

等地产者,迥然不同,后者主要含广藿香醇,广藿香酮含量均较低^[5]。因此,可以认为该成分是石牌藿香的特征性成分。是否为其主要有效成分还有待深入研究

3.2 四月采的石牌藿香(生长期为 12个月),叶油中广藿香酮(16.69%)和广藿香醇(18.95%)含量均较低;而 7月采者,广藿香酮急剧增加(65.15%)广藿香醇则减少(6.10%)。茎挥发油中无论是 4月还是 7月采收的,广藿香酮含量均很高(分别为 71.87%和 71.72%),广藿香醇含量均很低(分别为 2.57%和 3.39%)。因此,石牌藿香的挥发油中,无论是广藿香酮含量,还是广藿香酮和广藿香醇总量以及含油率均为 7月采者为高,故传统经验认为 6~7月采收是合理的。茎油和叶油中多种成分相同,仅在含量上有差异。此外,石牌藿香与高要藿香略有不同;后者在 4月采收的叶油中,广藿香醇含量较高(27.96%),广藿香酮较低(7.88%);7月采者,上述二成分的含量均较高(分别为 20.95%和 39.60%)

4月采的茎油中,广藿香酮和广藿香醇含量分别为 49.43%和 11.61%,7月采者分别为 60.48%和 5.77%。高要藿香即使在传统采收期(11月),其广藿香酮含量及广藿香酮和广藿香醇总量仍不及石牌藿香。上述结果似乎从一个侧面反映了石牌藿香道地性的内涵

致谢:本院李显奇参与样品采集和挥发油提取。

参考文献:

- [1] 杨赞熹,谢培山.中药广藿香抗真菌成分——广藿香酮(Pogostone)的分离与结构测定[J].科学通报,1977,22(7):318.
- [2] 关玲,▲丽辉,徐丽珍,等.广藿香化学成分的研究[J].中国中药杂志,1994,19(6):355-356.
- [3] 张强,李章万,朱江粤,等.广藿香挥发油成分的分析[J].华西药学杂志,1996,11(4):249-250.
- [4] 罗集鹏,冯毅凡,郭晓玲,等.高要产广藿香挥发油成分分析[J].中药材,1999,22(1):25-27.
- [5] 冯毅凡,郭晓玲,罗集鹏,等.雷州产广藿香挥发油成分的气相色谱-质谱分析[J].中药材,1999,22(5):241.
- [6] 陈小夏,何冰,李显奇,等.广藿香胃肠道药理作用[J].中药材,1998,21(9):462-466.
- [7] 何冰,陈小夏,李显奇,等.高要和吴川产广藿香对消化系统的作用比较[J].中药材,1999,22(4):201-203.

青蒿素及其前体化合物的提取分离与鉴定

陈有根,余伯阳*,董磊,周亮

(中国药科大学中药学院,江苏 南京 210009)

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2001)04-0302-03

青蒿素是我国药学工作者于 1971年从植物黄花蒿 *Artemisia annua* L. 叶中提取分离得到的一个具有过氧桥的倍半萜类化合物^[1]。由于青蒿素及其衍生物蒿甲醚、双氢青蒿素及青蒿酯钠具有高效低毒的抗疟活性,尤其对具有抗氯喹能力的脑疟和急性疟有效,因此,对青蒿素及其衍生物的研究已经引起了全世界药学工作者的关注。由于青蒿素的化学合成^[2,3]步骤繁多、难度较大、得率低、成本高等诸多因素,至今未能产业化生产,而从植物原料中提取分离青蒿素,用于生产青蒿素及其衍生物制剂成本仍然较高,因此,许多国家的科研工作者都试图通过生物技术的方法,简化生产步骤,提高青蒿素得率,来

解决青蒿素原料生产的问题。研究资料表明:青蒿酸(artemisinic acid, I)^[4]和青蒿乙素(arteannuin B, II)^[5]在原植物中均可被转化为青蒿素。我们在提取分离这二种前体化合物的同时,从不同生长期的黄花蒿中分离得到另外 5个化合物,它们是青蒿素(III)、 β -谷甾醇(IV)、豆甾醇(V)、2,4-羟基-6-甲氧基苯乙酮(VI)和滨蒿内酯(VII),其中,后二者为首次从该植物中得到。此外,我们在综合多个文献^[6-8]方法的基础上,对青蒿酸的提取分离方法进行了改进。

1 仪器、试剂与方法

1.1 仪器与试剂:熔点测定用 WL-1显微测定(未校正)。IR光谱用 NICOLET Impact 410红外光谱

* 收稿日期:2000-06-12

基金项目:江苏省跨世纪学术带头人计划(青蓝工程)资助项目

作者简介:陈有根(1965-),男,江西丰城人,副教授。1993年毕业于江西中医学院,获理学硕士学位。硕士研究生毕业前后,任教于江西中医学院,从事中药鉴定和生药学的教学科研工作。1998年破格晋升为副教授。参与的国家“八五”科技攻关项目“常用中药材的品种整理和质量评价”——陈皮类专题,1996年获国家中医药管理局科技进步二等奖,本人为该专题的主要完成人。现为药科大学药理学博士研究生,师从余伯阳教授,主要研究方向为中药和天然药物活性成分的生物转化。联系地址:江苏省南京市中央门外神农路 1号,中国药科大学 F-10信箱。

* 联系人:Tel 025-3313080

仪测定, KBr压片。 ^1H 谱和 ^{13}C NMR谱用 Varian XL-500型仪器测定, CDCl_3 为溶剂, TMS为内标 EI-MS用 Finnigan FTM S-2000型质谱仪测定。

柱层硅胶(100~200目)和薄层硅胶 G均由青岛海洋化工厂生产,所有试剂均为分析纯。薄层层析板用硅胶 G加 0.3% CMC-Na制备而成。显色剂为 2% 香草醛浓硫酸和 2% 溴甲酚蓝乙醇溶液。喷雾后,电吹风加热显色。

青蒿药材分别采于 6月初、7月中旬和 9月中旬(分别称为幼嫩期、旺盛期和花前期),均采自南京市郊,经作者鉴定为菊科植物黄花蒿(*A. annua* L.)。

1.2 提取与分离: 青蒿酸的提取分离: 幼嫩期黄花蒿叶 1 kg, 10 L丙酮冷浸 3次,每次 48 h,过滤后合并滤液,经旋转薄膜蒸发仪回收溶剂,得浸膏 120 g。加丙酮 120 mL使溶,加柱层硅胶 240 g拌匀,70℃减压挥干丙酮。用石油醚(60℃~90℃)搅拌上柱,用石油醚(60℃~90℃)洗脱至无色,旋转薄膜蒸发仪回收溶剂,得浸膏I 27 g。将浸膏I 用 4倍氯仿溶解,用 0.5% NaOH溶液萃取 3次,第一次 200 mL,后二次各 100 mL,合并碱滤,浓盐酸调 pH至 1,用氯仿萃取 3次,第一次 800 mL,后二次各 400 mL,合并氯仿液,无水硫酸钠脱水后,经旋转薄膜蒸发仪回收氯仿,得浸膏II 12 g。浸膏II 用石油醚(60℃~90℃)溶解后,加 18 g柱层硅胶拌样,上于装有 240 g柱层硅胶的层析柱上,石油醚(60℃~90℃)洗脱至无色后,石油醚(60℃~90℃)-乙酸乙酯(95:5)洗脱,得青蒿酸(1.92 g)。

其它化合物的提取分离: 同文献^[6]。

2 结果与讨论

2.1 化合物VI和VII的鉴定:

化合物VI: 黄色针状结晶(EtOAc)。TLC定性用硅胶 G板,石油醚(60℃~90℃)-丙酮(3:1)展开, $R_f=0.46$, 硫酸乙醇喷雾,显黄色。mp 196℃~197℃。IR cm^{-1} : 3340(br, OH), 1725(C=O)。MS m/z 182(M^+), 167, 152, 124。 ^1H NMR δ 13.77(1H, s, 2-OH与 C=O形成分子内氢键), 5.92(1H, d, J=2 Hz, H-3), 5.82(1H, d, J=2 Hz, H-5), 3.78(3H, s, 6-OMe), 2.48(3H, s, MeCO), 2.46(1H, s, 4-OH); ^{13}C NMR δ 202.1(C=O), 166.2(C-4),

165.3(C-6), 163.3(C-2), 104.5(C-1), 95.6(C-3), 91.3(C-5), 55.8(6-OMe), 32.4(Ac-Me)。鉴定该化合物为 2,4-二羟基-6-甲氧基苯乙酮(2,4-dihydroxy-6-ethoxyacetophenone)。

化合物VII: 白色针状结晶(EtOAc)。TLC定性用硅胶 G板,石油醚(60℃~90℃)-丙酮(3:1)展开, $R_f=0.40$, 紫外线 365 nm 观察,显兰色荧光。mp 144℃~145℃。MS(m/z): 206(M^+)。UV: 229, 294, 342。 ^1H NMR δ 7.58(1H, d, J=7.6 Hz, H-3), 6.82(1H, s, H-8), 6.80(1H, s, H-5), 6.24(1H, d, J=7.6 Hz, H-4), 3.91(3H, s, OMe-7), 3.87(3H, s, MeCO-6)。与文献^[9]一致鉴定为滨蒿内酯(escoparone)。

2.2 青蒿酸、青蒿乙素和青蒿素在植物黄花蒿的不同生长期的累积量不同。TLC显示,幼嫩期植株的叶中,仅见到青蒿酸的斑点;旺盛期植株的叶中,以青蒿乙素为主,同时,可见到青蒿素斑点;花前期植株的叶中,仅见到青蒿素的斑点。

2.3 在提取分离青蒿酸的过程中,曾参照文献^[7,8]操作,但由于蜡质和色素的干扰,效果不佳,故此重新设计了提取分离方法。该方法重现性好。

2.4 从旺盛期植株的叶中,除分得青蒿乙素和青蒿素等主要成分外,还得到 2,4-二羟基-6-甲氧基苯乙酮和滨蒿内酯,这二种化合物是首次从黄花蒿中分得。

参考文献:

- [1] 青蒿素结构研究协作组. 一种新型的倍半萜内酯—青蒿素[J]. 科学通报, 1977, 22(3): 142.
- [2] Zhou Wei-Shan. Total synthesis of arteannuin (Qinghaosu) and related compounds [J]. Pure & Appl Chem, 1986, 58(5): 817-824.
- [3] Schmid G., & Hofheinz, W. Total synthesis of Qinghaosu [J]. J Am Chem Soc, 1983, 105, 624-625.
- [4] 汪猷, 谢志强, 周凤玉, 等. 青蒿素生物合成的研究, III. 青蒿素和青蒿素 B 生物合成中的关键性中间体—青蒿酸[J]. 化学学报, 1988, 46: 1152-1153.
- [5] Nair, M S R, Basile D V. Bioconversion of arteannuin B to artemisinin [J]. J Nat Prod, 1993, 56(9): 1559-1566.
- [6] 田樱, 魏振新, 吴照华. 中药青蒿化学成分的研究[J]. 中草药, 1982, 13(6): 9-11.
- [7] Roth R J and Acton. N Isolation of artemisnic acid from *Artemisia annua* [J]. Planta Med, 1987, 53: 501-502.
- [8] Vonwiller S C, Haynes R K, King G, et al. An improved method for the isolation of Qinghao (artemisinic) acid from *Artemisia annua* [J]. Planta Med, 1993, 59: 562-563.
- [9] 国家医药管理局中草药情报中心站. 植物药有效成分手册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1985.