

蜜柑草三氯甲烷部位化学成分分析

朱春玲¹, 马健雄^{2*}

(1. 广西卫生职业技术学院, 南宁 530023;
2. 广西金海堂药业有限责任公司 新药研发中心, 南宁 530313)

[摘要] **目的:**研究广西常用民间草药蜜柑草三氯甲烷萃取部位的化学成分, 从中寻找有重要生物活性及药用前景的天然化合物, 为其深度开发利用提供科学依据。**方法:**利用硅胶柱色谱结合凝胶柱色谱等多种分离技术, 从壮族药蜜柑草75%乙醇提取物的三氯甲烷萃取部位分离得到7个化合物, 并通过理化性质和¹H-NMR, ¹³C-NMR, MS等波谱学技术进行结构鉴定。**结果:**从壮族药蜜柑草三氯甲烷萃取部位共分离得到的7个化合物, 分别鉴定为槲皮素(1), 3,3'-O-二甲基槲皮素(2), 3',4'-O-二甲基槲皮素(3), (-)-表没食子儿茶素(4), 3,3'-O-二甲基鞣花酸(5), 3,4-O-二甲基鞣花酸(6), β-胡萝卜素(7)。**结论:**化合物2~7为首次从该植物中分离得到。

[关键词] 蜜柑草; 三氯甲烷部位; 化学成分

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)04-0034-03

[doi] 10.13422/j.cnki.sjfx.2015040034

Chemical Constituents of CHCl₃ Extract from *Phyllanthus matsumurae* ZHU Chun-ling¹, MA Jian-xiong^{2*}
(1. Guangxi Medical College, Nanning 530023, China; 2. New Drug R&D Center of Guangxi Jinhaitang Pharmaceutical Co. Ltd., Nanning 530313, China)

[Abstract] **Objective:** To study chemical constituents of CHCl₃ extract from *Phyllanthus matsumurae* and provide the scientific evidence for further development. **Method:** Various techniques such as silica gel column and Sephadex LH-20 chromatography were used for the isolation and purification. Physicochemical properties and spectroscopic methods including ¹H-NMR, ¹³C-NMR and MS were used for the identification of structures. **Result:** Seven compounds were isolated from the CHCl₃ extract of 75% alcohol extract of the whole plant and identified to be quercetin (1), 3, 3'-dimethylquercetin (2), 3', 4'-dimethylquercetin (3), (-)-epigallocatechin (4), 3, 3'-O-dimethylelagic acid (5), 3, 4-O-dimethylelagic acid (6), and β-daucosterol (7). **Conclusion:** Compounds 2-7 were reported from this plant for the first time.

[Key words] *Phyllanthus matsumurae*; CHCl₃ extract; chemical constituents

蜜柑草为壮族民间常用药, 具有清热利湿、清肝明目之功效。主要用于治疗黄疸、痢疾、淋病、毒蛇咬伤等病症^[1]。目前对该药的研究甚少, 主要集中在生药鉴定、含量测定及化学成分方面^[2-6]。现有报道从该植物分离的化合物有10个, 其中柯里拉京显示有较强的抗癌活性^[5-6]。可见, 该药具有较大的开发利用价值, 对其活性化学成分进行研究有重要的现实意义。为此作者对该药的化学成分进行了进一步研究, 在三氯甲烷萃取部位分离得到7个化

合物, 应用核磁共振和质谱等波谱技术鉴定为槲皮素(1), 3,3'-O-二甲基槲皮素(2), 3',4'-O-二甲基槲皮素(3), (-)-表没食子儿茶素(4), 3,3'-O-二甲基鞣花酸(5), 3,4-O-二甲基鞣花酸(6)和β-胡萝卜素(7)。化合物2~7为首次从该植物中分离得到。

1 材料

XT-4A型熔点测定仪(温度计未校正), Varian INOVA-400型核磁共振仪, Finnigan MAT95型EI质

[收稿日期] 20140521(031)

[基金项目] 广西壮族自治区科技厅项目(09321005)

[第一作者] 朱春玲, 硕士, 讲师, 从事天然药物教学与研究, Tel:13211336990, E-mail: zhuchl1974@sina.cn

[通讯作者] *马健雄, 高级工程师, 从事中药新药研究与开发, Tel:15240656860, E-mail: majianxiong66@163.com

谱仪, Breeze 型高效液相色谱仪 (Waters 公司), H60 型硅胶 (青岛海洋化工公司), Sephadex LH-20 型凝胶 (Pharmacia 公司), 试剂均为分析纯。

蜜柑草采于广西南宁市郊外, 由广西中医药大学韦松基教授鉴定为大戟科植物 *Phyllanthus matsumurae* 的全草。

2 提取分离

蜜柑草药材 (10 kg) 粉碎后, 用 75% 乙醇浸提 3 次, 合并提取液减压浓缩除去乙醇, 得乙醇提取物 (982.6 g), 分别用石油醚、三氯甲烷、正丁醇萃取, 得三氯甲烷部位 (102.7 g)。取三氯甲烷部位 (45 g) 用硅胶柱色谱分离, 石油醚-丙酮溶剂系统 (100:1~0:1) 梯度洗脱, 所得组分反复用硅胶柱、Sephadex LH-20 柱等色谱技术进行分离纯化, 得到化合物 **1** (19 mg), **2** (13 mg), **3** (8 mg), **4** (10 mg), **5** (9 mg), **6** (12 mg) 和 **7** (29 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1** 黄色晶体, MP 313~314 °C; 硅胶薄层展开, 可见光下为黄色斑点, 254 nm 有紫外吸收, 10% 的硫酸显色为黄色, 与 2% 三氯化铁溶液反应显黄绿色, 盐酸-镁粉反应阳性。ESI-MS m/z 303 $[M + H]^+$, 301 $[M - H]^-$ 。¹H-NMR (acetone- d_6) δ : 6.39 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H-8), 6.16 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6), 6.83 (1H, d, $J=8.7$ Hz, H-5'), 7.69 (1H, dd, $J=8.0, 2.1$ Hz, H-6'), 7.78 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-2')。以上数据与文献[7]报道基本一致, 故鉴定化合物 **1** 为槲皮素 (quercetin)。

化合物 **2** 黄色晶体, MP 230~232 °C; ESI-MS m/z 331 $[M + H]^+$, 329 $[M - H]^-$ 。¹H-NMR (acetone- d_6) δ : 3.79 (3H, s, 3-OCH₃), 3.93 (3H, s, 7-OCH₃), 6.35 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 6.74 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 7.11 (1H, d, $J=8.9$ Hz, H-3'), 7.80 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-2'), 7.85 (1H, dd, $J=8.9, 2.1$ Hz, H-6'); ¹³C-NMR (acetone- d_6) δ : 58.7 (C3'-OCH₃), 59.8 (C3-OCH₃), 92.6 (C-8), 97.8 (C-6), 102.5 (C-10), 109.6 (C-5'), 109.5 (C-2'), 120.3 (C-1'), 120.3 (C-6'), 135.2 (C-3), 145.7 (C-3'), 150.5 (C-4'), 152.4 (C-2), 153.7 (C-9), 159.9 (C-5), 162.4 (C-7), 175.2 (C-4)。以上数据与文献[8]报道基本一致, 故鉴定化合物 **2** 为 3,3'-O-二甲基槲皮素 (3,3'-O-dimethylquercetin)。

化合物 **3** 黄色晶体, MP 230~232 °C; ESI-MS m/z 331 $[M + H]^+$, 329 $[M - H]^-$ 。¹H-NMR

(acetone- d_6) δ : 3.86 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.95 (3H, s, 4'-OCH₃), 6.24 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8), 6.53 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 7.14 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-5'), 7.62 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-2'), 7.88 (1H, dd, $J=8.0, 2.1$ Hz, H-6'); ¹³C-NMR (acetone- d_6) δ : 55.5 (C4'-OCH₃), 55.6 (C3'-OCH₃), 91.9 (C-8), 97.8 (C-6), 104.2 (C-10), 111.3 (C-5'), 115.8 (C-2'), 120.6 (C-6'), 122.6 (C-1'), 136.0 (C-3), 146.4 (C-3'), 146.7 (C-4'), 146.9 (C-2), 156.8 (C-9), 160.8 (C-5), 165.7 (C-7), 175.5 (C-4)。以上数据与文献[9]报道基本一致, 故化合物 **3** 鉴定为 3',4'-O-二甲基槲皮素 (3',4'-O-dimethylquercetin)。

化合物 **4** 白色无定形粉末。ESI-MS m/z 329.2 $[M + Na]^+$, 305.0 $[M - H]^-$ 。¹H-NMR (CD₃OD) δ : 4.52 (1H, d, $J=7.3$ Hz, H-2), 3.94 (1H, m, H-3), 2.78 (1H, dd, $J=16.3, 5.2$ Hz, H-4 α), 2.47 (1H, dd, $J=16.3, 7.8$ Hz, H-4 β), 5.91 (1H, d, $J=2.6$ Hz, H-6), 5.85 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8), 6.39 (2H, s, H-2', 6'); ¹³C-NMR (CD₃OD) δ : 83.3 (C-2), 69.2 (C-3), 28.6 (C-4), 101.1 (C-4a), 158.1 (C-5), 96.6 (C-6), 158.3 (C-7), 95.9 (C-8), 157.3 (C-8a), 132.0 (C-1'), 107.6 (C-2'), 147.3 (C-3'), 134.4 (C-4'), 147.3 (C-5'), 107.6 (C-6')。以上数据与文献[10]报道基本一致, 故化合物 **4** 鉴定为 (-)-表没食子儿茶素 [(-)-epigallocatechin]。

化合物 **5** 淡黄色针状结晶, MP >300 °C; ESI-MS m/z 331 $[M + H]^+$, 329 $[M - H]^-$ 。¹H-NMR (DMSO- d_6) δ : 7.43 (1H, s, 5-H & 5'-H), 3.98 (3H, s, 3-OCH₃ & 3'-OCH₃); ¹³C-NMR (DMSO- d_6) δ : 158.8 (C-7, 7'), 153.1 (C-4, 4'), 141.7 (C-2, 2'), 140.9 (C-3, 3'), 113.2 (C-6, 6'), 112.8 (C-1, 1'), 112.1 (C-5, 5'), 61.2 (3, 3'-OCH₃)。以上数据与文献[11]报道基本一致, 故化合物 **5** 鉴定为 3,3'-O-二甲基鞣花酸 (3,3'-O-dimethylgallagic acid)。

化合物 **6** 黄色针状晶体, MP >300 °C; ESI-MS m/z 331 $[M + H]^+$, 329 $[M - H]^-$ 。¹H-NMR (DMSO- d_6) δ : 7.51 (1H, s, H-5), 7.51 (1H, s, H-5'), 4.02 (3H, s, 3-OCH₃), 4.02 (3H, s, 4-OCH₃); ¹³C-NMR (DMSO- d_6) δ : 111.6 (C-1, 1'), 141.7 (C-2, 2'), 140.4 (C-3, 3'), 152.6 (C-4, 4'), 111.8 (C-5, 5'), 113.0 (C-6, 6'), 159.1 (C-

7, 7'), 61.1 (3, 4-OCH₃)。以上数据与文献[12]报道基本一致,故化合物**6**鉴定为3,4-*O*-二甲基鞣花酸(3,4-*O*-dimethylellagic acid)。

化合物**7** 白色粉末, MP 285 ~ 286 °C; Liebermann-Burchard 反应阳性, Salkowski 反应阳性, 醋酐-浓硫酸反应阳性, Molisch 反应阳性。与胡萝卜苷对照品进行薄层色谱对比, 10% 硫酸-乙醇显色, R_f 值、斑点颜色和形状与对照品一致, 与β-胡萝卜苷对照品混合熔点无明显变化。故化合物**7** 鉴定为β-胡萝卜苷。

[参考文献]

[1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1999.
[2] 陈随清, 李雪菊, 刘新, 等. 蜜柑草的生药鉴定[J]. 中药材, 1999, 22(11): 556-558.
[3] 禹琦, 曾振中. HPLC 法测定蜜柑草中槲皮素的含量[J]. 中医药导报, 2008, 14(1): 58-59.
[4] 龙梦林, 曾振中. HPLC 法测定蜜柑草中柯里拉京的含量研究[J]. 中医药导报, 2008, 14(3): 75-76.
[5] 陈玉武, 任丽娟. 蜜柑草抗癌有效成分研究 I. 黄酮类成分的分离与鉴定[J]. 中草药, 1997, 28(1): 5-7.
[6] 陈玉武, 任丽娟. 蜜柑草抗癌有效成分研究 II. 多酚类

成分的分离与鉴定[J]. 中草药, 1997, 28(4): 198-202.

[7] Wang X W, Mao Y, Wang N L, et al. A new phloroglucinol diglycoside derivative from *Hypericum japonicum* Thunb [J]. *Molecules*, 2008, 13(11): 2796-2803.
[8] Miles D H, Chittawong V, Paul A, et al. Potential agrochemicals from leaves of *Wedelia biflora* [J]. *Phytochemistry*, 1993, 32(6): 1427-1429.
[9] 姜岩青, 左春旭. 桉柳化学成分的研究[J]. 药学学报, 1988, 23(10): 749-755.
[10] Susanne V, Jeanne A, Burr B N, et al. New oxidation products of (-)-epigallocatechin gallate and (-)-epigallocatechin from their reactions with peroxy radicals[J]. *Chem Res Toxicol*, 2000, 13(9): 801-810.
[11] Ye G, Peng H, Fan M S. Ellagic acid derivatives from the stem bark of *Dipentodon sinicus* [J]. *Chem Nat Compd*, 2007, 43(2): 125-127.
[12] Yoko N, Kensaku T, Kouji W, et al. Antioxidative compounds isolated from *Kokuto*, non-centrifugal cane sugar [J]. *Biosci Biotech Biochem*, 1996, 60(10): 1714-1716.

[责任编辑 顾雪竹]