

板蓝根的化学成分研究

林子君, 刘晓秋, 韩娜, 刘智惠, 滕福康, 殷军*

沈阳药科大学 中药学院, 辽宁 沈阳 100016

摘要: 目的 研究板蓝根乙醇提取物的醋酸乙酯和正丁醇萃取层中的化学成分。方法 采用反复硅胶柱色谱、凝胶柱色谱法进行分离纯化, 根据化合物的理化性质和波谱数据鉴定化合物的结构。结果 分离鉴定了 12 个化合物, 分别为喜果苷(1)、quinovic acid-3 β -O- β -D-glucopyranosyl-(28 $\rightarrow$ 1)- β -D-glucopyranosyl ester (2)、quinovic acid-3 β -O- β -D-glucopyranosyl (3)、棕榈酸甲酯(4)、水杨酸(5)、远志醇(6)、腺苷(7)、靛玉红(8)、靛蓝(9)、大黄素(10)、 β -谷甾醇(11)和 β -胡萝卜素(12)。结论 化合物 1、2、3 为首次从十字花科植物中分离得到, 化合物 4 为首次从菘蓝属植物中分离得到。

关键词: 板蓝根; 十字花科; 菘蓝属; 喜果苷; 棕榈酸甲酯; 化学成分

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2011)05-0381-03

Chemical constituents of in roots of *Isatis indigotica*

LIN Zi-jun, LIU Xiao-qiu, HAN Na, LIU Zhi-hui, TENG Fu-kang, YIN Jun

School of Traditional Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents in acetic ether and *n*-butyl alcohol fractions from the roots of *Isatis indigotica* alcohol extract. **Methods** The compounds were isolated by a combination of silica gel column and ODS column chromatography. Physicochemical characteristics and spectroscopic evidences were employed for the structural identification. **Results** Twelve compounds were isolated and identified as vincoside-lactam (1), quinovic acid-3 β -O- β -D-glucopyranosyl-(28 $\rightarrow$ 1)- β -D-glucopyranosyl ester (2), quinovic acid-3 β -O- β -D-glucopyranoside (3), methyl palmitate (4), salicylic acid (5), polygalitol (6), adenosine (7), indirubin (8), indigotin (9), emodin (10), β -sitosterol (11), and β -daucosterol (12). **Conclusion** Compounds 1, 2, and 3 are identified for the first time from the plants in family Cruciferae, compound 4 is identified for the first time in the plants of *Isatis* L. **Key Words:** the roots of *Isatis indigotica* Fort.; family Cruciferae; *Isatis* L.; vincoside-lactam; methyl palmitate; chemical constituents

板蓝根系十字花科菘蓝属植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥根, 味苦, 性寒, 归心、胃经, 具有清热解毒、凉血利咽的功效, 用于温毒发斑、舌绛紫暗、痄腮、喉痹、烂喉丹痧、大头瘟疫、丹毒、痈肿。作为传统中药, 板蓝根应用相当广泛, 临床上多用于治疗流感、肝炎、腮腺炎、流脑、扁桃体炎等病毒性、细菌性疾病。关于板蓝根的研究报道很多^[1-2], 已从中分离出近百个化合物, 主要有生物碱、有机酸、黄酮类、木脂素类、蒽醌类、甾醇类、芥子苷类、含硫类、酯类、氨基酸类、核苷类、香豆素类化合物。板蓝根是一种常见的抗菌药物, 本课题组研究发现以板蓝根醇提取物的醋酸乙

酯层和正丁醇萃取层的抗菌活性尤为突出。因此, 本实验对板蓝根醋酸乙酯层和正丁醇层的化学成分进行了研究, 分离鉴定了 12 个化合物, 分别为喜果苷(1)、quinovic acid-3 β -O- β -D-glucopyranosyl-(28 $\rightarrow$ 1)- β -D-glucopyranosyl ester (2)、quinovic acid-3 β -O- β -D-glucopyranosyl (3)、棕榈酸甲酯(4)、水杨酸(5)、远志醇(6)、腺苷(7)、靛玉红(8)、靛蓝(9)、大黄素(10)、 β -谷甾醇(11)和 β -胡萝卜素(12), 其中化合物 1、2、3 为首次从十字花科植物中分离得到, 化合物 4 首次从菘蓝属植物中分离得到。

1 仪器与材料

收稿日期: 2011-06-08

作者简介: 林子君 (1981—), 女, 吉林省长春市人, 沈阳药科大学药学专业研究生, 2005 年毕业于吉林农业大学中药材学院, 获得中药学和计算机双学士学位, 先后就职于长春迪瑞实业有限公司研发部和北京中新会计师事务所有限公司, 研究方向为化合物分离。

E-mail: lilyshelley@yeah.net

*通讯作者 殷军 E-mail: yinjun826@sina.com

Bruker ARX-300 型核磁共振光谱仪; ZAB 22F 型质谱仪; Acculab ALC-1104 电子天平 (北京赛多利斯仪器系统有限公司); Kudos SK5200H 型超声波清洗器 (上海科导超声仪器有限公司)。

柱色谱硅胶 (200~300 目)、薄层色谱硅胶 (青岛海洋化工有限公司); 实验所用药材购于沈阳药材批发市场, 经沈阳药科大学药学教研室殷军教授鉴定为菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥根。

2 提取与分离

取板蓝根药材 9 kg, 用 10 倍量 30% 乙醇提取 2 次, 每次 1 h, 趁热滤过, 药渣再用 10 倍量 30% 乙醇提取 1 h, 趁热滤过, 将 2 次滤液合并, 浓缩至 10 L, 再用 30% 甲醇 10 L 复溶, 离心, 取上清液, 剩余部分用 50% 甲醇溶解离心, 取上清液, 将 2 次上清液合并, 浓缩后得到粗提物。粗提物用适量水分散, 依次用醋酸乙酯和正丁醇萃取。取醋酸乙酯层萃取物 (40.2 g), 使用常压硅胶柱色谱分离, 二氯甲烷-甲醇溶剂系统 (100:0~1:1) 梯度洗脱, 分离得到 5 个流分 (I~V)。流分 I 经硅胶柱色谱分离, 以石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱, 分别得化合物 4、11、8、10。流分 II 经硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇梯度洗脱, 分别得化合物 5、12。流分 IV 经硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇梯度洗脱, 再经反复重结晶, 得到化合物 1、2。

取正丁醇萃取物 (56.7 g) 使用常压硅胶柱色谱分离, 二氯甲烷-甲醇溶剂系统 (100:0~1:1) 梯度洗脱, 分离得到 4 个流分 (VI~IX)。流分 VI 经硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇梯度洗脱, 得到化合物 3。流分 VII 经硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇梯度洗脱, 得到化合物 9。流分 VIII 经硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇梯度洗脱, 亚流分 VIII-I 反复进行 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离, 得到化合物 6, 亚流分 VIII-II 反复重结晶, 得到化合物 7。

3 结构鉴定

化合物 1: 无色片状结晶 (甲醇), 10% H_2SO_4 -EtOH 加热显色, 呈黄色斑点, mp 201~202 °C; ESI-MS m/z : 499.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 、497.2 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 、996.8 $[2\text{M}+\text{H}]^+$, 推测分子式 $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_8$, 相对分子质量 498。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 400、2 910、1 660、1 580。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CD_3OD): 低场区 δ 7.45 (1H, d, $J=2.2$ Hz) 为一个烯氢质子信号, δ 7.42 (1H, d, $J=7.7$ Hz)、7.30 (1H, d, $J=7.9$ Hz)、7.08 (1H, t, $J=7.1$ Hz)、

6.99 (1H, t, $J=7.3$ Hz) 为苯环上相连的 4 个氢信号, δ 4.70 (1H, d, $J=7.8$ Hz) 为糖的端基质子信号, δ 5.29 (1H, dd, $J=17.1, 1.6$ Hz)、5.19 (1H, dd, $J=10.2, 1.8$ Hz) 为直链双键上两个氢信号, δ 3.42~3.18 (4H, m) 为糖上氢信号。 $^{13}\text{C-NMR}$ (300 MHz, CD_3OD) 给出 26 个碳信号, δ 166.0 为一个羰基碳信号, δ 149.0、138.3、134.9、133.9、127.9、122.5、120.4、120.0、118.8、111.9、109.2、109.0 低场处的 12 个烯碳信号, 提示含有 6 个双键, δ 99.6 为糖的端基碳信号, 结合碳信号 δ 75.8、78.2、71.1、78.5、63.4 和端基质子偶合常数, 推测存在一分子 β 构型的吡喃葡萄糖。以上波谱数据与文献报道的喜果苷基本一致^[3], 所以鉴定化合物为喜果苷。

化合物 2: 白色针晶 (甲醇), ESI-MS m/z : 828.2 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ 、802.2 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 、1619.3 $[2\text{M}-\text{H}]^+$, 推测分子式为 $\text{C}_{42}\text{H}_{66}\text{O}_{15}$, 其相对分子质量为 810。10% H_2SO_4 -EtOH 加热显色, 呈红色斑点。紫外灯 256 nm 下有暗斑, 365 nm 下有蓝紫色荧光, 推测其为三萜皂苷类化合物。UV λ_{max} : 210 nm。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 423、2 927、1 713、1 692、1 074。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CD_3OD): 高场区显示 6 个甲基信号 δ 1.01 (3H, s)、0.97 (3H, s)、0.91 (6H, t)、0.88 (3H, s)、0.82 (3H, s)。低场区 δ 5.62 (1H, br s) 为 1 个烯氢质子信号, δ 5.38 (1H, d, $J=7.9$ Hz)、 δ 4.30 (1H, d, $J=7.9$ Hz) 为 2 个糖端基质子信号。 $^{13}\text{C-NMR}$ (300 MHz, CD_3OD) 给出 42 个碳信号, δ 179.1、177.9 为两个羰基碳信号, δ 133.3、130.9 为两个烯碳信号, δ 106.7、95.6 提示化合物中含有两分子糖, 结合碳信号 δ 78.6、78.3、78.3、77.7、75.7、73.9、71.7、71.2、62.8、62.6 和端基质子偶合常数, 提示结构中存在两分子 β 构型葡萄糖, δ 28.50、21.4、19.2、18.1、17.1、16.96 为 6 个甲基碳信号, δ 39.98、27.1、19.3、37.8、23.9、26.4、25.8、37.0、31.2 为 9 个亚甲基碳信号, δ 56.9、55.3、49.8、40.2、38.3 为 5 个次甲基碳信号, δ 57.3、48.1、40.8、40.1、38.0 为 5 个季碳信号。以上数据与文献报道的核磁数据基本一致^[4], 故确定化合物为 quinic acid-3 β -O- β -D-glucopyranosyl-(28 $\rightarrow$ 1)- β -D-glucopyranosyl ester。

化合物 3: 白色粉末, EI-MS m/z : 648, 10% H_2SO_4 -EtOH 加热显色, 呈红色斑点。紫外灯 256 nm 下有暗斑, 365 nm 下有蓝紫色荧光, 提示其为三萜皂苷类化合物。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CD_3OD): 高场区显示 6 个甲基信号 δ 1.01 (3H, s)、0.97 (3H,

s)、0.91 (6H, t)、0.88 (3H, s)、0.82 (3H, s)。低场区 δ 5.62 (1H, br s) 为1个烯氢质子信号, δ 4.30 (1H, d, $J=7.9$ Hz) 为糖的端基质子信号。以上数据与文献报道的 quinovic acid-3 β -O- β -D-glucopyranosyl 的核磁数据基本一致^[4], 所以鉴定化合物为 quinovic acid-3 β -O- β -D-glucopyranosyl。

化合物 4: 白色结晶, EI-MS m/z : 270, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 高场区在 δ 1.36~1.25, δ 1.61 处显示裂分为多重峰的 13 个亚甲基信号。 δ 2.28 (2H, t, $J=6.0$ Hz)、0.86 (3H, t, $J=6.5$ Hz) 信号的出现, 提示该化合物连接一个乙基片段。 δ 3.45 (3H, s) 提示该化合物连有一个甲氧基信号, 以上波谱数据与文献报道的棕榈酸甲酯数据一致^[5], 所以鉴定化合物为棕榈酸甲酯。

化合物 5: 无色针状结晶 (甲醇), 三氯化铁-铁氰化钾反应呈阳性, 提示有酚羟基存在。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CD_3OD) δ : 7.94 (1H, dd, $J=1.6$ 、8.0 Hz)、7.53 (1H, dt, $J=1.6$ 、8.0 Hz)、7.02 (1H, d, $J=8.0$ Hz)、6.95 (1H, d, $J=8.0$ Hz), 提示结构中存在邻二取代的苯环。根据以上理化性质及光谱数据, 对照文献报道^[6], 鉴定该化合物为水杨酸。

化合物 6: 无色片状结晶 (石油醚), ESI-MS m/z : 187 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 提示相对分子质量为 164。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CD_3OD) δ : 3.88 (1H, dd, $J=5.3$ 、11.0 Hz)、3.59 (1H, dd, $J=5.6$ 、11.8 Hz)、3.82 (1H, dd, $J=11.9$ 、2.0 Hz)、3.45 (1H, m)、3.41 (1H, m)、3.28 (1H, m)、3.23 (1H, m)、3.13 (1H, m)。以上波谱数据与文献报道的远志醇一致^[7], 所以鉴定化合物为远志醇。

化合物 7: 白色无定形粉末, 易溶于水、甲醇, 难溶于丙酮。Dragendorff 反应呈阳性, 推测为生物碱类化合物。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO): 在 δ 3.56~4.62 出现了裂分为多重峰的 5 个氢信号, 可能为糖上质子信号, δ 8.39、8.13 (each 1H, s) 为芳香质子信号, 但是位于较低场, 故推测该质子为芳香氮杂环上的氢。以上数据与文献报道的腺苷一致^[8], 所以鉴定化合物为腺苷。

化合物 8: 紫色针状结晶, 与靛玉红对照品共薄层色谱, 经石油醚-丙酮 (8:1)、石油醚-醋酸乙酯 (5:1)、二氯甲烷-甲醇 (10:1)、石油醚-醋酸乙酯 (1:1) 展开系统展开, R_f 值一致, 薄层板上为同一斑点, 故鉴定化合物为靛玉红。

化合物 9: 蓝紫色粉末, 具有升华性, 与靛蓝

对照品共薄层色谱, 经二氯甲烷-丙酮 (10:1)、二氯甲烷-甲醇 (20:1)、石油醚-醋酸乙酯 (5:1) 展开系统展开, R_f 值一致, 薄层板上为同一斑点, 故鉴定化合物为靛蓝。

化合物 10: 砖红色针状结晶 (吡啶), 不溶于水, 易溶于氯仿、二甲基亚砜。mp 251~254 $^{\circ}\text{C}$ 。 $\text{Mg}(\text{OAc})_2$ 和 Borntrager's 反应呈阳性, 推测为羟基蒽醌类化合物。与大黄素对照品共薄层色谱, 经石油醚-醋酸乙酯 (3:1)、环己烷-醋酸乙酯 (2:1)、石油醚-丙酮 (5:1) 展开系统展开, R_f 值均一致, 薄层板上为同一斑点, 故鉴定为大黄素。

化合物 11: 白色针状结晶 (丙酮), mp 134~136 $^{\circ}\text{C}$ 。紫外灯下无暗斑, 10% H_2SO_4 -EtOH 显紫色。醋酐-浓硫酸反应呈阳性, 推测为甾体类化合物。与 β -谷甾醇对照品共薄层色谱, 经石油醚-丙酮 (10:1)、石油醚-醋酸乙酯 (6:1)、环己烷-醋酸乙酯 (4:1) 展开系统展开, R_f 值均一致, 且显色过程相同, 故鉴定为 β -谷甾醇。

化合物 12: 白色无定形粉末 (丙酮-甲醇), mp 297~299 $^{\circ}\text{C}$ 。紫外灯下无暗斑, 10% H_2SO_4 -EtOH 显紫红色。醋酐-浓硫酸反应呈阳性, 推测为甾体皂苷类化合物。与胡萝卜苷对照品共薄层色谱, 经氯仿-甲醇 (10:1)、氯仿-丙酮 (1:1)、石油醚-丙酮 (1:3) 溶剂系统展开, R_f 值均一致, 且显色过程相同, 故鉴定化合物为胡萝卜苷。

参考文献

- [1] 薛多清, 柳继锋, 张雪梅, 等. 板蓝根的化学成分研究 [J]. 中草药, 2006, 37(9): 1306-1309.
- [2] 方建国, 刘云海, 王文清, 等. 板蓝根清热解毒实质研究 [J]. 中草药, 2008, 39(3): 321-324.
- [3] Erdelmeier C A J, Wright A D, Orjala J, et al. New indole, alkaloid glycosides from *Nauclea orientalis* [J]. *Planta Med*, 1991, 57: 149-152.
- [4] Aquino R, De Simone F, Pizza C, et al. Quinovic acid glycosides from *Guettarda platypoda* [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27(9): 2927-2930.
- [5] 杨鹏鹏, 闫福林, 梁一兵, 等. 紫花地丁化学成分的研究 [J]. 新乡医学院学报, 2008, 25(2): 186-187.
- [6] 张贵杰, 李 宁, 熊元君, 等. 骆驼刺的化学成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2009, 44(12): 898-899.
- [7] 徐 晗, 方建国, 王少兵, 等. 板蓝根化学成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2003, 38 (6): 418-419.
- [8] 刘云海, 吴晓云, 方建国, 等. 板蓝根化学成分研究(4) [J]. 医药导报, 2003, 22(9): 591-594.