

· 研究报告 ·

## 叶下珠化学成分研究

祖鲁宁<sup>1</sup>, 杨帆<sup>1,2</sup>, 李大同<sup>1</sup>, 栾路军<sup>1</sup>, 孟庆国<sup>2</sup> (1. 中国人民解放军 404 医院, 山东 威海 264200; 2. 烟台大学药学院, 山东 烟台 264005)

**[摘要]** 目的 研究叶下珠的化学成分。方法 运用多种色谱方法分离叶下珠乙醇提取物, 根据理化性质和光谱数据分析鉴定化合物的结构。结果 从叶下珠中分离得到 9 个化合物, 分别鉴定为没食子酸(1), 没食子酸乙酯(2), 槲皮素(3), 芸香苷(4), 豆甾醇(5), 山奈酚(6), 绿原酸(7), 4-乙氧基没食子酸(8), 异泽兰黄素(9)。结论 化合物 7~9 为首次从该植物中分离得到。

**[关键词]** 叶下珠; 提取成分; 化学成分; 结构鉴定

**[中图分类号]** R931.71, R917 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2014)01-0053-03

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2014.01.014

## Studies on the chemical constituents of *Phyllanthus urinaria*

ZU Luning<sup>1</sup>, YANG Fan<sup>1,2</sup>, LI Datong<sup>1</sup>, LUAN Lujun<sup>1</sup>, MENG Qingguo<sup>2</sup> (1. No. 404 Hospital of PLA, Weihai 264200, China; 2. School of Pharmacy, Yantai University, Yantai 264005, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the chemical constituents of *Phyllanthus urinaria*. **Methods** Multi-chromatographic methods were employed for the isolation and purification of chemical constituents of *Phyllanthus urinaria*. The structures were identified on the basis of physical and spectral data. **Results** Nine compounds were isolated and identified as gallic acid (1), ethyl gallate (2), quercetin (3), rutin (4), stigmasterol (5), kaempferol (6), chlorogenic acid (7), 4-ethoxy-gallic acid (8), eupatilin (9). **Conclusion** Compounds 7-9 were all isolated from *Phyllanthus urinaria* for the first time.

**[Key words]** *Phyllanthus urinaria*; isolation; chemical constituents; structure identification

叶下珠 (*Phyllanthus urinaria*) 为大戟科叶下珠属植物, 主要分布于我国长江以南地区。叶下珠全株, 微苦、甘、酸, 性凉, 有清热利尿、明目、消积的功能。常用于治疗腹泻、下痢、尿路感染、肾炎水肿和黄疸性肝炎等疾病。由于在同属植物中发现了生物碱、黄酮、木质素、鞣质、萜类、甾体、有机酸等化学成分, 并且筛选出了具有抗肿瘤, 治疗肝炎, 抗菌消炎等药理活性的活性成分<sup>[1]</sup>。经过对叶下珠乙醇提取部位系统分离, 从中分离鉴定了 9 个化合物 (图 1)。

### 1 仪器与材料

熔点采用毛细管法在 Yamato model MP-21 型熔点测定仪上测定, 温度未经校正。核磁共振氢谱用 Bruker SpectmSpin AC-P600 型核磁共振仪测定。柱色谱用硅胶 100~200 目、200~300 目, 薄层色谱用

硅胶 H, HSGF-254 TLC 板 (烟台市芝罘黄务硅胶开发试验厂), 葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20。所用试剂均为市售分析纯。药材叶下珠经第二军医大学药学院吴秋业教授鉴定。

### 2 提取与分离

叶下珠全草 10 kg, 用 75% 乙醇回流提取, 得到提取物浓缩的浸膏 1.5 kg。浸膏依次用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇萃取, 浓缩得到各萃取部分浸膏。氯仿部分用硅胶拌样 (100~200 目), 依次用石油醚-乙酸乙酯, 氯仿-甲醇梯度洗脱, 分别得到 A、B、C、D、E5 个部分。B、C、D 部分分别经过硅胶柱色谱分离 (石油醚-乙酸乙酯, 氯仿-甲醇梯度洗脱), Sephadex LH-20 柱色谱分离 (氯仿-甲醇 = 1:1 洗脱), 制备薄层方法, 得到化合物 1~9, 结构见图 1。

### 3 结构鉴定

化合物 1: 白色针状结晶 (氯仿-甲醇); mp: 238.0~240.7 °C; <sup>1</sup>H-NMR (600 Hz, CD<sub>3</sub>OD-d<sub>6</sub>) δ: 7.06 (2H, s, H-2, 6); <sup>13</sup>C-NMR (150 Hz, CD<sub>3</sub>OD-

**[作者简介]** 祖鲁宁, 女, 药师。Tel: (0631) 5226321-44143, E-mail: zuin2000@163.com.

**[通讯作者]** 孟庆国。Tel: (0535) 6706022, E-mail: qingmeng@163.com.

$d_6$ )  $\delta$ : 169.7 (C-1'), 147.3 (C-3, C-5), 141.3 (C-4), 125.6 (C-1), 115.2 (C-2, C-6)。与已知

物没食子酸对照, R<sub>f</sub>值相同, 混合熔点不下降。由以上结果确定此化合物为没食子酸(gallic acid)。

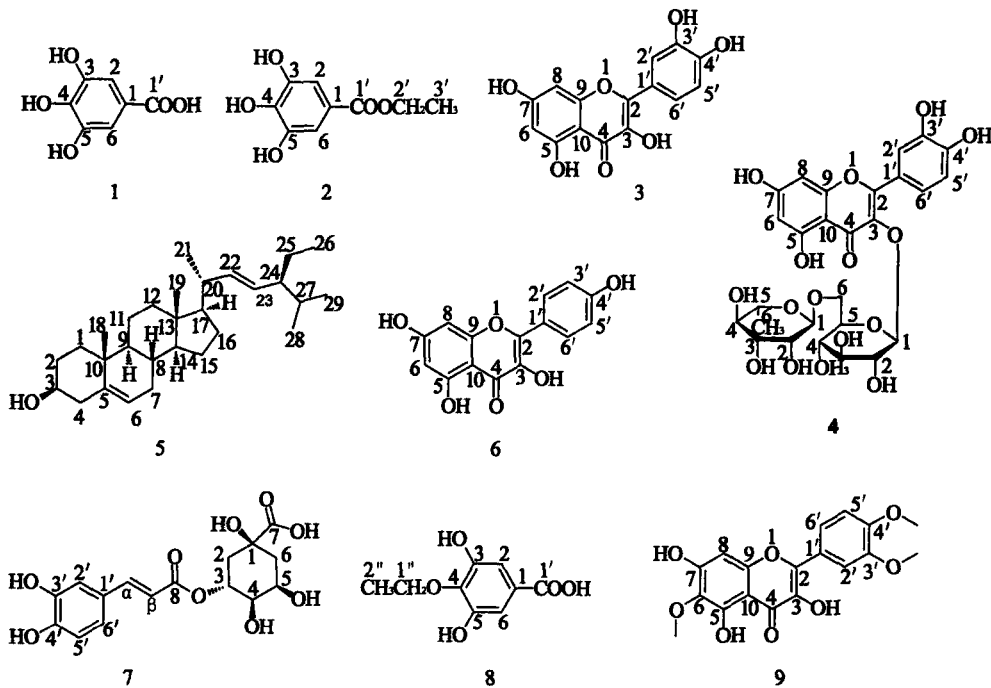


图1 分离得到的化合物1~9的结构

化合物2: 无色针状结晶(甲醇); mp: 152.5 ~ 154.7 °C; <sup>1</sup>H-NMR (600 Hz, CD<sub>3</sub>OD-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 7.90 (2H, s, H-2, 6), 4.35 (2H, q, H-2'), 1.25 (3H, t, H-3'); <sup>13</sup>C-NMR (150 Hz, CD<sub>3</sub>OD-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 167.5 (C-1'), 147.5 (C-3, 5), 141.2 (C-4), 121.7 (C-1), 110.8 (C-2, 6), 61.8 (C-2'), 15.2 (C-3'), 38.0 (C-6), 以上数据与陈云等<sup>[2]</sup>报道的绿原酸一致, 故确定化合物为绿原酸。

化合物3: 黄色粉末(甲醇); <sup>1</sup>H-NMR (600 Hz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 7.69 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 7.61 (1H, dd, *J* = 2.0 Hz, 8.0 Hz, H-6'), 6.93 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5'), 6.35 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.09 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6); <sup>13</sup>C-NMR (150 Hz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 181.6 (C-4), 163.7 (C-7), 161.2 (C-2), 161.0 (C-9), 158.5 (C-5), 149.5 (C-4'), 145.2 (C-3'), 120.8 (C-1'), 118.3 (C-6'), 115.2 (C-5'), 113 (C-2'), 105.3 (C-3), 103.0 (C-10), 98.4 (C-6), 94.5 (C-8); <sup>13</sup>C-NMR谱中可见所有碳信号均分布于芳香区, 其中含有一个不饱和羰基信号, 5个次甲基信号和9个季碳信号, 由此推测此化合物可能是黄酮类化合物。上述数据与马美民等<sup>[3]</sup>报道的槲皮素的数据一致, 故化合物被鉴定为槲皮素。

化合物4: 淡黄色粉末(氯仿-甲醇); mp: 187.3 ~ 189.5 °C; 盐酸镁粉反应阳性, 三氯化铝反应阳性, 推测化合物为黄酮类化合物; <sup>1</sup>H-NMR (600 Hz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 7.66 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-2'), 7.62 (1H, dd, *J* = 2.1 Hz, 8.4 Hz, H-6'), 6.86 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 6.39 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.14 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6), 5.47 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 4.73 (1H, s, rha H-1); <sup>13</sup>C-NMR (150 Hz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 180.2 (C-4), 164.7 (C-7), 160.2 (C-2), 159.3 (C-9), 158.5 (C-5), 149.5 (C-4'), 145.2 (C-3'), 135.3 (C-3), 120.2 (C-1'), 116.0 (C-6'), 114.7 (C-5'), 112.2 (C-2'), 103.5 (C-10), 96.4 (C-6), 94.1 (C-8); glc: 105.2 (C-1), 76.6 (C-2), 78.5 (C-3), 71.8 (C-4), 71.6 (C-5), 66.4 (C-6); rha: 101.7 (C-1), 73.5 (C-2), 74.2 (C-3), 73.9 (C-4), 68.2 (C-5), 17.9 (C-6); 上述数据与孟泽彬<sup>[4]</sup>和王银朝等<sup>[5]</sup>报道的芸香苷的数据一致, 故化合物被鉴定为芸香苷。

化合物5: 白色针状结晶(甲醇); mp: 165.3 ~ 169.5 °C; <sup>1</sup>H-NMR (600 Hz, CDCl<sub>3</sub>-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 5.37 (1H, t, H-6), 5.27 (1H, m, H-22), 5.16 (1H, m, H-23), 3.34 (1H, m, H-3); <sup>13</sup>C-NMR (150

Hz,  $\text{CDCl}_3\text{-d}_6$ )  $\delta$ : 37.5 (C-1), 30.2 (C-2), 71.6 (C-3), 43.0 (C-4), 142.3 (C-5), 121.7 (C-6), 32.2 (C-7), 31.8 (C-8), 50.1 (C-9), 36.6 (C-10), 22.8 (C-11), 40.8 (C-12), 42.5 (C-13), 55.9 (C-14), 24.2 (C-15), 30.5 (C-16), 56.0 (C-17), 12.4 (C-18), 20.0 (C-19), 41.9 (C-20), 20.8 (C-21), 141.2 (C-22), 128.5 (C-23), 51.4 (C-24), 30.6 (C-25), 20.8 (C-26), 31.4 (C-27), 25.6 (C-28), 21.6 (C-29); TLC 展开后紫外灯下无荧光,浓硫酸/乙醇显紫红色,与豆甾醇标准品在多种溶剂体系做 TLC 对照,  $R_f$  值相同,确定化合物 5 为豆甾醇,参见张雁冰等<sup>[6-8]</sup>报道。

化合物 6:淡黄色粉末(甲醇);盐酸镁粉反应阳性,三氯化铝反应阳性,推测化合物为黄酮类化合物;<sup>1</sup>H-NMR (600 Hz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.25 (2H, d,  $J = 8.4\text{ Hz}$ , H-2', H-6'), 6.70 (1H, d,  $J = 2.4\text{ Hz}$ , H-8), 6.63 (2H, d,  $J = 8.4\text{ Hz}$ , H-3', H-5'), 6.22 (1H, d, H-6); <sup>13</sup>C-NMR (150 Hz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 115.4 (C-2), 146.2 (C-3), 178.5 (C-4), 160.4 (C-5), 101.4 (C-6), 163.4 (C-7), 113.2 (C-8), 140.3 (C-9), 112.5 (C-10), 132.0 (C-1'), 130.5 (C-2', 6'), 115.4 (C-3', 5'), 155.9 (C-4'); 与山奈酚标准品在 3 种溶剂体系做 TLC 对照,  $R_f$  值相同,确定化合物 6 为豆甾醇,参见吴秋月等<sup>[9]</sup>报道。

化合物 7:白色粉末;mp: 207.2 ~ 209.0 °C; <sup>1</sup>H-NMR (600 Hz,  $\text{CDCl}_3\text{-d}_6$ )  $\delta$ : 7.43 (1H, d,  $J = 16.2\text{ Hz}$ , H- $\beta$ ), 7.06 (1H, s, H-2'), 6.96 (1H, d,  $J = 7.8\text{ Hz}$ , H-6'), 6.74 (1H, d,  $J = 7.8\text{ Hz}$ , H-5'), 6.21 (1H, d,  $J = 16.2\text{ Hz}$ , H- $\alpha$ ), 5.16 (1H, s, H-3), 3.46 (1H, d,  $J = 7.8\text{ Hz}$ , H-5), 3.89 (1H, s, H-4), 1.79 (4H, m, H-2, 6); <sup>13</sup>C-NMR (150 Hz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$ : 176.5 (C-7), 166.3 (C-8), 148.6 (C-4'), 145.8 (C-3'), 144.6 (C- $\beta$ ), 125.4 (C-1'), 121.7 (C-6'), 115.8 (C-2'), 114.7 (C-5'), 114.5 (C- $\alpha$ ), 75.2 (C-1), 73.3 (C-4), 71.6 (C-3), 71.4 (C-5), 39.5 (C-2), 38.0 (C-6), 以上数据与陈德昌<sup>[10]</sup>报道的绿原酸一致结果,故确定化合物 7 为绿原酸。

化合物 8: <sup>1</sup>H-NMR (600 Hz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$ : 8.25 ~ 9.80 (2H, br, OH), 6.96 (2H, s, H-2, 6), 4.19 ~ 4.24 (2H, m, H-1''), 1.26 ~ 1.30 (3H, t, H-2''); <sup>13</sup>C-NMR (150 Hz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$ : 169.3 (C-1'), 152.3 (C-3, 5), 142.9 (C-4), 125.7 (C-1), 105.4 (C-2, 6), 69.5 (C-1''), 16.5 (C-2'');  $\text{FeCl}_3$  乙醇溶液显色反应呈阳性,且碳谱显示为对称

结构,由此确定化合物 8 为 4-乙氧基没食子酸。

化合物 9:黄色粉末(氯仿-甲醇);mp: 231 ~ 233 °C;盐酸-镁粉反应阳性,三氯化铝反应阳性,推测化合物为黄酮类化合物;<sup>1</sup>H-NMR (600 Hz,  $\text{DM-SO-d}_6$ )  $\delta$ : 11.94 (1H, s, 5-OH), 9.70 (1H, s, 7-OH), 7.50 (1H, dd,  $J = 8.4, 2.1\text{ Hz}$ , H-6'), 7.45 (1H, d,  $J = 2.1\text{ Hz}$ , H-2'), 6.89 (1H, d,  $J = 8.4\text{ Hz}$ , H-6'), 6.67 (1H, s, H-8), 6.60 (1H, s, H-3), 4.12, 3.84, 3.70 (9H, s, 3  $\times$  OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (150 Hz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$ : 182.1 (C-3), 163.6 (C-1), 157.5 (C-7), 157.1 (C-9), 152.5 (C-5), 149.3 (C-3'), 149.0 (C-4'), 131.8 (C-6), 122.1 (C-1'), 121.0 (C-6'), 111.7 (C-5'), 108.8 (C-2'), 106.5 (C-4), 104.6 (C-2), 95.6 (C-8), 60.6 (6-OCH<sub>3</sub>), 56.1 (3', 4'-OCH<sub>3</sub>); 上述数据与文献<sup>[11]</sup>报道的数据一致,确定化合物 8 为异泽兰黄素。

#### 4 讨论

作者对叶下珠提取物的氯仿部位进行了化学成分的系统分离,鉴定了 9 个化合物。其中,化合物 7 ~ 9 为首次从该植物中分离得到化合物(1)、(2)、(8)为植物多酚类化合物,而植物多酚多具有抗菌消炎的活性,这可能也是叶下珠具有抗菌消炎作用的原因。

#### 【参考文献】

- [1] 万振先,周国平,易杨华. 叶下珠化学成分的研究[J]. 中草药, 1995, 25 (9): 455-456.
- [2] 陈云,王国凯,武 璨,等. 红花龙胆化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(3): 362-365.
- [3] 马养民,姜少娟,史清华. 沙棘果渣中异鼠李素和槲皮素的提取与分离[J]. 西北林学院学报, 2009, 24 (5): 121-124.
- [4] 孟泽彬,国兴明,张素英. 直萃石豆兰化学成分的研究[J]. 贵州教育学院学报, 2008, 19 (6): 20-22.
- [5] 王银朝,赵宝玉,谭承建,等. 变异黄芪地上部分化学成分研究[J]. 西北农业学报, 2006, 15 (5): 14-16, 20.
- [6] 张雁冰,李 玲,刘宏民,等. 马桑化学成分研究[J]. 郑州大学学报, 2005, 31 (1): 75-77.
- [7] 潘晓辉,李 硕,李 瑜. 驼绒藜化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17 (3): 290-293.
- [8] 吴 希,夏厚林,黄立华,等. 香附化学成分研究[J]. 中药材, 2008, 31 (7): 990-992.
- [9] 吴秋月,齐 洁,李默影,等. 牦牛儿苗的化学成分研究[J]. 中医药学报, 2012, 40 (1): 76-78.
- [10] 陈德昌. 中药化学对照品工作手册[M]. 北京:中国医药科技出版社, 1999: 154.
- [11] Nakasugi T, Nakashima M, Komai K. Antimutagens in Gaiyou [J]. J Agric Food Chem, 2000, 48: 3256-3266.

【收稿日期】 2013-01-11 【修回日期】 2013-10-30

【本文编辑】 陈 静