

苦丁茶化学成分的研究

文永新 陈秀珍 金静兰 成桂仁

(广西植物研究所, 桂林)

摘要 从苦丁茶叶中分离鉴定出四种成份, 其中之一经鉴定为一新五环三萜内酯, 暂命名为苦丁茶甙元(kudinchenin); 其他三种成份分别鉴定为 α -香树脂、 β -谷甾醇和乌苏酸。

关键词 苦丁茶冬青; 苦丁茶甙元; 乌苏酸

苦丁茶系冬青科(Aquifoliaceae)一新种植物——苦丁茶冬青(*Ilex kudincha* C.J Tseng)之叶制成的茶)产于广西大新、武鸣、天峨诸县, 广东亦有分布, 因其水煎液具浓厚苦味而得名。两广民间喜用其果叶作凉茶, 传说能消暑、解毒、治痧气和腹痛等。桂林医学院药理教研组实验证明: 苦丁茶具有止痛、抑菌, 解痉、降压诸效能^[1]。苦丁茶的化学成分前人未见报道, 本文报道从其石油醚可溶部分分得的三种成分晶1(I)、晶2(II)、晶3(III)及从水可溶部分经提取、水解、分离得一新成分晶4(IV), 通过化学反应和谱学分析鉴定为五环三萜内酯, 暂命名为苦丁茶甙元(Kudinchenin)(IV), (图1)

苦丁茶的乙醇提取液, 经浓缩后的残渣, 混悬于水中, 其石油醚萃取部分(P), 得率2.45%, 经硅胶柱层, 氯仿: 醋酸乙酯/4: 1洗脱, 依次得到三个结晶, 鉴定如下:

晶1(I): 在甲醇中析出为无色片状结晶, 熔点185~186℃, 经薄层层析与红外光谱鉴定为 α -香树脂。

晶2(II): 在乙醇中析出为无色片状结晶, 熔点为135~136℃, 经薄层层析与红外光谱鉴定为 β -谷甾醇。

晶3(III): 在乙醇中析出为无色细针晶, 熔点274~276℃, 其乙酰化衍生物(V)熔点273~275℃, 红外光谱显示有羟基(3430 cm^{-1})、羧基(1690 cm^{-1})等特征吸收峰。¹H NMR显示有七个甲基峰, 一个仲醇同碳质子(δ 3.32, 1H,m), 一个烯键质子(δ 5.06, 1H,br)。¹³C NMR显示有五环三萜的三十个碳原子骨架, 其中有羧基碳(δ 178.09), 羟基碳(δ 76.89)和烯键碳(δ 124和 δ 138)诸特征峰(表1)。质谱有 m/z 456(M^+), 428(M^+ -CO), 410(M^+ -CO-H₂O), 248(M^+ -C₁₄H₂₄O, 100%) 和208(M^+ -C₁₆H₂₄O₂, 90%) 诸主要碎片离子峰, 其裂解方式具有典型的五环三萜特征^[2]。质谱和元素分析均示分子式为C₃₀H₄₈O₃, 以上理化性质与文献报道的乌苏酸一致^[3], 其谱学数据也符合乌苏酸结构。乌苏酸为苦丁茶中的主要成分之一, 得率0.89%。

上述经石油醚萃取后的水液, 再经醋酸乙酯: 乙醇/3: 1萃取, 萃取液浓缩抽干后, 此部分为(M), 得率3.2%, 与Liebermann试剂和 α -萘酚试剂均呈紫红色阳性反应, 泡沫反应也呈明显阳性, 味极苦, 为苦味甙类成分。

以上经醋酸乙酯: 乙醇/3: 1萃取过的水层, 加10% HCl调节至pH 3~4, 有白色沉淀析出, 抽滤, 烘干, 得灰白色无定形粉末, 得率6.74%此部分(w)亦呈皂甙反应, 为苦丁茶中含量最高的部分。(w)部分经强酸水解, 硅胶柱层分离, 得晶4(IV)。得率0.17%, 其水解糖经纸层析鉴定为鼠李糖和葡萄糖, 晶4即为苦丁茶甙元(IV)。

晶 4 (IV): 甲醇中析出为无色针晶, 熔点 249—250 °C。晶 4 对 Libermann 反应呈紫红色, 其薄层层析斑点, 用 1% 香荚兰素的硫酸溶液显色, 先呈兰色并逐渐转变为紫色。晶 4 的 IR 有羟基(3520 cm^{-1})、内酯(1730 cm^{-1})、共轭双键(1630 cm^{-1}) 诸特征吸收。晶 4 的 UV [293nm (4.2)] 也证实有共轭系统存在。晶 4 的 ^1H NMR 在 δ 0.66~1.56 处有六个甲基信号; δ 5.30 (2H, s) 有孤立亚甲基信号, 根据其化学位移, 并已知分子中有内酯基团存在, 此亚甲基可能有 $=\overset{1}{\text{C}}-\text{CH}_2-\text{O}-\overset{1}{\text{C}}=\text{O}$ 的部分结构。 δ 5.75 (1H, dd, $J=10$ 和 2 Hz, $\text{C}_{11}-\text{H}$) 和 6.75 (1H, dd, $J=10$ 和 2 Hz, $\text{C}_{12}-\text{H}$), 信号表明分子中有 $>\text{C}_{11}=\text{C}_{12}<$ 相邻烯键质子, 它们的化学位移和偶合常数与文献^[4]报道的大叶冬青 (*Ilex latifolia* Thumb) 的甙元 1 (VII) 的相应的质子完全一致。晶 4 的 ^{13}C NMR 谱出现相当于五环三萜骨架的 30 个碳原子信号(表 1); δ 175.64 信号示有内酯羰基碳原子。 δ 146.10、141.70、128.90 和 111.75 有两组烯键季碳信号, 其中 δ 111.75 信号在较高场, 是由于邻近有双键和连氧亚甲基产生屏蔽作用所致。 δ 131.30 和 126.00 有一组烯键叔碳信号, δ 83.56 出现连氧仲碳信号和 δ 79.00 有连羟基的叔碳信号, 这些都与 ^1H NMR 谱所示信号相呼应。晶 4 经元素分析和 MS 研究确定分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_5$, MS 中出现 m/z 450 (M^+), 390 ($\text{M}^+-\text{CH}_3\text{COOH}$), 254 ($\text{M}^+-\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{O}$), 196 ($\text{M}^+-\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{O}_2$) 等碎片离子峰, 为典型的五环三萜裂解方式^[2]。

晶 4 的乙酰化衍生物 V 经 MS 和元素分析确定其分子式为 $\text{C}_{32}\text{H}_{44}\text{O}_4$ 。V 的 IR 无羟基吸收, ^1H NMR 谱中 δ 2.06 (3H, s, $\text{C}_3-\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$) 和 δ 4.52 (1H, m, C_3-H) 信号均表明晶 4 中只有一个羟基连于 C_3 -位, 晶 4 和 V 中的 C_3-H 与 VII 及其乙酰化物的 C_3-H 的化学位移和多重峰型相同, 因此, 可以推定晶 4 的 C_3-OH 应与乌苏酸的一致, 亦为 α -构型^[6]。

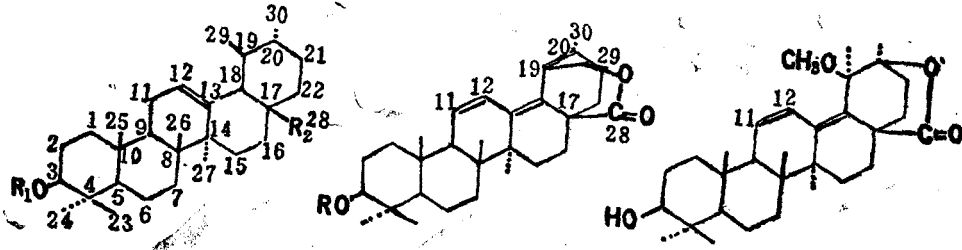
从晶 4 的 UV [293nm (4.2)] 推算, 该分子应有三个共轭双

键, 这也由 ^{13}C NMR 所证实。已知前人从大叶冬青中分到 VII (图 1), VII 有 $\text{H}-\overset{1}{\text{C}}_{11}=\overset{1}{\text{C}}_{12}-\text{H}$ 和 $>\text{C}_{13}=\text{C}_{18}<$ 共轭双键^[4]。已如前述晶 4 的 ^1H NMR 中也有与 VII 的 $\text{H}-\overset{1}{\text{C}}_{11}=\overset{1}{\text{C}}_{12}-\text{H}$ 完全相同的质子信号, 提示晶 4 亦应有此共轭双键存在。晶 4 的 ^1H NMR δ 1.56 (3H, s) 信号, 提示此一甲基应连于烯键碳上, 而前述 $=\overset{1}{\text{C}}-\text{CH}_2-\text{O}-\overset{1}{\text{C}}=\text{O}$ 部分结构中的亚甲基亦连

表 1 苦丁茶甙元 (IV) 及乌苏酸 (VII) ^{13}C NMR 的化学位移
The chemical shifts of ^{13}C NMR spectra of Kudinchagenin I (IV) and ursolic acid (VII)

碳原子编号 (Serial number of carbon atom)	δ (ppm)		碳原子编号 (Serial number of carbon atom)	δ (ppm)	
	VII	IV		VII	IV
1	38.53	38.54	16	23.83	38.54
2	27.01	27.48	17	47.09	45.41
3	76.80	79.04	18	54.96	146.10
4	39.16	37.06	19	39.15	111.75
5	52.44	55.29	20	38.31	128.91
6	18.05	18.62	21	30.24	25.65
7	32.76	31.77	22	41.66	35.79
8	39.06	42.13	23	28.27	21.99
9	46.84	54.24	24	15.22	15.56
10	36.55	39.27	25	16.03	16.97
11	23.28	131.34	26	18.04	18.42
12	124.60	126.03	27	22.87	20.47
13	138.16	141.73	28	178.17	175.64
14	42.71	42.99	29	16.98	83.56
15	27.57	25.65	30	21.05	28.30

于烯键上, 从而推定此一烯键应位于 $>C_{19}=C_{20}$ 。从生源学说分析, 我们从苦丁茶中已分离到 α -香树脂和乌苏酸, 此二者的 C_{28} 和 C_{29} 都是 α -构型^[6], 都在环的前侧, 结合部分酯键 $=\overset{1}{C}-CH_2-\overset{1}{C}=O$ 结构考虑, 如按 IV 的结构, 恰好形成稳定的六元环内酯, 从而推定晶 4 的结构为 IV。当然, 最后还应由 x -衍射证实, 此项工作正在进行中。



I: $R_1(H), R_2(CH_3)$; II: $R_1(H), R_2(COOH)$; VI: $R_1(CH_3CO), R_2(COOH)$; IV: $R(H)$; V: $R(CH_3CO)$

苦丁茶为含三萜苦味甙极为丰富的植物, 本文 M 和 W 部分中所含苦味甙的成分, 将另文报道。此外, 苦丁茶中尚含大量鞣质。

实验部分

苦丁茶1981年5月自广西壮族自治区大新县收购, 经厦门大学生物系曾沧江教授鉴定为冬青科新种——苦丁茶之叶。熔点用柳本 Yauaco 显微熔点仪测定, 温度计未经校正。UV 谱用岛津 UV-210A 型, 乙醇为溶剂, 括号内为 $\log \epsilon$ 值。IR 用 Perkin-Elmer 599-B 型, KBr 压片。 ^{13}C NMR 谱用 Ac-80 型测定, DMSO- d_6 为溶剂, W 用 WP80 型测定, 以 $CDCl_3$ 为溶剂。 1H NMR 谱用 Varian, 60 型, 溶剂同 ^{13}C NMR 谱所用。 1H 和 ^{13}C NMR 谱皆以 TMS 为内标, δ 值单位为 ppm, J 值为 Hz。质谱仪为 MAT311A。柱层析和薄层层析用青岛海洋化工厂硅胶, 柱层析用 140~160 目, 薄层层析用 250 目硅胶, 1% CMC 为粘合剂, 110℃ 活化 30 min, 展开剂: (1) 氯仿: 醋酸乙酯/4:1, (2) 石油醚: 丙酮/7:1。显色剂: 1% 香荚兰素的硫酸溶液。纸层析用 Whatman NO.1 滤纸, 展开剂: (1) 正丁醇: 吡啶: 水 (6:4:3), (2) 酚: 水 (4:1), 显色剂: 苯胺 0.5g, 邻苯二甲酸 0.8g 溶于 50ml 水饱和的正正醇。

苦丁茶的提取分离

苦丁茶叶 1750g, 用 95% 乙醇回流 (4500ml \times 3), 合并回流液, 减压蒸去乙醇, 残渣加水 2000ml, 先用石油醚萃取 (1500ml \times 5), 合并石油醚液并减压浓缩抽干, 得提取物 43g, 得率为 2.45%, 称 P 部分。

经石油醚萃取后的水层, 用醋酸乙酯: 乙醇/3:1 的混合溶剂萃取 (1500ml \times 5), 合并萃取液, 减压浓缩抽干, 得苦味甙 56 克, 得率 3.2%, 称 M 部分。

上述水层, 加 10% 盐酸调节至 pH 3~4, 有大量灰白色沉淀析出, 抽滤, 水洗至中性, 减压烘干, 得灰白色无定形粉末 118 克, 得率 6.74%, 称 W 部分。

苦丁茶 P 部分的分离

取 P 部分 11 克, 用硅胶 520 克湿法装柱, 用展开剂 (1) 按常法进行柱层析, 每流份收集 150 ml, 从 3~4 瓶得晶 1, 5~7 瓶得晶 2, 12~13 瓶得晶 3, 4.3 克。

晶 3 的纯制

粗晶 3 在薄层板上用溶剂 (1) 展开, 有难分离的斑点存在。取粗晶 3 1g, 加醋酐, 吡啶各 10ml, 在水浴上加热 1 小时, 倾入 500ml 冰水中, 放置冰箱 48 小时后过滤, 得乙酰化晶 3 1.5g。此乙酰化产物再按常法在 160g 硅胶柱上, 用展开剂 (2) 柱层, 每 150ml 收集为一瓶, 第 2—4 瓶在薄层上为单一斑点。合并 2—4 瓶, 用 95% 乙醇反复重结晶, 得针状结晶, 即为乙酰化晶 3, 重 0.45g, 取 200mg, 加 2% HCl 的甲醇溶液 20ml, 回流 1.5 小时后, 减压蒸去甲醇, 加适量水, 析出白色沉淀, 抽滤并水洗至中性, 用 95% 乙醇重结晶, 得晶 3 纯品。

晶 4 的分离

上述 W 部分 50 克, 加入 50% HCl 的 50% 乙醇溶液 2000ml 中, 水浴回流 2 小时后, 加 10% NaOH 调节至中性, 减压蒸去乙醇, 用醋酸乙酯萃取, 合并醋酸乙酯液并水洗, 减压浓缩、抽干, 得 11.2 克粗甙元, 此甙元在 700 克硅胶柱上用展开剂 (1) 按常法分离, 每瓶收集 100ml, 9~11 瓶的溶剂蒸干后, 加入甲醇, 有无色针晶析出, 合并后重 1.3g, 即晶 4, 水解液经离子交换树脂去无机离子后, 用纸层析展开剂 (1) 和 (2) 鉴定, 水解糖为葡萄糖和鼠李糖。

鉴 定

α -香树脂 (I) 晶 1 在甲醇中析出为无色片状结晶, 熔点 185~186℃, IR (cm^{-1}) 3410 (-OH), 指纹区及薄层层析 Rf 值均与已知对照品一致。

β -谷甾醇 (I) 晶 2 在乙醇中析出为无色片状结晶, 熔点 135~136℃, IR (cm^{-1}) 3410 (-OH), 指纹区及薄层层析的 Rf 值均与已知对照品一致。

乌苏酸 (II) 晶 3 在乙醇中析出为无色细针晶, 熔点 274~276℃。元素分析: $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$, 计算值 (%): C 78.89, H 10.59。实测值 (%): C 78.49, H 10.68。IR (cm^{-1}) 3430 (-OH), 1690 (-COOH), $^1\text{H NMR}$ δ 0.66 (3H, s, CH_3), 0.70 (3H, s, CH_3), 0.86 (12H, s, 4 CH_3), 0.10 (3H, s, CH_3), 3.32 (1H, m, C_3 -H), 5.06 (1H, br, C_{12} -H)。MS (m/z): 456 (M^+), 428 ($\text{M}^+ - \text{CO}$), 410 ($\text{M}^+ - \text{CO} - \text{H}_2\text{O}$), 248 ($\text{M}^+ - \text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{O}$ 100%), 208 ($\text{M}^+ - \text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_2$)。

乌苏酸的乙酰化物 (IV) 在前述晶 3 的纯制过程中, 制出 VI, VI 在甲醇中重结晶析出无色针晶。熔点: 273~275℃, 元素分析: $\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{O}_4$ 。计算值 (%): C 77.06, H 10.10。实测值 (%): C 76.78, H 10.15。IR (cm^{-1}) 1730 ($\text{CH}_3 - \text{C} = \text{O}$) 1690 (-COOH), $^1\text{H NMR}$ δ 0.66 (3H, s, CH_3), 0.82 (9H, s, 3 CH_3), 0.93 (6H, s, 2 CH_3), 1.03 (3H, s, CH_3), 2.00 (3H, s, $\text{O} = \text{C} - \text{CH}_3$), 4.50 (1H, m, C_3 -H), 5.20 (1H, br, C_{12} -H), MS (m/z): 498.3712 (M^+), 438 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3\text{COOH}$), 423 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3\text{COOH} - \text{CH}_3$), 248 ($\text{M}^+ - \text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{O} - \text{CH}_3\text{CO} -$) 100%。

苦丁茶甙元 (IV) 晶 4 用甲醇重结晶为无色针晶, 熔点: 249~250℃, 元素分析: $\text{C}_{30}\text{H}_{42}\text{O}_3$, 计算值 (%): C 78.37, H 9.42, 实测值 (%): C 78.88 H 9.56。UV: [262nm(4.20)], IR: 3520 (-OH), 1730 ($\text{O} - \text{C} = \text{O}$), 1625 ($> \text{C} = \text{C} - \text{C} = \text{C}$)。 $^1\text{H NMR}$ δ 值: 0.66 (3H, s, CH_3), 0.70 (3H, s, CH_3), 0.85 (3H, s, CH_3), 0.95 (3H, s, CH_3), 0.98 (3H, s, CH_3), 1.56 (3H, s, C_{30} - H_3), 3.20 (1H, m, C_3 -H),

5.30 (2H, S, $-C=C_{2,9}H_2-O$), 5.75 (1H, dd, $J=11, 2, C=C_{1,2}-H$), 6.75 (1H, dd, $J=11, 2, C=C_{1,1}-H$), MS (m/z): 450 (M^+), 432 (M^+-H_2O), 416 ($M^+-H_2O-CH_3-1$) 100%, 390 (M^+-CH_3COOH), 373 ($M^+-H_2O-CH_3-CO_2$), 254 ($M^+-C_{13}H_{24}O$), 196 ($M^+-C_{17}H_{28}O_2$).

乙酰苦丁茶甙元 I (VI) 200mg IV 溶于 2 ml 无水吡啶, 加入 2 ml 醋酐, 置于冰箱中过夜, 按常法处理, 用甲醇结晶, 得 160mg 针晶, 熔点: 215~216℃, 元素分析: $C_{32}H_{44}O_4$, 计算值(%): C 78.01, H 9.00, 实测值(%): C 77.85, H 9.16. UV: [293nm(4.2)]. IR: 1750 ($CH_3C-\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}=O$), 1730 ($O-\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}=O$), 1H NMR: δ 0.66 (3H, S, CH_3), 0.88 (6H, S, $2CH_3$), 0.92 (3H, S, C_3-COOH), 4.50 (1H, m, C_3-H), 5.33 (2H, S, $-C=C_{2,9}H_2$), 5.75 (1H, dd, $J=11, 2, C=C_{1,2}-H$), 6.75 (1H, dd, $J=11, 2, C=C_{1,1}-H$). MS: (m/z) 492.3273 (M^+), 449 (M^+-CH_3CO), 432 ($M^+-CH_3CO-H_2O$), 253 ($M^+-C_{13}H_{24}O$), 196 ($M^+-C_{17}H_{28}O_2$).

致谢 承中国科学院上海有机化学所协助做元素分析, 武汉物理所协助做 ^{13}C NMR, 广西中医药研究所协助做 1H NMR和MS, 本所仪器分析组协助做UV、IR和 ^{13}C NMR, 在此均致谢意。

参 考 文 献

- [1] 桂林医学院张家铨等: 苦丁茶其化学成分的药理实验初步研究. 待发表.
- [2] K. Yamaguchi, 1970: Spectral data of natural products. Volume I, 146.
- [3] 傅丰永等, 1963: 药学学报, Vol. 10, No 10, 618
- [4] Masamitsu Ochi et al, 1975: Bulletin of the chemical society of Japan, Vol. 48 (3), 937-940
- [5] 林启寿, 1977: 中草药成分化学, 553.

STUDIES ON THE CONSTITUENTS OF ILEX KUDINCHA

Wen Yongxin, Chen Xiuzhen, Jin Jinglan and Cheng Guiren
(Guangxi Institute of Botany, Guilin)

Abstract Four compounds were isolated from *Ilex kudincha* C. J. Tseng. One of them — the major aglycone of this plant, has molecular formula of $C_{30}H_{42}O_3$, m. p. 249-250°C, was a new compound and named kudinchagenin (IV). The structure of IV which was determined by means of spectral analysis (UV, IR, 1H NMR, ^{13}C NMR and MS) was proved to be a new pentacyclic triterpenoid with a lactone group. The others were identified as α -amyrin, β -sitosterol and ursolic acid.

Key words *Ilex kudincha* C.J. Tseng; kudinchagenin; ursolic acid