枳壳化学成分的分离与鉴定

邓可众[1,2]，丁邑强[1]，周斌[3]，熊英[1*]，陈虹[1]
（1. 江西中医药大学，南昌 330004；2. 北京中医药大学，北京 100029；
3. 江西科技师范大学，南昌 330038）

［摘要］ **目的**：研究枳壳中化学成分。**方法**：采用硅胶、羟丙基葡聚糖凝胶，ODS 柱色谱法进行分离纯化，根据理化性质和波谱数据进行结构鉴定。**结果**：从枳壳乙醇提取物中分离得到 9 个化合物，分别鉴定为伞形花内酯（**1**），马尔敏（**2**），6′，7′-二羟基香柠檬素（**3**），佛手酚（**4**），水合橙皮内酯（**5**），阿魏酸（**6**），柠檬苦素（**7**），胡萝卜苷棕榈酸酯（**8**），胡萝卜苷（**9**）。**结论**：化合物 **3**～**4**，**6**，**8**～**9** 均为首次从该植物中分离得到。

［关键词］ 枳壳；化学成分；柑橘属
［中图分类号］ R284.1 ［文献标识码］ A ［文章编号］ 1005-9903(2015)14-0036-03
［doi］ 10.13422/j.cnki.syfjx.2015140036

Isolation and Structural Identification of Chemical Constituents from Aurantii Fructus

DENG Ke-zhong[1,2], DING Yi-qiang[1], ZHOU Bin[3], XIONG Ying[1*], CHEN Hong[1] (1. *Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine*, *Nanchang* 330004, *China*; 2. *Beijing University of Chinese Medicine*, *Beijing* 100029, *China*; 3. *Jiangxi Science and Technology Normal University*, *Nanchang* 330038, *China*)

［**Abstract**］ **Objective**: To investigate the chemical constituents of Aurantii Fructus. **Method**: The chemical constituents were isolated by chromatography on silica gel, sephadex LH-20 and ODS columns. Their physicochemical properties and spectral data were used to elucidate the structures. **Result**: Nine compounds were isolated from the ethanol extract of Aurantii Fructus and their structures were identified as umbelliferone (**1**), marmin (**2**), 6′, 7′-dihydroxybergamottin (**3**), bergaptol (**4**), meranzin hydrate (**5**), ferulic acid (**6**), limonin (**7**), daucosterolpalmitate (**8**), and daucosterol (**9**). **Conclusion**: Compounds **3-4**, **6**, and **8-9** were isolated from this plant for the first time.

［**Key words**］ Aurantii Fructus; chemical constituents; Citrus

枳壳为临床上常用的理气药，广泛应用于食积停滞、胸胁胀痛、泻痢后重和胃下垂等[1]。国内外学者对枳壳化学成分研究多集中在黄酮类及挥发油类成分，香豆素及柠檬苦素类化合物报道较少[1-2]。本实验采用色谱和波谱技术从枳壳乙醇提取物中分离鉴定了 9 个化合物，包括个 6 苯丙素，1 个三萜和 2 个甾体类成分，分别为伞形花内酯（**1**），马尔敏（**2**），6′，7′-二羟基香柠檬素（**3**），佛手酚（**4**），水合橙皮内酯（**5**），阿魏酸（**6**），柠檬苦素（**7**），胡萝卜苷棕榈酸酯（**8**）及胡萝卜苷（**9**），其中化合物 **3**～**4**，**6**，**8**～**9** 均为首次从该植物中分离得到。

1 材料

Avance 型 400 MHz 核磁共振仪（四甲基硅烷为内标，Bruker），LC3000 型制备高效液相色谱仪（北京创新通恒），ODS-A 色谱柱（20 mm × 250 mm，5 μm，YMC），羟丙基葡聚糖凝胶（Amersham），HW-40（TOSOH），GF_{254} 薄层色谱硅胶（青岛海洋化工厂）；柱色谱硅胶（100～200，200～300，300～400 目，青岛海洋化工厂）。甲醇（色谱纯，上海国药），其余所用试剂均为分析纯。枳壳药材采自江西省樟树市，横切晒干，经江西中医药大学邓可众副教授鉴定为芸香科植物酸橙 *Citrus aurantium* 的干燥未成

［收稿日期］ 20140824(008)
［基金项目］ 国家自然科学基金项目(81060331)；江西中医药大学道地药材专项课题(ZX1022)
［第一作者］ 邓可众，硕士，副教授，从事中药资源及质量评价研究，Tel：0791-87118997，E-mail：dengkezhong@126.com
［通讯作者］ *熊英，博士，副教授，从事中药活性成分研究及品质评价，Tel：0791-87118993，E-mail：jzxiongying@126.com

熟果实。

2 提取和分离

枳壳药材 25 kg,粉碎,采用 95% 乙醇和 70% 乙醇浸渍法分别提取 4 次,提取液减压浓缩至无醇味,得总提取浸膏。向浸膏中加适量水分散,依次用石油醚,乙酸乙酯,正丁醇萃取,其中乙酸乙酯萃取物 420 g 采用硅胶柱色谱(石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱)分离得 24 个流份,其中 16 号流份 59 g 经硅胶柱(二氯-甲醇梯度洗脱)、制备 HPLC 以及羟丙基葡聚糖粒凝胶纯化得化合物 **1**(100 mg),**2**(950 mg),**3**(347 mg),**4**(100 mg),**7**(170 mg),**8**(146 mg);20 号流份 45 g 同样经硅胶柱(二氯-甲醇梯度洗脱)、羟丙基葡聚糖粒凝胶及制备 HPLC 纯化得化合物 **5**(89 mg);23 号流份 12.5 g 经开放 ODS 柱、制备液相及凝胶色谱分离以及纯化得到化合物 **6**(25 mg),**9**(412 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1** 无色针状结晶(甲醇)。^{1}H-NMR (CD_3OD) δ:7.84 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-4), 7.45 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5), 6.78 (1H, dd, J = 8.4, 2.4 Hz, H-6), 6.70 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-8), 6.17 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-3); ^{13}C-NMR (CD_3OD) δ: 162.3 (C-7), 161.8 (C-2), 155.8 (C-9), 144.6 (C-4), 129.2 (C-5), 113.1 (C-6), 111.7 (C-3), 110.9 (C-10), 102.0 (C-8)。NMR 数据与文献[3]一致,鉴定为伞形花内酯(umbelliferone)。

化合物 **2** 白色簇晶(三氯甲烷)。ESI-MS m/z 355 [M + Na]$^+$, ^{1}H-NMR ($CDCl_3$,) δ:7.63 (1H, d, J = 9.2 Hz, H-4), 7.36 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5), 6.84 (1H, dd, J = 2.4, 8.4 Hz, H-6), 6.80 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-8), 6.23 (1H, d, J = 9.2 Hz, H-3), 5.51 (1H, brt, J = 6.4 Hz, H-2′), 4.59 (2H, d, J = 6.4 Hz, H-1′), 3.34 (1H, d, J = 10.4 Hz, H-6′), 2.37 (1H, m, H-5′), 2.16 (1H, m, H-5′), 1.76 (3H, s, 3′-CH_3), 1.63 (1H, m, H-4′), 1.47 (1H, m, H-4′), 1.20, 1.16 (each 3H, s, 7′-CH_3); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: 162.1 (C-2), 161.3 (C-7), 155.8 (C-8a), 143.4 (C-4), 142.2 (C-3′), 128.7 (C-5), 118.9 (C-2′), 113.2 (C-6), 112.9 (C-3), 112.5 (C-4a), 101.6 (C-8) 78.0 (C-6′), 73.1 (C-7′), 65.4 (C-1′), 36.5 (C-5′), 29.5 (C-4′), 26.5, 23.3, 16.8 (-Me)。以上数据与文献[2]一致,鉴定此化合物为马尔敏(marmin)。

化合物 **3** 淡黄色针晶(三氯甲烷)。ESI-MS m/z 395 [M + Na]$^+$, ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ:8.14 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-4), 7.58 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-2′), 7.14 (1H, s, H-8), 6.94 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-3′), 6.26 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-3), 5.58 (1H, t, J = 6.8 Hz, H-2″), 4.94 (2H, d, J = 6.8 Hz, H-1″), 3.31 (1H, dd, J = 10.4 Hz, 1.6 Hz, H-6″), 2.35 (1H, m, H-5″), 2.14 (1H, m, H-5″), 1.70 (3H, s, 3″-CH_3), 1.60 (1H, m, H-4″), 1.43 (1H, m, H-4″), 1.19, 1.16 (each 3H, s, 7″-CH_3); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: 161.2 (C-2), 158.1 (C-7), 152.6 (C-9), 148.8 (C-5), 145.0 (C-2′), 142.9 (C-3″), 139.5 (C-4), 119.3 (C-2″), 114.3 (C-6), 112.6 (C-3), 107.5 (C-10), 105.0 (C-3′), 94.3 (C-8), 69.7 (C-1″), 29.7 (C-4″), 36.5 (C-5″), 77.9 (C-6″), 73.1 (C-7″), 26.5, 23.3, 16.6 (-CH_3)。以上数据与文献[4]一致,鉴定为 6′, 7′-二羟基香柠檬素(6′, 7′-dihydroxybergamottin)。

化合物 **4** 无色针状结晶(三氯甲烷)。^{1}H-NMR (CD_3OD) δ:8.32 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-4), 7.70 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-2′), 7.05 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-3′), 7.01 (1H, s, H-8), 6.22 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-3); ^{13}C-NMR (C_5D_5N) δ:162.2 (C-2), 159.1 (C-7), 155.0 (C-5), 145.8 (C-2′), 141.0 (C-4), 114.5 (C-6), 112.3 (C-3), 106.3 (C-10), 106.0 (C-3′), 92.4 (C-8)。NMR 数据与文献[4]一致,故鉴定为佛手酚(bergaptol)。

化合物 **5** 白色块片状固体(甲醇)。ESI-MS m/z 301 [M + Na]$^+$, ^{1}H-NMR (CD_3OD) δ: 7.83 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-4), 7.44 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5), 7.00 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-6), 6.20 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-3), 3.66 (1H, dd, J = 9.2, 3.2 Hz, H-2′), 3.00 (2H, dd, J = 13.2, 3.2 Hz, H-1′), 3.94 (3H, s, 7-OCH_3), 1.31 (3H, s, 4′-CH_3), 1.29 (3H, s, 5′-CH_3); ^{13}C-NMR (CD_3OD) δ: 162.3 (C-2), 161.1 (C-7), 153.3 (C-9), 144.9 (C-4), 127.0 (C-5), 115.7 (C-8), 112.9 (C-10), 111.6 (C-3), 107.6 (C-6), 77.4 (C-2′), 72.7 (C-3′), 24.9 (C-1′), 24.2 (C-4′), 24.1 (C-5′), 55.3 (7-OMe)。以上数据与文献[5]一致,鉴定为水合橙皮内酯(meranzin hydrate)。

化合物 **6** 浅黄色针状结晶(甲醇)。^{1}H-NMR (CD_3OD) δ:7.62 (1H, d, J = 15.6 Hz, H-3′), 7.20 (1H, br s, H-2), 7.09 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-6), 6.83 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5), 6.33 (1H, d, J = 15.6 Hz,

H-2′), 3.33 (3H, s, -OCH_3); ^{13}C-NMR (CD_3OD), δ: 169.5 (C-1′), 149.1 (C-3), 148.0 (C-4), 145.5 (C-3′), 126.4 (C-1), 122.5 (C-6), 115.1 (C-2′), 114.5 (C-5), 110.4 (C-2), 55.1 (-OCH_3)。NMR 数据与文献[6]基本一致,故鉴定此化合物为阿魏酸(ferulic acid)。

化合物 **7** 白色针状结晶(甲醇)。^{1}H-NMR (C_5D_5N) δ: 7.73 (1H, s, H-21), 7.64 (1H, m, H-23), 6.53 (1H, s, H-22), 5.75 (1H, s, H-17), 5.23 (1H, d, *J* = 13.2 Hz, H-19β), 4.70 (1H, d, *J* = 13.2 Hz, H-19α), 4.65 (1H, s, H-15), 4.31 (1H, d, *J* = 3.6 Hz, H-1), 3.26 (1H, dd, *J* = 14.8, 4.0 Hz, H-6α), 3.21 (1H, d, *J* = 16.4 Hz, H-2α), 3.09 (1H, d, *J* = 16.4 Hz, H-2b), 2.82 (1H, br d, *J* = 11.2 Hz, H-9), 2.66 (1H, dd, *J* = 15.6, 3.2 Hz, H-5), 2.57 (1H, dd, *J* = 14.4, 3.2 Hz, H-6b), 2.01 (1H, m, H-12a), 1.86 (2H, m, H-11, 12b), 1.30, 1.29, 1.27, 1.22 (each 3H, s, 4 × CH_3); ^{13}C-NMR (C_5D_5N) δ: 208.2 (C-7), 170.6 (C-3), 166.0 (C-16), 144.1 (C-23), 142.4 (C-21), 121.6 (C-20), 111.0 (C-22), 80.8 (C-4), 80.2 (C-1), 78.6 (C-17), 67.5 (C-14), 66.2 (C-19), 60.4 (C-5), 55.2 (C-15), 51.9 (C-8), 48.5 (C-9), 48.8 (C-10), 38.9 (C-13), 37.3 (C-6), 36.9 (C-2), 30.6 (C-12), 30.3 (C-29), 22.1 (C-28), 20.8 (C-18), 19.1 (C-11), 18.1 (C-30)。NMR 数据与文献[7]一致,鉴定该化合物为柠檬苦素(limonin)。

化合物 **8** 白色粉末。^{1}H-NMR (C_5D_5N) δ: 5.39 (1H, br s, H-6), 5.00 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, glc-H-1′), 1.22 ~ 1.30 (br s, n × CH_2), 0.98 (3H, s, H-19), 0.93 ~ 0.87 (15H, m, 5 × CH_3), 0.69 (3H, s, H-18); ^{13}C-NMR (C_5D_5N) δ: 173.9 (C = O), 141.5 (C-5), 122.3 (C-6), 103.2 (C-1′), 79.2 (C-2′), 78.8 (C-3), 75.5 (C-4′), 75.5 (C-5′), 72.1 (C-3′), 65.1 (C-6′), 57.4 (C-14), 56.8 (C-17), 50.9 (C-9), 46.5 (C-24), 43.0 (C-13), 40.5 (C-12), 39.8 (C-4), 38.1 (C-1), 37.4 (C-10), 36.8 (C-20), 34.9 (C-2″), 34.7 (C-22), 32.6 (C-7), 32.5 (C-14″), 30.8 (C-8), 30.5 (C-28), 30.5 ~ 29.9 (C-14″ ~ 13″), 29.0 (C-24), 27.9 (C-2), 26.9 (C-16), 25.8 (C-3″), 24.9 (C-15), 23.8 (C-23), 23.3 (C-15″), 21.8 (C-11), 20.4 (C-26), 19.9 (C-19), 19.7 (C-27), 19.5 (C-21), 14.7 (C-16″), 12.6 (C-29), 12.4 (C-18)。NMR 数据与文献[8]一致,鉴定为胡萝卜苷棕榈酸酯(daucosterolpalmitate)。

化合物 **9** 白色粉末。mp 283 ~ 285 ℃, Molish 和 Liebermann-Burchard 反应均呈阳性,TLC 与胡萝卜苷对照品 Rf 值一致,且混合熔点不下降,故鉴定此化合物为胡萝卜苷(daucosterol)。

[参考文献]

[1] 沈宏林,向能军,高茜,等. 顶空液相微萃取/气相色谱-质谱对中药枳壳中有机挥发物的快速分析[J]. 分析测试学报,2009,28(2):186.
[2] 杨武亮,陈海芳,余宝金,等. 枳壳活性化学成分的研究[J]. 中药材,2008,12(31):1812-1815.
[3] 赵爱红,杨秀伟,杨鑫宝,等. 祁白芷根中新的天然产物[J]. 中国中药杂志,2012,37(16):2400-2407.
[4] 牛艳,王磊,黄晓君,等. 化橘红香豆素的化学成分[J]. 暨南大学学报,2012,33(5):501-505.
[5] 刘群娣,徐新军, 万金志,等. 高速逆流色谱法分离制备化橘红中的柚皮苷、橙皮内酯水合物和异橙皮内酯[J]. 药物分析杂志,2011,31(5):831-834.
[6] 李娟,李玮琦,郑萍,等. 多枝柽柳中的酚酸类化学成分[J]. 中国中药杂志,2014,39(11):2047-2050.
[7] 彭文文,闫合,谭宁华. 中药枳壳中一个新的色原烷苷衍生物[J]. 中国中药杂志,2013,38(1):60-62.
[8] 刘旭阳,谢郁峰,张慧,等. 多枝雾水葛化学成分(Ⅰ)[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(6):43-47.

[责任编辑 顾雪竹]