

西南山茶种子的化学成分研究

尚志春, 于大永, 冯宝民, 唐玲, 王永奇, 史丽颖*

(大连大学药物研究所, 辽宁 大连 116622)

[摘要] 目的:研究西南山茶种子的化学成分。方法:采用硅胶柱色谱法、Sephadex LH-20 柱色谱等方法进行分离纯化,根据波谱学数据和理化性质进行结构鉴定。结果:从西南山茶种子 95% 乙醇提取物中分离鉴定了 7 个化合物,分别为山柰酚-3-*O*- β -D-葡萄糖基-(6 \rightarrow 1)- α -L-鼠李糖基-(3 \rightarrow 1)- α -L-鼠李糖苷(1)、山柰酚-3-*O*- β -D-葡萄糖基-(6 \rightarrow 1)-4''-*O*-乙酰基- α -L-鼠李糖基-(3 \rightarrow 1)- α -L-鼠李糖苷(2)、半乳糖醇(3)、蔗糖(4)、胡萝卜苷(5)、 β -谷甾醇(6)、羽扇豆醇(7)。结论:化合物 1~7 均首次从西南山茶种子中分离得到。

[关键词] 西南山茶; 种子; 化学成分

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)10-0085-04

[doi] 10.11653/syfy2013100085

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20130308.1045.009.html>

[网络出版时间] 2013-03-08 10:45

Research on Chemical Constituents of Seeds of *Camellia pitardii*

SHANG Zhi-chun, YU Da-yong, FENG Bao-min, TANG Ling, WANG Yong-qi, SHI Li-ying*

(Institute of medica of Dalian University, Dalian 116622, China)

[Abstract] **Objective:** To study the chemical constituents of the seeds of *Camellia pitardii*. **Method:** Chemical constituents were isolated by various chromatographic methods and were identified by physicochemical characters and spectroscopic analysis or comparison with standard compounds. **Result:** From the EtOH extract of the seeds of *C. pitardii*, seven compounds were isolated and identified as kaempferol-3-*O*-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside] (1), kaempferol-3-*O*-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-(4''-acetyl)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside] (2), *D*-galactitol (3), sucrose (4), daucosterol (5), β -sitosterol (6), lupeol (7). **Conclusion:** Compounds 1-7 were obtained from the seeds of *C. pitardii* for the first time.

[Key words] *Camellia pitardii*; seeds; chemical constituents

西南山茶系山茶科山茶属植物,为《中华本草》和《滇南本草》所收载。在云南各地分布甚广,同时贵州的西部、四川中部、湖南西北部及广西西北部也有分布,所以资源非常丰富。据记载西南山茶具有活血止血、收敛止泻、解毒敛疮之功能,主治月经不调、月经过多、肠风下血、吐血、急性肠胃炎、痢疾、脱

肛、白带、遗精、风湿痹痛、烧伤^[1]。本课题组对西南山茶种子的 95% 乙醇提取物进行了广泛的活性筛选,结果表明西南山茶种子的醇提取物有较强的抗过敏作用^[2-5],而目前对西南山茶种子的化学成分研究尚未见报道。为阐明其药效物质基础和开发其植物资源,笔者对西南山茶种子进行了化学成分研究。通过硅胶柱色谱法,从 95% 乙醇提取物中分离得到 7 个化合物。对其理化性质和波谱数据进行了分析,分别鉴定为山柰酚-3-*O*- β -D-葡萄糖基-(6 \rightarrow 1)- α -L-鼠李糖基-(3 \rightarrow 1)- α -L-鼠李糖苷 {kaempferol-3-*O*-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside, 1)、山

[收稿日期] 20120903(013)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81073012)

[第一作者] 尚志春, 硕士, 从事天然活性物质研究, Tel: 13998621968, E-mail: shang8102016@163.com

[通讯作者] * 史丽颖, 博士, 从事天然活性物质的研究, Tel: 0411-87402107, E-mail: shiliying@dlu.edu.cn

柰酚-3-*O*- β -*D*-葡萄糖基-(6 \rightarrow 1)-4''-*O*-乙酰基- α -*L*-鼠李糖基-(3 \rightarrow 1)- α -*L*-鼠李糖苷 { kaempferol-3-*O*-[α -*L*-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-(4''-acetyl)- α -*L*-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -*D*-glucopyranoside], **2** }、半乳糖醇(*D*-galactitol, **3**)、蔗糖(sucrose, **4**)、胡萝卜苷(daucosterol, **5**)、 β -谷甾醇(β -sitosterol, **6**)、羽扇豆醇(lupeol, **7**)。

1 仪器与试剂

XT4A 型显微熔点测定仪(温度未校正,上海荆和分析仪器有限公司),Bruker^{AM}-500 型核磁共振波谱仪(瑞士布鲁克公司,TMS 内标),LABOROTA4000 型旋转蒸发仪(德国海道夫公司),ZQ2000 型液相色谱-质谱仪(美国 Waters 公司)。

薄层色谱及柱色谱硅胶(青岛海洋化工厂),Sephadex LH-20 型葡聚糖凝胶(美国 GE 公司),反相硅胶(日本 YMC 公司),95% 乙醇(工业级,大连),其他试剂(分析纯,市售)。

西南山茶种子 2009 年采于云南鹤庆,经中国科学院昆明植物研究所裴盛基教授鉴定为西南山茶 *Camellia pitardii* Coh. St., 标本现存于大连大学药物研究所,标本号 20090302。

2 提取和分离

取干燥西南山茶种子 5 kg,粉碎成粗粉,用石油醚(60~90℃)连续脱脂 3 次,每次 24 h,残渣用 3 倍量的 95% 工业乙醇加热回流提取 3 次,每次 2 h,过滤后减压浓缩,得醇提物(577 g)。醇提物(100 g)经硅胶柱(200~300 目)色谱分离,以氯仿-甲醇-水系统(65:35:10)洗脱,收集流份,TLC 检识,合并相同组分,得到 8 个组分(Fr. 1~Fr. 8)。组分 Fr. 2 经硅胶柱色谱分离,以氯仿-甲醇系统(50:1~5:1)梯度洗脱,得化合物 **5**(10 mg)、**6**(15 mg)、**7**(20 mg)。组分 Fr. 3 经硅胶柱色谱分离,以氯仿-甲醇系统(20:1~3:1)梯度洗脱,洗脱部分经 Sephadex LH-20 柱色谱分离,以甲醇洗脱,再用甲醇重结晶得化合物 **1**(5 mg)。组分 Fr. 4 经反向硅胶柱色谱分离,以甲醇-乙腈-水系统(1:1:3~1:0:0)梯度洗脱,得化合物 **2**(4 mg)。组分 Fr. 5 经反向硅胶柱色谱分离,以甲醇-乙腈-水系统(1:1:7~1:0:0)梯度洗脱,再经 Sephadex LH-20 柱色谱纯化得化合物 **3**(10 mg)。组分 Fr. 7 经 Sephadex LH-20 柱色谱分离,以甲醇洗脱,再用甲醇-氯仿重结晶得化合物 **4**(20 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1** 黄色无定型粉末(甲醇),mp 221~223℃,盐酸镁粉反应阳性;薄层层析展开后,三氯

化铝显黄色,示为黄酮类化合物;Molish 反应阳性,显示其为糖苷类化合物。ESI-MS m/z 741 [M+H]⁺,结合¹³C-NMR 谱推测分子式为 C₃₃H₄₀O₁₉。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) 和 ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) 谱中显示有母核山柰酚的信号 δ_H : 6.22 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-6), 6.40 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-8), 6.90 (2H, d, J = 8.9 Hz, H-3', H-5'), 8.05 (2H, d, J = 8.9 Hz, H-2', H-6'); δ_C : 159.5 (C-2), 135.6 (C-3), 179.5 (C-4), 161.5 (C-5), 103.8 (C-6), 166.0 (C-7), 95.0 (C-8), 158.6 (C-9), 105.7 (C-10), 122.8 (C-1'), 132.4 (C-2', 6'), 116.2 (C-3', 5'), 163.0 (C-4')。¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 还显示有 3 组糖信号,分别是 1 个葡萄糖残基信号 δ_H : 5.12 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-1''), 3.45 (1H, m, H-2''), 3.43 (1H, m, H-3''), 3.38 (1H, m, H-4''), 3.36 (1H, m, H-5''), 3.82 (1H, d, J = 11.2 Hz, H-6''a), 3.48 (1H, m, H-6''b); δ_C : 104.9 (C-1''), 77.3 (C-2''), 79.5 (C-3''), 72.3 (C-4''), 78.3 (C-5''), 70.1 (C-6''); 2 个鼠李糖,内侧鼠李糖残基信号 δ_H : 4.52 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-1'''), 3.73 (1H, m, H-2'''), 3.64 (1H, m, H-3'''), 3.25 (1H, m, H-4'''), 3.48 (1H, m, H-5'''), 1.12 (3H, d, J = 6.3 Hz, H-6'''); δ_C : 100.1 (C-1'''), 73.3 (C-2'''), 75.9 (C-3'''), 74.2 (C-4'''), 68.9 (C-5'''), 17.8 (C-6'''); 外端鼠李糖残基信号: δ_H : 4.95 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-1''''), 3.95 (1H, m, H-2''''), 3.75 (1H, dd, J = 10.0 Hz, 3.4 Hz, H-3''''), 3.38 (1H, m, H-4''''), 3.73 (1H, m, H-5''''), 1.17 (3H, d, J = 6.3 Hz, H-6''''); δ_C : 102.5 (C-1''''), 71.6 (C-2''''), 71.8 (C-3''''), 72.4 (C-4''''), 70.1 (C-5''''), 18.1 (C-6''')。根据葡萄糖的端基质子信号(δ_H : 5.12, 1H, d, J = 7.6 Hz, H-1'') 的偶合常数,确定葡萄糖为 β 型。根据二维谱 HMBC 和 HSQC 的相关性数据判断出葡萄糖与山柰酚的 3-OH 成苷,糖基的连接方式为葡萄糖基-(6 \rightarrow 1)-鼠李糖基-(3 \rightarrow 1)-鼠李糖。以上数据与文献[6]对照基本一致。综上,确定化合物 **1** 的结构式为山柰酚-3-*O*- β -*D*-葡萄糖基-(6 \rightarrow 1)- α -*L*-鼠李糖基-(3 \rightarrow 1)- α -*L*-鼠李糖苷 (kaempferol-3-*O*-[α -*L*-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -*L*-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -*D*-glucopyranoside])。

化合物 **2** 黄色无定型粉末(甲醇),mp 223~225℃,盐酸镁粉反应阳性;薄层层析展开后,三氯化铝显黄色,示为黄酮类化合物;Molish 反应阳性,显示其为糖苷类化合物。ESI-MS m/z 783 [M+H]⁺,结合¹³C-NMR 谱推测分子式为 C₃₅H₄₂O₂₀。¹H-

NMR (500 MHz, CD₃OD) 和 ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) 谱中显示有母核山柰酚的信号 δ_H: 6.06 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6), 6.19 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.89 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-3', H-5'), 8.04 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-2', H-6'); δ_C: 158.0 (C-2), 134.9 (C-3), 178.4 (C-4), 162.6 (C-5), 103.7 (C-6), 166.0 (C-7), 96.7 (C-8), 159.1 (C-9), 104.5 (C-10), 122.9 (C-1'), 132.2 (C-2', C-6'), 116.3 (C-3', C-5'), 161.7 (C-4')。¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 还显示有 3 组糖信号, 分别是 1 个葡萄糖残基信号 δ_H: 5.19 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-1''), 3.54 (1H, m, H-2''), 3.46 (1H, m, H-3''), 3.43 (1H, m, H-4''), 3.34 (1H, m, H-5''), 3.83 (1H, dd, *J* = 11.2, 1.5 Hz, H-6''a), 3.54 (1H, dd, *J* = 11.2, 5.7 Hz, H-6''b); δ_C: 104.5 (C-1''), 75.9 (C-2''), 78.4 (C-3''), 71.4 (C-4''), 76.9 (C-5''), 68.8 (C-6''); 2 个鼠李糖, 内侧鼠李糖残基信号 δ_H: 4.57 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, H-1'''), 3.67 (1H, m, H-2'''), 3.72 (1H, m, H-3'''), 4.92 (1H, t, *J* = 10.0 Hz, H-4'''), 3.48 (1H, m, H-5'''), 0.86 (3H, d, *J* = 6.3 Hz, H-6'''); δ_C: 103.7 (C-1'''), 72.0 (C-2'''), 77.9 (C-3'''), 74.0 (C-4'''), 67.7 (C-5'''), 17.5 (C-6'''); 外端鼠李糖残基信号 δ_H: 4.72 (1H, s, H-1'''), 3.81 (1H, m, H-2'''), 3.75 (1H, m, H-3'''), 3.37 (1H, m, H-4'''), 3.65 (1H, m, H-5'''), 1.22 (3H, d, *J* = 6.2 Hz, H-6'''); δ_C: 102.5 (C-1'''), 71.9 (C-2'''), 72.4 (C-3'''), 74.1 (C-4'''), 70.2 (C-5'''), 18.0 (C-6''')。根据葡萄糖的端基质子信号 (δ_H: 5.19, 1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-1'') 的偶合常数, 确定葡萄糖为 β 型。根据二维谱 HMBC 和 HSQC 的相关性数据判断出葡萄糖与山柰酚的 3-OH 成苷, 糖基的连接方式为葡萄糖基-(6→1)-鼠李糖基-(3→1)-鼠李糖。除以上数据外 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 谱数据 δ_H: 2.00 (s, 3H), δ_C: 172.1 (C=O), 21.0 (CH₃), 提示该化合物中存在一个乙酰基。只有内侧鼠李糖上的 H-4''' (δ_H: 4.92) 向低场移动, HMBC 谱中 C=O (172.1) 与 H-4''' (δ_H: 4.92) 相关, 因此推断乙酰基连接在鼠李糖的 H-4''' 上。以上数据与文献 [6] 对照基本一致。综上, 确定化合物 2 的结构式为山柰酚-3-*O*-β-*D*-葡萄糖基-(6→1)-4'''-*O*-乙酰基-α-*L*-鼠李糖基-(3→1)-α-*L*-鼠李糖苷 { kaempferol-3-*O*-[α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→3)-(4'''-acetyl)-α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→6)-β-*D*-glucopyranoside] }。

化合物 3 无色结晶 (甲醇), mp 187 ~ 189 °C。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ_H: 3.61 (4H, m,

1, 6-CH₂), 3.38 (2H, m, 2, 5-CH), 3.46 (2H, m, 3, 4-CH), 4.12 (2H, d, 3, 4-OH), 4.30 (2H, t, 2, 5-OH), 4.39 (2H, d, 1, 6-OH), 且 ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) 谱中给出 δ_C: 63.8 (C-1, 6), 69.7 (C-2, 5) 和 71.3 (C-3, 4) 3 个等高碳信号, 可知为对称结构, 并且结合碳谱和氢谱数据可以推断出各碳均为连氧结构, 由此推测该化合物可能为 6 碳多羟基取代化合物, 经与文献 [7-8] 比较, 确定化合物 3 为半乳糖醇 (*D*-galactitol)。

化合物 4 无色方晶 (吡啶), mp 168 ~ 171 °C。¹H-NMR (500 MHz, C₅D₅N) δ_H: 6.21 (1H, d, *J* = 3.9 Hz, H-1), 4.1 ~ 5.0 (10H, m, 糖质子)。¹³C-NMR (125 MHz, C₅D₅N) δ_C: 93.6 (C-1), 75.0 (C-2), 75.2 (C-3), 71.9 (C-4), 73.5 (C-5), 62.5 (C-6), 64.9 (C-1'), 105.9 (C-2'), 84.4 (C-3'), 79.9 (C-4'), 75.7 (C-5'), 63.0 (C-6')。以上数据与文献报道 [9-10] 对照一致, 确定该化合物 4 为蔗糖 (sucrose)。

化合物 5 白色粉末 (氯仿), mp > 300 °C。Liebermann-Burchard 反应显绿色, Molish 反应显阳性, 提示为甾苷类化合物。与对照品胡萝卜苷共薄层, 在 3 种溶剂系统下 R_f 值一致, 且混合熔点不下降, 故鉴定化合物 5 为胡萝卜苷 (daucosterol)。

化合物 6 白色针状晶体 (氯仿), mp 146 ~ 147 °C。Liebermann-Burchard 反应显绿色, 提示为甾体类化合物。与对照品 β-谷甾醇共薄层, 在 3 种溶剂系统下 R_f 值一致, 且混合熔点不下降, 故鉴定化合物 6 为 β-谷甾醇 (β-sitosterol)。

化合物 7 白色针状结晶 (丙酮), mp 174 ~ 176 °C。Liebermann-Burchard 反应呈阳性。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ_H: 3.20 (1H, m, H-3), 0.97 (3H, s, H-23), 0.76 (3H, s, H-24), 0.93 (3H, s, H-25), 1.15 (3H, s, H-26), 0.95 (3H, s, H-27), 0.83 (3H, s, H-28), 4.68 (1H, d, *J* = 2.3 Hz, H-29), 4.56 (1H, d, *J* = 2.3 Hz, H-29), 1.62 (3H, s, H-30)。与羽扇豆醇对照品共薄层, 3 种展开体系下 R_f 值一致, ¹H-NMR 数据与文献 [11-12] 报道的羽扇豆醇谱图数据基本一致, 故确定该化合物 7 为羽扇豆醇 (lupeol)。

[参考文献]

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 第 9 卷 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1975: 564.
- [2] 王永奇, 侯蕾, 史雨颖, 等. 西南山茶抗 IgE 介导 I 型过敏有效部位及有效成分的研究 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(3): 519.

黄丝郁金和绿丝郁金中姜黄素类成分含量比较

李锐^{1*}, 和心依², 肖燕¹

(1. 西华大学生物工程学院, 成都 610039; 2. 四川大学, 成都 610015)

[摘要] 目的: 采用 HPLC 高效液相色谱法对黄丝郁金和绿丝郁金中姜黄素、单脱甲氧基姜黄素、双脱甲氧基姜黄素的含量进行比较研究。方法: 分别搜集 10 个批次的药材样品, 以甲醇超声提取 60 min, 以 YMC-Pack-ODS-A C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 分离, 流动相乙腈-0.1% 甲酸溶液 (45:55), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 425 nm, 进行外标法定量分析。结果: 姜黄素在 3.516 ~ 450 mg·L⁻¹ 呈良好的线性关系 ($r=0.999\ 8$), 平均回收率 101.36%, RSD 2.62% ($n=5$); 脱甲氧基姜黄素在 2.734 ~ 350 mg·L⁻¹ 呈良好的线性关系 ($r=0.999\ 9$), 平均回收率 102.19%, RSD 2.75% ($n=5$); 双脱甲氧基姜黄素在 2.422 ~ 310 mg·L⁻¹ 呈良好的线性关系 ($r=0.999\ 8$), 平均回收率 102.86%, RSD 3.06% ($n=5$)。结论: 文章所建立的 HPLC 方法可用于有效控制中药郁金的药材质量; 黄丝郁金中含有姜黄素类成分, 而绿丝郁金中未检测到姜黄素类成分。

[关键词] 黄丝郁金; 绿丝郁金; 姜黄素类成分; 高效液相色谱法; 含量比较

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0088-04

[doi] 10.11653/syjf2013100088

Quantitative Analysis of Curcuminoids in Huangsi Yujin and Lvsu Yujin Derived from Cucurmae Radix

LI Rui^{1*}, HE Xin-yi², XIAO Yan¹

(1. School of Bioengineering, Xihua University, Chengdu 610039, China;

2. Sichuan University, Chengdu 610015, China)

[Abstract] **Objective:** To develop an HPLC method for quantitative analysis of curcuminoids in Huangsi Yujin and Lvsu Yujin derived from Cucurmae Radix. **Method:** Ten batches of samples were collected respectively,

[收稿日期] 20121030(010)

[基金项目] 中国博士后科学基金项目(2012M511935); 四川省教育厅重点项目(11ZA005); 西华大学重点科研项目(E112053)

[通讯作者] *李锐, 讲师, 博士学位, 从事食品、药物的化学分析及其体内代谢研究, Tel: 028-87825898, E-mail: liruielite@gmail.com

- [3] 文丹丹, 王敏. 蝉蜕及其配伍治疗哮喘的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(3): 242.
- [4] 刘丽萍, 任翠爱, 赵宏艳. 甘草酸的免疫调节作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(6): 273.
- [5] 赵保胜, 桂海水, 朱寅荻, 等. 阿魏化学成分、药理作用及毒性研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(17): 279.
- [6] Christiane Lakenbrink, T My Loc Lam, Ulrich H Engelhardt, et al. New flavonol triglycosides from tea (*Camellia sinensis*) [J]. Nat Prod Res, 2000, 14(4): 233.
- [7] 杨小龙, 朱应成, 方圣涛, 等. 非洲隔囊蚁巢伞的化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2010, 22(6): 972.
- [8] 张起辉, 周莲娣, 闫小玉, 等. 海洋真菌 *Nigrospora sphaerica* 化学成分的分离与鉴定(I) [J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(5): 350.
- [9] 赵海誉, 范妙璇, 石晋丽, 等. 北葶苈子化学成分研究[J]. 中草药, 2010, 41(1): 14.
- [10] 王付荣, 葛喜珍, 杨秀伟. 通脉方化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(20): 63.
- [11] 朱向东, 张庆华, 王飞, 等. 酸叶胶藤的化学成分研究[J]. 中草药, 2011, 42(2): 237.
- [12] 王安平, 刘明川, 杨胜杰, 等. 柘木的化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(15): 113.

[责任编辑 邹晓翠]