

仙草中表儿茶素的结构鉴定

邱挺*, 林晓翠, 王碧玉

福州大学化学化工学院, 福州 350108

摘要: 通过高效液相色谱从仙草乙醇萃取物中分离并制备出样品, 利用紫外光谱、质谱、红外光谱、核磁共振方法鉴定其为表儿茶素, 从而建立了从仙草中分离制备表儿茶素的方法。

关键词: 仙草; 表儿茶素; 结构鉴定

中图分类号: Q503 R284.1

文献标识码: A

Identification of Epicatechin from *Mesona procumbens* Hemsl

QIU Ting*, LIN Xiaocui, WANG Biyu

College of Chemistry and Chemical Engineering, Fuzhou University, Fuzhou, Fujian 350108, China

Abstract Sample was separated and prepared through HPLC from the ethanol extract of *Mesona procumbens* Hemsl and it was identified as epicatechin by ultraviolet spectrum, mass spectrum, infrared spectrum and NMR. The separation and preparation method for epicatechin from *M. procumbens* Hemsl was established.

Key words *Mesona procumbens* Hemsl; epicatechin; identification

表儿茶素(Epicatechin)属于儿茶素类, 儿茶素类物质是一种重要的酚类物质。植物中的天然抗氧化成分除了生育醇、抗坏血酸、类胡萝卜素、生物碱之外, 酚类物质是分布最广、种类及含量最多的成分。经研究表明, 儿茶素类物质具有清除自由基、抑制肿瘤、抗诱变、抗病毒、降脂助消化、护肤美容等多种生物活性^[1]。

仙草(Hsian-tsaq *Mesona procumbens* Hemsl)属于唇形科草本植物, 在我国分布广泛。对其抗氧化成分的研究分析已表明, 仙草水萃取物的抗氧化性极佳, 强于生育醇, 稍优于二丁基羟基甲苯(BHT)^[2]。洪千雅等^[3,4]的研究结果表明, 仙草提取物中的主要抗氧化组分为原儿茶酸、咖啡酸、豆甾醇、熊果酸、山奈酚、芹菜素等, 其中主要为多酚类物质。而从仙草中提取分离制备得到表儿茶素还未见文献报道。

本文通过高效液相色谱从仙草乙醇提取物中分离制备出表儿茶素, 并通过紫外光谱、质谱、红外光谱、核磁共振四个方面对其进行结构鉴定, 从而建立了从仙草中分离制备表儿茶素的方法。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

仙草: 购自建瓯, 全草 80℃干燥后经粉碎, 通过 35 目筛网, 收集于密封袋中, 保存于 0~4℃备用; 甲醇(色谱纯); 其它试剂均为分析纯。

Varian 高效液相色谱仪, 配有 C₁₈ 液相色谱柱、PS210 溶剂传输装置、ProStar330 二极管阵列检测器、液相收集器 PS704 气相色谱-质谱联用仪, GC-MS2010(日本岛津公司); Vector 22 红外光谱仪(Bruker); Avance AMX-400 核磁共振仪(Bruker); MF10B 研磨机(德国)。

1.2 样品制备

取仙草粉末 10 g 以 100 mL 乙醇在 60℃下萃取 2 h 连续萃取三次, 所得萃取液过滤后, 得仙草乙醇萃取液, 冷藏备用。萃取液先以分析型高效液相色谱寻找最佳分离条件, 再以此条件于制备型高效液相色谱进行重复收集与分离, 最终得到的样品, 在 55℃下真空干燥, 卸压后氮气保护, 备用。制备的样品(为黄色无定形粉末)采用硫氰酸铁化法^[5]测定其抗氧化性, 结果证实其具有一定的抗氧化性。

1.3 液相色谱分析条件

色谱柱为 Varian Microsorb-MV C₁₈ 150 mm × 4.6 μm, 流动相为甲醇: 水 = 15% : 85%, 柱流速 1

收稿日期: 2009-03-20 接受日期: 2009-07-10

基金项目: 福建省科技厅重点资助项目(2007N0043)

* 通讯作者 Tel 86-591-22866234; E-mail tingqi@fzu.edu.cn

mL/min, 二极管阵列检测器检测波长 254 nm。PS704 自动收集器条件如下: Type = time windows; Rack = 3 mm tubes; Pattern = standard; Fraction by time; Fraction time = 10:00; Flow delay = 0:36; Window 1 start = 1:15; end = 1:45; Window 2 start = 1:45; end = 2:05; Window 3 start = 2:05; end = 2:35; Non-peak/window = drain。

2 结构鉴定

对得到的样品通过紫外光谱、质谱、红外光谱、核磁共振四个方面进行结构鉴定。

2.1 紫外光谱分析

将干燥后的样品用甲醇溶解后,用紫外可见分光光度计进行检测,结果如图 1 所示。

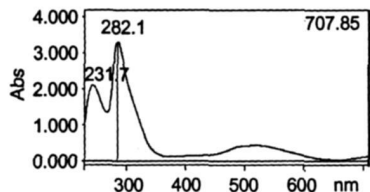


图 1 样品的紫外吸收光谱图

Fig. 1 UV spectrum of sample

由图中可知,样品的最大紫外吸收峰 $UV\lambda_{max}$ nm:282.1, 231.7, 与表儿茶素的紫外吸收光谱的最大吸收峰^[6]: $UV\lambda_{max}$ nm:278, 227 很接近。

2.2 质谱分析

采用 EI 离子源,将样品的 DMSO- d_6 溶液用直接进入样杆 (DI) 进样进行质谱分析,结果如图 2 所示。

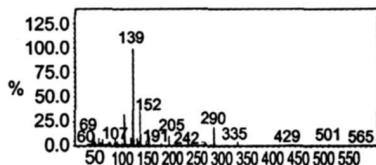
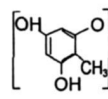


图 2 样品的质谱图

Fig. 2 Mass spectrum of sample

从图中可以看出,样品结构发生开裂生成 , $m/z = 139$ 。对总离子流图进行标准谱库匹配,显示分子量为 290,分子式为 $C_{15}H_{14}O_6$,从而得到如图 3 所示的结构。

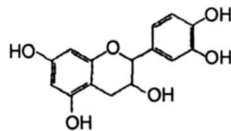


图 3 样品预测的结构图

Fig. 3 Proposed chemical structures of sample

2.3 红外光谱分析

将样品的 DMSO- d_6 溶液用涂膜法测定其红外吸收光谱,结果如图 4 所示。

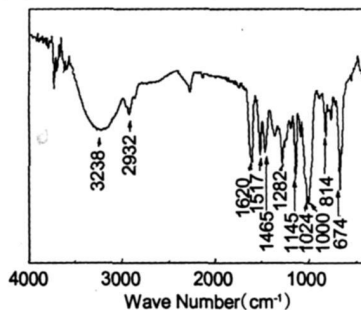


图 4 样品的红外光谱图

Fig. 4 IR spectrum of sample

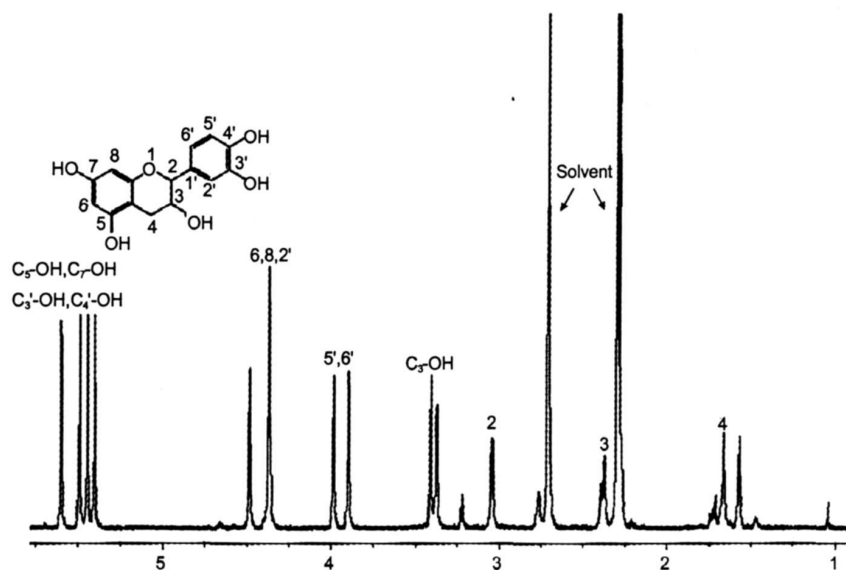
由质谱分析得,样品的分子式为 $C_{15}H_{14}O_6$,有六个不饱和度,分子中可能有苯环。

在 IR(cm^{-1})图谱中,有 3238, 2932, 1620, 1517, 1465, 1282, 1145, 1024, 1000, 814, 674 等主要吸收峰。其中,3238 cm^{-1} (s) 峰型钝,并且展宽,为-OH 吸收峰;2932 cm^{-1} (m) 为 C-H 的伸缩振动;1024, 1000 cm^{-1} (s, 分裂的) 为 C-O-C 的特征吸收峰;1465, 1517, 1620 cm^{-1} 为苯环骨架的振动吸收,证明有芳环存在,并且在 814, 674 cm^{-1} (s) 有吸收,说明样品中含有间位取代的苯基。

2.4 核磁共振分析

以 TMS 为内标物, DMSO- d_6 为溶剂,对样品进行 1H NMR 分析,结果如图 5 所示。

从 1H NMR 谱图中可以看出, δ 9.19 (1H, s, HO-Ar)、 δ 8.99 (1H, s, HO-Ar)、 δ 8.89 (1H, s, HO-Ar)、 δ 8.81 (1H, s, HO-Ar), 显示为与苯环 C 相接的 O-H 信号,分别归属于 C5-OH, C7-OH, C3'-OH 和 C4'-OH 信号。 δ 6.98 (1H, s, H-Ar), δ 6.75 (1H, s, H-Ar) 与 δ 6.92 (1H, d, H-Ar) 显示为样品的 3 个 H 信号,分别归属于 H6, H8 和 H-2' 信号。 δ 5.98 (1H, d, H-Ar) 和 δ 5.81 (1H, d, H-Ar) 显示为样品的两个邻芳氢信号,这两个氢信号分别归属于 H-5' 和 H-6' 信号。

图 5 样品的 ^1H NMR 谱图Fig. 5 ^1H NMR spectrum of sample

δ 7.6 (1H, d HO-R) 显示为与 C 相接的 O-H 信号, 归属于 C3-OH 信号。 δ 4.09 (H, d H-C-Ar) 显示为样品的 C-H 信号, 归属于 H-2 信号。 δ 2.78 (H, q H-C-O) 显示为样品的 C-H 信号, 归属于 H-3 信号。 δ 1.25 (2H, d H-C-R) 显示为样品的伯基 C-H 信号, 归属于 H-4 信号。

综合上述分析结果与表儿茶素的质谱、红外和紫外光谱等特性数据, 可以确定样品为表儿茶素 (Epicatechin), 分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$, 结构式如图 3 中预测的结构一致。

3 结论

通过高效液相色谱分离并制备得到的样品, 经结构鉴定为表儿茶素, 为仙草中含有表儿茶素的首次报道, 并对其进行抗氧化性能测定, 结果证实其具有一定的抗氧化性, 为仙草乙醇提取物的抗氧化组分之一。本文的研究结果对仙草中已分离纯化的酚类抗氧化成分进行了补充, 为今后更全面地进行仙草抗氧化性的研究打下了基础。

参考文献

- 1 Wu SL (吴松兰), Zou H (邹洪). Analysis of catechins in

leaves of *Acer truncatum* Bunge by HPLC. *J Anal Sci* (分析科学学报), 2008, 24: 173-175

- 2 Kazuki H, Shinichi K, Michio Y. Natural antioxidants and active oxygen removers in food cosmetics and pharmaceuticals. *Chem Abstr*, 1996, 124: 200690r
- 3 Hung CY, Yen GC. Antioxidant activity of phenolic compounds isolated from *Mesona procumbens* Hemsl. *J Agric Food Chem*, 2002, 50: 2993-2997.
- 4 Hung CY, Yen GC. Extraction and identification of antioxidative components of *Hsiar-taso* (*Mesona procumbens* Hemsl). *Lebensm-Wiss u-Technol* 2001, 34: 306-311.
- 5 Mitsuda H, Yasumoto K, Iwami K. Antioxidative action of indole compounds during the autoxidation of linoleic acid. *Eyo to Shokuryo* 1996, 19: 210-214
- 6 Lv HT (吕海涛), Sun HF (孙海峰), Qu BH (曲宝涵), et al. Simultaneous determination of six phenolic compounds in apple juice by high performance liquid chromatography. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 2007, 35: 1425-1429