

广东凉茶颗粒中芳香酚酸类化学成分研究*

孙彩云¹, 王志芳², 苏贤君², 雷玲芳², 宋化灿³, 张中强³, 张翠仙²

(1. 河北理工大学轻工学院, 河北唐山 063000;

2. 广州中医药大学中药学院, 广东广州 510006;

3. 中国广州分析测试中心广东省分析测试技术公共实验室, 广东广州 510070)

摘要:为进一步阐明广东凉茶颗粒的物质基础和质量标准, 继续对其颗粒剂的化学成分进行研究。从其甲醇提取物中分离得到7个化合物, 采用波谱分析和物理常数对照等方法确定其结构分别为: 绿原酸(1)、反式-对香豆酸(2)、咖啡酸(3)、对羟基苯甲酸(4)、原儿茶酸(5)、原儿茶酸甲酯(6)、没食子酸(7), 所有化合物均为芳香酚酸类成分, 1、3、5首次从广东凉茶颗粒中分离得到。并采用HPLC-MSⁿ技术对已建立的广东凉茶颗粒LC-MSⁿ指纹图谱进行色谱峰指认, 化合物1, 2, 3, 4, 5, 7均在其指纹图谱中得以确认。

关键词: 广东凉茶颗粒; 酚酸类; 化学成分; 指纹图谱确认

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0529-6579(2014)04-0088-06

Research on Phenolic Acid Constituents from Guangdong Liangcha

SUN Caiyun¹, WANG Zhifang², SU Xianjun², LEI Lingfang², SONG Huacan³,
ZHANG Zhongqiang³, ZHANG Cuixian²

(1. College of Light Industry, Heibei Polytechnic University, Tangshan 063000;

2. School of Chinese Material Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006;

3. Guangdong Provincial Public Laboratory of Analysis and Testing Technology,
China National Analytical Center of Guangzhou, Guangzhou 510070)

Abstract: In order to analyze chemical constituents and quality standard of Guangdong Liangcha, seven phenolic acid compounds were isolated. Their structures were determined to be chlorogenic acid (1), *E*-*p*-coumatic acid (2), caffeic acid (3), *p*-hydroxybenzoic acid (4), protocatechuric acid (5), protocatechuic acid methyl ester (6), gallic acid (7) according to the physical methods and spectroscopy. Compounds 1, 3 and 5 were firstly obtained from Guangdong Liangcha. Six chromatographic peaks of the fingerprint of Guangdong Liangcha were assigned by the HPLC-MSⁿ method.

Key words: Guangdong Liangcha; phenolic acid constituents; chemical constituents; assignation of fingerprint

广东凉茶颗粒(王老吉)由岗梅、山芝麻、五指柑、淡竹叶、木蝴蝶、布渣叶、火炭母、金沙藤、广金钱草、金樱根十味中药组成。其味甜、苦, 药性寒凉, 具有清热解暑, 去湿生津之功效。

用于四时感冒, 发热喉痛, 热积滞, 口干尿黄。目前除本课题组外, 鲜见关于其物质基础的报道^[1-2]。为了阐明广东凉茶颗粒的药效物质基础和完美其质量标准, 在前期研究的基础上^[2], 采用

* 收稿日期: 2014-04-14

基金项目: 广东省科技计划重点资助项目(2010A03010003); 广东省分析测试技术公共实验室开放课题资助项目(001)

作者简介: 孙彩云(1972年生), 女; 研究方向: 分析化学及中药质量分析; 通讯作者: 张翠仙; E-mail: zhangcuixian@aliyun.com

多种现代色谱分离技术: 正反相材料(硅胶、ODS、凝胶)、HPLC等继续对其甲醇提取物进行分离, 采用现代波谱和物理常数对照等方法鉴定其结构。从中分离得到7个芳香酚酸类化合物(见图1), 化合物**1**、**3**、**5**首次从广东凉茶颗粒中得到。并采用LC-MSⁿ技术对分离得到的单体化合物和已建立LC-MSⁿ指纹图谱进行指认。为进一步建立其质量标准提供参考依据。

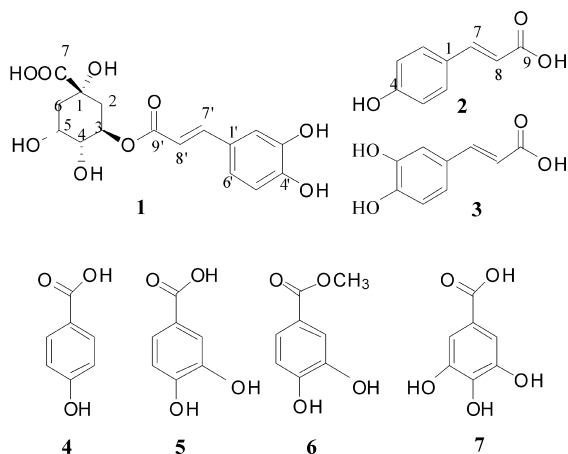


图1 从广东凉茶颗粒中分离得到的7种芳香酚酸类化合物

Fig. 1 Seven structures of compounds **1**, **2**, **3**, **4**, **5**, **6**, **7** from Guangdong Liangcha

1 结果与讨论

1.1 化合物结构鉴定

化合物**1**, 无色针状结晶(CHCl₃), θ_{mp} 210 ~ 213 °C, 溴甲酚绿和 FeCl₃ 显色反应均呈阳性, 说明其为芳香酚酸类化合物。ESI-MS m/z 353 [M - H]⁻ 结合 NMR 谱(2 - CH₂、8 - CH 和 6 - C) 可确定其分子式为 C₁₆H₁₈O₉, 不饱和度为 8。¹H NMR 谱中低场区出现五组峰信号: δ_H 7.54 (1H, d, $J = 15.5$ Hz), 6.25 (1H, d, $J = 16.0$ Hz) 为反式双键质子信号, 7.03 (1H, d, $J = 1.6$ Hz), 6.94 (1H, dd, $J = 2.0, 8.2$ Hz), 6.76 (1H, d, $J = 8.0$ Hz) 为 1, 3, 4 三取代咖啡酰基类化合物典型特征。¹³C NMR 中 δ_C 171.2 (s) 为羧基碳信号, δ_C 168.7 (s) 为酯羰基信号。同时高场信号 δ_H 5.33 (ddd, 5.5, 4.0, 3.2, 1H, H-3), 4.16 (dd, 10.0, 3.9, 8.0, 1H, H-5), 3.72 (dd, 8.0, 3.0, 1H, H-4), 2.13 ~ 2.21 (m, 4H, H-2 和 H-6) 显示结构中存在奎宁酸结构。将**1**的 NMR 数据与绿原酸对照^[3], 基本一致。确定**1**为绿原酸。经文

献检索发现化合物**1**首次从广东凉茶颗粒中分离得到。经文献查阅及 LC-MSⁿ方法与单味药化学成分对比研究发现, 其可能来源于淡竹叶。研究表明此化合物对铜绿假单胞菌具有显著的抑制作用^[4]。

化合物**2**, 白色针晶(MeOH), θ_{mp} 205 ~ 206 °C, 溴甲酚绿和 FeCl₃ 反应均呈阳性, 说明其为芳香酚酸类化合物。ESI-MS m/z 163 [M - H]⁻, 结合 NMR 谱(6 - CH 和 3 - C) 确定**2**分子式为 C₉H₈O₃, 不饱和度为 6。化合物**2**低场部分 NMR 数据与**1**咖啡酰基部分 NMR 数据基本相似, 只是芳香环为 1, 4 对位取代: 7.45 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.81 (2H, d, $J = 8.8$ Hz); 同时也存在一个反式双键信息: δ_H 7.60 (1H, d, $J = 15.6$ Hz), 6.30 (1H, d, $J = 16.0$ Hz)。将**2**的 NMR 数据与 *E-p-coumaric acid* 对照^[5-6], 基本一致。确定**2**为反式-对香豆酸。经文献检索发现**2**首次从广东凉茶颗粒中分离得到。经文献查阅及 LC-MSⁿ方法与单味药化学成分对比研究发现, 其可能来源于布渣叶和淡竹叶。

化合物**3**: 淡黄色结晶(MeOH), θ_{mp} 188 ~ 190 °C, 溴甲酚绿和 FeCl₃ 显色反应均呈阳性。NMR 数据结合 ESI-MS m/z 179 [M - H]⁻ 确定其分子式 C₉H₈O₄, 不饱和度 6。将**3**的 NMR 与**2**对照, 发现**3**的¹H NMR 中 δ_H 7.02 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 6.92 (1H, dd, $J = 2.0, 8.5$ Hz), 6.76 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 提示芳香环为 1, 3, 4 三取代。¹³C NMR 中 C-3 的化学位移值明显向低场移动 δ 32.6 [**3**: δ_C 149.5 (C-3, s); **2**: δ_C 116.9 (C-3, d)], 说明 C-3 有 -OH 取代。将**3**的 NMR 数据与咖啡酸对照^[7], 基本一致。故确定**3**为咖啡酸。经文献查阅及 LC-MSⁿ方法与单味药化学成分对比研究发现, 其可能来源于火炭母。研究表明其对 CUMS 大鼠抑郁行为有一定的改善作用, 能直接抑制破骨细胞的形成及分化, 而且可显著抑制组织蛋白酶 K 的表达^[8]。

化合物**4**: 无色针晶, θ_{mp} 214 ~ 216 °C, 溴甲酚绿反应阳性, 表明结构中存在羧基; FeCl₃ 显色反应阳性, 表明其含有酚羟基。ESI-MS m/z 137 [M - H]⁻, 结合 NMR 谱(4 - CH 和 3 - C) 确定**4**分子式为 C₇H₆O₃, 不饱和度为 5。¹H NMR 谱中低场区出现两组峰信号, 分别为 δ_H 7.88 (2H, d, $J = 8.8$ Hz) 和 6.82 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 提示**4**为 1, 4 对位芳香类化合物。¹³C NMR 中 δ_C 170.2 (s) 为羧基碳信号, δ_C 163.4 (s)、133.1 (d)、122.8 (s)、116.1 (d) 也证明了**4**为 1, 4

二取代芳香类化合物。将 **4** 的 NMR 数据与对羟基苯甲酸的对照^[9], 基本一致。故鉴定 **4** 为对羟基苯甲酸。经文献查阅及 LC-MSⁿ 方法与单味药化学成分对比研究发现, 其可能来源于布渣叶。

化合物 **5**: 无色针状结晶 (MeOH), θ_{mp} 199.0 ~ 201.0 °C, 溴甲酚绿反应阳性, FeCl₃ 显色反应阳性, 二氯化锶反应阳性。分子式 C₇H₆O₄, ESI-MS m/z 153 [M - H]⁻。将 **5** 的 NMR 数据与化合物 **4** 对照, 发现 **5** 中¹H NMR 的 δ_H 7.44 (1H, dd, $J = 2.0, 8.4$ Hz), 7.42 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 6.81 (1H, d, $J = 8.6$ Hz) 为芳香区存在的 ABX 偶合系统的质子信息,¹³C NMR 中 C - 3 的化学位移值明显向低场移动 δ 30 [**5**: δ_C 146.1 (C - 3, s); **4**: δ_C 116.1 (C - 3, d)], 说明 C - 3 被 -OH 取代。将 **5** 的 NMR 数据与原儿茶酸对照^[10-11], 基本一致。故确定 **5** 为原儿茶酸。经文献查阅及 LC-MSⁿ 方法与单味药化学成分对比研究发现, 其可能来源于火炭母、布渣叶和岗梅。研究表明此化合物能够有效地促进神经干/祖细胞分化为神经元的比例并提高细胞分化显型的生存力^[12]。

化合物 **6**: 无色片状结晶 (MeOH-H₂O), θ_{mp} 134 ~ 136 °C, 溴甲酚绿反应阳性, FeCl₃ 显色反应阳性。分子式 C₈H₈O₄, ESI-MS m/z 167 [M - H]⁻。将 **6** 的 NMR 数据与 **5** 对照, 二者十分相似, 只是 **6** 的 NMR 中明显增加了一个甲氧基信息: δ_H 3.81 (1H, s), δ_C 56.5 (q), 羰基的¹³C NMR 信息明显向高场移动 ($\delta_C = 5$, δ_C 168.2, s)。将 **6** 的 NMR 数据与原儿茶酸甲酯对照^[13], 基本一致。确

定 **6** 为原儿茶酸甲酯。经文献检索, 发现 **6** 首次从广东凉茶颗粒中分离得到, 并采用 LC-MSⁿ 方法与单味药化学成分对比研究表明其可能来源于岗梅。

化合物 **7**: 无色针状结晶 (MeOH), θ_{mp} 235 ~ 237 °C, 溴甲酚绿反应阳性, FeCl₃ 显色反应阳性。结合 ESI-MS m/z 169 [M - H]⁻ 和 NMR 信息确定其分子式 C₇H₆O₅, 不饱和度 4。将 **7** 的 NMR 数据与 **4** 对照, 发现¹H NMR 中仅有一个信号峰且为单峰: δ_H 7.06 (s, 2H), 提示该化合物可能为对称的 1, 3, 4, 5-四取代芳香化合物。将 **7** 的 NMR 数据与没食子酸对照^[14-15], 基本一致。故确定 **7** 为没食子酸。进查阅文献和 LC-MSⁿ 方法与单味药化学成分对比研究发现, 其可能来源于金樱根和火炭母。研究表明此化合物具有消除自由基、抗氧化、抑菌等作用^[16]。

1.2 指纹图谱色质谱峰指认

到目前为止, 美国国家食品药品监督管理局 (FDA)、英国草药典、德国药用植物学会、印度草药典和加拿大药用及芳香植物学会等机构均将指纹图谱作为质量控制标准的内容之一。HPLC-MSⁿ 指纹图谱是评价中药和中药制剂整体质量的有效手段。根据检测化合物的保留时间和质谱信息, 将分离得到芳香酚酸类化合物 **1**, **2**, **3**, **4**, **5**, **7** 与已建立的广东凉茶颗粒 HPLC-MSⁿ 指纹图谱^[17] 进行对照分析 (见图 2, 共已建立 98 个主要色谱峰)。结果表明 (见表 1), 只有 6 个化合物 (化合物 **1**, **2**, **3**, **4**, **5**, **7**) 与已建立 HPLC-MSⁿ 指纹图谱的色谱峰得以确定。

表 1 化合物 **1**, **2**, **3**, **4**, **5** 和 **7** 与 LC-MSⁿ 指纹图谱对照主要信息表^[17]

Table 1 Comparament information of compounds **1**, **2**, **3**, **4**, **5** and **7** with the major finger-prints of Guangdong Liangcha by HPLC-ESI-TOF/IT-MS and ESI-TOF-MS in negative ion mode

HPLC 峰 Com.	t_R /min	分子式	M_r	Experimental mass of deprotonated molecule by ESI-TOF-MS (m/z)/error	Negative ESI-TOF- MS (m/z) parention/ fragmental ions	Identification
11	8.39	C ₇ H ₆ O ₅	170.021 5	169.014 0 [M - H] ⁻ /-1.46	169/125	Gallic acid 没食子酸
Com. 7	8.39	C ₇ H ₆ O ₅	170.021 5	169.014 0 [M - H] ⁻ /-1.45	169/125	
21	15.42	C ₇ H ₆ O ₄	154.026 6	153.195 8 [M - H] ⁻ /-1.62	153/109	Protocatechuic acid 原儿茶酸
Com. 5	15.41	C ₇ H ₆ O ₄	154.026 6	153.195 8 [M - H] ⁻ /-1.61	153/109	
30	20.84	C ₇ H ₆ O ₃	138.031 7	137.024 2 [M - H] ⁻ /-1.59	137/93	4-hydroxybenzoic acid 对羟基苯甲酸
Com. 4	20.85	C ₇ H ₆ O ₃	138.031 7	137.024 2 [M - H] ⁻ /-1.57	137/93	
36	25.35	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354.095 1	353.088 2 [M - H] ⁻ /-1.12	353/191, 179, 135	3-O-caffeoylquinic acid 绿原酸
Com. 1	25.36	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354.095 1	353.088 2 [M - H] ⁻ /-1.13	353/191, 179, 135	
37	26.11	C ₉ H ₈ O ₄	180.042 3	179.034 7 [M - H] ⁻ /-1.58	179/135	caffeic acid 咖啡酸
Com. 3	26.10	C ₉ H ₈ O ₄	180.042 3	179.034 7 [M - H] ⁻ /-1.56	179/135	
45	31.71	C ₉ H ₈ O ₃	163.047 3	163.039 9 [M - H] ⁻ /-0.90	163/119	<i>p</i> -coumaric acid 反式-对香豆酸
Com. 2	31.71	C ₉ H ₈ O ₃	163.047 3	163.039 9 [M - H] ⁻ /-0.92	163/119	

注“com.”代表“化合物”

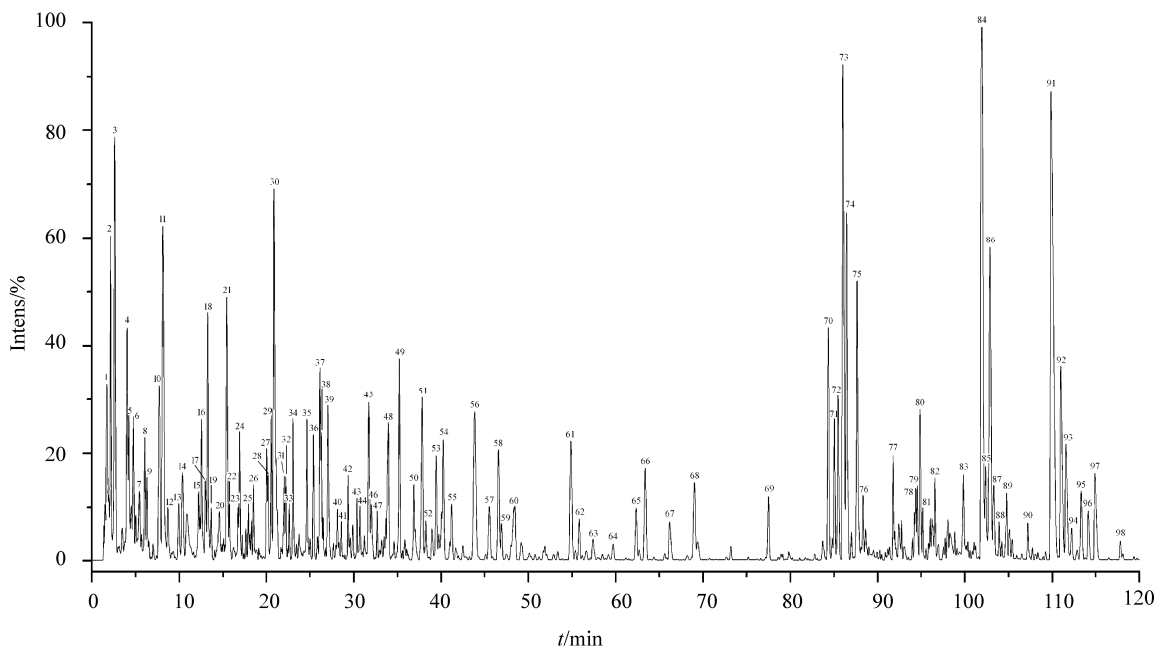


图 2 由负离子 ESI-TOF-MS 基峰离子流图获得的广东凉茶颗粒高效液相色谱图^[17]

Fig. 2 HPLC chromatogram of *Guangdong Liangcha* obtained by BPC of negative-ion ESI-TOF-MS^[17]

2 实验部分

2.1 材料与仪器

北京泰克光学仪器厂 X-6 型熔点仪 (熔点未校正); 旋光由德国 POLARTRONIC H H W5 polarimeter (SCHMIDT + HAENSCH, Germany) 测定; NMR 数据由瑞士 Bruker 公司 AVANCE AV 400 和 500 兆超导核磁共振仪测试; 质谱由美国 Finnigan 公司 LCQDECAXP 高效液相色谱-质谱联用仪测试完成; 1200 HPLC 高效液相色谱仪, 配备在线脱气机、二元梯度泵、自动进样器和柱温箱 (美国 Agilent 公司); Agilent Poroshell 120 SB-C₁₈ 快速分离型高效液相色谱柱 (150 mm × 2.1 mm, 2.7 μm, 美国 Agilent 公司); 6210 TOF 质谱仪配备 ESI (美国 Agilent 公司); 旋转蒸发器 (RE2010, 巩义市予华仪器有限责任公司); 电子分析天平 (AUY120, 广州湘仪机电设备有限公司); 凝胶为 Sephadex LH-20 (日本 YMC); 柱层析硅胶 (200 ~ 300 目) 为青岛海洋化工有限公司生产。实验用甲醇和乙腈为色谱纯 (美国 Sigma 公司), 甲酸为分析纯 (广州化学试剂厂), 实验用水为超纯水, 由超纯水设备制备 (美国 Milipore 公司), 其余的溶剂: 石油醚、乙酸乙酯、甲醇 (分离用)、氯仿等试剂均为广州化学试剂厂产品 (分析纯)。

广东凉茶颗粒 (广州王老吉药业股份有限公司 批号: 1002037)。

2.2 提取与分离

广东凉茶颗粒 (10 kg), 经甲醇渗漉提取, 减压回收甲醇, 得深黄褐色浸膏 (1.18 kg)。浸膏用水捏溶至 5 回路转 L, 依次用石油醚 (PE)、乙酸乙酯 (EtOAc)、正丁醇 (*n*-BuOH) 萃取, 萃取液减压浓缩得 PE 相 (5 g)、EtOAc 相 (51.5 g)、*n*-BuOH 相 (188.0 g) 和 H₂O 相 (500 mL)。

乙酸乙酯部位 (51.5 g) 进行硅胶 (200 ~ 300 目) 柱层析。以极性逐增加的氯仿-甲醇溶剂体系 ($V_{PE}:V_{EtOAc} = 10:1, 9:1, 7:3, 6:4, 1:1, 4:6, 2:8, 0:100$) 洗脱。TLC 跟踪合并得到 8 个流分 (Fr-1 至 Fr-8)。流分 Fr-1 (4.0 g) 经硅胶 (200 ~ 300 目) 柱层析 ($V_{CHCl_3}:V_{MeOH} = 12:1, 5:2$), 其中 Fr1-1 (1.5 g) 凝胶柱层析 ($V_{CHCl_3}:V_{MeOH} = 1:1$) 依次得到化合物 **3** (15 mg)、**6** (89 mg)、**4** (50 mg); 流分 Fr-1-2 (100 mg) 硅胶柱层析 ($V_{CHCl_3}:V_{MeOH} = 32:1$) 及重结晶得 **2** (4.6 mg); 流分 Fr-3 经硅胶 (200 ~ 300 目) 柱层析 ($V_{CHCl_3}:V_{MeOH} = 7:1$) 得 Fr3-3 (600 mg); Fr3-3 经凝胶柱层析 ($V_{CHCl_3}:V_{MeOH} = 1:1$) 依次得 **1** (18 mg)、**5** (47.5 mg)、**4** (39.3 mg)、**2** (2.6 mg)。Fr4 (1.5 g) 重结晶后得 **4** (794.2 mg)。

正丁醇部位 (188 g) 进行硅胶 (200 ~ 300 目) 柱层析。以极性逐增加的氯仿-甲醇溶剂体系 ($V_{CHCl_3}:V_{MeOH} = 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5,$

4:6, 3:7, 0:1) 洗脱。TLC 跟踪, 得到 6 个流分 (LCDC-1 至 LCDC-6)。流分 LCDC-1 (1.5 g) 经硅胶 (200 ~ 300 目) 柱层析 ($V_{\text{CHCl}_3}:V_{\text{MeOH}}=3:1$), TLC 追踪合并得到 LCDC-1-2 (1.0 g)。LCDC-1-2 经凝胶柱层析 ($V_{\text{CHCl}_3}:V_{\text{MeOH}}=1:1$) 得到 **7** (794.2 mg); 流分 LCDC-2 (1.5 g) 经硅胶 (200 ~ 300 目) 柱层析 ($V_{\text{CHCl}_3}:V_{\text{MeOH}}=6:1$), TLC 追踪得到 LCDC-2-2 (200 mg), LCDC-2-2 经制备型 HPLC 分离 ($V_{\text{MeOH}}:V_{\text{H}_2\text{O}}=1:1$) 得到 **2** (79 mg)。

2.3 HPLC-MSⁿ 指纹图谱确认

2.3.1 对照品溶液的制备 分别精密称取分离纯化所得的绿原酸、反式-对香豆酸、咖啡酸、对羟基苯甲酸、原儿茶酸、原儿茶酸甲酯、没食子酸各 5.0 mg 置于 50 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解, 定容, 作为对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液的制备 取广东凉茶颗粒 10 g (广州王老吉药业股份有限公司, 批号为 1002037), 置锥形瓶中, 100 mL 水浸泡过夜, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后作为供试品溶液。

2.3.3 样品分析 采用 1200 HPLC 高效液相色谱仪配备 6210 TOF 质谱仪分析对照品和供试品的质谱信息, 并确定其色谱峰代表的化合物信息。检测条件如下, 色谱柱: Agilent Poroshell 120 SB-C₁₈ (150 mm × 2.1 mm, 2.7 μm); 流动相 A 为 φ = 0.5% 甲酸, B 为乙腈, 进行梯度洗脱: 0 ~ 5 min, 0% B; 5 ~ 25 min, φ = 0 ~ 12% B; 25 ~ 60 min, φ = 12% ~ 20% B; 60 ~ 90 min, φ = 20% ~ 40% B; 90 ~ 110 min, φ = 40% ~ 60% B; 110 ~ 120 min, φ = 60% ~ 95% B, 后运行 10 min, 0 B。流速: 0.5 mL/min; 进样量: 1.0 μL, 柱温: 25 °C。质谱仪条件, 干燥气体温度: 350 °C, 流速: 10 L · min⁻¹, 喷雾气压: 50 psi, 毛细管电压: 5 000 V, 碰撞电压: 100 V, 挡热电压: 65 V, 八极射频电压: 250 V。

2.4 物理常数及波谱数据

化合物 **1**: 无色针状结晶 (CHCl₃), C₁₆H₁₈O₉, θ_{mp} 210 ~ 213 °C, ESI-MS m/z 353 [M - H]⁻; ¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ_{H} : 7.54 (1H, d, $J=15.5$ Hz, H-7'), 7.03 (1H, d, $J=1.6$ Hz, H-2'), 6.94 (1H, dd, $J=8.0, 1.6$ Hz, H-6'), 6.76 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-5'), 6.25 (1H, d, $J=16.0$ Hz, H-8'), 5.33 (ddd, 5.5, 4.0, 3.2, 1H, H-3), 4.16 (dd, 10.0, 3.9, 8.0, 1H, H-5),

3.72 (dd, 8.0, 3.0, 1H, H-4), 2.13 (m, 2H, H-2 或 H-6), 2.21 (m, 2H, H-2 或 H-6); ¹³C NMR (125 MHz, D₂O) δ_{C} : 171.2 (C-7, COOH, s), 168.7 (C-9', s), 149.6 (C-4', s), 147.1 (C-3', s), 146.8 (C-7', d), 127.8 (C-1', s), 123.0 (C-6', d), 116.5 (C-2', d), 115.3 (C-8', d), 115.2 (C-5', d), 76.2 (C-1, s), 73.5 (C-3, d), 72.0 (C-4, d), 71.4 (C-5, d), 38.8 (C-2, t), 38.2 (C-6, t)。

化合物 **2**: 白色针晶 (MeOH), C₉H₈O₃, θ_{mp} 205 ~ 206 °C, ESI-MS m/z 163 [M - H]⁻; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ_{H} : 7.60 (1H, d, $J=15.6$ Hz, H-7), 7.45 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-2, 6), 6.81 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-3, 5), 6.30 (1H, d, $J=16.0$ Hz, H-8); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ_{C} : 171.1 (C-9, s), 161.3 (C-4, s), 146.7 (C-7, d), 131.2 (C-2, 6, d), 127.3 (C-1, s), 116.9 (C-3, 5, d), 115.7 (C-8, d)。

化合物 **3**: 淡黄色结晶 (MeOH), C₉H₈O₄, θ_{mp} 188 ~ 190 °C, ESI-MS m/z 179 [M - H]⁻; ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ_{H} : 7.52 (1H, d, $J=16.0$ Hz, H-8), 7.02 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2), 6.92 (1H, dd, $J=2.0, 8.5$ Hz, H-6), 6.76 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-5), 6.20 (1H, d, $J=16.0$ Hz, H-7); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ_{C} : 171.1 (C-9, s), 149.5 (C-3, s), 147.1 (C-4, s), 146.8 (C-7, d), 127.8 (C-1, s), 123.0 (C-8, d), 116.5 (C-6, d), 115.5 (C-5, d), 15.1 (C-2, d)。

化合物 **4**: 无色针晶 (MeOH), C₇H₆O₃, θ_{mp} 214 ~ 216 °C, ESI-MS m/z 137 [M - H]⁻; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ_{H} : 7.88 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-2, 6), 6.82 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-3, 5); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ_{C} : 170.2 (C-7, s), 163.4 (C-4, s), 133.1 (C-2, 6, d), 122.8 (C-1, s), 116.1 (C-3, 5, d)。

化合物 **5**: 无色针状结晶 (MeOH), C₇H₆O₄, θ_{mp} 199.0 ~ 201.0 °C, ESI-MS m/z 153 [M - H]⁻; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ_{H} : 7.44 (1H, dd, $J=2.0, 8.4$ Hz, H-6), 7.42 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2), 6.81 (1H, d, $J=8.6$ Hz, H-5); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ_{C} : 170.4 (C-7, s), 151.6 (C-4, s), 146.1 (C-3, s), 124.0 (C-1, s), 123.2 (C-6, s), 117.8 (C-5, d), 115.9

(C-2, d)。

化合物 6: 无色片状结晶 (MeOH-H₂O), C₈H₈O₄, θ_{mp} 134 ~ 136 °C, ESI-MS m/z 167 [M - H]⁻; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ_H : 7.56 (1H, br. s, H-2), 7.54 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-6), 6.84 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-5), 3.81 (3H, s, -OCH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ_C : 168.2 (C-7, s), 152.8 (C-4, s), 148.8 (C-3, s), 125.4 (C-6, s), 123.3 (C-1, s), 115.9 (C-2, d), 114.0 (C-5, d), 56.5 (C-8, q)。

化合物 7: 无色针状结晶 (MeOH), C₇H₆O₅, θ_{mp} 235 ~ 237 °C, ESI-MS m/z 169 [M - H]⁻; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ_H : 7.06 (2H, s, H-2, 6); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ_C : 170.5 (C-7, s), 146.5 (C-3, 5, s), 139.7 (C-4, s), 122.1 (C-1, s), 110.5 (C-2, d)。

致谢: 感谢 11 级林秋纯、邓迪和 10 级杨敏、叶书豪和陈婉文五位同学在化合物分离过程中的实验工作。感谢中山大学分析测试中心姚俊华、关山越老师对化合物结构测试工作的支持。

参考文献:

[1] 何蓉蓉, 姚新生, 栗源博. 广东凉茶的“泻火”作用与物质基础研究[J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2009, 11(6): 834 - 839.

[2] 王志芳, 符崖, 向俊, 等. 广东凉茶颗粒苷类化学成分研究[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2013, 52(2): 79 - 83.

[3] 钟浩, 薛晓霞, 姚庆强, 等. 半枝莲化学成分的研究[J]. 中草药, 2008, 39(11): 21 - 23.

[4] 林小静, 王岱杰, 耿岩玲, 等. 金银花主要成分对铜绿假单胞菌多耐药菌株的抑制作用研究[J]. 食品与药品, 2013, 15(1): 12 - 15.

[5] 宝丽, 姚新生, 何蓉蓉, 等. 广东凉茶颗粒对应激小鼠生殖器官过氧化状态的改善作用[J]. 中药新药与临床药理, 2008, 19(4): 253 - 256.

[6] 杨丽娟, 羊晓东, 李良. 藏药云南兔耳草的化学成分研究[J]. 中药材, 2005, 28(9): 767 - 768.

[7] 陆颖, 段书涛, 潘家祜, 等. 中药大蓟的化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2009, 21: 563 - 565, 615.

[8] 唐全勇, 贾志宇, 赵云转, 等. 咖啡酸对破骨细胞形成及组织蛋白酶 K 基因表达的抑制[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(46): 8561 - 8565.

[9] 黄婷, 吴霞, 王英, 等. 地胆草化学成分的研究[J]. 暨南大学学报: 自然科学版, 2009, 30(5): 553 - 555.

[10] 赵军, 杨伟俊, 任远, 等. 刺山柑化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24: 52 - 54.

[11] 魏金霞, 李丹毅, 华会明, 等. 金莲花化学成分的分选与鉴定(II)[J]. 沈阳药科大学学报, 2012, 29(1): 12 - 15.

[12] 关水, 李海华, 葛丹, 等. 原儿茶酸调节神经干/祖细胞分化的作用研究[J]. 中国药理学通报, 2012, 28(9): 1218 - 1223.

[13] 郑丹, 张晓琦, 王英, 等. 桂艾纳香地上部分的化学成分[J]. 中国天然药物, 2007, 5(6): 421 - 424.

[14] 王晓梅, 张倩, 热娜·卡斯木, 等. 锁阳全草化学成分的研究[J]. 中草药, 2011, 42(3): 458 - 460.

[15] 张雷红, 张晓琦, 江永南, 等. 宽叶大戟全草化学成分研究[J]. 中药材, 2008, 31(12): 1820 - 1822.

[16] 陈碧琼, 聂咏飞, 涂华. 中药青果的化学成分及药理作用研究进展[J]. 广州化工, 2012, 40(21): 16 - 17.

[17] DENG J W, FAN C L, JIANG Z G, et al. Quality assessment and origin tracing of Guangdong Liangcha granules using direct mass spectrometry fingerprinting [J]. Analytical Methods, 2012, 4: 3638 - 3645.

(上接第 87 页)

[10] 丁建彤, 陈波, 蔡跃波, 等. 温度历程对早龄期混凝土抗裂性的影响[J]. 江苏大学学报: 自然科学版, 2011, 32(2): 236 - 240.

[11] 陈文瑜, 黄小清, 汤立群. 混凝土连续刚构箱梁桥的温度场分析[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2008, 47(S2): 114 - 116.

[12] SAUL A. Principles underlying the steam curing of concrete at atmospheric pressure [J]. Magazine of Concrete Research, 1951, 2(6): 127 - 140.

[13] PLOWMAN J. Maturity and the strength of concrete

[J]. Magazine of Concrete Research, 1956, 8(22): 13 - 22.

[14] HANSEN P F, PEDERSEN J. Maturity computer for controlled curing and hardening of concrete strength [J]. Nordic Concrete Federation, 1977, 1(19): 21 - 25.

[15] BERNHARDT C J. Hardening of concrete at different temperatures [C] // RILEM Symposium on Winter Concreting, Copenhagen, Danish, Institute for Building Research, Session B-II, 1956: 10.