

长柱金花茶化学成分研究*

Chemical Constituents from Leaves of *Camellia nitidissima* var. *longistyla*

周洁洁¹, 莫建光^{2**}, 陈秋虹², 覃祖前³, 刘布鸣⁴, 柴玲⁴

ZHOU Jie-jie¹, MO Jian-guang², CHEN Qiu-hong², QIN Zu-qian³, LIU Bu-ming⁴, CHAI Ling⁴

(1. 广西中医药大学, 广西南宁 530001; 2. 广西分析测试研究中心, 广西南宁 530022; 3. 广西贵港市人民医院, 广西贵港 537100; 4. 广西中药质量标准研究重点实验室, 广西南宁 530022)
(1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi, 530001, China; 2. Guangxi Center for Analysis and Test Research, Nanning, Guangxi, 530022, China; 3. The People's Hospital of Guangxi Guigang City, Guigang, Guangxi, 537100, China; 4. Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Standards, Nanning, Guangxi, 530022, China)

摘要:【目的】研究长柱金花茶(*Camellia nitidissima* var. *longistyla*)叶中的化学成分。【方法】利用硅胶吸附色谱法、薄层色谱法、高效液相制备色谱法、重结晶法等技术对样品进行分离和纯化,通过¹H-NMR、¹³C-NMR、MS等波谱方法对化合物进行结构鉴定。【结果】鉴定出8个化合物的结构,分别为豆甾醇(stigmasterol)(**1**)、stigmasterol-7-en-3-ol(**2**)、落新妇苷(**3**)、5,7-二羟基色原酮-3-O- α -L-吡喃鼠李糖苷(eucryphin)(**4**)、槲皮素-3-O- α -L-吡喃鼠李糖苷(**5**)、槲皮素-3-O- β -D-吡喃葡萄糖苷(**6**)、棕榈酸(**7**)、3 β -acetoxy-6 α ,13 β -dihydroxyolean-7-one(**8**)。【结论】除豆甾醇(stigmasterol)外,其余7个化合物均为首次从该品种植物中分离出来。

关键词:长柱金花茶 化学成分 分离 鉴定

中图分类号:R284 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-9164(2015)06-0637-04

Abstract:【Objective】The chemical constituents of *Camellia nitidissima* var. *longistyla* were investigated. 【Methods】Column chromatographies, such as silica gel adsorption chromatography, thin layer chromatography, high performance liquid chromatography preparation, recrystallization, and other modern methods and techniques were used to isolate and purify the chemical constituents. They were further determined by UV, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, MS and other spectroscopic methods. 【Results】Eight compounds were identified from *C. nitidissima* var. *longistyla*, including stigmasterol(**1**), stigmasterol-7-en-3-ol(**2**), astilbin(**3**), eucryphin(**4**), quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside(**5**), quercetin-3-O- β -D-glucopyranoside(**6**), palmitic acid(**7**) and 3 β -acetoxy-6 α ,13 β -dihydroxyolean-7-one(**8**). 【Conclusion】Except for stigmasterol, the remaining seven compounds were first isolated from the plant of this species.

Key words: *Camellia nitidissima* var. *longistyla*, chemical constituents, isolation, identification

收稿日期: 2015-10-14

作者简介: 周洁洁(1989-), 女, 硕士研究生, 主要从事植物化学成分提取及药物分析研究。

* 广西科技基础条件平台建设项目(11-114-14B)资助。

** 通信作者: 莫建光(1955-), 男, 高级工程师, 主要从事保健食品和生物产品分析测试研究, E-mail: bh10771@163.com。

0 引言

【研究意义】长柱金花茶(*C. nitidissima* var. *longistyla*)系山茶科(Theaceae)山茶属(*Camellia*)金花茶组(sect. *Chrysantha*)植物, 于20世纪60年代初在我国广西首次被发现, 素有茶族皇后、植物界大

熊猫的美誉^[1]。长柱金花茶为广西防城港市十万大山的金花茶主要品种之一,对长柱品种金花茶的化学成分进行深入、系统地研究,提供长柱金花茶更完整的基础化学依据,可以为进一步合理、全面的开发利用广西金花茶资源提供化学物质基础和药学理论科学依据。【前人研究进展】苏琳等^[2]采用水超声浸提显脉金花茶(*Camellia euphlebia* Merr. ex Sealy)叶,分离得到3个单体化合物,首次发现金花茶中含有人参皂苷类化合物;黄艳等^[3]从显脉金花茶叶中分离得到7个单体化合物,包括萜类,甾醇类,脂肪醇类以及黄酮类。刘鹏等^[4]采用硅胶柱层析提取分离显脉金花茶石油醚部位脂溶性成分,并用气相色谱-质谱方法分析其化学成分,结果共鉴定出20种成分,均为首次从显脉金花茶中分离出来。然而,同属植物的不同品种含有的具体化学成分是否有差别仍需进一步研究。【本研究切入点】目前鲜有对长柱金花茶叶分离提取与化学成分鉴定的研究报道。【拟解决的关键问题】通过对长柱金花茶叶中化学成分的研究,进一步阐明同属不同品种含有的具体化学成分的差别,为充分开发利用金花茶提供完整的物质和数据基础。

1 材料与方法

1.1 材料

Waters Autospec premier P776 高分辨质谱仪(美国 Waters 公司);Gilson G-281 高效液相制备色谱(法国吉尔森);RE-52A 旋转蒸发器(上海雅荣生化仪器厂);SHB-Ⅲ 循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司);柱色谱以及薄层色谱用硅胶(青岛海洋化工厂)。所用试剂均为分析纯。

长柱金花茶干燥叶采集于广西防城港市,经广西中医药研究院中药研究所赖茂祥研究员鉴定为长柱金花茶(*C. nitidissima* var. *longistyla*)。

1.2 提取与分离

长柱金花茶鲜叶阴干后适当粉碎称取 13.5 kg,经体积分数为 95%乙醇回流提取 3 次,合并提取液,减压回收乙醇,干燥后得无水乙醇总浸膏。加适量的蒸馏水混悬进行萃取,溶剂依次为石油醚(60~90℃)、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇,回收溶剂后依次得到不同部位浸膏。

石油醚部位提取物(90 g)经硅胶(100~200 目,2700 g)层析柱色谱分离,石油醚-乙酸乙酯溶剂(V:V)按 100:0→98:2→95:5→90:10→85:15→80:20→70:30→60:40→50:50→40:60→30:70→80:20→0:100 梯度洗脱,按 500 mL/份,共收集 502 流份,用 TLC 进行检识合并,在石油醚-乙酸

乙酯(V:V)为 40:60 和 30:70 洗脱处有结晶析出,利用硅胶柱色谱、高效液相制备色谱不断分离纯化结晶,分别得到化合物 1,化合物 2。

取乙酸乙酯部位 72 g 经硅胶(1614 g,200~300 目)层析柱色谱分离,氯仿-甲醇(V:V)100:0→98:2→95:5→90:10→80:20→70:30→60:40→50:50→0:100 梯度洗脱,按 500 mL/份,共收集 369 流份,第 99~109 流份合并后继续通过硅胶柱层析分离,以 50 mL/份收集,在 78~84 流份得到黄色粗粉末沉淀;在 103~109 流份得到黄色沉淀。黄色粉末以氯仿-甲醇(15:6,V:V)为洗脱剂继续过硅胶柱层析分离,利用制备色谱进一步纯化得到化合物 3,黄色沉淀经减压抽滤过滤后,以色谱甲醇溶解,利用高效液相制备色谱进一步分离纯化后得到纯的化合物 4。以同样的步骤与技术方法,依次得到了化合物 5,6。

取正丁醇部位 574 g 经 D-101 型大孔吸附树脂层析分离,水-乙醇溶剂(V:V)按照 100:0→30:70→60:40→90:10 的梯度进行分段,共收集到 4 个极性段,在 60:40 的极性段,以二氯甲烷-甲醇(V:V)按 100:0→98:2→95:5→90:10→85:15→80:20→70:30→60:40→50:50→40:60→30:70→80:20→0:100 进行梯度洗脱,其中在 45~56 流份析出晶体,进一步纯化得到化合物 7。经点板合并 180~199 流份,并进一步上硅胶 H 柱,氯仿-甲醇梯度洗脱,合并主斑点,进一步对其纯化得到化合物 8。

2 结果与分析

化合物 1:无色针晶,易溶于氯仿、苯、醋酸乙酯、吡啶,能溶于乙醇、丙酮,不溶于水;ESI-MS(m/z):412[M^+];¹H-NMR(600 MHz,CDCl₃) δ :5.16(1H,d, $J=4.8$ Hz),5.15(1H,d, $J=15.6,9.0$ Hz),5.02(1H,d, $J=15.6,9.0$ Hz),3.59(1H,m)。¹³C-NMR(150 MHz,CDCl₃) δ :37.6(C-1),31.5(C-2),70.7(C-3),39.8(C-4),139.2(C-5),117.0(C-6),31.0(C-7),29.2(C-8),49.0(C-9),36.8(C-10),21.1(C-11),42.9(C-12),39.0(C-13),54.7(C-14),25.0(C-15),28.1(C-16),55.5(C-17),11.6(C-18),20.7(C-19),36.7(C-20),21.0(C-21),137.8(C-22),129.0(C-23),50.8(C-24),33.8(C-25),21.1(C-26),18.6(C-27),22.6(C-28),11.8(C-29)。上述数据与文献[5]报道的豆甾醇基本一致,故鉴定该化合物为豆甾醇。

化合物**2**: 白色结晶性粉末; $^1\text{H-NMR}$ (600MHz, CDCl_3) δ : 0.53(3H, s, 18- CH_3), 5.16(7-H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ ((150MHz, CDCl_3) δ : 38.12(C-1), 31.62(C-2), 71.22(C-3), 37.28(C-4), 40.39(C-5), 29.79(C-6), 117.57(C-7), 139.78(C-8), 49.58(C-9), 34.35(C-10), 21.69(C-11), 39.70(C-12), 43.53(C-13), 55.19(C-14), 23.12(C-15), 28.12(C-16), 56.22(C-17), 12.12(C-18), 13.20(C-19), 36.73(C-20), 34.02(C-21), 26.30(C-22), 45.97(C-23), 23.20(C-24), 29.28(C-25), 19.98(C-26), 12.00(C-27), 19.05(C-28), 19.18(C-29)。以上数据与文献[6]报道的 stigmast-7-en-3-ol 一致, 故鉴定该化合物为 stigmast-7-en-3-ol。

化合物**3**: 黄色粉末; $^1\text{H-NMR}$ (600MHz, CDCl_3) δ : 6.96(1H, s, H-2), 6.84(1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-6), 6.81(1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-5), 5.92(1H, s), 5.90(1H, s), 5.07(1H, d, $J = 10.4$ Hz), 4.57(1H, d, $J = 10.4$ Hz), 4.05(1H, s), 1.18(1H, d, $J = 6.0$ Hz)。 $^{13}\text{C-NMR}$ ((150MHz, CDCl_3) δ : 159.2(C-2), 136.2(C-3), 179.5(C-4), 163.2(C-5), 100.2(C-6), 167.1(C-7), 95.0(C-8), 158.6(C-9), 105.5(C-10), 122.8(C-1'), 116.4(C-2'), 146.5(C-3'), 149.9(C-4'), 116.9(C-5'), 123.0(C-6'), 103.5(C-1''), 72.1(C-2''), 72.0(C-3''), 73.3(C-4''), 71.9(C-5''), 17.7(C-6'')。以上数据与文献[7]报道的落新妇苷一致, 故鉴定该化合物为落新妇苷。

化合物**4**: 黄色粉末; $^1\text{H-NMR}$ (600MHz, CDCl_3) δ : 8.11(1H, s, H-2), 6.33(1H, d, $J = 2.4$ Hz), 6.18(1H, d, $J = 2.4$ Hz), 5.32(1H, d, $J = 1.2$ Hz), 1.28(1H, d, $J = 6.0$ Hz)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (150MHz, CDCl_3) δ : 147.9(C-2), 140.4(C-3), 178.7(C-4), 159.3(C-5), 102.1(C-6), 166.5(C-7), 100.1(C-8), 163.4(C-9), 106.4(C-10), 95.0(C-1'), 71.6(C-2'), 73.5(C-3'), 71.2(C-4'), 71.9(C-5'), 18.0(C-6')。以上数据与文献[8]报道的 5,7-二羟基色原酮-3-O- α -L-吡喃鼠李糖苷一致, 故鉴定该化合物为 5,7-二羟基色原酮-3-O- α -L-吡喃鼠李糖苷。

化合物**5**: 黄色粉末; $^1\text{H-NMR}$ (600MHz, CDCl_3) δ : 7.33(H, s, H-2), 7.30(1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6), 6.90(1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 6.34(1H, s), 6.18(1H, s), 5.35(1H, s), 0.94(1H, d, $J = 6.6$ Hz)。 $^{13}\text{C-NMR}$ ((150MHz, CDCl_3) δ : 159.2(C-

-2), 136.2(C-3), 179.5(C-4), 163.2(C-5), 100.2(C-6), 167.1(C-7), 95.0(C-8), 158.6(C-9), 105.5(C-10), 122.8(C-1'), 116.4(C-2'), 146.5(C-3'), 149.9(C-4'), 116.9(C-5'), 123.0(C-6'), 103.5(C-1''), 72.1(C-2''), 72.0(C-3''), 73.3(C-4''), 71.9(C-5''), 17.7(C-6'')。以上数据与文献[9]报道的槲皮素-3-O- α -L-吡喃鼠李糖苷一致, 故鉴定该化合物为槲皮素-3-O- α -L-吡喃鼠李糖苷。

化合物**6**: 黄色粉末; $^1\text{H-NMR}$ (600MHz, CDCl_3) δ : 7.71(1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2), 7.58(1H, d, $J = 8.4, 1.8$ Hz, H-6), 6.86(1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 6.35(1H, s), 6.17(1H, s), 5.21(1H, d, $J = 7.8$ Hz)。 $^{13}\text{C-NMR}$ ((150MHz, CDCl_3) δ : 158.8(C-2), 135.6(C-3), 179.3(C-4), 163.0(C-5), 100.5(C-6), 167.7(C-7), 95.1(C-8), 158.6(C-9), 105.2(C-10), 123.1(C-1'), 116.0(C-2'), 145.9(C-3'), 149.9(C-4'), 117.5(C-5'), 123.2(C-6'), 104.5(C-1''), 75.7(C-2''), 78.1(C-3''), 71.2(C-4''), 78.4(C-5''), 62.5(C-6'')。以上数据与文献[10]报道的槲皮素-3-O- β -D-吡喃葡萄糖苷一致, 故鉴定该化合物为槲皮素-3-O- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物**7**: 白色蜡状固体, 易溶于氯仿; Mp 63~64 $^{\circ}\text{C}$; EI-MS m/z : 255 $[\text{M}-1]^+$ $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 2.34(t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 1.63(m, $J = 15.0, 7.4$ Hz, 2H), 1.25(br s, 多个- CH_2 -), 0.88(t, $J = 7.0$ Hz, 3H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3) δ : 179.55(s), 34.11(s), 32.07(s), 30.12-28.64(m), 24.84(s), 22.84(s), 14.27(s)。以上数据与文献[11]报道的棕榈酸一致, 故鉴定该化合物为棕榈酸。

化合物**8**: 无色针状晶体, 易溶于吡啶; (+)ESI-MS m/z 539 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, pyridine- d_6) δ : 5.04(1H, overlapped, H-3), 4.76(1H, dd, $J = 10.8, 6.0$ Hz, H-3), 2.07(3H, s), 1.67(3H, s), 1.54(3H, s), 1.26(3H, s, CH_3 -25), 1.09(3H, s, CH_3 -29), 1.00(3H, s, CH_3 -27), 0.96(3H, s, CH_3 -30), 0.95(3H, s, CH_3 -24), 0.93(3H, s, CH_3 -23)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (pyridine- d_6 , 150 MHz) δ : 40.4(C-1), 23.6(C-2), 81.8(C-3), 41.1(C-4), 56.3(C-5), 73.3(C-6), 213.0(C-7), 44.2(C-8), 57.9(C-9), 40.0(C-10), 18.5(C-11), 34.9(C-12), 82.7(C-13), 46.1(C-14), 23.0(C-15), 31.0(C-16), 34.9(C-17), 48.5(C-

-18), 39.3(C-19), 31.8(C-20), 34.7(C-21), 39.1(C-22), 28.8(C-23), 17.3(C-24), 16.8(C-25), 21.7(C-26), 19.1(C-27), 32.1(C-28), 32.3(C-29), 24.9(C-30), 171.1(CH₃CO), 21.8(CH₃CO)。以上数据与文献[12]报道的 3 β -acetoxy-6 α ,13 β -dihydroxyolean-7-one 一致,故鉴定该化合物为 3 β -acetoxy-6 α ,13 β -dihydroxyolean-7-one。

3 结论

从长柱金花茶叶提取物中石油醚、乙酸乙酯、正丁醇部位,分离鉴定出 8 个化合物。经鉴定,其中两个甾醇类化合物分别为豆甾醇(stigmasterol)和 stigmast-7-en-3-ol;4 个黄酮苷类分别为落新妇苷、5,7-二羟基色原酮-3-O- α -L-吡喃鼠李糖苷(eucryphin)、槲皮素-3-O- α -L-吡喃鼠李糖苷、槲皮素-3-O- β -D-吡喃葡萄糖苷;1 个有机酸类为棕榈酸(palmitic acid);1 个五环三帖类为 3 β -acetoxy-6 α ,13 β -dihydroxyolean-7-one。在分离出的 8 个单体化合物中,除豆甾醇外,其余的 7 个均为首次从该品种中分离得到。

参考文献:

[1] 梁机,杨振德,卢天玲,等.从茶多酚及氨基酸含量比较 8 种金花茶制茶适宜性[J].广西科学,1999,6:72-74.
Liang J, Yang Z D, Lu T L, et al. Evaluation on tea-process fitness of eight yellow *Camellias* based on tea polyphenols and amino acids [J]. Guangxi Sciences, 1999, 6: 72-74.

[2] 苏琳,莫建光,韦英亮,等.金花茶叶皂苷类成分研究[J].中草药,2012,43(5):877-879.
Su L, Mo J G, Wei Y L, et al. Chemical constituents of saponins from leaves of *Camellia euphlebia* [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2012, 43(5): 877-879.

[3] 黄艳,刘鹏,莫建光.显脉金花茶叶的化学成分研究[J].安徽农业科学,2013,41(28):11336,11379.
Huang Y, Liu P, Mo J G. Analysis of chemical components of *Camellia euphlebia* Merr. ex Sealy in Guangxi [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2013, 41(28): 11336, 11379.

[4] 刘鹏,莫建光,刘布鸣,等. GC-MS 分析显脉金花茶脂溶

性成分[J].广西科学,2012,19(4):358-360.

Liu P, Mo J G, Liu B M, et al. Analysis of liposoluble components in *Camellia euphlebia* Merr. ex Sealy by GC-MS[J]. Guangxi Sciences, 2012, 19(4): 358-360.

- [5] 刘桂艳,郑健,余振喜,等.五叶木通藤茎甾体和三萜成分研究[J].中药材,2005,28(12):1060-1061.
Liu G Y, Zheng J, Yu Z X, et al. Study on sterols and triterpenes from the stems of *Akebia quinata* [J]. Journal of Chinese Medicinal, 2005, 28(12): 1060-1061.
- [6] Homberg E E, Seher A. Sterine in *Trichosanthes kirilowii* [J]. Phytochemistry, 1977, 16(2): 288-290.
- [7] 袁久志,窦德强,陈英杰,等.土茯苓二氢黄酮醇类成分研究[J].中国中药杂志,2004,29(9):867-870.
Yuan J Z, Dou D Q, Chen Y J, et al. Studies on dihydroflavonol glycosides from rhizome of *Smilax glabra* [J]. China Journal of Chinese Materia, 2004, 29(9): 867-870.
- [8] Tsches R, Delhvi S, Sepulveda S, et al. Eucryphin, a new chromonerhamnoside from the bark of *Eucryphia cordifolia* [J]. Phytochemistry, 1979, 18: 867-869.
- [9] 杨华良,庾石山,裴月湖.短萼仪花叶化学成分研究[J].中国中药杂志,2008,33(22):2633-2635.
Yang H L, Yu S S, Pei Y H. Analysis of chemical components from leaves of *Lysidice brevicalyx* [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2008, 33(22): 2633-2635.
- [10] 雷军,肖云川,王文静,等.点地梅中的黄酮苷成分[J].中国中药杂志,2011,36(17):2353-2357.
Lei J, Xiao Y C, Wang W J, et al. Flavonoid glycosides from *Androsace umbellata* [J]. China Journal of Chinese Materia, 2011, 36(17): 2353-2357.
- [11] Bengsch E, Perly B, Deleuze C, et al. A general rule fore the as signment of the carbour 13 NMR peaks in fatty acid chains[J]. Journal of Magnetic Resonance, 1986, 68(1):1.
- [12] Tie J L, Xiao C W, Wei W L, et al. New triterpenoids and other constituents from a special microbial-fermented Tea-Fuzhuan brick tea[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58: 4945-4950.

(责任编辑:陆雁)