

藏茵陈的化学成分研究

杨帆¹,王蕾²,王洁雪¹

(1.成都师范学院 化学与生命科学学院,成都 611130;2.四川省成都市青羊区环境监测站,成都 610072)*

摘要:利用多种柱色谱技术对龙胆科獐牙菜属植物藏茵陈全草正丁醇部位进行分离纯化,结合UV、IR、ESI-MS、¹H-NMR、¹³C-NMR等波谱数据对其化合物进行结构鉴定。从藏茵陈全草正丁醇部位分离纯化得到7个化合物,分别为牡荆苷(1)、异荛苈草苷(2)、当药醇苷(3)、当药黄素(4)、獐牙菜苷(5)、獐牙菜苦苷(6)、龙胆苦苷(7)。其中包括2个黄酮苷类化合物、2个口山酮类化合物、3个环烯醚萜苷类化合物。化合物1为首次从该植物中分离得到。

关键词:龙胆科;藏茵陈;化学成分

doi:10.3969/j.issn.2095-5642.2017.09.082

中图分类号:R285

文献标志码:A

文章编号:2095-5642(2017)09-0082-04

藏茵陈(*Herba Artemisiae Scoppariae*)又名蒂达、桑斗,为龙胆科(*Gentianaceae*)獐牙菜属(*Swertia L.*)植物,是藏医学中最具特色的药用资源植物之一,广泛分布于我国川西高原及喜马拉雅地区。其性味苦寒,有利湿祛痰、清热解毒、疏肝利胆等功效^[1-2]。生药中有效成分的种类以及含量差异较大,直接影响到该植物的生理活性及药用药效。鉴于该属植物中有多种生理活性,长期以来各国研究学者对其化学成分的分离、鉴定、药理做了大量的工作,已从该植物中分离得到多种不同类型化合物,主要包括黄酮、口山酮、环烯醚萜及其苷类、三萜和生物碱等。近现代药理研究表明,藏茵陈具有保肝、抗病毒、抗菌、消炎等多种作用,临床上广泛用于治疗乙肝、急性黄疸型肝炎等疾病^[3]。在长期的化学成分研究过程中,不断发现出了许多有价值的活性成分,这些工作不仅对于从化学分类学角度研究该植物具有重要的指导意义,而且为进一步评价药用价值和寻找新药提供了可靠依据。本课题组将在对藏茵陈中活性成分质量评价的同时,对其有效部位正丁醇部位进行系统的化学成分研究,采用多种色谱技术进行分离纯化,并结合现代波谱技术,对其结构进行结构表征,为更好的对该植物进行保护及开发利用,阐明其药效物质基础,提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要仪器

Bruker AM-400型核磁共振仪、FTIR7600傅里叶红外光谱仪(天津港东科技发展股份有限公司)、LC-MS2020高效液相色谱-质谱仪(日本岛津公司)、TU1901紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)、X-4显微熔点测定仪(上海比目仪器厂)、BS224-S型电子分析天平(北京赛多利斯仪器有限公司)

* 收稿日期:2017-04-19

基金项目:成都师范学院校级科研项目(CS15ZB02)

作者简介:杨帆(1989—),女,四川荣县人,实验员,研究方向:实验室管理及药物化学方向;

王蕾(1982—),女,四川犍为人,工程师,研究方向:分析仪器开发;

王洁雪(1985—),女,黑龙江伊春人,讲师,硕士,研究方向:天然产物化学。

1.2 药材与试剂

D-101 大孔树脂(南开化工)、柱色谱硅胶和 GF254 薄层色谱硅胶(中国青岛海洋化工公司)、Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶(日本三菱公司)、高效液相色谱所用试剂为色谱纯,其他试剂为分析纯。

藏茵陈全草购买于成都荷花池中药材批发市场 B-0702 室。

1.3 提取与分离

藏茵陈全草 10kg,经干燥后粉碎,用 95%乙醇回流提取三次,每次 2h。提取液经过滤、合并、浓缩得到浸膏 1.48kg,加水分散后,依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取 3 次,减压浓缩后得到石油醚部位 355g,乙酸乙酯部位 92g,正丁醇部位 168g。

取正丁醇部位 150g 经硅胶柱色谱分离,氯仿-甲醇(10:1-1:1)洗脱,其中流分 11-17 经反复硅胶柱色谱和 Sephadex LH-20 柱色谱分离纯化,得到化合物 1(26mg),化合物 2(13mg);流分 24-27 经反复硅胶柱色谱和 Sephadex LH-20 柱色谱纯化得到化合物 3(35.2 mg)、化合物 4(15.4 mg)。流分 32-36 经反复硅胶柱色谱和 Sephadex LH-20 柱色谱分离纯化,得到化合物 5(47.5mg),化合物 6(121.8mg),化合物 7(24mg)。

2 结果与讨论

2.1 结构鉴定

化合物 1:淡黄色粉末,mp:239-240℃。ESI-MS m/z :433 $[M+H]^+$ 。 ^1H-NMR (400MHz,DMSO- d_6) δ :6.77(1H,s,H=3),6.24(1H,s,H=6),13.15(1H,s,5-OH),10.79(1H,s,7-OH),10.34(1H,s,4'-OH); $^{13}C-NMR$ (100MHz,DMSO- d_6) δ :164.3(C-2),103.1(C-3),182.7(C-4),158.4(C-5),98.1(C-6),162.5(C-7),103.2(C-8),150.5(C-9),103.6(C-10),121.1(C-1'),129.0(C=2',6'),114.8(C=3',5'),161.1(C=4')。上述数据与文献报道数据基本符合^[4],故鉴定为牡荆苷。

化合物 2:淡黄色粉末,ESI-MS m/z :471 $[M+Na]^+$ 。 ^1H-NMR (400MHz,DMSO- d_6) δ :6.67(1H,s,H=3),6.48(1H,s,H=8),7.3(1H,s,H=2'),6.89(1H,s,H=5'),7.42(1H,dd,J=8.3Hz,2.1Hz,H=6'),13.58(1H,s,5-OH); $^{13}C-NMR$ (100MHz,DMSO- d_6) δ :163.3(C-2),105.1(C-3),181.7(C-4),155.5(C-5),109.1(C-6),163.6(C-7),93.2(C-8),160.5(C-9),103.3(C-10),115-150.2(C=1',2',3',4',5',6')。上述数据与文献报道数据基本符合^[5],故鉴定为异荛苳草苷。

化合物 3:淡黄色粉末,mp:204-205℃。ESI-MS m/z :437 $[M+H]^+$ 。 ^1H-NMR (400MHz,DMSO- d_6) δ :6.23(1H,s,H=2),3.73(3H,s,3-OMe),6.50(1H,s,H=4),7.12(1H,d,J=8.8Hz,H=6),7.35(1H,d,J=8.8Hz,H=7),5.23(1H,d,J=7.4Hz,H=1'),3.06-3.67(4H,m,H=2',3',4',5'),5.10(2H,m,H=6'); $^{13}C-NMR$ (100MHz,DMSO- d_6) δ :163.5(C-1),97.3(C-2),167.0(C-3),92.5(C-4),149(C-5),121.2(C-6),111.8(C-7),151.0(C-8),181.3(C-9),52.3(OMe),103.2(C-1'),72.8(C-2'),77.6(C-3'),69.8(C-4'),78.4(C-5'),63.2(C-6')。以上数据与文献报道一致^[6,7],故鉴定为当药醇苷。

化合物 4:淡黄色粉末,mp:243-244℃。ESI-MS m/z :469 $[M+Na]^+$ 。 ^1H-NMR (400MHz,DMSO- d_6) δ :6.81(1H,s,H=3),3.85(3H,s,7-OMe),6.87(1H,s,H=8),7.97(2H,d,J=8.7Hz,H=2'/6'),6.93(2H,d,J=8.7Hz,H=3'/5'),4.63(1H,d,J=7.5Hz,H=1''),4.17(1H,dd,J=7.5Hz,H=2''),3.33(1H,m,H=3''),3.25(1H,m,H=4''),3.28(1H,m,H=5''),3.19(1H,d,J=8.1Hz,H=6''); $^{13}C-NMR$ (100MHz,DMSO- d_6) δ :163.9(C-2),103.0(C-3),182.1(C-4),160.7(C-5),109.4(C-6),165.7(C-7),93.5(C-8),156.9(C-9),121.0(C-1'),128.6(C-2'/6'),116.3(C-3'/5'),160.0(C-4'),72.5(C-1''),70.8(C-2''),79.0(C-3''),71.2(C-4''),81.7(C-5''),61.5(C-6''),56.5(7-OMe)。以上数据与文献报道一致^[5],故鉴定为当药黄素。

化合物 5:白色粉末,mp:114℃。ESI-MS m/z :359 $[M+H]^+$ 。 ^1H-NMR (400MHz, D_2O) δ :5.52(1H,s,H=1),7.41(1H,s,H=3),2.65(1H,m,H=5),1.32(2H,m,H=6),4.35(1H,d,J=11.2Hz,H=

7a), 4.89(1H, d, $J=15.7$, Hz, H-7b), 5.70(1H, m, H=8), 2.67(1H, m, H=9), 5.13(2H, m, H=10); ^{13}C -NMR(100MHz, D_2O) δ : 97.6(C-1), 156.2(C-3), 107.0(C-4), 31.0(C-5), 27.1(C-6), 65.1(C-7), 134.6(C-8), 42.5(C-9), 121.3(C-10), 166.7(C-11)。上述数据与文献报道数据基本符合^[8], 故鉴定为獐牙菜苷。

化合物 6: 白色吸湿性粉末, mp: 111 $^{\circ}\text{C}$ 。ESI-MS m/z : 375 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H -NMR(400MHz, D_2O) δ : 1.78(1H, d, $J=9.0$ Hz, H-6), 1.97(1H, dt, $J=4.8$ Hz, 9.0Hz, H-6 β), 2.98(1H, d, $J=3.0$ Hz, H-9), 4.75(1H, d, $J=3.0$ Hz, H-1'), 5.68(1H, s, H-1), 7.66(1H, s, H-3), 3.47(2H, m, H-7), 5.27(1H, m, H-8), 4.38(1H, m, H-10); ^{13}C -NMR(100MHz, D_2O) δ : 103.3(C-1), 156.4(C-3), 111.0(C-4), 79.5(C-5), 35.1(C-6), 66.1(C-7), 134.1(C-8), 52.0(C-9), 121.1(C-10), 171.1(C-11)。上述数据与文献报道数据基本符合^[8,9], 故鉴定为獐牙菜苦苷。

化合物 7: 白色吸湿性粉末, mp: 191 $^{\circ}\text{C}$ 。ESI-MS m/z : 357 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H -NMR(400 MHz, D_2O) δ : 5.63(1H, d, $J=3$ Hz, H-1), 7.42(1H, s, H-3), 5.67(1H, m, H-6), 5.02(2H, m, H-7), 5.74(1H, ddd, $J=17.5, 10.5, 7.0$ Hz, H-8), 3.19(1H, m, H-9), 5.20(2H, m, H-10), 4.76(1H, d, $J=8.0$ Hz, H=1'); ^{13}C -NMR(100MHz, D_2O) δ : 97.2(C-1), 152.1(C-3), 105.1(C-4), 126.5(C-5), 116.4(C-6), 67.4(C-7), 133.2(C-8), 44.5(C-9), 118.3(C-10), 166.0(C-11), 101.1(C-1')。上述数据与文献报道数据基本符合^[7,8], 故鉴定为龙胆苦苷。

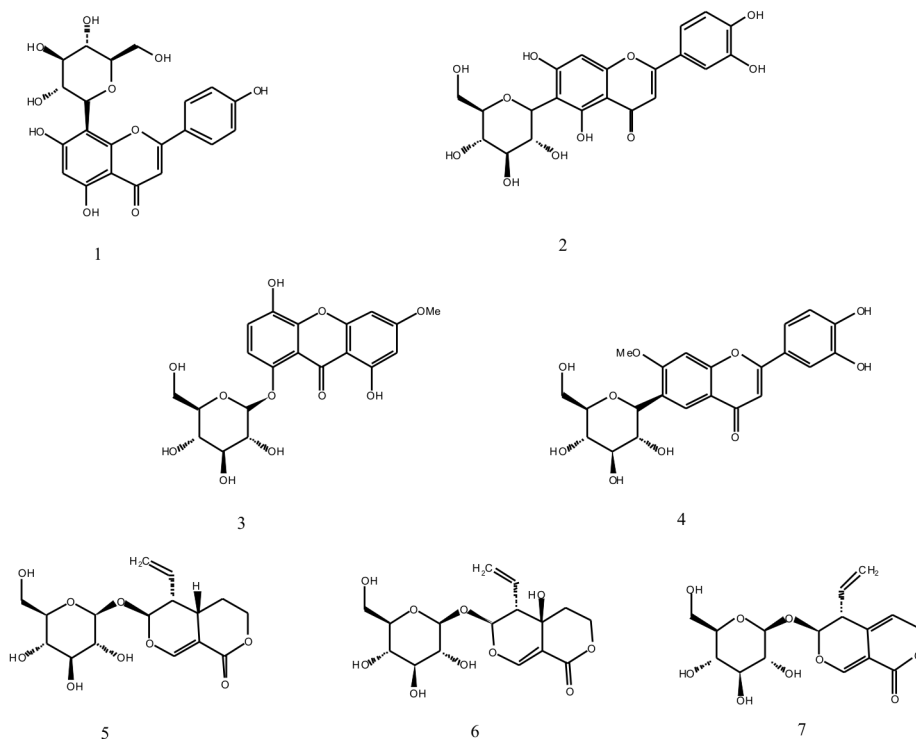


图 1 化合物 1~7 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1-7

2.2 讨论

由于提取物的正丁醇萃取部分中化合物通常以共轭结构很强的黄酮、酚酸和糖苷类化合物为主, 极性较大。这些物质分子结构中含有的多个酚羟基或者羧基, 它们与硅胶硅醇基可以形成比较强的氢键吸附, 拖尾及其严重, 很难达到分离的目的。经样品粗分后, 结合 ODS-C18 填料和 Sephadex LH-20 凝胶对其化合

物进行交替纯化,可有效地降低提高样品纯化难度。同时,在实验中我们发现,口山酮类和黄酮类化合物采用聚酰胺和 Sephadex LH-20 凝胶填料进行分离纯化,效果更佳。而环烯醚萜苷类化合物更适合用 ODS-C18 填料。

3 结论

从藏茵陈地上部分乙醇提取物的正丁醇萃取部分进行化学成分分离纯化,并结合 MS, NMR 等对其单体化合物进行结构表征,共计得到 7 个化合物,分别为:(1)牡荆苷(Vitexin)、(2)异葑草苷(Isoorientin)、(3)当药醇苷(Swertianolin)、(4)当药黄素(Swertisin)、(5)獐牙菜苷(Sweroside)、(6)獐牙菜苦苷(Swertimarin)、(7)龙胆苦苷(Gentiopicrosid)。其中化合物 1 为首次从该植物中分离得到。本课题组在已有的研究理论基础上,进一步丰富了藏茵陈的化学成分组成,也为民族药藏茵陈的研究及开发利用提供了理论依据。

参考文献:

- [1] 唐丽,金振南,门美佳. 藏药藏茵陈的研究进展及开发利用[J]. 中央民族大学学报:自然科学版,2007,16(2):176-178.
- [2] 南京中医药大学. 中药大辞典(下册)[M]. 上海:上海科学技术出版社,2006:3615-3616.
- [3] 范叔清,周松,卢志强. 藏茵陈化学成分和药理作用研究进展[J]. 现代中西医结合杂志:2012,21(2):227-228.
- [4] WANG RF, YANG XW. Trollioside, a new compound from the flowers of trollius chinensis[J]. Journal of Asian Natural Products Research, 2004, 6(2):139-144.
- [5] FAN J S, LEE I J, LIN Y T. Flavone glycosides from commercially available Lophatheri Herba and their chromatographic fingerprinting and quantitation[J]. J Food Drug Anal, 2015, 23(2):821-827.
- [6] YU Y, WANG S S, DING F J. Isolation and identification of the chemical constituents from Swertia yunnan, ensis Burk [J]. Chin J MedChem, 2010, 20:125-128.
- [7] 耿家玲,耿长安,陈纪军. 西南獐牙菜化学成分的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24:42-46.
- [8] 王世盛. 藏茵陈活性组分的制备分离和化学表征[D]. 大连:中国科学院研究生院, 2004.
- [9] ANWAR I R, Mansoor Ahmad, Enicostema Littorale, A New Source of Swertiamarin[J]. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 1996, 9(1):29-35.

On Chemical Constituents of Herba Artemisiae Scoppariae

YANG Fan¹, WANG Lei², WANG Jie-xue¹

(1. Department of Chemistry and Life Science, Chengdu Normal University, Chengdu 611130;

2. Environmental Monitoring Station of Qinyang District, Chengdu 610072, China)

Abstract: Based on the spectral data such as UV, IR, ESI-MS, IH-NMR, BC-NMR, this paper studies the chemical constituents from the n-BuOH fraction of whole plant of Herba Artemisiae Scoppariae with multiple column chromatography technique. Seven compounds were isolated from the n-BuOH fraction of extract and identified as Vitexin(1), Isoorientin(2), Swertianolin (3), Swertisin (4), Sweroside(5), Swertimarin(6), and Gentiopicrosid (7), among which include two kinds of flavones, two kinds of Xanthones, and three kinds of Iridoid glycosides. Compound 1 was obtained from Herba Artemisiae Scoppariae for the first time.

Key words: Gentianaceae; Herba Artemisiae Scoppariae; chemical constituents

(实习编辑:杨晓玲 责任校对:曲比)