椭圆叶花锚的利胆有效成分分离与鉴定

刘黄刚[1]，张铁军[2, 3, 4*]，王丽莉[2]，杨振容[5]，潘明佳[2]

1. 天津中医药大学，天津 300193
2. 天津药物研究院，天津 300193
3. 天津市中药质量控制技术工程实验室，天津 300193
4. 释药技术与药代动力学国家重点实验室，天津 300193
5. 天津市塘沽区中医医院，天津 300451

摘 要：目的 通过药理实验确定椭圆叶花锚利胆作用的有效部位，并对其进行成分分离与鉴定。**方法** 采用胆管引流法试验椭圆叶花锚的利胆作用，并确定了有效部位。再利用硅胶柱色谱、ODS、葡聚糖凝胶等色谱手段分离，通过 ^{1}H-NMR、^{13}C-NMR 等波谱技术确定化合物的结构。**结果** 从椭圆叶花锚利胆有效部位分离得到了 9 个化合物，分别为 2,3,5-trimethoxy-1-*O*-primevero-syloxyxanthone（**1**）、2，3，4，5-etramethoxy-1-*O*-primeverosyloxyxanthone（**2**）、l，8-dihydroxy-3，5-dimethoxanthone（**3**）、2，3，4，5，7-pentamethoxy-1-*O*-primeverosyloxyxanthone（**4**）、2，3，4，7-etramethoxy-1-*O*-primeverosyl- oxyxanthone（**5**）、木犀草苷（**6**）、木犀草素（**7**）、齐墩果酸（**8**）、熊果酸（**9**）。**结论** 其中化合物 **3** 为首次从椭圆叶花锚中分得。

关键词：椭圆叶花锚；化学成分；利胆作用

中图分类号：R284.1 **文献标志码：**A **文章编号：**1674 - 6376 (2011) 06 - 0448 - 03

Isolation and identification of cholaneresis active ingredients from *Halenia elliptica*

LIU Huang-gang[1], ZHANG Tie-jun[2, 3, 4], WANG Li-li[2], YANG Zhen-rong[5], PAN Ming-jia[2]

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China
2. Tianjin Institute of Phamaceutical Research, Tianjin 300193, China
3. Tianjin Engineering Laboratory of Quality Control Technology for Chinese Materia Medica, Tianjin 300193, China
4. State Kay Laboratory of Drug Delivery Technology and Pharmacokinetics, Tianjin 300193, China
5. Chinese Medicine Hospital of Tianjin Tanggu, Tianjin 300451, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents from *Halenia elliptica*, which have been confirmed choleretic effect. **Methods** Biliary drainage method was used to test the choleretic effect of *H. elliptica* and the compounds were identified. The compounds were isolated by chromatography (silica gel, ODS, and HPLC) and identified on the basis of physicochemical constants and spectral analysis (^{1}H-NMR and ^{13}C-NMR). **Results** Nine sesquiterpenoids were isolated and their structures were identified as 2,3,5-trimethoxy-1-*O*-primeveros-yloxyxanthone (**1**), 2,3,4,5-etramethoxy-1-*O*-primeverosyloxyxanthone (**2**), l,8-dihydroxy-3,5-dimethoxanthone (**3**), 2,3,4,5,7-pentamethoxy-1-*O*-primeverosy-loxyxanthone (**4**), 2,3,4,7-etramethoxy-1-*O*-primeverosyl-oxyxanthone (**5**), cinaroside (**6**), luteolin (**7**), anolic acid (**8**), and ursolic acid (**9**). **Conclusion** Compound **3** is isolated from *H. elliptica* for the first time.

Key words: *Halenia elliptica* D. Don; chemical constituents; choleretic effect

龙胆科 Gentianaceae 花锚属植物全球有 80 余种，分布在北半球及南美，其中已进行有关植化研究的只有 4 种：花锚 *Halenia corniculata* (L.) Cornaz.、椭圆叶花锚 *H. elliptica* D. Don、*H. cornpanulata* 和 *H. asclepiadea* G. Don。我国有该属植物两种，为花锚和椭圆叶花锚[1]。椭圆叶花锚蒙名为希赫日-地格达，味苦，性平，清热、利胆、退黄、治伤，治黄疸、头痛、发烧、伤热、脉热[2]。藏药名为甲地然果，性味苦、寒，清热利湿，平肝利胆。用于急性黄疸型肝炎、胆囊炎、头晕头痛、牙痛[3]。在我国，该属植物药用历史较长，故具有很高的药理研究价值，值得进一步深入研究。本实验采用胆管引流法确定椭圆叶花锚的利胆有效部位，再利用硅胶柱色谱、ODS、葡聚糖凝胶等色谱技术对其利胆有效部

收稿日期：2011-07-12

*通讯作者 张铁军 E-mail：zhangtj@tjipr.com

位进行分离，并鉴定化合物的结构，分别为 2，3，5-trimethoxy-1-*O*-primevero-syloxyxanthone（**1**）、2，3，4，5-etramethoxy-1-*O*-primeverosyloxyxanthone（**2**）、l，8-dihydroxy-3，5-dimethoxanthone（**3**）、2，3，4，5，7-pentamethoxy-1-*O*-primeverosyloxyxanthone（**4**）、2，3，4，7-etramethoxy-1-*O*-primeverosyl-oxyxanthone（**5**）、木犀草苷（**6**）、木犀草素（**7**）、齐墩果酸（**8**）、熊果酸（**9**）。

1 仪器与试药

Bruker AV—400 核磁共振仪，Agilent-LC-MSD-Trap-SL 质谱仪；凝胶柱色谱：ToyopearlHW—40C（Tosoh）；氘代试剂（ALDRICH 公司）；UV6000LP HPLC（天津兰博实验仪器设备有限公司）；柱色谱和薄层色谱用硅胶均系青岛海洋化工厂生产，所用试剂均为分析纯。

2 药理实验

取自然干燥的椭圆叶花锚 5.0 kg，粉碎后用 95% 乙醇加热回流提取 3 次，每次 2 h。提取液减压浓缩，得浸膏 400 g，浸膏加水混悬后，分别用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取，得石油醚提取物 53 g，醋酸乙酯提取物 180 g，正丁醇提取物 140 g。乙醇提取物和醋酸乙脂部分进行利胆实验，采用胆管引流法，阳性对照药为熊去氧胆酸，结果阳性药和醋酸乙脂部位均能明显增加大鼠胆汁流量，椭圆叶花锚醇提物作用较弱。故确定醋酸乙脂部分为利胆有效部位。

3 利胆有效成分的提取与分离

提取分离方法如药理实验所述，得到的醋酸乙脂部分经硅胶柱色谱分离，用二氯甲烷和甲醇系统梯度洗脱，等份收集，获得 5 个流份，再用硅胶和凝胶柱色谱反复纯化得到 9 个纯品。

4 结构鉴定

化合物 **1**：黄色针晶。^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 7.67 (1H, dd, J＝7.9, 1.6 Hz), 7.45 (1H, dd, J＝8.0, 1.6 Hz), 7.34 (1H, t, J＝7.9 Hz), 7.09 (1H, s), 3.98～3.78 (3H, s), 4.94 (1H, d, J＝7.7 Hz); ^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 148.5 (C-1), 139.1 (C-2), 159.2 (C-3), 97.3 (C-4), 153.8 (C-4a), 144.7 (C-4b), 147.9 (C-5), 115.7 (C-6), 123.7 (C-7), 116.5 (C-8), 112.3 (C-8a), 175.1 (C-9), 109.0 (C-9a), 104.2 (C-1′), 73.2 (C-2′), 76.4 (C-3′), 69.4 (C-4′), 76.5 (C-5′), 67.9 (C-6′), 103.4 (C-1″), 74.0 (C-2″), 76.4 (C-3″), 69.8 (C-4″), 65.4 (C-5″)，3 个甲基信号 δ 60.9, 56.8, 56.2。该化合物波谱数据与文献数据对照基本一致[4]，故鉴定化合物 **1** 为 2,3,5-trimethoxy-1-*O*-primeverosyloxyxanthone。

化合物 **2**：黄色针晶。^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 7.63 (1H, dd, J＝7.9 Hz, H-8), 7.44 (1H, dd, J＝7.9 Hz, H-6), 7.33 (1H, t, J＝7.9 Hz, H-7), 4.95 (1H, d, J＝7.5 Hz, H-l′), 4.00, 3.96, 3.94, 3.78 (4×3H, s, 2, 3, 4, 5-OMe), 2.90～5.10 (10 H, m, sugar protons); ^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 147.1 (C-1), 137.5 (C-2), 152.3 (C-3), 142.6 (C-4), 144.2 (C-4a), 144.7 (C-4b), 148.2 (C-5), 116.5 (C-6), 123.9 (C-7), 116.1 (C-8), 122.2 (C-8a), 175.4 (C-9), 111.2 (C-9a), 104.2 (C-1′), 74.0 (C-2′), 76.4 (C-3′), 69.8 (C-4′), 76.3 (C-5′), 68.2 (C-6′), 103.5 (C-1″), 73.2 (C-2″), 76.3 (C-3″), 69.4 (C-4″), 65.4 (C-5″)，4 个甲基信号 δ 61.5, 61.4, 61.3, 56.8。该化合物波谱数据与文献对照基本一致[5]，故鉴定化合物 **2** 为 2,3,4,5-etramethoxy-1-*O*-primeverosyloxyxanthone。

化合物 **3**：黄色针晶。^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 11.98 (1H, s, 1-OH), 11.38 (1H, s, 8-OH), 7.22 (1H, d, J＝9.0 Hz, H-6), 6.70 (1H, d, J＝9.0 Hz, H-7), 6.53 (1H, d, J＝2.0 Hz, H-4), 6.34 (1H, d, J＝2.2 Hz, H-2), 3.94 (3H, s, 5-OMe), 3.88 (3H, s, 3-OMe); ^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 162.8 (C-1), 97.9 (C-2), 167.4 (C-3), 93.1 (C-4), 154.1 (C-4a), 139.8 (C-4b), 145.4 (C-5), 109.3 (C-6), 102.8 (C-7), 157.7 (C-8), 120.2 (C-8a), 184.6 (C-9), 108.1 (C-9a)，两个甲氧基信号 δ 57.3, 56.0。该化合物波谱数据与文献对照基本一致[6]，故鉴定化合物 **3** 为 1,8-dihydroxy-3,5-dimethoxyxanthone。

化合物 **4**：黄色粉末。^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 2.8～5.1 (12 H, m, 糖上质子), 4.91 (1H, d, J＝1.9 Hz, H-1′), 3.83, 3.86, 3.96, 3.98, 4.04 (each 3H, s, 5×OCH_3), 7.04 (1H, d, J＝3.2 Hz, H-6), 7.04 (1H, d, J＝3.2 Hz, H-8)；^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 147.0 (C-1), 137.5 (C-2), 152.0 (C-3), 142.5 (C-4), 144.1 (C-4a), 140.1 (C-4b), 149.3 (C-5), 106.3 (C-6), 155.7 (C-7), 96.0 (C-8), 122.1 (C-8a), 110.8 (C-8b), 175.0 (C＝O), 104.2 (C-1′), 73.9 (C-2′), 76.3 (C-3′), 69.8 (C-4′), 76.3 (C-5′), 68.2 (C-6′), 103.5 (C-1″), 73.1 (C-2″), 76.3 (C-3″), 69.4 (C-4″), 65.3 (C-5″), 55.6, 56.7 (2×MeO), 61.2, 61.3, 61.4 (3×MeO)。该化合物波谱数据与文献对照基本一致[7]，故鉴定化合物 **4** 为 2,3,4,5,7-pentamethoxy-1-*O*-

primeverosyloxyxanthone。

化合物 **5**：黄色针晶。^{1}H-NMR (DMSO-d_6, 400 MHz) δ: 7.62 (1H, d, J=9.2 Hz, H-5), 7.42 (1H, dd, J=9.2, 3.2 Hz, H-6), 7.51 (1H, d, J=3.2 Hz, H-8), 4.89 (1H, d, J=7.2 Hz, H-1′), 3.83, 3.86, 3.95, 4.04 (each 3H, s, 4×OCH_3), 2.8～5.1 (12H, m, 糖上质子); ^{13}C-NMR (DMSO-d_6, 100 MHz) δ: 147.3 (C-1), 137.3 (C-2), 152.4 (C-3), 142.5 (C-4), 144.4 (C-4a), 149.1 (C-4b), 119.3 (C-5), 124.3 (C-6), 155.8 (C-7), 105.8 (C-8), 121.8 (C-8a), 110.9 (C-8b), 104.2 (C-1′), 74.0 (C-2′), 76.3 (C-3′), 69.8 (C-4′), 76.3 (C-5′), 68.2 (C-6′), 103.5 (C-1″), 73.2 (C-2″), 76.4 (C-3″), 69.4 (C-4″), 65.4 (C-5″), 175.2 (C=O), 55.7, 61.3, 61.4, 61.7 (4×OCH_3)。该化合物波谱数据与文献对照基本一致[7]，故鉴定化合物 **5** 为 2,3,4,7-etramethoxy-1-*O*-primeverosyloxyxanthone。

化合物 **6**：黄色针晶。^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 12.99 (1H, s, 5-OH), 7.44 (1H, d, J=2.3 Hz, H-2′), 7.40 (1H, dd, J=2.3, 8.5 Hz, H-6′), 6.88 (1H, d, J=8.6 Hz, H-5′), 6.78 (1H, d, J=7.2 Hz, H-1″), 3.16-3.72 (6H, m, sugar protons); ^{13}C-NMR (DMSO-d_6, 100 MHz) δ: 181.8 (C-4), 164.5 (C-2), 162.9 (C-7), 161.1 (C-5)113.3 (C-2′), 105.5 (C-10), 102.9 (C-3), 99.9 (C-1″), 99.5 (C-6), 94.7 (C-8), 77.1 (C-5″), 76.4 (C-3″) 73.1 (C-2″), 69.5 (C-4″), 60.6 (C-6″)。该化合物波谱数据与文献对照基本一致[8]，故鉴定化合物 **6** 为木犀草苷。

化合物 **7**：黄色针晶。^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 12.98 (1H, s, 5-OH), 7.42 (1H, d, J=2.3 Hz, H-2′), 7.40 (1H, dd, J=2.3, 8.2 Hz, H-6′), 6.88 (1H, d, J=8.2 Hz, H-5′), 6.67 (1H, s, H-3), 6.45 (1H, J=2.1 Hz, H-8), 6.19 (1H, d, J=2.1 Hz, H-6); ^{13}C-NMR (DMSO-d_6, 100 MHz) δ: 182.1 (C-4), 164.6 (C-2), 164.3 (C-7), 161.9 (C-9), 157.7 (C-5), 150.2 (C-3′), 146.2 (C-4′), 121.9 (C-6′), 119.4 (C-1′), 116.4 (C-5′), 113.8 (C-2′), 104.1 (C-10), 103.3 (C-3), 99.3 (C-6), 94.3 (C-8)。该化合物波谱数据与文献对照基本一致[9]，故鉴定其为木犀草素。

化合物 **8**：白色结晶粉末。^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 1.14, 1.00, 0.96, 0.88, 0.86, 0.84, 0.71 (each 3H, s, 7×CH_3); ^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 143.8 (C-13), 124.5 (C-12), 76.8 (C-3), 38.4 (C-1), 27.7 (C-2), 38.6 (C-4), 55.7 (C-5), 18.9 (C-6), 32.3 (C-7), 39.9 (C-8), 47.9 (C-9), 37.1 (C-10), 23.8 (C-11), 41.4 (C-14), 27.5 (C-15), 23.7 (C-16), 48.1 (C-17), 40.9 (C-18), 46.0 (C-19), 30.6 (C-20), 33.4 (C-21), 32.6 (C-22), 28.6 (C-23), 15.5 (C-24), 15.1 (C-25), 17.3 (C-26), 26.0 (C-27), 33.3 (C-29), 23.0 (C-30)。以上数据与文献对照基本一致[10-11]，故鉴定化合物 **8** 为齐墩果酸。

化合物 **9**：白色结晶粉末。^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 5.11 (1H, br s, H-12), 3.01 (1H, dd, J=10.3 Hz, H-3), 2.11 (1H, d, J=1.0 Hz, H-18), 1.05, 0.88, 0.87, 0.74, 0.69 (each 3H, s, 5×CH_3); ^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 178.1 (C-28), 138.1 (C-13), 124.5 (C-12), 76.8 (C-3), 38.3 (C-1), 27.2 (C-2), 38.4 (C-4), 54.8 (C-5), 18.2 (C-6), 32.9 (C-7), 39.9 (C-8), 47.3 (C-9), 36.6 (C-10), 23.0 (C-11), 41.7 (C-14), 27.5 (C-15), 24.0 (C-16), 47.1 (C-17), 52.5 (C-18), 39.5 (C-19), 38.6 (C-20), 30.2 (C-21), 36.5 (C-22), 28.4 (C-23), 16.1 (C-24), 15.4 (C-25), 17.1 (C-26), 23.3 (C-27), 17.0 (C-29), 21.1 (C-30)。以上数据与文献对照基本一致[10]，故鉴定化合物 **9** 为熊果酸。

参考文献

[1] 何廷农, 刘尚武, 吴庆如. 中国植物志 [M]. 第 62 卷. 北京: 科学出版社, 1988.

[2] 柳白乙拉, 武绍新卷. 中华本草—蒙药卷 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2004.

[3] 中华人民共和国卫生部药品标准 [S]. 藏药分册.

[4] Recio-Igiesias M C, Marston A, Hostettmann, K. Xanthones and secoiridoid glucodides of *Halenia campanulata* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(4): 1387-1389.

[5] Ghosal S, Sharma P V, Chaudhuri R K, *et al*. Xanthones of *Swertia bimaculata* [J]. *Phytochemistry*, 1975, 14(12): 2671-2675.

[6] van der Sluis W G., Labadie R P. Polyoxygenated xanthones of *Centaurium littorale* [J]. *Phytochemistry*, 1985, 24(11): 2601-2605.

[7] Eodriguez S, Wolfender J L, Odontuya G, *et al*. Xanthones, secoiridoids and flavonoids from *Halenia corniculata* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 40(4): 1265-1272.

[8] 邢春秀, 谢 宁, 杨念云, 等. 杏香兔耳风的化学成分 [J]. 江苏药学与临床研究, 2006, 14(2): 39-41.

[9] 袁经权, 杨峻山, 缪剑华. 飞机草黄酮类成分的研究 [J]. 中药材, 2007, 30(6): 657-660.

[10] 王志伟, 谭晓杰, 马婷婷, 等. 茵陈化学成分的分离与鉴定 [J]. 沈阳药科大学学报, 2008, 25(10): 781-784.

[11] 丁秀娟, 陈 重, 李 夏, 等. 白头翁化学成分研究 [J]. 中草药, 2010, 41(12): 1953-1954.