-1), 5.88 (1H, t, $J=9.6\ \text{Hz}$, H-2), 5.60 (2H, m, H-3 and H-4), 4.52 (1H, d, $J=10.5\ \text{Hz}$, H-6), 4.35 (2H, m, H-5, 6)。在该化合物的 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱中共有 7 组碳的信号 (有 2 组重叠), 其中有两组 (重叠) 为次甲基碳, 其余均为季碳, 每组有 5 个碳, 显示该化合物含有 5 个没食子酸单元结构。在碳谱中还有一个葡萄糖的信号, 其 δ 值分别为: 93.8 (C-1), 74.4 (C-3), 74.1 (C-2), 72.2 (C-5), 69.8 (C-4), 63.1 (C-6)。鉴定化合物 VI 为 1, 2, 3, 4, 6-五氧没食子酰基- β -D 葡萄糖 (1, 2, 3, 4, 6-penta- O -galloyl- β -D-glucose)^[8]。

化合物 VII: 淡黄色粉末, 溶于水, 甲醇。EI-MS、 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据与蔗糖标准品完全一致。

References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1986.

- [2] Guo Z J, Zhu R, Lu J X, et al. Constituents from *Euphorbia hylonoma* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1995, 20(12): 744-745.
- [3] Chen H, Jia Z J. Diterpenes and sesquiterpene from two *Euphorbia* species — structure elucidation of euphorhylonal A and euphoranin E. [J]. *Indian J Chem Sect B*, 1996, 35B(12): 1308-1310.
- [4] Xu Z H, Liu X K, Xu G S, et al. Constituents from *Ampelopsis brevipedunculata* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1995, 20(8): 484-485.
- [5] Yu W S, Chen X M, Yang L, et al. Studies on the tannin constituents of *Ampelopsis japonica* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 1995, 7(1): 15-18.
- [6] Sinha A, William H T, Ikhlal H K, et al. Glycoside primers of *Psittacanthus cucullaris* [J]. *J Nat Prod*, 1999, 62: 1036-1038.
- [7] Liu R H, Chen L L, Kong L Y. Ellagic acid derivatives from the stem bark of *Sapium sebiferum* [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2002, 33(5): 370-373.
- [8] Agata I, Hatano T, Nakaye Y, et al. Tannins and related polyphenols of Euphorbiaceae plants. VIII. [J]. *Chem Pharm Bull*, 39(4): 881-883.

亳菊的化学成分研究

顾瑶华, 秦民坚*

(中国药科大学 中药资源学研究室, 江苏 南京 210038)

菊花为常用中药, 具有疏风散热、清肝明目、解疮毒的功效^[1]。亳菊主产于安徽亳州、涡阳一带, 有200~300年的栽培历史。亳菊与贡菊、滁菊、杭菊被《中国药典》(2000年版)收载于菊花品种中。研究发现, 菊花因产地和品种的不同, 其形态有所分化, 化学成分也不尽相同, 亳菊原植物经安徽中医学院教授王德群研究定名为新栽培变种 *Dendranthema morifolium* (Ramat.) Tzvel cv. 'boju'^[2]。关于杭菊、滁菊、贡菊的非挥发性化学成分已有报道, 对亳菊非挥发性化学成分的研究尚未见报道。本实验对亳菊进行了化学成分的系统研究, 从中分得15个化合物, 分别为金合欢素(acacetin, I)、木犀草素(luteolin, II)、芹菜素(apigenin, III)、3,5-二羟基-4',6,7,8-四甲氧基黄酮(3,5-dihydroxy-4',6,7,8-tetramethoxyflavone, IV)、六棱菊亭(artemetin, V)、柚皮素(naringenin, VI)、5,7,3',4'-四羟基二氢黄酮(5,7,3',4'-tetrahydroxyflavanone, VII)、金合欢素-7-O-β-D-葡萄糖苷(acacetin-7-O-β-D-glucopyranoside, VIII)、芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖苷(apigenin-7-O-β-D-glucopyranoside, IX)、木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷(luteolin-7-O-β-D-glucopyranoside, X)、绿原酸(chlorogenic acid, XI)、β-谷甾醇(β-sitosterin, XII)、胡萝卜苷(daucosterol, XIII)、正十五烷(XIV)、正壬酸(XV)。这些化合物均为首次从该植物中分得, 其中化合物IV~VII、XIV、XV为首次从该属植物中分得。

1 仪器与材料

熔点用X-4型显微熔点测定仪测定, 温度未

经校正。核磁共振用Bruker ACF-300核磁共振仪测定。质谱用VG Auto Spec-3000测定。薄层色谱和柱色谱硅胶均为青岛海洋化工厂生产。所用试剂均为分析纯。亳菊 *D. morifolium* (Ramat.) Tzvel. cv. 'boju' 购自亳州, 经中国药科大学秦民坚教授鉴定, 样品保存于本实验室。

2 提取与分离

亳菊12 kg粉碎成粗粉, 70%乙醇浸泡提取, 回收乙醇得浸膏2450 g, 浸膏加水溶解, 水溶液依次用醋酸乙酯、正丁醇反复萃取, 醋酸乙酯萃取液减压蒸干后得残渣1050 g, 残渣用乙醇溶解, 拌入少量硅胶, 干燥后上硅胶柱(100~200目), 石油醚-丙酮梯度洗脱, 得化合物粗品, 经反复硅胶(200~300目)柱, 乙醇重结晶, 得化合物I~VII, XII、XIV、XV; 正丁醇萃取液减压蒸干后得残渣630 g, 残渣用乙醇溶解, 拌入少量硅胶, 干燥后上硅胶柱(100~200目), 氯仿-甲醇梯度洗脱, 得化合物粗品, 经反复硅胶(200~300目)柱, 乙醇重结晶, 得化合物VIII~XI。

3 结构鉴定

化合物I: 黄色针晶, mp 259~262 °C(甲醇)。盐酸-镁粉反应阳性。¹H-NMR(DMSO-d₆) δ: 12.92(1H, s, OH-5), 10.80为羟基氢, 8.09(2H, d, J=8.7 Hz, H-2', 6'), 7.10(2H, d, J=8.8 Hz, H-3', 5'), 示B环为AA'BB'偶合系统, 存在4'取代, 6.85(1H, s, H-3)为黄酮H-3的特征峰, 6.16(1H, d, J=2.1 Hz, H-8), 6.40(1H, d, J=2.1 Hz, H-6), 示A环5,7二取代, 3.86(3H, s, OCH₃), ¹³C-NMR δ: 164.2, 103.4, 181.6, 163.2, 98.8, 162.2, 93.9,

收稿日期: 2006-03-16

作者简介: 顾瑶华(1979—), 女, 江苏人, 硕士, 现为苏州卫生学校教师。

* 通讯作者 秦民坚 Tel: (025)85391290 E-mail: minjianqin@sina.com