

南山茶果皮化学成分的研究

张微微, 于大永, 史丽颖*, 唐玲, 冯宝民, 王永奇

(大连大学 药物研究所, 大连 116622)

摘要: 反复采用硅胶柱色谱法、Sephadex LH-20 柱色谱法、ODS 柱色谱法、反复重结晶等方法对南山茶果皮的化学成分进行分离纯化, 并通过理化常数测定和波谱分析等方法进行结构鉴定。从南山茶果皮中分离并得到了 10 个化合物, 分别鉴定为槲皮素(1)、山奈酚(2)、原儿茶酸(3)、山奈酚-3-O- β -D-葡萄糖基-(6 $\rightarrow$ 1)-2''', 4'''-O-二乙酰基- α -L-鼠李糖基-(3 $\rightarrow$ 1)-2''', 3''', 4'''-O-三乙酰基- α -L-鼠李糖基(4)、山奈酚-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)-3''', 4'''-O-乙酰基- α -L-鼠李糖基(5)、3'-甲氧基鞣花酸(6)、鞣花酸(7)、羽扇豆烷醇(8)、 β -谷甾醇(9)和胡萝卜苷(10)。化合物 2、6、7 均为首次从南山茶中分离得到, 其中化合物 6、7 为首次从山茶属植物中分离得到。

关键词: 山茶属; 南山茶; 化学成分

中图分类号: Q946 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2012)05-0698-03

Research on the chemical constituents of the fruit peels of *Camellia semiserrata*

*

ZHANG Wei-Wei, YU Da-Yong, SHI Li-Ying, TANG Ling,
FENG Bao-Min, WANG Yong-Qi

(Institute of Materia Medica, Dalian University, Dalian 116622, China)

Abstract: The compounds were isolated from the peels of *Camellia semiserrata* by chromatography on silica gel column, Sephadex LH-20 column, ODS column and recrystallization, and the structures were determined on the basis of physicochemical evidence and spectroscopic analysis. Ten compounds were isolated and identified as quercetin(1), kaempferol(2), protocatechuic acid(3), kaempferol-3-O-[(2''', 3''', 4'''-triacyl)- α -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 3)(2''', 4'''-diacyl)- α -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside](4), kaempferol-3-O-[(3'''-acetyl)- α -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 3)(4'''-acetyl)- α -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside](5), 3'-O-methylgallic acid(6), ellagic acid(7), lupeol(8), β -sitosterol(9), daucosterol(10). Compounds 2, 6 and 7 were all isolated from *C. semiserrata* for the first time. Compounds 6 and 7 were isolated from *Camellia* species for the first time.

Key words: *Camellia*; *Camellia semiserrata*; chemical constituents

南山茶为山茶科(Theaceae)山茶属(*Camellia*)植物, 分布于广西的东南部至广东西南部, 生于海拔 250~500 m 山地(高继银, 2005)。山茶属植物不仅资源丰富且具有广泛的药理活性, 现代药理研究表明其具有抗癌、抗 HIV 病毒、抗骨质疏松及抑制乙

醇吸收等作用(陈惠芳, 2001; 唐玲等, 2008; Hatano 等, 1995; Yoshikawa 等, 1994)。前期研究中我们已对南山茶种子及叶的化学成分进行了研究(林红景等, 2009; Xiaojuan 等, 2008), 但目前果皮化学成分的研究尚未见报道, 为了进一步深入开发利用南山

* 收稿日期: 2012-02-10 修回日期: 2012-05-10

基金项目: 国家自然科学基金(30772714) [Supported by National Natural Science Foundation of China (30772714)]

作者简介: 张微微(1984-), 女, 吉林公主岭人, 在读硕士研究生, 主要从事天然活性物质的研究工作, (E-mail) oceans13zww@yahoo.com.cn。

* 通讯作者: 史丽颖, 博士, 主要从事天然产物活性物的研究, (E-mail) shiliying99074@163.com。

茶, 本文对南山茶果皮的化学成分进行了研究。

1 材料与方法

XT4A 显微熔点测定仪(未校正); LABORO-TA4000 旋转蒸发仪; AVANCE500Hz 型核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司, TMS 为内标); 薄层色谱硅胶及柱色谱硅胶均为青岛海洋化工有限公司生产; Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶为美国 GE 公司产品; ODS 反相硅胶为日本 YMC 公司生产; RP-18 F254 薄层层析板为德国 Merck 公司生产; 95% 乙醇为工业级; 其余试剂均为分析纯。

南山茶果皮于 2010 年 3 月采集于广西省平南县六陈镇, 经中科院昆明植物所裴盛基教授鉴定, 标本存放于大连大学生物工程学院标本室。标本号: 2010031503。

2 提取和分离

称取干燥后的南山茶果皮 8.8 kg, 粉碎, 用 95% 乙醇回流提取 3 次, 每次 3 h, 过滤后减压浓缩, 得到醇提物 540 g, 将醇提物混悬于适量水中, 用乙酸乙酯萃取, 得乙酸乙酯萃取物 67.3 g。

取硅胶(200~300 目, 1.5 kg)湿法装柱, 将乙酸乙酯萃取物(60 g)用硅胶拌样, 干法上样, 以氯仿-甲醇-水体系(65:35:10→5:4:1)梯度洗脱, 收集流份, 每份 500 mL。收集到的各流分经薄层色谱检识后合并, 合并得到 3 个部分。具体分离方法如下:

第 1 部分(15.5 g)经硅胶柱色谱分离, 以氯仿-甲醇(20:1)洗脱, TLC 检识, 合并相同组分, 得到 3 个组分。组分 1: 经葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 柱层析以甲醇洗脱, TLC 检识, 合并相同组分, 得到化合物 1(4 mg), 化合物 2(5 mg); 组分 2: 经葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 柱层析以甲醇洗脱, TLC 检识, 合并相同组分。用甲醇反复重结晶, 得到化合物 3(100 mg); 组分 3: 经硅胶柱色谱分离, 以氯仿-甲醇(20:1)洗脱, 得到化合物 4(4 mg)、5(4 mg)。第 2 部分(4.25 g)经葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 柱层析以甲醇洗脱, TLC 检识, 合并相同组分。再经 ODS 反相柱色谱分离, 以甲醇-水(1:5)洗脱, TLC 检识, 合并相同组分, 用甲醇反复重结晶, 得到化合物 6(30 mg), 化合物 7(4 mg)。第 3 部分(5.49 g), 经硅胶柱色谱分离, 以氯仿-甲醇(100:1~5:1)洗

脱, TLC 检识, 合并相同组分, 用氯仿-甲醇反复重结晶, 得到化合物 8(5 mg)、9(5 mg)、10(100 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1 黄色针状晶体, mp>300 °C。盐酸镁粉反应显阳性, 示为黄酮类化合物。¹H-NMR(CD₃OD, 500 MHz), δ: 6.18(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6), 6.38(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), 7.62(1H, d, *J*=2.5 Hz, H-2'), 6.87(1H, d, *J*=8.5 Hz, H-5'), 7.64(1H, dd, *J*=2.5, 8.5 Hz, H-6')。以上数据与朱占军等(2008)中槲皮素氢谱数据基本一致, 经与对照品槲皮素共薄层, 在三种溶剂系统下 R_f 值一致, 故该化合物鉴定为槲皮素。

化合物 2 黄色粉末, 盐酸镁粉反应显阳性, 与三氯化铝反应呈黄绿色荧光, 示为黄酮类化合物。¹H-NMR(CD₃OD, 500 MHz), δ: 6.09(1H, d, *J*=2.1 Hz, H-6), 6.30(1H, d, *J*=2.1 Hz, H-8), 6.81(2H, dd, *J*=8.9 Hz, H-3', H-5'), 7.98(2H, dd, *J*=8.9 Hz, H-2', H-6')。¹H-NMR 数据与贾陆等(2009)所报道山奈酚氢谱数据基本一致, 经与对照品山奈酚共薄层, 在三种溶剂系统下 R_f 值一致, 故该化合物鉴定为山奈酚。

化合物 3 白色针状晶体, ¹H-NMR(CD₃OD, 500 MHz), δ: 7.45(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-2), 6.81(1H, d, *J*=8.0 Hz, H-5), 7.42(1H, dd, *J*=2.0, 8.0 Hz, H-6)。¹³C-NMR(125 MHz, CD₃OD), δ: 123.2(C-1), 117.8(C-2), 146.0(C-3), 151.5(C-4), 115.7(C-5), 123.9(C-6), 170.2(-COOH)。以上数据与张军民(2010)等报道的原儿茶酸数据基本一致, 且与对照品原儿茶酸共薄层, 在三种溶剂系统下 R_f 值一致。故鉴定为原儿茶酸。

化合物 4 黄色无定型粉末(丙酮), mp 196~198 °C, 盐酸镁粉反应阳性; 与三氯化铝反应显黄色, 示为黄酮类化合物。¹H-NMR(500MHz, Acetone-*d*₆), δ: 6.29(1H, d, *J*=2.1 Hz), 6.52(1H, d, *J*=2.1 Hz), 7.01(2H, d, *J*=8.9 Hz, H-3' 和 H-5'), 8.14(2H, d, *J*=8.9 Hz, H-2' 和 H-6') 5.47(1H, d, *J*=7.6 Hz, H-1'), 4.65(1H, d, *J*=1.5 Hz, H-1'''), 4.77(1H, d, *J*=1.6 Hz, H-1''')。¹³C-NMR(125MHz, Acetone-*d*₆), δ: 158.3(C-2), 135.0(C-3), 179.1(C-4), 160.9(C-5), 99.8(C-6), 165.2(C-7), 94.7(C-8), 158.1(C-9), 105.6(C-10) 122.6(C-

1'), 132.1 (C-2', C-6'), 116.1 (C-3', C-5'), 163.1 (C-4'), 103.8 (C-1''), 75.6 (C-2''), 78.2 (C-3''), 70.7 (C-4''), 76.6 (C-5''), 67.2 (C-6''), 98.6 (C-1'''), 72.1 (C-2'''), 75.1 (C-3'''), 73.1 (C-4'''), 67.7 (C-5'''), 17.4 (C-6'''), 99.6 (C-1'''), 70.7 (C-2'''), 69.4 (C-3'''), 71.3 (C-4'''), 68.0 (C-5'''), 17.7 (C-6'''), 170.7 (CO Acetyl I), 20.8 (CO Acetyl II), 170.5 (CO Acetyl III), 170.4 (CO Acetyl IV), 170.2 (CO Acetyl V)。以上数据与 Wu 等(2008)对照,确定化合物 4 的结构式为山奈酚-3-O- β -D-葡萄糖基-(6 $\rightarrow$ 1)-2''',4'''-O-二乙酰基- α -L-鼠李糖基-(3 $\rightarrow$ 1)-2''',3''',4'''-O-三乙酰基- α -L-鼠李糖苷。

化合物 5 黄色无定型粉末(甲醇), mp 210~212 °C, 盐酸镁粉反应阳性, 与三氯化铝反应显黄色, 示为黄酮类化合物; $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CD_3OD), 6.21(1H, d, $J=2.1\text{Hz}$), 6.39(1H, d, $J=2.1\text{Hz}$), 6.93(2H, d, $J=8.8\text{Hz}$, H-3 和 H-5), 8.04(2H, d, $J=8.9\text{Hz}$, H-2 和 H-6), 5.36(1H, d, $J=7.3\text{Hz}$, H-1'), 4.57(1H, d, $J=1.5\text{Hz}$, H-1'''), 4.75(1H, d, $J=1.6\text{Hz}$, H-1'''). $^{13}\text{C-NMR}$ (125MHz, CD_3OD), δ : 159.0 (C-2), 135.2 (C-3), 179.5 (C-4), 161.5 (C-5), 103.3 (C-6), 166.0 (C-7), 94.8 (C-8), 158.6 (C-9), 105.7 (C-10), 122.8 (C-1'), 132.3 (C-2', C-6'), 116.2 (C-3', C-5'), 163.2 (C-4'), 103.7 (C-1''), 76.8 (C-2''), 78.2 (C-3''), 71.3 (C-4''), 77.7 (C-5''), 68.0 (C-6''), 100.0 (C-1'''), 74.1 (C-2'''), 75.9 (C-3'''), 75.5 (C-4'''), 67.8 (C-5'''), 17.4 (C-6'''), 102.0 (C-1'''), 71.1 (C-2'''), 70.4 (C-3'''), 71.8 (C-4'''), 70.1 (C-5'''), 18.0 (C-6'''), 172.6 (CO Acetyl I), 172.0 (CO Acetyl II)。以上数据与 Wu 等(2008)对照,确定化合物 5 的结构式为山奈酚-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)-3'''-O-乙酰基- α -L-鼠李糖苷。

化合物 6 白色粉末, mp > 300 °C, $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$), δ : 4.04(3H, s), 7.44(1H, s), 7.49(1H, s)。 $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$), δ : 60.9 (OMe), 111.3 (C-1), 140.1 (C-2), 139.7 (C-3), 152.1 (C-4), 110.3 (C-5), 112.1 (C-6), 158.8 (C-7), 112.4 (C-1'), 136.1 (C-2'), 141.4 (C-3'), 148.2 (C-4'), 111.8 (C-5'), 107.3 (C-6'), 158.7 (C-7')。以上数据和 Tanaka 等(1997)中 3-甲氧基鞣花酸对照基本一致,

故鉴定为 3-甲氧基鞣花酸。

化合物 7 白色粉末, mp > 360 °C, $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$), δ : 7.46 (H-1, H-6)。 $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$), δ : 107.4 (C-10b, C-10c), 110.1 (C-3a, C-8a), 112.4 (C-5a, C-10a), 136.4 (C-1, C-6), 139.9 (C-2, C-7), 148.2 (C-3, C-8), 159.2 (C-5, C-10)。以上数据和 Zhang 等(2004)中鞣花酸对照基本一致, 故鉴定为鞣花酸。

化合物 8 白色针状晶体, mp 174~176 °C, Liebermann-Burchard 反应呈阳性。经与对照品羽扇豆醇共薄层, 在三种溶剂系统下 Rf 值一致, 故鉴定为羽扇豆醇。

参考文献:

- 高继银. 2005. 山茶属植物主要原种彩色图集[M]. 浙江: 浙江科学技术出版社: 15
- 陈惠芳. 2001. 植物活性成分词典[M]. 北京: 中国医药科技出版社
- Hatano T, Han L, Tanigushi S, et al. 1995. Camelliatannin D, a new inhibitor of bone resorption, from *C. japonica* [J]. *Chem Pharm Bull*, **43**(11): 2 033-2 035
- Jia L(贾陆), Jing LL(敬林林), Zhou SA(周胜安), et al. 2009. Study on chemical constituents of *Urena obata* I. Flavonoid constituents(地桃花化学成分研究. I. 黄酮类成分) [J]. *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志), **40**(9): 662-665
- Lin HJ(林红景), Feng BM(冯宝民), Tang L(唐玲), et al. 2009. Research on the chemical constituents in leaves of *Camellia semiserrata* (南山茶叶化学成分的研究) [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), **44**(24): 1 851-1 853
- Tang L(唐玲), Feng BM(冯宝民), Shi LY(史丽颖), et al. 2008. Study on the therapeutic effect of plants of *Camellia* genus on osteoporosis (山茶属植物的抗骨质疏松作用) [J]. *Chin Med Mat* (中药材), **31**(10): 1 540-1 544
- Tanaka T, Jiang Z, Kouno I. 1997. Distribution of ellagic acid derivatives and a diarylheptanoid in wood of *platycarya strobilacea* [J]. *Phytochemistry*, **47**(5): 851-854
- Wu XJ, Tang L, Lin H, et al. 2008. Flavonoids from seeds of *Camellia semiserrata* and their estrogenic activity [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, **72**(9): 2 428-2 431
- Yoshikawa M, Harada E, Murakami, et al. 1994. *Camellia* saponin B₁, B₂, C₁ and C₂, new type inhibitors of ethanol absorption in rats from the seeds of *Camellia japonica* [J]. *Chem Pharm Bull*, **42**(3): 742-744
- Zhang JM(张军民), Shi HF(石晓峰), Ma QH(马趣环), et al. 2010. Studies on the chemical constituents from pine needles of *Cedrus deodara* (II) [雪松松针化学成分研究(II)] [J]. *Chin Med Mat* (中药材), **33**(7): 1 084-1 086
- Zhang YJ, Dewitt D, Murugesan S, et al. 2004. Novel lipid peroxidation and cyclooxygenase-inhibitory tannins from picrohiza kurroa seeds [J]. *Chem & Biodiv*, **1**(3): 426-441
- Zhu ZJ(朱占军), Pan RL(潘瑞乐), Si JY(斯建勇), et al. 2008. Study on the chemical constituents of *Bupleurum bicaule* (锥叶柴胡化学成分研究) [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), **20**: 833-835