

地榆中酚酸类化学成分的分离与鉴定

王泽宇, 王丽娜, 邱玲, 李莎, 冯丹, 郭大乐*, 邓赟*

(成都中医药大学药学院, 中药材标准化教育部重点实验室, 四川省中药资源系统研究与开发利用重点实验室——省部共建国家重点实验室培育基地, 成都 611137)

[摘要] **目的:** 对蔷薇科地榆属植物中地榆的酚酸类化学成分进行分离并对分离得到的单体化合物进行结构鉴定。**方法:** 将地榆干燥切片 10 kg 粉碎, 加 70% 乙醇室温渗漉提取, 收集渗滤液, 将渗滤液减压浓缩得到地榆浸膏。运用大孔树脂 (D101, HP-20), 反相硅胶 (RP-8, RP-18), Toyopearl HW-40 等柱色谱方法对地榆提取物进行分离纯化, 应用 TLC, HPLC 跟踪监测, 结合重结晶技术, 分离得到纯度较高的单体化合物。依据各化合物的理化常数和波谱数据分析对各单体化合物的化学结构进行进一步鉴定。**结果:** 从地榆 70% 乙醇提取物中共分离得到并鉴定了 13 个酚酸类化合物, 分别鉴定为没食子酸(1), 原儿茶酸(2), 3,4-二羟基苯甲醛(3), 没食子酸甲酯(4), 没食子酸乙酯(5), 3,4-二羟基-5-甲氧基-苯甲酸甲酯(6), 异落叶松脂素 9'- β -D-吡喃木糖苷(7), (+)-piresil-4-O- β -D-glucopyraside(8), (+)-syringaresinol(9), 1-(4-ethylphenyl)-1,2-ethanediol(10), 3,4-二羟基苯甲酸乙酯(11), 3,4-二甲氧基-5-羟基苯甲酸甲酯(12), 4-(4-hydroxyphenyl)-2-butanone(13)。**结论:** 除化合物 1 外其余 12 个化合物均为首次从该植物中分离得到。

[关键词] 地榆; 酚酸类成分; 结构鉴定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)08-0082-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017080082

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170214.0840.010.html>

[网络出版时间] 2017-02-14 8:40

Isolation and Identification of Phenolic Constituents of Sanguisorbae Radix

WANG Ze-yu, WANG Li-na, QIU Ling, LI Sha, FENG Dan, GUO Da-le*, DENG Yun*

(Pharmacy College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, Key Laboratory of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources in Sichuan Province, Key Laboratory Breeding Base of Co-founded by Sichuan Province and Ministry of Science and Technology, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** To study on chemical constituents of phenolic acids in Sanguisorbae Radix. **Method:** Compounds were isolated and purified by using Macroporous resin (D101, HP-20), reversed phase silica gel (RP-8, RP-18), Toyopearl HW-40 column chromatography and their structures were elucidated by spectral method. **Result:** Thirteen phenolic acid compounds were isolated from 70% ethanol extracts and their structures were elucidated as: gallic acid (1), protocatechuic acid (2), 3,4-dihydroxy benzaldehyde (3), methyl gallate (4), ethyl gallate (5), 3,4-dihydroxy-5-methoxybenzoic acid methyl ester (6), isolariciresinol 9'- β -D-xylopyranoside (7), (+)-piresil-4-O- β -D-glucopyraside (8), (+)-syringaresinol (9), 1-(4-ethylphenyl)-

[收稿日期] 20160905(002)

[基金项目] 国家基础科学人才培养基金项目(J13100340); 中药药效物质基础研究与创新中药发现四川省青年科技创新研究团队项目(2016TD0006); 中药药理四川省青年科技创新研究团队项目(2014TD0007)

[第一作者] 王泽宇, 在读硕士, 从事中药活性成分研究, Tel:18382284432, E-mail:676962731@qq.com

[通讯作者] * 郭大乐, 博士, 讲师, 从事天然产物化学成分研究, Tel:18030839905, E-mail:20161018@cdutcm.edu.cn;

* 邓赟, 博士, 教授, 从事中药化学成分与质量标准化研究, Tel:13208177492, E-mail:dengyun2000@hotmail.com

1, 2-ethanediol (**10**), ethyl 3, 4-dihydroxy benzoate (**11**), 3, 4-dimethoxy-5-hydroxybenzoic acid methyl ester (**12**), and 4-(4-hydroxyphenyl)-2-butanone (**13**). **Conclusion:** Compounds **2-13** were isolated from this plant for the first time.

[**Key words**] Sanguisorbae Radix; phenolic acids; structure elucidation

中药地榆具有凉血止血、解毒敛疮之功效,临床上广泛用于内外科止血、烧烫伤以及直肠炎、溃疡性结肠炎、肾盂肾炎等的治疗。地榆中主含三萜、三萜皂苷、鞣质、黄酮等化学成分^[1-2],据文献报道,地榆酚酸类化学成分具有较好的抗菌^[3]、抗肿瘤^[4]、抗氧化^[5]等方面药理作用。目前对地榆中酚酸类化学成分的研究报道较少^[6-7],为进一步的探究地榆酚酸类化学成分,阐明其物质基础。本课题组采用大孔树脂(D101, HP-20), Toyopearl HW-40, 反相硅胶(RP-8, RP-18)等柱色谱方法从 70% 乙醇提取物中分离并鉴定了 13 个酚酸类化合物,经理化数据和核磁共振谱学分析,并与文献对照鉴定其结构分别为没食子酸(gallic acid, **1**), 原儿茶酸(proto catechuic acid, **2**), 3, 4-二羟基苯甲醛(3, 4-dihydroxy benzaldehyde, **3**), 没食子酸甲酯(methyl gallate, **4**), 没食子酸乙酯(ethyl gallate, **5**), 3, 4-二羟基-5-甲氧基-苯甲酸甲酯(3, 4-dihydroxy-5-methoxybenzoic acid methyl ester, **6**), 异落叶松脂素 9'- β -D-吡喃木糖苷(isolariciresinol 9'- β -D-xylopyranoside, **7**), (+)-piresil-4-O- β -D-glucopyraside (**8**), (+)-syringaresinol (**9**), 1-(4-ethylphenyl)-1, 2-ethanediol (**10**), 3, 4-二羟基苯甲酸乙酯(ethyl-3, 4-dihydroxy benzoate, **11**), 3, 4-二甲氧基-5-羟基苯甲酸甲酯(3, 4-dimethoxy-5-hydroxybenzoic acid methyl ester, **12**), 4-(4-hydroxyphenyl)-2-butanone (**13**)。其中, 化合物 **2 ~ 13** 均为首次从该植物中分离得到。

1 材料

AM-400 型核磁共振仪(德国 Bruker 公司), Micromass Xevo Triple-quadrupole 型质谱仪(美国 Waters 公司), 优普 UPT 系列超纯水器(成都优普电子产品有限公司), DV-215-CD 型 1/10 万电子天平(瑞士奥豪斯公司), KQ-600DE 型数控超声波清洗器(40 kHz, 600 W, 昆山市超声仪器有限公司), ZF-90 型暗箱式紫外透射仪(上海顾村电光仪器厂), 100-A 型自动部份收集器(上海沪西分析仪器厂有限公司); 半制备 HPLC(江苏汉邦科技有限公司); 试剂均为分析纯(成都科龙化工试剂厂); Dubhe C₁₈(20 mm × 250 mm, 10 μ m, 江苏汉邦科技

有限公司); YMC pack ODS-A(10 mm × 250 mm, 5 μ m, 日本 YMC 公司)。

植物样品由成都地奥集团天府药业股份有限公司提供, 经成都地奥集团天府药业股份有限公司何秋中药师鉴定为蔷薇科多年生草本植物地榆 *Sanguisorba officinalis* 的干燥根。标本(20150920)存放于成都中医药大学药学院中药化学实验室。

2 提取分离

取干燥地榆饮片 10 kg, 粉碎, 经 33 倍量 70% 乙醇渗漉提取, 旋转蒸干得浸膏(3.75 kg)。将浸膏分散于水中, 过 D101 柱色谱, 不同体积分数乙醇(0%, 30%, 50%, 70%, 95%) 梯度洗脱, 得 30% 的乙醇洗脱部分(1.37 kg), 该部分再经 HP-20 柱色谱分离, 不同体积分数乙醇(0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 100%) 洗脱, 合并 30% ~ 50% 乙醇洗脱部分(82 g), 结合 Toyopearl HW-40 柱色谱, ODS 柱色谱, 制备液相等手段, 共分离得到 13 个化合物。

3 结构鉴定

化合物 **1** 白色结晶; ESI-MS m/z 169 [M - H]⁻; ¹H-NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 6.92 (2H, s, H-2, 6); ¹³C-NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 167.4 (COOH), 145.4 (C-3, 5), 137.9 (C-4), 120.4 (C-1), 108.6 (C-2, 6)。经与文献[8]对照, 鉴定为没食子酸(gallic acid)。

化合物 **2** 白色片状结晶; ESI-MS m/z 153 [M - H]⁻; ¹H-NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 12.29 (1H, s, COOH), 9.63 (1H, s, 3-OH), 9.25 (1H, s, 4-OH), 7.34 (1H, s, H-2), 7.29 (1H, d, J = 6.8 Hz, H-6), 6.79 (1H, d, J = 6.3 Hz, H-5); ¹³C-NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 167.2 (COOH), 149.9 (C-4), 144.8 (C-3), 121.8 (C-6), 121.6 (C-1), 116.5 (C-2), 115.0 (C-5)。经与文献[9]对照, 鉴定为原儿茶酸(proto catechuic acid)。

化合物 **3** 土黄色粉末; ESI-MS m/z 137 [M - H]⁻; ¹H-NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 9.69 (1H, s, CHO), 7.24 (2H, d, J = 10.9 Hz, H-2, 6), 6.91 (1H, s, H-5); ¹³C-NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 190.9 (CHO), 152.2 (C-4), 145.9 (C-

3), 128.7 (C-1), 124.4 (C-6), 115.5 (C-5), 114.3 (C-2)。经与文献[10]对照, 鉴定为3,4-二羟基苯甲醛(3,4-dihydroxy benzaldehyde)。

化合物4 黄色粉末; ESI-MS m/z 183 [M - H]⁻; ¹H-NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 6.94 (2H, br s, H-2, 6), 3.75 (3H, s, OCH₃); ¹³C-NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 166.2 (COOCH₃), 145.5 (C-3, 5), 138.3 (C-4), 119.2 (C-1), 108.4 (C-2, 6), 51.5 (COOCH₃)。经与文献[11]对照, 鉴定为没食子酸甲酯(methyl gallate)。

化合物5 无色针晶; ESI-MS m/z 197 [M - H]⁻; ¹H-NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 6.95 (2H, s, H-2, 6), 4.21 (2H, q, $J = 7.1$ Hz, OCH₂CH₃), 1.27 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, CH₃); ¹³C-NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 166.3 (COOCH₂CH₃), 146.0 (C-3, 5), 138.9 (C-4), 120.1 (C-1), 108.9 (C-2, 6), 60.4 (COOCH₂CH₃), 14.7 (COOCH₂CH₃)。经与文献[12]对照, 鉴定为没食子酸乙酯(ethyl gallate)。

化合物6 白色粉末; ESI-MS m/z 197 [M - H]⁻; ¹H-NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 7.10 (1H, s, H-2), 7.04 (1H, s, H-6), 3.79 (3H, s, 5-OCH₃), 3.78 (3H, s, COOCH₃); ¹³C-NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 166.7 (C-7), 148.4 (C-5), 145.8 (C-3), 139.9 (C-4), 119.8 (C-1), 111.0 (C-2), 105.1 (C-6), 56.4 (5-OCH₃), 52.2 (COOCH₃)。经与文献[13]对照, 鉴定为3,4-二羟基-5-甲氧基-苯甲酸甲酯(3,4-dihydroxy-5-methoxybenzoic acid methyl ester)。

化合物7 白色粉末; ESI-MS m/z 491 [M - H]⁻; ¹H-NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 6.61 (1H, s, H-5), 6.44 (1H, dd, $J = 8.1, 1.8$ Hz, H-6'), 6.09 (1H, s, H-2), 3.95 (3H, s, OCH₃), 3.93 (3H, s, OCH₃), 2.69 (2H, m, H-7), 1.83 (2H, m, H-8, 8'); ¹³C-NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 147.1 (C-3'), 145.5 (C-3), 144.5 (C-4'), 144.0 (C-4), 136.7 (C-1'), 132.0 (C-6), 127.1 (C-1), 121.1 (C-6'), 116.1 (C-5'), 115.2 (C-5), 113.4 (C-2'), 111.7 (C-2), 103.4 (C-1''), 76.4 (C-3''), 73.1 (C-2''), 69.5 (C-4''), 68.1 (C-9'), 65.6 (C-5''), 63.1 (C-9), 55.4 (OCH₃), 55.4 (-OCH₃), 46.1 (C-7'), 43.5 (C-8'), 38.4 (C-8), 32.1 (C-7)。经与文献[14]对照, 鉴定为异落叶松脂素 9'- β -D-吡喃木糖苷(isolariciresinol 9'- β -D-

xylopyranoside)。

化合物8 白色粉末; ESI-MS m/z 519 [M - H]⁻; ¹H-NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 7.04 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 6.95 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2), 6.89 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-5'), 6.85 (1H, dd, $J = 8.4, 1.8$ Hz, H-6), 6.78 ~ 6.70 (2H, m, H-2', 6'), 4.88 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1''), 4.67 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-7), 4.61 (1H, d, $J = 4.1$ Hz, H-7'), 4.19 ~ 4.07 (4H, m, H-9, 9'), 3.77 (3H, s, OCH₃), 3.76 (3H, s, OCH₃), 3.66 (1H, m, H-6''), 3.44 (1H, m, H-5''), 3.24 ~ 3.26 (3H, m, H-2'', 3'', 4''), 3.04 (2H, m, H-8, 8'); ¹³C-NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 148.9 (C-4'), 147.4 (C-4), 145.9 (C-3), 145.8 (C-3'), 135.1 (C-1), 132.1 (C-1'), 118.5 (C-6), 118.1 (C-6'), 115.1 (C-5), 115.1 (C-5'), 110.7 (C-1''), 110.4 (C-2), 110.4 (C-2'), 85.0 (C-7), 84.8 (C-7'), 77.0 (C-3''), 76.8 (C-5''), 73.1 (C-2''), 70.9 (C-9), 70.8 (C-9'), 69.6 (C-4''), 60.6 (C-6''), 53.6 (C-8), 53.5 (C-8'), 55.6 (OCH₃), 55.5 (OCH₃)。经与文献[15]对照, 鉴定为(+)-piresil-4- O - β -D-glucopyranoside。

化合物9 ESI-MS m/z 417 [M - H]⁻; ¹H-NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 6.60 (4H, s, H-10, 14, 16, 20), 4.62 (2H, d, $J = 4.0$ Hz, H-2, 6), 4.16 (2H, dd, $J = 8.8, 6.8$ Hz, H-4b, 8b), 3.93 (2H, dd, $J = 9.0, 3.5$ Hz, H-4a, 8a), 3.75 (12H, s, OCH₃), 3.05 (2H, m, H-1, 5); ¹³C-NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 147.8 (C-11, 13, 17, 19), 134.8 (C-12, 18), 131.4 (C-9, 15), 103.6 (C-10, 14, 16, 20), 85.3 (C-2, 6), 71.0 (C-4, 8), 55.9 (OCH₃), 53.7 (C-1, 5)。经与文献[16]对照, 鉴定为(+)-syringaresinol。

化合物10 ESI-MS m/z 169 [M - H]⁻; ¹H-NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 7.14 (4H, m, H-2, 3, 5, 6), 2.59 (2H, q, $J = 7.6$ Hz, CH₂), 1.17 (3H, t, $J = 7.6$ Hz, CH₃); ¹³C-NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 143.9 (C-1), 143.6 (C-4), 128.2 (C-6), 126.6 (C-5), 126.2 (C-2), 124.1 (C-3), 74.4 (C-1'), 68.0 (C-2'), 28.7 (CH₂), 16.1 (CH₃)。经与文献[17]对照, 鉴定为1-(4-ethylphenyl)-1,2-ethanediol。

化合物11 白色粉末; ESI-MS m/z 181 [M - H]⁻; ¹H-NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 7.35 (1H,

br s, H-2), 7.31 (1H, br s, H-6), 6.80 (1H, br s, H-5), 4.22 (2H, q, $J=7.1$ Hz, OCH_2), 1.28 (3H, t, $J=7.1$ Hz, CH_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 165.6 ($\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 150.4 (C-4), 145.1 (C-3), 121.6 (C-6), 120.7 (C-1), 116.0 (C-5), 115.2 (C-2), 59.9 ($\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 14.1 ($\text{COOCH}_2\text{CH}_3$)。经与文献[18]对照, 鉴定为3,4-二羟基苯甲酸乙酯(ethyl 3,4-dihydroxy benzoate)。

化合物12 白色粉末; ESI-MS m/z 211 [$\text{M} - \text{H}$] $^-$; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 9.71 (1H, br s, 5-OH), 7.13 (1H, s, H-6), 7.04 (1H, s, H-2), 3.81 (6H, s, COOCH_3 , 4- OCH_3), 3.74 (3H, s, 3- OCH_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 166.4 (COOCH_3), 153.5 (C-5), 151.1 (C-3), 141.1 (C-4), 125.0 (C-1), 111.2 (C-2), 104.7 (C-6), 60.4 (4- OCH_3), 56.3 (3- OCH_3), 52.5 (COOCH_3)。经与文献[19]对照, 鉴定为3,4-二甲氧基-5-羟基苯甲酸甲酯(3,4-dimethoxy-5-hydroxybenzoic acid methyl ester)。

化合物13 黄色粉末; ESI-MS m/z 163 [$\text{M} - \text{H}$] $^-$; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 9.13 (1H, br s, 4-OH), 6.97 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-2, 6), 6.65 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-3, 5), 2.73 ~ 2.59 (4H, m, H-7, 8), 2.07 (3H, s, H-10); $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 208.3 (C-9), 155.9 (C-4), 131.6 (C-1), 129.5 (C-2, 6), 115.5 (C-3, 5), 45.1 (C-8), 30.2 (C-10), 28.8 (C-7)。经与文献[20]对照, 鉴定为4-(4-hydroxyphenyl)-2-butanone。

[参考文献]

[1] 秦国伟, 陈梅玉, 徐任生. 地榆化学成分的研究[J]. 中草药, 1991, 22(11): 483-485.
[2] 夏红旻, 孙立立, 孙敬勇, 等. 地榆化学成分及药理活性研究进展[J]. 食品与药品, 2009, 11(7): 67-69.
[3] 胡毅, 夏天, 赵建斌. 地榆鞣质抗肝癌细胞 SMMC-7721 的 MTT 及 FCM 分析[J]. 第四军医大学学报, 1998, 19(5): 550-552.
[4] 周本宏, 松长青, 姜姍, 等. 地榆鞣质提取物的抗菌活性及对金黄色葡萄球菌的抑菌机制研究[J]. 中国药师, 2016, 34(3): 464-469.

[5] 毛迪锐, 姜贵全, 张诗朦, 等. 地榆多酚分离纯化及其抗氧化性研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(21): 68-72.
[6] 刘海英. 地榆多酚的组分分析及功能研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2009.
[7] 刘欣. 地榆中酚类成分的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2013.
[8] 邓安珺, 秦海林. 土蜜树果实化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(2): 158-160.
[9] 陈艳, 邓虹珠, 周毅, 等. 细梗胡枝子化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(9): 1024-1026.
[10] 张倩, 康文艺. 芭蕉根活性成分研究[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(18): 2424-2427.
[11] 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): 1953-1955.
[12] 石海峰, 冯宝民, 史丽颖, 等. 西南山茶化学成分的分 离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(5): 357-360.
[13] 万春鹏, 周寿然. 红槭树树枝化学成分及抗氧化活性研究[J]. 林产化学与工业, 2013, 33(5): 93-96.
[14] Yahara S, Nakazono M, Tutumi H, et al. Lignans from leaves of *Laurus nobilis* L. [J]. Jpn J Pharmacognosy, 1992, 46(2): 184-186.
[15] SU J, WU Z, SHEN Y, et al. Lignans from *Daphne giraldii* [J]. Chem Nat Compd, 2008, 44(5): 648-650.
[16] Bryanskii O V, Tolstikhina V V, Semenov A A. A glycoside of syringaresinol from a tissue culture of *Scorsonera hispanica* [J]. Chem Nat Compd, 1992, 28(5): 519-520.
[17] JIN H, LI Z Y, DONG X W. Enantioselective hydrolysis of various substituted styrene oxides with *Aspergillus Niger* CGMCC 0496 [J]. Org Biomol Chem, 2004, 2(25): 408-414.
[18] 姚胜, 闵知大. 波罗蜜叶中新的查耳酮[J]. 中国天然药物, 2005, 3(4): 219-223.
[19] AN R B, TIAN Y H, Hyuncheol O, et al. *In vitro* free radical scavenging and hepatoprotective compound from *Sanguisorbae Radix* [J]. Nat Prod Sci, 2005, 11(3): 119-122.
[20] 彭磊, 李婷婷, 肖鑫丽, 等. 云南松松针化学成分研究[J]. 云南农业大学学报: 自然科学版, 2015, 30(6): 982-985.

[责任编辑 顾雪竹]