

白叶蒿的化学成分研究^Δ

李维宏^{1*}, 彭伟², 樊继山³, 李斌^{2#} (1. 重庆医科大学附属第一医院, 重庆 400016; 2. 第三军医大学药学院药理学教研室, 重庆 400038; 3. 重庆医科大学附属儿童医院药剂科, 重庆 400014)

中图分类号 R284.1; R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)03-0253-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.03.20

摘要 目的: 研究白叶蒿的化学成分。方法: 对白叶蒿全草的70%乙醇提取物及其极性部位进行系统化学成分分离, 采用硅胶、ODS RP-18、Sephadex LH-20等柱色谱方法进行分离, 并根据化合物的理化性质和波谱数据鉴定其结构。结果: 从乙酸乙酯和正丁醇部位分离得到11个化合物, 分别鉴定为羽扇豆醇(1)、芹菜素(2)、木犀草素(3)、异鼠李素(4)、十七烷酸单甘油酯(5)、东莨菪内酯(6)、伞形花内酯(7)、山柰酚-3-O-鼠李糖苷(8)、山柰酚-3-O-葡萄糖苷(9)、山柰酚-3-7-二鼠李糖苷(10)、甘露醇(11)。结论: 化合物1~11均为首次从白叶蒿中分得。该试验结果可为白叶蒿活性成分的进一步开发及临床应用奠定基础。

关键词 白叶蒿; 化学成分; 抗菌活性

Study on Chemical Constituents of *Artemisia leucophylla*

LI Wei-hong¹, PENG Wei², FAN Ji-shan³, LI Bin² (1. The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 2. Dept. of Pharmacology, College of Pharmacy, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China; 3. Dept. of Pharmacy, The Affiliated Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the chemical constituents of *Artemisia leucophylla*. METHODS: 70% ethanol extract and polar part of *A. leucophylla* were isolated and purified by repeated column chromatography on silica gel, ODS RP-18, Sephadex LH-20 and so on. The structures of chemical constituents were identified according to physicochemical property and spectral data of compounds. RESULTS: 11 compounds were isolated and identified from ethyl acetate part and n-butanol part, such as lupeol (1), apigenin (2), luteolin (3), isorhamnetin (4), monoheptadecanoin (5), scopoletin (6), umbelliferone (7), kaempferol-3-O- α -l-rhamnoside (8), kaempferol-3-O- α -l-glucoside (9), kaempferitrin (10) and D-mannitol (11). CONCLUSIONS: 11 compounds are isolated from *A. leucophylla* for the first time. The study lays the foundation for further development and clinical use of active components of *A. leucophylla*.

KEYWORDS *Artemisia leucophylla*; Chemical constituents; Antibacterial activity

白叶蒿 *Artemisia leucophylla* (Turcz. ex Bess.) Clarke 为菊科蒿属多年生草本植物, 主要分布于我国四川、新疆、西藏、甘肃、宁夏等地, 生长于海拔3 000~4 000 m的地区。药用其全草部分, 用于止血、抗菌消炎等^[1-2]。目前, 对于白叶蒿的研究鲜有报道^[3-5]。为了合理利用植物资源、发掘新药, 本课题组对白叶蒿进行了系统的化学成分研究和初步的药效学评价, 首次证明白叶蒿具有广泛和良好的抗菌活性, 可为其临床应用奠定基础。本试验主要是对白叶蒿活性部位的化学成分进行分离, 从中一共分得11个化合物, 均为首次从该植物中分离得到。

1 材料

1.1 仪器

RY-2型熔点仪(天津市分析仪器厂, 温度未校正);

^Δ基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81001440)

* 主治医师, 博士。研究方向: 妇产科辅助生殖及基础研究。

E-mail: 285665498@qq.com

通信作者: 副教授, 博士。研究方向: 中药成分抗炎和抗菌作用及其机制。E-mail: libin6033@sina.com

DRX-500型核磁共振(NMR)仪(德国Bruker公司); Mat-212型磁式电子轰击质谱(EI-MS)仪(美国Varian公司)。

1.2 试剂

氘代核磁试剂(英国CIL实验室); 色谱用硅胶H(粗孔, 粒度为100~200目、200~300目, 青岛海洋化工厂); Sephadex LH-20(美国GE公司); ODS RP-18反相硅胶(粒径为20~40 μ m, 日本YMC公司); 其他试剂均为分析纯。

1.3 药材

白叶蒿药材采自四川茂县, 采集时间为2012年6月, 经第三军医大学生药理学教研室鉴定为菊科白叶蒿 *A. leucophylla* (Turcz. ex Bess.) Clarke的全草。

2 方法与结果

2.1 提取与分离

取自然干燥后的白叶蒿全草药材3.5 kg, 粉碎, 过200目筛, 以8倍量体积的70%乙醇回流提取3次, 每次2 h, 减压干燥, 得到总提取物579 g。取500 g总提取物以水混悬, 再依次以石油醚、乙酸乙酯、正丁醇进行萃取, 回收有机溶剂至干, 依次得到白叶蒿石油醚提取物81 g、乙酸乙酯提取物103 g、正丁

醇提取物 124 g 及水部分 192 g。

取乙酸乙酯部位,经硅胶柱色谱分离,以石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱(30:1→1:1),一共得到5个组分。其中,组分1~3经硅胶柱色谱反复分离,以石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱(30:1→1:1),结合Sephadex LH-20色谱纯化,得到化合物1(20 mg)、2(13 mg)、3(9 mg)、4(25 mg)、5(31 mg);组分4~5经硅胶柱色谱反复分离,以石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱(10:1→1:1),结合制备薄层色谱(TLC)和Sephadex LH-20色谱纯化,得到化合物6(10 mg)、7(6 mg)。

另取正丁醇部位,经硅胶柱色谱分离,以三氯甲烷-甲醇梯度洗脱(20:1→1:1),一共得到5个组分。其中,经硅胶柱色谱反复分离,以三氯甲烷-甲醇梯度洗脱(20:1→1:1),结合ODS RP-18和Sephadex LH-20色谱纯化,从组分1~3中分离得到化合物8(17 mg)、9(11 mg);从组分4中分离得到化合物10(14 mg);从组分5中分离得到化合物11(12 mg)。

2.2 化合物结构鉴定

化合物1:白色针晶,mp 242~244 °C。EI-MS(m/z):427[M+H]⁺; ¹H-NMR(CDCl₃, 500 MHz, J /Hz) δ (ppm): 4.71(1H, s, H-29), 4.59(1H, s, H-29), 3.21(1H, m, H-3), 1.71(3H, s, 30-CH₃), 1.06(3H, s, 26-CH₃), 1.01(3H, s, 23-CH₃), 0.96(3H, s, 27-CH₃), 0.80(3H, s, 25-CH₃), 0.78(3H, s, 28-CH₃), 0.75(3H, s, 24-CH₃); ¹³C-NMR(CDCl₃, 125 MHz) δ (ppm): 153.0(C-20), 111.3(C-29), 79.7(C-3), 56.1(C-5), 51.5(C-9), 48.7(C-18), 48.2(C-19), 44.2(C-14), 42.8(C-17), 40.7(C-8), 40.5(C-22), 39.8(C-4), 38.9(C-1), 38.1(C-13), 37.5(C-10), 36.6(C-16), 34.9(C-7), 30.3(C-23), 29.6(C-21), 27.5(C-15), 27.3(C-2), 25.2(C-12), 21.9(C-11), 19.4(C-30), 18.7(C-6), 18.1(C-28), 16.4(C-25), 15.8(C-26), 15.3(C-24), 14.1(C-27)。由以上光谱数据和理化性质结合参考文献^[6]鉴定该化合物为羽扇豆醇(Lupeol)。

化合物2:黄色粉末。EI-MS(m/z):271[M+H]⁺; ¹H-NMR(DMSO-*d*₆, 500 MHz, J /Hz) δ (ppm): 7.92(2H, dd, J =2.3, 8.1 Hz, H-2', H-6'), 6.94(2H, dd, J =2.3, 8.1 Hz, H-3', H-5'), 6.67(1H, s, H-3), 6.41(1H, d, J =2.1 Hz, H-8), 6.13(1H, d, J =2.1 Hz, H-6); ¹³C-NMR(DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ (ppm): 182.1(C-4), 164.59(C-7), 164.2(C-2), 162.9(C-5), 161.4(C-9), 157.9(C-4'), 129.1(C-2', C-6'), 123.7(C-1'), 115.4(C-3', C-5'), 105.2(C-3), 103.7(C-10), 99.6(C-6), 94.4(C-8)。由以上光谱数据和理化性质结合参考文献^[7]鉴定该化合物为芹菜素(Apigenin)。

化合物3:黄色粉末。EI-MS(m/z):287[M+H]⁺; ¹H-NMR(DMSO-*d*₆, 500 MHz, J /Hz) δ (ppm): 7.69(1H, dd, J =2.3, 8.1 Hz, H-6'), 7.46(1H, dd, J =2.3 Hz, H-2'), 7.06(1H, dd, J =8.1 Hz, H-5'), 6.70(1H, s, H-3), 6.41(1H, d, J =1.8 Hz, H-8), 6.19(1H, d, J =1.8 Hz, H-6); ¹³C-NMR(DMSO-*d*₆, 125 MHz) (ppm): 181.5(C-4), 165.7(C-7), 164.1(C-2), 162.0(C-5), 158.3(C-9), 151.1(C-4'), 146.5(C-3'), 121.3(C-1'), 119.7

(C-6'), 116.9(C-5'), 113.5(C-2'), 106.1(C-10), 104.1(C-3), 99.2(C-6), 94.1(C-8)。由以上光谱数据和理化性质结合参考文献^[7]鉴定该化合物为木犀草素(Luteolin)。

化合物4:黄色粉末。EI-MS(m/z):317[M+H]⁺; ¹H-NMR(DMSO-*d*₆, 500 MHz, J /Hz) δ (ppm): 12.71(1H, s, —OH), 10.63(1H, s, —OH), 9.27(1H, s, —OH), 9.19(1H, s, —OH), 7.84(1H, d, J =1.7 Hz, H-2'), 7.73(1H, dd, J =1.7, 8.5 Hz, H-6'), 6.98(1H, d, J =8.5 Hz, H-5'), 6.43(1H, d, J =1.7 Hz, H-8), 6.11(1H, d, J =1.7 Hz, H-6), 3.46(3H, s, 3'—OCH₃); ¹³C-NMR(DMSO-*d*₆, 125 MHz) (ppm): 178.8(C-4), 164.1(C-7), 161.7(C-5), 156.2(C-9), 148.9(C-2), 147.2(C-3'), 146.6(C-4'), 136.2(C-3), 122.3(C-1'), 121.7(C-6'), 115.8(C-5'), 112.5(C-2'), 104.1(C-10), 98.9(C-6), 94.0(C-8), 56.2(—OCH₃)。由以上光谱数据和理化性质结合参考文献^[8]鉴定该化合物为异鼠李素(Isorhamnetin)。

化合物5:白色粉末。EI-MS(m/z):345[M+H]⁺; ¹H-NMR(CDCl₃, 500 MHz, J /Hz) δ (ppm): 4.04(2H, m, H₂-1'), 3.72(1H, t, J =5.3 Hz, H-2'), 3.45(2H, m, H₂-3'), 2.25(2H, m, H-2), 1.52(2H, m, H-3), 1.20(26H, m, H-4~16), 0.80(3H, t, J =6.5, 7.1 Hz, 17-CH₃); ¹³C-NMR(CDCl₃, 125 MHz) δ (ppm): 175.8(C-1), 71.5(C-2'), 66.8(C-1'), 64.4(C-3'), 35.3(C-2), 33.4(C-15), 31.1(C-4~14), 26.3(C-3), 24.0(C-16), 14.7(C-17)。由以上光谱数据和理化性质结合参考文献^[9]鉴定该化合物为十七烷酸单甘油酯(Monoheptadecanoin)。

化合物6:无色油状物,365 nm下有强烈的蓝色荧光。EI-MS(m/z):193[M+H]⁺; ¹H-NMR(CDCl₃, 500 MHz, J /Hz) δ (ppm): 7.61(1H, d, J =9.8 Hz, H-4), 6.94(1H, s, H-8), 6.78(1H, s, H-5), 6.34(1H, d, J =9.8 Hz, H-3), 6.21(1H, s, 7-OH), 3.96(3H, s, 6-OCH₃); ¹³C-NMR(CDCl₃, 125 MHz) δ (ppm): 161.7(C-2), 151.2(C-8a), 149.7(C-6), 144.1(C-7), 143.6(C-4), 112.9(C-3), 111.7(C-4a), 108.2(C-8), 103.6(C-5), 57.1(6-OCH₃)。由以上光谱数据和理化性质结合参考文献^[10]鉴定该化合物为东莨菪内酯(Scopoletin)。

化合物7:无色针晶,365 nm下有强烈的蓝色荧光,mp 224~226 °C。EI-MS(m/z):163[M+H]⁺; ¹H-NMR(CDCl₃, 500 MHz, J /Hz) δ (ppm): 7.58(1H, d, J =9.8 Hz, H-4), 6.83(1H, dd, J =2.3, 8.9 Hz, H-6), 6.71(1H, d, J =2.3 Hz, H-8), 6.51(1H, d, J =8.9 Hz, H-5), 6.21(1H, d, J =9.8 Hz, H-3)。由以上光谱数据和理化性质结合参考文献^[9]鉴定该化合物为伞形花内酯(Umbelliferone)。

化合物8:黄色粉末。EI-MS(m/z):433[M+H]⁺; ¹H-NMR(DMSO-*d*₆, 500 MHz, J /Hz) δ (ppm): 7.78(2H, d, J =8.3 Hz, H-2', H-6'), 6.94(2H, d, J =8.3 Hz, H-3', H-5'), 6.41(1H, J =1.5 Hz, H-8), 6.18(1H, d, J =1.5 Hz, H-6), 5.32(1H, d, J =1.1 Hz, H-1''), 4.13(1H, d, J =1.3 Hz, H-5''), 3.77(1H, m, H-2''), 3.51(2H, m, H-3'', H-4''), 0.96(3H, d, J =5.5 Hz, —CH₃); ¹³C-NMR(DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ (ppm): 180.7(C-4), 165.7

(C-7), 163.5(C-5), 161.7(C-9), 159.4(C-4'), 159.6(C-2), 136.4(C-3), 132.1(C-2', C-6'), 122.8(C-1'), 116.7(C-3', C-5'), 106.1(C-1''), 103.2(C-10), 100.8(C-6), 95.0(C-8), 73.4(C-2''), 72.3(C-5''), 72.2(C-4''), 72.1(C-3''), 17.9(C-6''). 由以上光谱数据和理化性质结合参考文献^[10]鉴定该化合物为山柰酚-3-O-鼠李糖苷(Kaempferol-3-O- α -l-rhamnoside)。

化合物9:黄色粉末。EI-MS(m/z):449[M+H]⁺; ¹H-NMR(DMSO- d_6 , 500 MHz, J /Hz) δ (ppm): 12.39(1H, s, —OH), 10.94(1H, s, —OH), 10.35(1H, s, —OH), 8.05(2H, d, $J=8.0$ Hz, H-2', H-6'), 6.89(2H, d, $J=8.0$ Hz, H-3', H-5'), 6.45(1H, s, H-8), 6.22(1H, s, H-6), 5.45(1H, d, $J=7.5$ Hz, H-1''), 5.32~3.09(10H, H-2''~6'', 4-OH); ¹³C-NMR(DMSO- d_6 , 125 MHz) δ (ppm): 177.8(C-4), 164.1(C-7), 161.4(C-5), 159.5(C-9), 156.3(C-4'), 156.2(C-2), 133.2(C-3), 130.8(C-2', C-6'), 120.2(C-1'), 115.1(C-3', C-5'), 104.3(C-1''), 100.9(C-10), 98.9(C-6), 93.5(C-8), 77.4(C-2''), 76.4(C-5''), 74.3(C-4''), 69.2(C-3''), 60.6(C-6''). 由以上光谱数据和理化性质结合参考文献^[10]鉴定该化合物为山柰酚-3-O-葡萄糖苷(Kaempferol-3-O- α -l-glucoside)。

化合物10:黄色粉末。EI-MS(m/z):579[M+H]⁺; ¹H-NMR(DMSO- d_6 , 600 MHz, J /Hz) δ (ppm): 7.81(2H, d, $J=8.7$ Hz, H-2', H-6'), 6.90(2H, d, $J=8.7$ Hz, H-3', H-5'), 6.67(1H, $J=1.9$ Hz, H-8), 6.42(1H, d, $J=1.9$ Hz, H-6), 5.46(1H, s, H-1''), 5.32(1H, d, $J=1.1$ Hz, H-1''), 1.19(1H, d, $J=6.1$ Hz, —CH₃), 0.79(1H, d, $J=5.4$ Hz, —CH₃); ¹³C-NMR(DMSO- d_6 , 150 MHz) δ (ppm): 178.5(C-4), 162.3(C-7), 160.9(C-5), 160.2(C-9), 159.8(C-4'), 156.1(C-2), 135.7(C-3), 130.2(C-2', C-6'), 122.3(C-1'), 115.4(C-3', C-5'), 105.8(C-1''), 104.7(C-1''), 101.9(C-10), 99.4(C-6), 98.4(C-8), 94.2(C-4''), 71.6(C-5''), 71.1(C-2''), 70.5(C-4''), 70.3(C-3''), 70.2(C-5''), 70.1(C-2''), 69.5(C-3''), 17.9(C-6''), 17.5(C-6''). 由以上光谱数据和理化性质结合参考文献^[10]鉴定该化合物为山柰酚-3-7-二鼠李糖苷(Kaempferitrin)。

化合物11:无色片晶,难溶于一般有机试剂,微溶于甲醇,易溶于二甲基亚砷(DMSO),mp 166~168 °C;NMR数据与文献^[11]基本一致,故鉴定该化合物为甘露醇(d -Mannitol)。

3 讨论

本研究通过硅胶、ODS RP-18、Sephadex LH-20等柱色谱方法对白叶蒿进行分离纯化,并根据化合物的理化性质和波谱数据鉴定其结构,一共分得11个化合物,均为首次从该植物中分离得到。

由于分离获得的化合物成分含量较低,故无法进行系统的活性评价。但是,在对白叶蒿总提取物、石油醚部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位和水部位进行体外抗菌评价试验后显示,白叶蒿总提取物、乙酸乙酯部位和正丁醇部位对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、肺炎杆菌、肠球菌、绿脓杆菌5种临床分离株的细菌均显示出较好的抗菌活性,证明白叶蒿具有广泛和良好的抗菌活性(另文发表),可为其活性成分的进一步开发及临床应用奠定试验基础。

参考文献

- [1] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会.中国植物志:第七十六卷第二分册[M].北京:科学出版社,1991:106.
- [2] 《新疆植物志》编辑委员会.新疆植物志:第五卷[M].乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社,1999:175.
- [3] 张燕,张洪斌.白叶蒿挥发油成分研究[J].生物技术,2005,15(4):52.
- [4] 张燕,张洪斌.白叶蒿脂肪酸成分研究[J].琼州学院学报,2008,15(5):54.
- [5] 王怀玉,彭锐,王征帆,等.毛细管GC法测定不同产地青蒿中樟脑和冰片的含量[J].中国药房,2012,23(15):1395.
- [6] 赵琴,梁锐君,张玉洁,等.余甘子根的化学成分研究[J].中草药,2013,44(2):133.
- [7] 张琳,邵赞,赵晓辉,等.藏药斑唇马先蒿的化学成分研究[J].天然产物研究与开发,2013,25(1):40.
- [8] 柳继锋,张雪梅,施瑶,等.野八角茎叶化学成分研究[J].中草药,2012,43(1):51.
- [9] Lin WY, Yen MH, Teng CM, et al. Cerebrosides from the rhizomes of *Gynura japonica*[J]. JCCS,2004,51(1):1429.
- [10] 沈玉萍,钟雄雄,余筱洁,等.中药香椿叶的化学成分研究[J].中国药学杂志,2013,48(1):22.
- [11] 马柱坤,戴源,张蓓蓓,等.高山大戟化学成分的研究[J].西北药学杂志,2012,27(1):1.

(收稿日期:2013-07-27 修回日期:2013-10-16)

美中医药开发协会(SAPA)简介

本刊讯 美中医药开发协会(Sino-American Pharmaceutical Professionals Association,以下简称SAPA)成立于1993年,总部设在美国东部的药谷-新泽西州。SAPA自成立以来发展迅速,目前已有数个分会和4000多名会员,成为美国全国性的最活跃的华人专业协会之一。SAPA的会员主要来自美国大中型制药公司及生物技术公司。会员的专业技术领域涵盖整个医药产业研发和生产的每一个环节。在如此庞大的会

员数量和高级技术人才的支持下,SAPA多年来不断地推动美国和中国在传统制药、生物制药及仿制药在知识教育层面上的交流。为美中两国医药的发展构架了桥梁并起到了极大的促进作用。作为在美国注册的非营利机构,SAPA长期以来得到美国及美国以外跨国公司的慷慨赞助和支持。SAPA一如既往地为中国和美国制药行业的同仁提供科技研讨、人才交流、知识培训和技术交流的广阔平台。