

大叶金花草化学成分的研究(II)

罗娅君¹, 肖新峰², 王照丽^{3*}(1 绵阳师范学院化学与化学工程学院, 四川 绵阳 621000; 2 山东科技大学, 山东 青岛 261000;
3 成都市环境保护研究院, 四川 成都 610065)

摘要:目的 研究大叶金花草的化学成分。方法 应用各种色谱技术分离纯化, 通过理化性质和波谱学方法鉴定化合物的结构。结果 从 95% 乙醇提取物的醋酸乙酯萃取部分中分离得到 12 个有机酸化合物, 鉴定了 10 个, 分别鉴定为 2, 5-二羟基苯甲酸甲酯(methyl 2, 5-dihydroxybenzoate, I)、邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯[phthalic acid bis-(2-ethylhexyl) ester, II]、棕榈酸(palmitic acid, IV)、原儿茶醛(protocatechuic aldehyde, V)、三十烷酸(triacontanoic acid, VII)、3-羟基-4-甲氧基苯甲酸(3-hydroxy-4-methoxybenzoic acid, VIII)、原儿茶酸(protocatechuic acid, IX)、对-羟基苯甲酸(*p*-hydroxybenzoic acid, X)、对甲氧基苯甲酸(*p*-methoxybenzoic acid, XI)、丁香酸(syringic acid, XII)。结论 化合物 I、II、IV、VII、VIII、X、XI 均为首次从该属植物中得到。

关键词:大叶金花草; 有机酸; 酚酸

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2009)02-0190-03

大叶金花草是鳞始蕨科植物乌蕨 *Stenoloma chusana* (L.) Ching 的全草和根茎, 主产于长江以南和陕西、四川各地。其单方和复方均具有清热解毒、利湿、止血的功效、临床用于治疗肠炎、肝炎、咽喉炎等症, 民间用于治疗胃癌、肠癌、食物中毒和农药中毒, 有“万能解毒药”之称^[1]。其化学成分研究报道较少, 主要为有机酸类和黄酮类^[2,3]。前期工作对该植物的化学成分进行了研究, 从 95% 乙醇提取物的石油醚和氯仿萃取部分中分离得到 7 个化合物, 鉴定了其中 5 个化合物。本实验又从 95% 乙醇提取物的醋酸乙酯萃取部分中分离得到了 12 个化合物, 鉴定了其中 10 个化合物, 分别为 2, 5-二羟基苯甲酸甲酯(methyl 2, 5-dihydroxybenzoate, I)、邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯[phthalic acid bis-(2-ethylhexyl) ester, II]、棕榈酸(palmitic acid, IV)、原儿茶醛(protocatechuic aldehyde, V)、三十烷酸(triacontanoic acid, VII)、3-羟基-4-甲氧基苯甲酸(3-hydroxy-4-methoxybenzoic acid, VIII)、原儿茶酸(protocatechuic acid, IX)、对-羟基苯甲酸(*p*-hydroxybenzoic acid, X)、对甲氧基苯甲酸(*p*-methoxybenzoic acid, XI)、丁香酸(syringic acid, XII)。其中化合物 I、II、IV、VII、VIII、X、XI 均为首次从该属植物中得到。

1 仪器和材料

BSZ-40 自动部分收集器; 德国 Netzsch 公司

DSC 200PC 差势量热扫描仪; PerkinElmer 公司 FT-IR 红外光谱仪; Varian 公司 Varian unity inova-400 NMR; Bruker 公司 ESI-MS: Bio TOF Q 质谱仪; 柱色谱用硅胶(100 目, 160~200 目)和薄层色谱用硅胶 GF 254(60 型)均由青岛海洋化工厂生产; 其余试剂为分析纯。

大叶金花草 *Stenoloma chusana* (L.) Ching 购于成都市五块石药材市场偏冷药行, 由中国科学院成都分院生物所植化室鉴定。

2 提取和分离

大叶金花草全草 7.4 kg(去除杂草后干重), 洗净, 于 60 °C 烘箱中烘干, 粉碎, 过 60 目筛, 用 95% 乙醇室温浸提(40 L × 3), 共浸泡 32 d, 合并提取液减压浓缩得乙醇浸膏 928.00 g, 总浸膏得率为 12.54%。总浸膏用 3 L 蒸馏水搅拌, 分散为悬浊液, 依次用石油醚、氯仿、醋酸乙酯和正丁醇萃取, 减压浓缩各萃取液, 得到石油醚浸膏 168 g, 氯仿浸膏 86 g, 醋酸乙酯浸膏 106 g, 正丁醇水部分浸膏 457 g。

820 g 硅胶(160~200 目)氯仿湿法装柱, 取醋酸乙酯部分浸膏 83 g 用少量甲醇溶解, 80 g 硅胶(100 目)拌样, 挥干溶剂, 柱色谱分离, 依次用氯仿-甲醇(100:0, 100:1, 100:2, 40:1, 25:1, 10:1, 4:1, 7:3, 3:2)常压下进行梯度洗脱(900 mm × 80 mm)。经薄层检查, 合并相同流份, 得到 Fr. 1~

* 收稿日期: 2008-04-07
基金项目: 四川省教育厅青年基金项目(2005B048); 绵阳师范学院科研基金资助项目(MA2006011)
作者简介: 罗娅君(1973-), 女, 四川资中人, 博士, 副研究员, 研究方向为现代分离分析方法及理论。
Tel: 13981124332 E-mail: luolaowu@126.com

16 个部分。Fr. 1 部分以石油醚-乙醚梯度洗脱, 反复硅胶柱色谱分离得到化合物 I (32 mg); Fr. 3、4 部分以石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱, 反复硅胶柱色谱得到化合物 II (16 mg) 和 III (5 mg); Fr. 5 部分以氯仿-醋酸乙酯梯度洗脱, 反复硅胶柱色谱得化合物 IV (354 mg); Fr. 6 部分洗脱液经浓缩后, 有大量晶体析出, 氯仿-甲醇重结晶, 得到浅黄色结晶 V (125 mg)。滤除晶体之后的母液放置一段时间后又析出晶体, 环己烷-醋酸乙酯重结晶, 得到白色针状结晶 VI (167 mg)。母液浓缩得到黑色膏状物 3.7 g, 取 2.3 g 样品, 进行反复硅胶柱色谱, 氯仿-甲醇梯度洗脱, 得化合物 VII (16 mg)、VIII (36 mg)、IX (28 mg)、X (8 mg)、XI (10 mg)、XII (12 mg)。

3 结构鉴定

化合物 I: 白色无定形粉末(氯仿), mp 82~84 °C, 由 ESI-MS 得相对分子质量为 168。IR ν_{\max}^{KBr} (cm^{-1}): 3 479 为 OH 吸收, 1 675 为 CO 吸收, 1 594、1 517、1 449 为苯环特征峰。 $^1\text{H-NMR}$ 谱中 δ 6.8~7.5 有 3 个 H, 而 IR ν_{\max}^{KBr} (cm^{-1}): 1 600~1 800 只有羰基的红外吸收, 表明没有烯氢存在, 所以该苯环为 3 取代, 6.84 (1H, d, $J=9.0$ Hz) 的信号表明苯环的 3 取代类型为 1, 2, 3-三取代或 1, 2, 4-三取代。 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱中 δ 55.92 表明存在 $-\text{OCH}_3$ 。与文献报道比较^[4], 可确定化合物 I 为 2, 5-二羟基苯甲酸甲酯。

化合物 II: 白色固体(氯仿), IR ν_{\max}^{KBr} (cm^{-1}): 3 441, 2 959, 2 931, 2 861, 1 725, 1 599, 1 579, 1 460, 1 123。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.71 (2H, dd, $J=5.8, 3.3$ Hz, H-3, 6), 7.53 (2H, dd, $J=3.3, 5.8$ Hz, H-4, 5), 4.31 (4H, m, $J=6.2$ Hz, H-1', 1''), 1.70 (2H, m, H-2', 2''), 1.36 (4H, m, H-3', 3''), 1.31 (4H, m, H-4', 4''), 1.32 (4H, m, H-5', 5''), 0.90 (6H, t, $J=7.3$ Hz, H-6', 6''), 1.43 (4H, m, H-a', a''), 0.92 (6H, t, $J=7.5$ Hz, H-b', b'')。 $^{13}\text{C-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ : 167.55 (s, $2 \times \text{C}=\text{O}$), 132.43 (s, G-1, 2), 128.78 (d, G-4, 5), 130.86 (d, G-3, 6), 68.13 (t, G-1', 1''), 38.71 (t, G-2', 2''), 30.34 (d, G-3', 3''), 28.91 (t, G-4', 4''), 22.97 (t, G-5', 5''), 14.03 (q, G-6', 6''), 23.72 (t, G-a', a''), 10.95 (q, G-b', b'')。以上数据与文献报道数据一致^[5], 据此判断其为邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯。

化合物 IV: 白色粉末(氯仿-甲醇), mp 56~58 °C。用碱化的溴甲酚绿显色反应阳性, 显土黄色, 证明化合物是一个有机酸。IR ν_{\max}^{KBr} (cm^{-1}): 2 917

($-\text{COOH}$), 2 849 ($-\text{CH}$), 1 704 ($-\text{C}=\text{O}$), 1 472.3, 1 463.3, 1 296.6, 1 206.6, 1 099.63, 933.48, 720.4。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 2.34 (2H, t, H-2), 1.61 (2H, t, H-3), 1.28 (24H, m, H-4~15), 0.85 (3H, t, $J=6.7$ Hz, H-16)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) δ : 14.1 (G-16), 22.6 (G-15), 24.9 (G-14), 29.0~30.0 (G-4~13), 32.1 (G-3), 34.0 (G-2), 174.6 (G-1)。与文献对照^[6], 鉴定为棕榈酸。

化合物 V: 黄色结晶(氯仿-甲醇), mp 155.2~157.3 °C, ESI-MS m/z : 139 [$\text{M} + \text{H}$]⁺。三氯化铁和氯化锶反应呈阳性, 提示有邻二酚羟基存在, UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm: 231, 278, 311, 320。IR ν_{\max}^{KBr} (cm^{-1}): 3 229.0 为 OH 吸收, 2 874.2, 2 823.98 为 $-\text{CHO}$ 吸收, 1 647.2 为 $-\text{C}=\text{O}$ 吸收, 1 596.1, 1 536.8, 1 442.79 为苯环的骨架振动。 $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$) δ : 10.12 (1H, s, $-\text{CHO}$), 6.89 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-5), δ 7.25 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-6), ; δ 7.22 (1H, br s, H-2) 为典型苯环的 ABX 系统。 $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$) δ : 129.1 (s, G-1), 114.5 (d, G-2), 146.1 (s, G-3), 152.3 (s, G-4), 116.3 (d, G-5), 124.7 (d, G-6), 191.5 (d, G-7)。以上理化性质和光谱数据与文献报道的原儿茶醛比较基本一致^[7], 故鉴定其为原儿茶醛。

化合物 VII 淡黄色雪花状结晶(氯仿-甲醇), mp 87~88 °C。UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm: 241 处有最大吸收, 说明有羰基存在。IR ν_{\max}^{KBr} (cm^{-1}) 光谱显示有甲基、亚甲基和次甲基(2 955, 2 920, 2 840, 1 470, 1 463, 1 299, 936), 多于 4 个的聚合亚甲基(719) 和羰基(1 708) 的特征吸收峰。 $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$) δ : 0.88 (3H, t, $J=4.8$ Hz, $-\text{CH}_3$), 1.28 (52H, s, 2~27- CH_2), 1.63 (2H, m, $J=4.8$ Hz, 28- CH_2), 2.35 (2H, t, $J=4.8$ Hz, 29- CH_2), 11.55 (1H, s, $-\text{COOH}$)。 $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$) δ : 33.55 (G-2), 31.59 (G-3), 29.3 (G-4~27), 24.72 (G-28), 22.39 (G-29), 14.3 (G-30)。化学位移全在 δ 40 以下, 可推断其为烷烃或长链烷酸, 氢谱和碳谱数据与文献报道完全一致^[8], 根据以上信息, 结合相对分子质量, 确定其为三十烷酸。

化合物 VIII 类白色结晶(氯仿-甲醇), mp 210.7~212.8 °C, ESI-MS 得相对分子质量为 168。三氯化铁反应呈阳性, 提示有酚羟基存在。IR ν_{\max}^{KBr} (cm^{-1}): 3 485.2, 2 976.4, 2 652.5, 1 682.4, 1 598.6, 1 523.8, 1 435.1, 1 299.2, 1 282.1, 1 239.6, 1 112.8, 1 029.6, 919.3, 882.7, 765.8,

637.5. $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 3.80 (3H, s, -CH₃), 9.86 (1H, s, -OH), 12.5 (1H, s, -COOH). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 55.7 (S, -OCH₃), 112.8 (s, G-2), 115.2 (s, G-6), 121.6 (s, G-1), 123.6 (s, G-5), δ 147.4 为羟基碳信号, δ 151.2 为苯环上连有甲氧基的碳信号, δ 167.4 为羧基碳信号。据此推断该化合物可能的结构为 3-甲氧基-4-羟基苯甲酸和 3-羟基-4-甲氧基苯甲酸。计算各取代基的影响, 发现后者的结构更符合图谱的化学位移, 同时其光谱数据与文献报道基本一致^[9], 故确定其结构为 3-羟基-4-甲氧基苯甲酸。

化合物 IX: 白色针状结晶 (甲醇), mp 198~200 °C。三氯化铁反应呈阳性, 推测其可能为酚酸类化合物。ESI-MS m/z : 155 [M + H]⁺。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ nm: 228, 258。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3200 为 OH 吸收, 2730 为 COOH 吸收, 1673 为 C=O 吸收, 1609, 1510, 1449, 1390, 1290, 1260, 1065, 970, 860。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 7.33 (1H, s, H-2), 7.28 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-6), 6.8 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-5 为苯环典型 ABX 系统。 δ 9.70 处给出活泼氢质子。 $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 167.5, 150.0 (G-4), 145.1 (G-3), 121.8 (G-1), 115.4 (G-2), 116.7 (G-5), 122.13 (G-6), 此理化性质和波谱数据与文献对照基本一致^[10], 鉴定其为原儿茶酸。

化合物 X: 无色针状结晶 (丙酮), mp 215~217 °C。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3388 为 OH 吸收, 2831, 2548 为 COOH 吸收, 1676, 1608, 1595, 1423, 1317, 1244, 1169, 1101, 931, 854。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 7.90 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2, 6), 6.84 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3, 5)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 122.7 (s, G-1), 133.0 (d, G-2, 6), 116.0 (d, G-3, 5), 163.3 (s, G-4), 170.1 (s, G-7)。以上数据与文献报道对羟基苯甲酸的数据一致^[11]。

化合物 XI: 类白色结晶 (氯仿), mp 205~207 °C, ESI-MS m/z : 153 [M + H]⁺。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3388, 2831, 2548, 1676, 1608, 1595, 1423, 1317, 1244, 1169, 1101, 931, 854。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 7.90 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2, 6), 6.84 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3, 5)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 122.7 (s, G-1), 133.0 (d, G-2, 6), 116.0 (d, G-3, 5), 163.3 (s, G-4), 170.1 (s, G-7)。其理化常数和波谱数据与文献报道基本一致^[12], 可鉴定为对甲氧基苯甲酸。

化合物 XII: 类白色晶体 (氯仿/甲醇), mp 212~213 °C, 紫外灯 254 nm 下显暗斑, 三氯化铁反应呈阳性, IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3485 (-OH), 3400~2790 (宽峰), 1686 (C=O), 1600, 1525, 1436 (苯环), 873 (苯环三取代)。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 3.80 (6H, s, -OCH₃ × 2), 7.20 (2H, s, H-2, 6), 9.23 (1H, s), 12.61 (1H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 56.2 (d, -OCH₃ × 2), 107.0 (d, G-2, 6), 120.5 (s, G-1), 140.4 (s, G-4), 147.6 (d, G-3, 5), 167.4 (s, -COOH)。以上数据与 Sadtler 的标准 $^1\text{H-NMR}$ 谱^[13] 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据基本一致^[14], 故鉴定该化合物为 3,5-二甲氧基对羟基苯甲酸, 即丁香酸。

4 讨论

10 个化合物都属有机酸类, 其中 8 个属酚酸类化合物, 说明大叶金花草中酚酸类成分种类较多, 这很可能是大叶金花草抗菌消毒作用的主要物质基础。

参考文献:

- [1] 国家中医药管理局主编.《中华本草》[M]. 第 2 卷. 上海: 上海科学技术出版社, 1999
- [2] 陶晨, 杨小生, 罗戟刚. 乌蕨中抑菌活性成分核磁共振波谱分析 [J]. 贵阳医学院学报, 2004, 29(6): 495-496
- [3] Ueno A, Oguri N, Hori K, et al. Pharmaceutical studies on ferns 18. Chemical components in leaves of *Sphenomeris chusana* Copel and *Cyathea fau-Copel* [J]. *Jpn J Pharmacol*, 1963, 83: 420-422.
- [4] Kadaba P K. New compounds: Convenient selective esterification of aromatic carboxylic acids bearing other reactive groups using a boron trifluoride etherate-alcohol reagent [J]. *J Pharmaceut Sci*, 1974, 63(8): 1333-1335
- [5] Amade P, Mallea M, Bouaicha N. Isolation structural identification and biological activity of two metabolites produced by *Penicillium olsonii* Bainier and Sartory [J]. *J Antibiot*, 1994, 47(2): 201-207
- [6] 丛浦珠. 质谱学在天然有机化学中的应用 [M]. 北京: 科学出版社, 1987
- [7] Sadtler Standard Carbon-13-NMR Spectra [S]. Vol 8185 1984
- [8] 连珠, 张承志, 李冲, 等. 蒙药广枣化学成分的研究 [J]. 中药材, 2003, 26(1): 23-24
- [9] 尚小雅, 李帅, 王映红, 等. 红绒毛羊蹄甲的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(23): 953-955
- [10] Katherine N S. Carbon-13 nuclear magnetic resonance of biologically important aromatic acids [J]. *J Am Chem Soc*, 1972, 94(24): 8564
- [11] 曾志, 曾陇梅, 苏镜娉. 海棉 *Haliclona* sp 化学成分研究 [J]. 中国海洋药物, 1995, 14(1): 51-53
- [12] Koichi M, Masao K. No risoprenoids from *Viburnum dilatatum* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 41(5): 1333-1336
- [13] Sadtler Research Laboratories. Sadtler Standard $^1\text{H-NMR}$ Spectra [S]. 1969
- [14] Sadtler Research Laboratories. Sadtler Standard Carbon $^{13}\text{C-NMR}$ Spectra [S]. 1979