

夹竹桃叶化学成分的研究

郝福玲¹, 方 访², 凌铁军², 胡丰林³, 孙启祥⁴, 张 倩⁴, 汪小钢², 方从兵^{1,2*}

- (1. 安徽农业大学园艺学院, 合肥 230036; 2. 安徽农业大学茶叶生物化学与生物技术教育部重点实验室, 合肥 230036; 3. 安徽省微生物防治重点实验室, 合肥 230036; 4. 中国林业科学研究院林业研究所国家林业局林木培育重点实验室, 北京 100091)

摘 要: 夹竹桃是一种广泛分布于热带和亚热带地区的观赏植物, 含有多种生物活性成分以及毒理和药理功能。采用气-质联用和液-质联用技术对夹竹桃鲜叶的化学成分进行了分析, 应用峰面积归一法计算各组分的相对含量, 鉴定出了 66 种挥发性化学成分, 其主要成分有植醇 (10.02%)、棕榈酸 (5.99%)、角鲨烯 (2.90%) 等; 同时鉴定得到 48 种非挥发性化学成分。采用硅胶柱和聚酰胺柱层析分离技术, 对夹竹桃甲醇提取物进行了分离纯化, 分离鉴定得到 3 个化合物, 核磁共振波谱分析显示分别为槲皮素-3-O-洋槐苷、芦丁和夹竹桃苷, 其中, 槲皮素-3-O-洋槐苷在该植物中首次被分离到。本试验结果为夹竹桃植物资源的深入开发提供了实验依据。

关键词: 夹竹桃; 化学成分; 结构鉴定

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2013)05-0795-07

Study on chemical constituents of *Nerium indicum* Mill

HAO Fu-ling¹, FANG Fang², LING Tie-jun², HU Feng-lin³, SUN Qi-xiang⁴,
ZHANG Qian⁴, WANG Xiao-gang², FANG Cong-bing^{1,2}

- (1. School of Horticulture, Anhui Agricultural University, Hefei 230036;
2. Key Laboratory of Tea Biochemistry & Biotechnology, Ministry of Education, Anhui Agricultural University, Hefei 230036;
3. Anhui Provincial Key Laboratory of Microbial Control, Hefei 230036;
4. Key Laboratory of Forest Cultivation, State Forestry Administration, Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091)

Abstract: *Nerium indicum* is an ornamental plant that is widely distributed in tropical and subtropical regions, and it has many kinds of bioactive components which are closely related to pharmacological and toxicological effects. In this paper, the chemical constituents in the leaves of *N. indicum* were analyzed by GC-MS and LC-MS, respectively. The relative content of each component was calculated by peak area normalization method. Sixty-six volatile constituents were identified from the leaves of *N. indicum*. The main constituents were phytol (10.02%), *n*-hexadecanoic acid (5.99%), and squalene (2.90%). Meanwhile, forty-eight compounds were identified from the polar phase extract of *N. indicum* leaves. Moreover, silica gel column and polyamide column chromatography were used, and three compounds were separated and purified from the methanol extract of *N. indicum*. With the aid of nuclear magnetic resonance technology, the three chemicals were identified as quercetin 3-*O*-robinobioside (1), rutin (2) and oleandrin (3), respectively, in which quercetin 3-*O*-robinobioside was isolated from *N. indicum* for the first time. The results are of great significance for the further utilization of the *N. indicum* resources.

Key words: *Nerium indicum*; chemical constituents; structural identification

夹竹桃 (*Nerium indicum* Mill) 是一种广泛分布于热带和亚热带地区的观赏植物, 在我国各地区均有栽植^[1]。夹竹桃的叶、皮、根、花中含有多种生物活性成分, 具有强心、利尿、抗癌、镇静、镇痛、

抗菌、消炎、化感等功能^[2], 这些作用与夹竹桃中所含化学成分密切相关。

已有报道对夹竹桃化学成分的分析方法主要包括薄层色谱法 (thin layer chromatography, TLC)、

收稿日期: 2013-08-05

基金项目: 国家“十二五”科技支撑项目 (2011BAD38B07) 资助。

共同第一作者简介: 郝福玲, 女, 讲师。方 访, 女, 硕士研究生。

* 通信作者: 方从兵, 男, 博士, 教授, 博士生导师。E-mail: fcb_ah@ahau.edu.cn

高效液相色谱法 (high performance liquid chromatography, HPLC)、气-质联用法 (GC-MS) 和液-质联用法 (LC-MS) 等。Ali 等采用 GC-MS 技术对夹竹桃花的精油成分进行分析, 共检测出 64 种化合物^[3]。Derwich 等利用水蒸馏法提取夹竹桃花的精油, 并采用 GC-MS 和 GC-FID 技术检测出精油中的 34 个化合物^[4]。Culotta 等采用 GC-MS 测定多环烃的含量, 用于调查空气污染与夹竹桃叶中多环烃的关系^[5]。Zibbu 等对夹竹桃甲醇提取物进行 GC-MS 分析, 鉴定了 16 个化合物^[6]。同时, 国内外研究者主要采用 LC-MS 技术分析鉴定夹竹桃中的夹竹桃苷以及相关化合物^[7]。

为进一步对夹竹桃的化学成分进行研究, 本试验综合采用 GC-MS 技术和 LC-MS 技术分别对夹竹桃叶的挥发性成分和非挥发性成分进行分析; 同时, 利用硅胶柱和聚酰胺柱层析技术, 以及结合核磁共振 (NMR) 技术, 对夹竹桃叶甲醇提取物中的化学成分进行分离纯化和结构鉴定, 以期为深入开发夹竹桃资源提供实验依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

供试样品采自合肥市苗圃, 经安徽农业大学林学与园林学院黄成林教授鉴定为夹竹桃 (*Nerium indicum* Mill) 的叶片。用于色质联用分析的鲜叶样品储存于 -80°C 冰箱; 用于柱层析分析的叶片样品经清水洗净, 烘干并粉碎后备用。

1.2 仪 器 与 试 剂

岛津 QP2010S 气相色谱-质谱联用仪 (日本 SHIMADZU 公司), 毛细管柱 (0.25 mm \times 30 m \times 0.25 μm) 购于美国 J & W Scientific 公司, NIST 2002 质谱数据库; Agilent 6210 液质联用分析仪 (美国安捷伦公司); AV 400 型核磁共振仪 (美国 BRUKER 公司); R-201 型旋转蒸发器 (上海申胜生物技术有限公司); DC-12 氮吹仪 (上海安谱科学仪器有限公司)。

薄层色谱硅胶板、柱层析硅胶 (200-300 目) 为青岛海洋化工厂产品; 柱层析用聚酰胺 (80-120 目) 为上海国药集团产品; 核磁共振测试用氘代 DMSO 和氘代甲醇均购于美国 CIL 公司; HPLC 测试用乙腈和甲醇为色谱纯 (美国 TEDIA 公司); 水为去离子双重蒸馏 0.45 μm 膜过滤的超纯水; 环己烷、二氯甲烷、石油醚等有机试剂均为分析纯 (上海国药集团)。

1.3 方 法

1.3.1 GC-MS 分析方法 (1) 样品制备。准确称取

夹竹桃鲜叶 2 g, 加入液氮充分研磨, 将研磨后的粉末转移到具塞广口玻璃瓶中, 先后加入环己烷 40、30 和 30 mL, 在室温条件下用磁力搅拌器各搅拌 1 h, 合并上清液; 对环己烷提取液进行同时蒸馏萃取, 萃取液经氮吹浓缩至 500 μL , 即为 GC-MS 待测样品。

(2) GC-MS 分析条件。色谱条件: 进样口温度 250°C , 进样体积 1 μL , 升温程序: 初始温度 40°C , 保持 2 min, $5^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温至 150°C , 保持 1 min, $2^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温至 200°C , 保持 1 min, $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温至 250°C , 保持 2 min。色谱柱为 DB-5 MS 毛细管柱 (0.25 mm \times 30 m \times 0.25 μm)。

质谱条件: 接口温度 (250°C), 离子源温度 (200°C), 扫描模式 (Scan), 扫描范围 (40~600 amu), 溶剂切除时间 (4.0 min)。

1.3.2 LC-MS 分析方法 (1) 样品制备。将方法 1.3.1 中经过环己烷提取后的夹竹桃叶粉末, 用氮气吹干残留的环己烷; 加入 70% 的甲醇溶液 40 mL, 磁力搅拌器搅拌 2 h, 移取提取液 1.5 mL, 10000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 上清液即为 LC-MS 待测样品。

(2) LC-MS 分析条件。色谱条件: 流动相 A 为 0.1% 乙酸, 流动相 B 为乙腈。洗脱条件: 0~50 min, 8%~31% B; 50~55 min, 31%~100% B; 55~60 min, 100% B; 60~63 min, 100%~8% B。洗脱速度为 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。柱温箱温度为 (25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$, 进样量为 5 μL , 检测条件为全波长扫描 (200~600 nm)。

质谱条件: ESI 离子源的雾化气压为 35 psi, 氮气流速为 $12\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, 温度为 325°C ; 扫描范围 m/z 100~1500; 阳离子模式时离子化电压为 4000 V; 碎片电压 250 V; 阴离子模式时离子化电压为 3500 V, 碎片电压 175 V。

1.3.3 柱层析分离与 NMR 分析 (1) 提取与分离。取夹竹桃鲜叶 10 kg, 70°C 下烘干后粉碎, 用热甲醇浸提, 减压浓缩后得到浸膏 400 g; 用水将浸膏混悬, 依次用石油醚、氯仿、正丁醇分级萃取。正丁醇提取物 (82 g) 进行硅胶柱层析, 以二氯甲烷: 甲醇 (20:1 \rightarrow 1:1) 梯度洗脱, 得到 Fr1、Fr2、Fr3、Fr4 组分。Fr3 组分经反复聚酰胺层析 (甲醇: 二氯甲烷) 得到化合物 1 (200 mg) 和化合物 2 (150 mg)。将氯仿相进行硅胶柱层析, 以石油醚: 丙酮 (15:1 \rightarrow 1:1) 梯度洗脱, 得到 Fr5、Fr6、Fr7 和 Fr8 组分。将 Fr7 组分反复硅胶柱层析得到化合物 3 (50 mg)。

(2) NMR 分析。对上述分离纯化的 3 个化合物组分进行 NMR 分析, 利用核磁共振谱数据解析结

构, 并与已知文献数据对照, 确证化合物的结构。

2 结果与分析

2.1 夹竹桃叶的 GC-MS 分析

按方法 1.3.1 中的实验条件, 对夹竹桃鲜叶的有机相提取物进行 GC-MS 分析 (见图 1)。

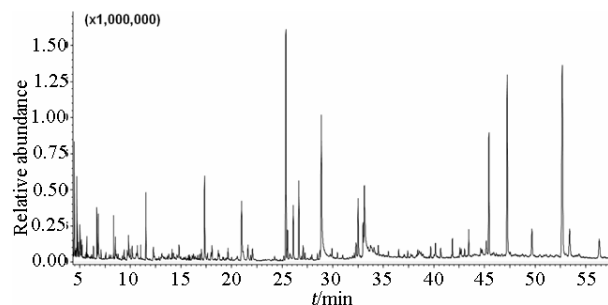


图 1 夹竹桃叶有机相提取物的 GC-MS 分析图谱
(总离子流图)

Figure 1 GC-MS chromatogram of organic phase extract from the leaves of *Nerium indicum* (TIC)

依据 NIST 和 Wiley 数据库, 对 GC-MS 分析图谱中各代谢物进行结构解析, 共鉴定得到 66 个化合物; 并采用峰面积归一法计算各化学成分相对含量,

结果见表 1。

从表 1 可知, 夹竹桃叶中挥发性成分主要包括醇类 (12.21%)、酸类 (7.76%)、烯烃 (4.12%)、酮类 (3.36%) 和醛类 (1.37%) 等。其中相对含量较大的是植醇 (10.02%)、棕榈酸 (5.99%)、角鲨烯 (2.90%)、(Z, Z, Z)-二十碳三烯酸 (1.15%) 和三甲基双环庚酮 (1.01%) 等。

2.2 夹竹桃的 LC-MS 分析

按方法 1.3.2 中的实验条件, 对夹竹桃叶中水相提取物进行 LC-MS 分析 (图 2); 同时, 得到在正离子模式下各色谱峰所对应化合物的质谱信息, 据此获知该化合物的相对分子质量, 并通过质荷比及天然产物数据库等信息, 分析和推断夹竹桃叶中 48 个非挥发性组分的可能化学结构, 结果见表 2。

2.3 结构鉴定

对上述纯化得到的 3 个化合物进行 NMR 分析, 利用核磁共振谱解析结构, 并与已知文献数据对照, 化学结构分别鉴定为槲皮素-3-O-洋槐苷 (1)、芦丁 (2) 和夹竹桃苷 (3), 其中, 槲皮素-3-O-洋槐苷在该植物中首次被分离到。

表 1 夹竹桃叶的挥发性化学成分

Table 1 The volatile constituents in the leaves of *Nerium indicum*

序号 No.	保留时间 /min RT	峰面积 Area	分子式 Formula	分子量 M	化合物 Compound	相对含量/% Relative content
1	6.183	89913	C ₈ H ₁₀	106.17	乙基苯; Ethyl-benzene	0.06
2	6.350	321424	C ₈ H ₁₀	106.17	邻二甲苯; 1, 2-Xylene	0.22
3	7.575	118976	C ₁₀ H ₁₆	136.23	α -蒎烯; α -Pinene	0.08
4	8.433	59212	C ₁₀ H ₁₆	136.23	β -蒎烯; β -Pinene	0.04
5	8.492	646250	C ₈ H ₁₄ O ₂	142.20	2, 3-辛二酮; 2, 3-Octanedione	0.45
6	8.717	56865	C ₉ H ₁₆	124.22	顺式-六氢茛苳; <i>cis</i> -Hexahydroindan	0.04
7	8.775	78887	C ₉ H ₁₂ O	136.19	2-(2-戊烯基)呋喃; <i>trans</i> -2-(2-Pentenyl)furan	0.05
8	9.200	120941	C ₇ H ₁₆ O	116.23	3-庚醇; 3-Heptanol	0.08
9	9.367	169906	C ₁₀ H ₁₆	136.23	<i>l</i> -柠檬烯; <i>l</i> -Limonene	0.12
10	9.442	36458	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	桉油醇; Eucalyptol	0.03
11	9.800	466881	C ₇ H ₁₆ O	116.20	3-庚醇; 3-Heptanol	0.32
12	9.967	190962	C ₁₀ H ₁₈	138.25	十氢萘(烯); <i>trans</i> -Decahydronaphthalene	0.13
13	10.542	224830	C ₂₃ H ₄₆	322.61	顺-9-二十三烯; <i>cis</i> -9-Tricosene	0.16
14	10.667	407331	C ₉ H ₁₈ O	142.24	壬醛; Nonanal	0.28
15	11.517	1466526	C ₁₀ H ₁₆ O	152.23	三甲基双环庚酮; 1,7,7-Trimethyl-bicyclo-heptan-2-one	1.01
16	12.250	426903	C ₈ H ₈ O ₃	152.15	水杨酸甲酯; Methyl salicylate	0.30
17	12.375	63059	C ₁₀ H ₂₀ O	156.27	正癸醛; <i>n</i> -Decanal	0.04
18	12.567	57474	C ₅ H ₆ O ₂	98.10	2, 4-戊二烯酸; 2, 4-Pentadienoic acid	0.04
19	12.675	57723	C ₁₀ H ₁₆ O	152.23	β -环柠檬烯; 2, 6, 6-Trimethyl-1-cyclohexene-1-carboxaldehyde	0.04
20	13.058	248104	C ₁₂ H ₂₆ O	186.33	2-丁基辛醇; 2-Butyl-1-octanol	0.17
21	13.800	54722	C ₁₀ H ₂₀ O	156.30	3-乙基己基乙烯醚; 3-[(Ethenyloxy)methyl]-heptane	0.04

续表 1 Continued table 1

22	14.192	221743	C ₁₀ H ₁₆ O	152.23	反式-2, 4-癸二烯醛; <i>trans</i> -2, 4-Decadienal	0.15
23	14.567	197474	C ₁₇ H ₃₂ O	252.44	(8Z)-14-甲基-十六碳烯醛; (8Z)-14-Methyl-hexadecenal	0.14
24	14.708	123947	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164.20	2-甲氧基-3-(2-丙烯基)苯酚; 2-Methoxy-3-(2-propenyl)-phenol	0.09
25	14.792	357726	C ₁₃ H ₁₈	174.28	2, 3-二氢-四甲基茛; 2, 3-Dihydro-1, 1, 5, 6-tetramethyl-1H-indene	0.25
26	14.958	40833	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	214.34	2-甲基-丙酸-壬基酯; 2-Methyl-propanoic acid, nonyl ester	0.03
27	15.458	74823	C ₁₄ H ₂₈ O	212.37	肉豆蔻醛; Myristaldehyde	0.05
28	15.600	73088	C ₁₂ H ₁₂	156.22	2, 6-二甲基萘; 2,6-Dimethyl-naphthalene	0.05
29	15.700	117707	C ₁₅ H ₂₄	204.35	檀香萜烯; Santalen	0.08
30	15.808	147978	C ₁₅ H ₂₄	204.35	石竹烯; Caryophyllene	0.10
31	15.892	81963	C ₁₀ H ₁₆	136.23	柠檬烯; Limonene	0.06
32	16.050	39039	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	2, 6-二甲基-2, 6-辛二烯-1-醇; 2, 6-Dimethyl-octa-2, 6-dien-1-ol	0.03
33	16.217	191970	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	236.35	2-己基-5-丙基苯-1,3-二醇; 2-hexyl-5-propylbenzene-1,3-diol	0.13
34	16.392	64172	C ₁₅ H ₂₄	204.35	α -石竹烯; α -Caryophyllene	0.04
35	16.650	145162	C ₄ H ₆ O	70.09	3-丁烯-2-酮; 4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-3-Buten-2-one	0.10
36	17.000	335765	C ₅ H ₈ O ₃	116.12	丙酮酸乙酯; Pyroacemic acid, ethyl ester	0.23
37	17.042	86558	C ₁₅ H ₂₄	204.35	双环大牻牛儿烯; Bicyclogermacrene	0.06
38	17.617	167815	C ₁₅ H ₂₄ O	220.35	石竹烯氧化物; (-)-Caryophyllene oxide	0.12
39	18.050	313947	C ₁₅ H ₂₆ O	222.37	橙花叔醇; Nerolidol	0.22
40	19.100	84016	C ₁₄ H ₂₈ O	212.37	肉豆蔻醛; Myristaldehyde	0.06
41	19.992	79322	C ₁₅ H ₂₄ O	220.35	β -檀香醇; β -Santalol	0.05
42	20.550	196623	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	168.23	紫丁香醛 B; Lilac aldehyde B	0.14
43	21.500	89442	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	198.30	Δ -十二烷醇内酯; Δ -lauro lactone	0.06
44	21.583	533102	C ₁₄ H ₂₈ O	212.37	肉豆蔻醛; Myristaldehyde	0.37
45	21.883	150391	C ₁₀ H ₂₂ O	158.28	3, 7-二甲基辛醇; 3, 7-Dimethyl-1-octanol	0.10
46	22.033	555738	C ₁₀ H ₁₆ O	152.23	蒿属酮; Artemisia ketone	0.38
47	25.142	195714	C ₂₀ H ₄₀ O	296.53	四甲基十六碳烯; 3, 7, 11, 15-tetramethyl-2-Hexadecene	0.14
48	25.350	9034496	C ₂₀ H ₄₀ O	296.53	植醇; Phytol	6.24
49	25.508	1268982	C ₁₈ H ₃₆ O	268.48	三甲基十五烷酮; 6, 10, 14-Trimethyl-2-pentadecanone	0.88
50	26.617	3082520	C ₂₀ H ₄₀ O	296.53	植醇; Phytol	2.13
51	26.900	95217	C ₁₈ H ₃₂ O	264.45	9, 17-十八碳二烯醛; 9, 17-Octadecadienal	0.07
52	27.042	671303	C ₅₇ H ₁₀₄ O ₆	885.43	十八碳三烯甘油酯; (Z, Z, Z)-9, 12, 15-Octadecatrien-1-ol	0.46
53	27.783	68142	C ₁₁ H ₂₂ O	170.29	反-2-十一烯醇; <i>trans</i> -2-Undecen-1-ol	0.05
54	27.908	156108	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270.45	棕榈酸甲酯; Hexadecanoic acid, methyl ester	0.11
55	28.475	230703	C ₂₀ H ₄₀ O	296.53	四甲基-1-十六碳烯-3-醇; 3, 5, 11, 15-tetramethyl-1-Hexadecen-3-ol	0.16
56	28.708	362364	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278.34	苯二甲酸丁酯; Dibutyl phthalate	0.25
57	28.858	8664836	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.42	棕榈酸; <i>n</i> -Hexadecanoic acid	5.99
58	30.450	242040	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298.50	棕榈酸异丙酯; Isopropyl palmitate	0.17
59	31.958	69845	C ₁₈ H ₃₈ O	270.49	硬脂醇; 1-Octadecanol	0.05
60	32.117	146357	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294.47	亚油酸甲酯; Methyl linoleate	0.10
61	32.483	2390620	C ₂₀ H ₄₀ O	296.53	植醇; Phytol	1.65
62	32.983	839275	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280.45	9, 12-十八碳二烯酸; (Z, Z)-9, 12-Octadecadienoic acid	0.58
63	33.150	1660189	C ₂₁ H ₃₆ O ₂	320.51	二十碳三烯酸; (Z, Z, Z)-8, 11, 14-Eicosatrienoic acid	1.15
64	33.842	60212	C ₁₀ H ₁₆	136.23	β -蒎烯; β -Pinene	0.04
65	37.033	50118	C ₁₈ H ₃₆ O ₁	268.48	硬脂醛; Stearaldehyde	0.03
66	37.392	236372	C ₂₁ H ₄₀ O ₂	268.48	四甲基十七烷-4-内酯; 4, 8, 12, 16-Tetramethylheptadecan-4-olide	0.16
67	39.658	287613	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298.50	十六烷酸丙酯; Hexadecanoic acid, 3-[(trimethylsilyl)oxy]propyl ester	0.20
68	40.642	440486	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	390.56	苯二羧酸乙基己酯; 1, 2-Benzene dicarboxylic acid, 2-ethylhexyl ester	0.30
69	45.408	4194277	C ₃₀ H ₅₀	410.72	角鲨烯; Squalene	2.90

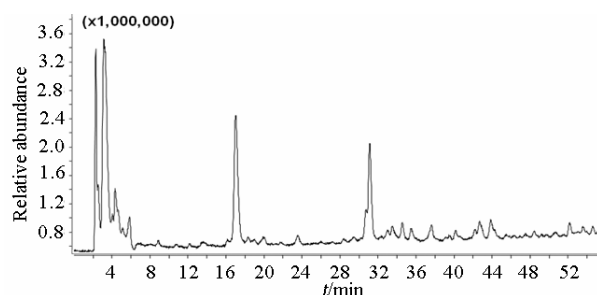


图 2 夹竹桃叶水相提取物的 LC-MS 分析图谱
(总离子流图)

Figure 2 LC-MS chromatogram of polar phase extract from the leaves of *Nerium indicum* (TIC)

化合物 1 黄色针晶 ($C_{27}H_{30}O_{16}$); 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 12.59 (1H, s, 5-OH), 7.85 (1H, dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz, H-6'), 7.65 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2'), 6.82 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-5'), 6.39 (1H, d, $J = 2$ Hz, H-8), 6.19 (1H, d, $J = 2$ Hz, H-6), 5.32 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1''), 4.42 (1H, s, H-1'''), 1.06 (3H, d, $J = 6$ Hz, H₃-6'''); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 177.4 (C-4), 164.1 (C-7), 161.2 (C-5), 156.4 (C-9), 156.3 (C-2), 148.5 (C-4'), 144.8 (C-3'), 133.5 (C-3), 121.9 (C-6'), 121.1 (C-1'), 116.0 (C-5'), 115.2 (C-2'), 103.9

(C-10), 102.0 (C-1''), 100.0 (C-1'''), 98.7 (C-6), 93.6 (C-8), 73.6 (C-5''), 73.1 (C-3''), 71.9 (C-4'''), 71.1 (C-2''), 70.6 (C-3'''), 70.4 (C-2'''), 68.2 (C-4''), 68.1 (C-5'''), 65.2 (C-6''), 17.9 (C-6'''). 以上数据与文献^[8]报道一致, 故鉴定为槲皮素-3-O-洋槐苷。

化合物 2 黄色针晶 ($C_{27}H_{30}O_{16}$); 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 12.59 (1H, s, 5-OH), 10.80 (1H, s, 7-OH), 9.64 (1H, s, 4'-OH), 9.15 (1H, s, 3'-OH), 7.54 (2H, m, H-2',6'), 6.84 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.38 (1H, d, $J = 2$ Hz, H-8), 6.19 (1H, d, $J = 2$ Hz, H-6), 5.34 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1''), 4.36 (1H, s, H-1'''), 0.99 (3H, d, $J = 6$ Hz, H₃-6'''); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 177.4 (C-4), 164.0 (C-7), 161.2 (C-5), 156.6 (C-9), 156.4 (C-2), 148.4 (C-4'), 144.7 (C-3'), 133.3 (C-3), 121.6 (C-6'), 121.2 (C-1'), 116.2 (C-5'), 115.2 (C-2'), 104.0 (C-10), 101.2 (C-1''), 100.7 (C-1'''), 98.7 (C-6), 93.6 (C-8), 76.5 (C-3''), 75.9 (C-5''), 74.1 (C-2''), 71.9 (C-4'''), 70.6 (C-3'''), 70.4 (C-2'''), 70.0 (C-4''), 68.2 (C-5'''), 67.0 (C-6''), 17.7 (C-6'''). 以上数据与文献^[9]报道一致, 故鉴定为芦丁。

表 2 夹竹桃叶的非挥发性化学成分

Table 2 The non-volatile constituents in the leaves of *Nerium indicum*

序号 No.	保留时间 /min RT	峰面积 Area	分子量 M	可能的分子式 Possible formula	对应的分子量 Relative M	化合物 Compound	相对含量/% Relative content
1	2.290	10688	256.03740	$C_{14}H_8O_5$	256.0372	羟基茜草素; Hurourin	0.24
2	2.617	17222	103.10013	$C_5H_{13}NO$	103.0997	胆碱; Choline	0.38
3	2.679	8661	247.10574	$C_{10}H_{17}NO_6$	247.1056	亚麻苦苷; Linamarin	0.19
4	3.133	5408	352.08929	$C_{20}H_{16}O_6$	352.0947	鱼藤酮; Elliptone	0.12
5	3.141	122693	526.15259	$C_{27}H_{26}O_{11}$	526.1475	桑寄生甙; Viscutin 1	2.74
6	3.152	12983	542.12183	$C_{30}H_{22}O_{10}$	542.1213	异狼毒素; Isochamaejasmin	0.29
7	3.208	18849	162.05384	$C_6H_{10}O_5$	162.0528	地衣多糖; Lichenin	0.42
8	3.429	14384	392.13062	$C_{16}H_{24}O_{11}$	392.1319	山柘苷; Shanzhiside	0.32
9	3.500	9788	422.14164	$C_{17}H_{26}O_{12}$	422.1424	羟基莫诺苷; 10-Hydroxymorroniside	0.22
10	3.509	5892	450.13560	$C_{25}H_{22}O_8$	450.1315	灰叶素; Tephrocin	0.13
11	3.807	9379	134.02306	$C_4H_6O_5$	134.0215	苹果酸; Malic acid	0.21
12	4.336	8156	392.13429	$C_{16}H_{24}O_{11}$	392.1319	脱氢鱼藤酮; Dehydrorotenone	0.18
13	4.512	25397	134.02453	$C_4H_6O_5$	134.0215	苹果酸酯; Malate	0.57
14	4.916	7308	406.14904	$C_{17}H_{26}O_{11}$	406.1475	羟基马钱甙; 10-Hydroxyloganin	0.16
15	10.765	6091	390.15268	$C_{17}H_{26}O_{10}$	390.1526	马钱苷; Logenin	0.14
16	16.836	5669	302.04648	$C_{15}H_{10}O_7$	302.0427	花翠素; Delphinidin	0.13
17	17.045	107587	376.08454	$C_{18}H_{16}O_9$	376.0794	甲基柠檬素; Limocitrol	2.40
18	17.347	7252	424.13867	$C_{20}H_{24}O_{10}$	424.1369	白果苦内酯; Ginkgolide	0.16
19	18.338	8551	540.22092	$C_{29}H_{32}O_{10}$	540.1995	龙牙草酚; Pilosanol A	0.19
20	23.546	5232	118.04160	C_8H_6O	118.0419	香豆酮; Benzofuran	0.12
21	23.547	5146	146.03620	$C_9H_6O_2$	146.0368	香豆素苷; Coumarin	0.11

续表2 Continued table 2

22	23.635	9100	438.15164	C ₂₁ H ₂₆ O ₁₀	438.1526	灰青斑鸫菊内酯; Glaucolide B	0.20
23	30.757	65689	302.04458	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302.0427	蜀葵苷元; Herbacetin	1.47
24	31.140	55622	610.15515	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	610.1534	芦丁; Rutin	1.24
25	31.142	216457	302.04372	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302.0427	洋槐素; Robinetin	4.83
26	31.146	38298	464.09729	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	464.0955	金丝桃苷; Hyperin	0.85
27	33.031	12925	302.04439	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302.0427	偶氮水杨酸; Olsalazine	0.29
28	33.787	5542	286.05036	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.0477	山奈酚; Kaempferol	0.12
29	35.509	6743	594.16021	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	594.1585	野黄芩素-新橙皮苷; Scutellarein 7-neohesperidoside	0.15
30	35.515	19714	286.04995	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.0477	漆黄素酮; Fisetin	0.44
31	43.856	5606	538.11144	C ₂₇ H ₂₂ O ₁₂	538.1111	紫草酸; Lithospermic acid	0.13
32	43.857	11746	162.03357	C ₉ H ₆ O ₃	162.0317	香豆素; Umbelliferone	0.26
33	55.805	5008	532.30366	C ₃₀ H ₄₄ O ₈	532.3036	葫芦素; Cucurbitacin J	0.11
34	56.027	5585	332.19922	C ₂₀ H ₂₈ O ₄	332.1988	原夏至草苦素; Premarrubiin	0.12
35	56.154	7888	272.06890	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	272.0685	3, 4', 7-三羟基黄酮酮; Garbanzol	0.18
36	56.377	6325	374.24542	C ₂₃ H ₃₄ O ₄	374.2457	洋地黄毒苷配基; Digitoxigenin	0.14
37	56.377	8246	516.30959	C ₃₀ H ₄₄ O ₇	516.3087	欧夹竹桃苷; Oleaside A	0.18
38	56.378	60072	556.30271	C ₃₂ H ₄₄ O ₈	556.3036	三乙酸酯; Havanensin triacetate	1.34
39	56.476	14942	286.04910	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.0477	花青素; Cyanidin	0.33
40	56.522	7601	552.27216	C ₃₃ H ₃₆ N ₄ O ₄	552.2737	鱼骨木碱; Canthiumine	0.17
41	56.773	29788	354.22029	C ₂₂ H ₃₀ N ₂ O ₂	354.2307	白坚木碱; Aspidospermine	0.66
42	56.790	101163	556.30212	C ₃₂ H ₄₄ O ₈	556.3036	葫芦素; Cucurbitacin E	2.26
43	56.806	6833	558.30899	C ₃₂ H ₄₆ O ₈	558.3192	细齿藻黄酮醇; Denticulaflavonol	0.15
44	56.999	27180	350.24907	C ₂₁ H ₃₄ O ₄	350.2457	姜辣素; (10)-Gingerol	0.61
45	57.034	16055	552.29273	C ₂₉ H ₄₄ O ₁₀	552.2934	萎枯德皂苷; Lokundjoside	0.36
46	57.063	9442	554.28836	C ₃₃ H ₃₈ N ₄ O ₄	554.2893	全缘素; Integerressine	0.21
47	57.591	57425	516.30986	C ₃₀ H ₄₄ O ₇	516.3087	欧夹竹桃贰乙; Adynerin	1.28
48	57.606	5227	498.29839	C ₃₀ H ₄₂ O ₆	498.2981	葫芦素; Cucurbitacin S	0.12

化合物 3 白色针形晶体 (C₃₂H₄₈O₉); ¹H NMR (Methonal-*d*₄, 400 MHz) δ: 5.47 (1H, td, *J* = 20.4, 2.4 Hz, H-16), 5.01, 4.94 (1H each, dd, *J* = 20, 1.6 Hz, H-21a, 21b), 3.91 (1H, br s, H-3), 3.68 (1H, m, 3'-H), 3.49 (1H, m, 4'-H), 3.47 (3H, s, OMe), 3.26 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-17), 1.94 (3H, s, COCH₃), 0.96 (3H, s, H-18), 0.94 (3H, s, H-19); ¹³C NMR (Methonal-*d*₄, 100 MHz) δ: 176.7 (C-23), 172.2 (C-20), 171.6 (OCO-CH₃), 121.8 (C-22), 96.8 (C-1'), 85.0 (C-14), 79.6 (C-3'), 77.7 (C-21), 77.6 (C-16), 76.0 (C-3), 73.3 (C-5'), 69.5 (C-4'), 57.4 (C-17), 57.4 (-OCH₃), 51.4 (C-13), 42.7 (C-18), 41.4 (C-15), 40.0 (C-12), 38.1 (C-5), 36.3 (C-2'), 36.5 (C-19), 36.3 (C-10), 31.7 (C-4), 30.9 (C-1), 27.8 (C-2), 27.6 (C-6), 24.4 (C-19), 22.2 (C-11), 22.0 (C-7), 21.0 (OCO-CH₃), 18.2 (C-6'), 16.5 (C-18)。以上数据与文献^[10-11]报道一致, 故鉴定为夹竹桃苷。

3 小结与讨论

采用 GC-MS 和 LC-MS 技术对夹竹桃鲜叶的化

学成分进行分析, 分别鉴定得到 66 种挥发性成分和 48 种非挥发性成分, 主要挥发性成分包括醇类、酸类、烯烃类、酮类和醛类等, 主要非挥发性成分包括黄酮类及其衍生类、生物碱类、夹竹桃苷类等。同时, 采用硅胶柱和聚酰胺柱层析分离技术, 从夹竹桃叶的甲醇提取物中纯化并鉴定得到槲皮素-3-*O*-洋槐苷、芦丁和夹竹桃苷 3 个化合物, 其中, 槲皮素-3-*O*-洋槐苷为该植物中首次被分离到。

夹竹桃具有广泛的毒理和药理功能^[2, 10], 与其体内含有的生物活性成分具有密切关系; 如在鉴定得到的挥发性化合物中, 棕榈酸具有抗肿瘤、抗衰老活性^[12], 柠檬烯具有良好的抗癌作用^[13], 角鲨烯、 α -蒎烯、 β -蒎烯等具有抗菌杀虫活性^[14], 2-丁基辛醇、 β -檀香醇、桉油醇亦具有较好的抗菌效果^[15], *Z, Z*-9, 12-十八碳二烯酸具有杀虫作用^[16]等。同时, 采用色质联用技术对夹竹桃叶中化学成分进行了较为全面和系统的检测, 如在鉴定得到的非挥发性化合物中, 香豆素、槲皮素、山奈酚、欧夹竹桃苷、

欧夹竹桃甙乙、洋地黄毒苷配基等化合物与已有报道结果相符^[10,17]; 研究表明, 本试验中采用的质谱联用技术在对未知化合物的推断和鉴定中具有较高的可靠性, 从而为将来开展天然产物的分析鉴定以及进一步的分离纯化提供了重要参考。

参考文献:

- [1] Siddiqui B S, Khatoun N, Begum S, et al. Flavonoid and cardenolide glycosides and a pentacyclic triterpene from the leaves of *Nerium oleander* and evaluation of cytotoxicity [J]. *Phytochemistry*, 2012, 77: 238-244.
- [2] 郭春雨. 夹竹桃叶中的甙体类化学成分及其细胞毒活性的研究[D]. 上海: 华东理工大学, 2010: 1-11.
- [3] Ali H F M, El-Ella F M A, Nasr N F. Screening of chemical analysis, antioxidant antimicrobial and antitumor activities of essential oil of oleander (*Nerium oleander*) flower [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2010, 4(4): 190-202.
- [4] Derwich E, Benziane Z, Boukir A. Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil from flowers of *Nerium oleander* [J]. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 9(6): 1074-1084.
- [5] Culotta L, Gianguzza A, Orecchio S. Leaves of *Nerium oleander* L. as bioaccumulators of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in the air of Palermo (Italy): extraction and GC-MS analysis, distribution and sources [J]. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 2005, 25(4): 327-344.
- [6] Zibbu G, Batra A. GC-MS analysis of the desert plants of Apocynaceae family: *Nerium oleander* L. and *Thevetia peruviana* (Pers.) Schum [J]. *International Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 2011, 3(10): 49-62.
- [7] Wang X M, Plomley J B, Newman R A, et al. LC/MS/MS analysis of an oleander extract for cancer treatment [J]. *Analytical Chemistry*, 2000, 72(15): 3547-3552.
- [8] 章光文, 周国平, 谢二磊, 等. 山香圆叶中黄酮类成分研究[J]. *中国中药杂志*, 2009, 34(12): 1603-1604.
- [9] 王祝举, 唐力英, 付梅红, 等. 夏枯草中的黄酮类化合物研究[J]. *时珍国医国药*, 2008, 19(8): 1966-1967.
- [10] Banerjee A A, Vasu K K, Pancholi H, et al. Detoxification of *Nerium indicum* roots based on Indian system of medicine: phytochemical and toxicity evaluations [J]. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 2011, 68(6): 905-911.
- [11] 杨帆, 沈平, 王一飞, 等. 弯蕊开口箭中的新甙体配糖体[J]. *云南植物研究*, 2001, 23(3): 373-380.
- [12] 刘睿, 顾谦群, 崔承彬, 等. 密脉鹅掌柴的化学成分及其抗肿瘤活性[J]. *中草药*, 2005, 36(3): 328-332.
- [13] 吴立军. 天然药物化学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 236.
- [14] Tellez M, Estell R, Fredrickson E D, et al. Extracts of *Flourensia cernua* (L): volatile constituents and antifungal, antialgal, and antitermite bioactivities [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2001, 27(11): 2263-2273.
- [15] 张凤娟, 李继泉, 徐兴友, 等. 皂荚和五角枫挥发性物质组成及其对空气微生物的抑制作用[J]. *园艺学报*, 2007, 34(4): 973-978.
- [16] 周利娟, 黄继光, 徐汉虹, 等. 从华蟹甲草中分离的两种活性成分对家蝇的杀虫活性[J]. *昆虫学报*, 2006, 49(1): 74-79.
- [17] 孟繁旭. 夹竹桃枝化学成分的研究[D]. 齐齐哈尔: 齐齐哈尔大学, 2012: 63-64.