

· 有效成分 ·

## 板蓝根化学成分研究( )

刘云海<sup>1</sup>, 秦国伟<sup>2</sup>, 耿平<sup>1</sup>, 吴晓云<sup>2\*</sup>

(1. 华中科技大学同济医学院附属同济医院, 湖北 武汉 430030; 2. 中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

**摘要:** 目的 提取分离板蓝根化学成分。方法 板蓝根用 95% 乙醇渗漉, 用不同极性溶剂分级萃取, 再分别用硅胶和大孔树脂作柱层析分离, 测定纯化合物的理化常数和波谱数据, 鉴定化学结构。结果 从板蓝根中分得 2 个化合物, 分别命名为依靛蓝双酮(isaindigotidione, )、(E)-二甲氧苄苄吡啶酮((E)-3-(3, 5-dimethoxy-4-hydroxybenzylidene)-2-indolinone, )。结论 和 为 2 个新化合物

**关键词:** 板蓝根; 提取分离; 依靛蓝双酮; (E)-二甲氧苄苄吡啶酮

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)12-1057-04

### Studies on chemical constituents from root of *Isatis indigotica*

LIU Yun-hai<sup>1</sup>, QIN Guo-wei<sup>2</sup>, DING Shui-ping<sup>1</sup>, WU Xiao-yun<sup>2</sup>

(1. Affiliated Tongji Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan Hubei 430030, China; 2. Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

**Abstract:** **Object** To extract and separate the chemical constituents from the root of *Isatis indigotica* Fort. (Cruciferae). **Methods** The root of *I. indigotica* was percolated with 95% ethyl alcohol, partitioned in solvents of different polarities and finally isolated on silica gel and macroporous resin columns. The purified compounds obtained were identified and structurally elucidated by their physicochemical properties and spectral analysis. **Results** Two compounds were obtained and named as isaindigotidione ( ) and (E)-3-(3, 5-dimethoxy-4-hydroxybenzylidene)-2-indolinone. **Conclusion** The two compounds were new.

**Key words:** the root of *Isatis indigotica* Fort.; extraction and separation; isaindigotidione; (E)-3-(3, 5-dimethoxy-4-hydroxybenzylidene)-2-indolinone

板蓝根在我国传统医学史上应用历史极为悠久,《神农本草经》上品栏中有“蓝实”记载。当今,板蓝根制剂用量之大,堪称中药之最。板蓝根性寒味苦,有清热解毒,凉血消肿之功效,临床广泛用于抗菌、抗病毒,还有抗血小板聚集,增强机体免疫功能等,近年又发现有抗内毒素作用<sup>[1]</sup>。为了寻找其药理作用的物质基础,进行了化学成分提取和分离,得到 31 个化合物,其中 2 个新化合物已予报道<sup>[2]</sup>,现将另 2 个新化合物报道如下。

#### 1 材料与仪器

1.1 材料:板蓝根采集于辽宁省沈阳市苏家屯地区,经沈阳药材采集供应站鉴定为十字花科植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的根。层析硅胶、TLC 板 (HSGF<sup>254</sup>),由青岛海洋化工厂提供;显色剂:5% 硫酸乙醇溶液、碘蒸汽;试剂:萃取用为化学纯,层析用

为分析纯。

1.2 仪器:Kofler 显微熔点仪, JASCO DIP-181 型旋光仪; Perkin-Elmer 5998 型红外光谱仪; Bruker-AM-400 型核磁共振仪; Bruker AC-100 和 AC-300 型核磁共振仪; MAT-711 和 MAT-95 型质谱仪; Lichroprep RP-18 (40 ~ 60 μm) (Lobar) E. Merck。

#### 2 方法与结果

2.1 提取和分离:板蓝根 10 kg, 粉碎后用 95% 的乙醇渗漉, 渗漉液减压浓缩去醇得浸膏, 分别用石油醚、氯仿、乙酸乙酯和正丁醇分级萃取, 并分别用硅胶和大孔树脂分离得 为白色粉末固体 600 mg, 为黄色柱状结晶 40 mg。

#### 2.2 结构鉴定

2.2.1 是白色粉状固体, mp 242 , 碘化铯钾试

\* 收稿日期: 2001-04-20

基金项目: 国家自然科学基金资助课题 (No39170877), 卫生部科学研究基金课题 (No98-2-110)

作者简介: 刘云海 (1942-), 男, 江苏如东人, 主任药师, 1965 年毕业于中国药科大学药学专业, 从事医院药学工作。自 20 世纪 90 年代初开始中药抗菌内毒素筛选研究, 发表论文 60 多篇, 参加主编和编写书籍 8 本, 现继续从事抗内毒素中药研究。

验呈阳性。EIMS 显示分子量为 406, 结合元素分析推定分子式为  $C_{23}H_{22}N_2O_5$ 。 的 IR 显示有羟基 ( $3450\text{ cm}^{-1}$ ) 和 2 个羰基 ( $1650, 1655\text{ cm}^{-1}$ ),  $^1\text{H-NMR}$  中显示有 2 个甲氧基:  $\delta$ . 67(6H, s) 和 2 个活泼氢:  $\delta$ . 10, 11.7 (each 1H, s), 重水交换消失。 $^{13}\text{CNMR}$  中  $\delta$ 160.3, 159.3 的 2 个季碳为羰基碳,  $\delta$ 56.0 的 2 个  $\text{CH}_3$  应为甲氧基的碳。综上所述, 中存在 1 个羟基, 2 个甲氧基和 2 个羰基。由此说明了分子式中 5 个氧原子的性质。另外,  $^{13}\text{CNMR}$  中, 除季碳外, 有 8 个  $\text{CH}$ , 3 个  $\text{CH}_2$  和 2 个  $\text{CH}_3$ , 即连接在碳上的氢共有 20 个, 加上 1 个羟基氢, 共有 21 个氢, 而分子式中有 22 个氢, 说明另一个氢与氮相连。所以分子中的 1 个氮以  $\text{NH}$  的形式存在, 另一个氮则以叔胺的形式存在, 由此说明了 2 个氮原子的性质。不饱和度为 14,  $^{13}\text{CNMR}$  显示有 2 个羰基碳 ( $\delta$ 160.3, 159.3), 不饱和度为 2; 别外在  $\delta$ 105.2 ~ 147.3 之间有 14 个烯碳, 说明分子中存在 7 个烯键, 不饱和度为 7。由以上可推出分子中共有 5 个环 (不饱和度为  $5 = 14 - 7 - 2$ )。  $^1\text{H-NMR}$  结合  $^1\text{H}-^1\text{H-COSY}$  推出存在 4 个相耦合的芳香质子:  $\delta$ . 7.31, 8.76 (each 1H, d,  $J = 7.7\text{ Hz}$ ),  $\delta$ . 19, 7.47 (each 1H, t,  $J = 7.72\text{ Hz}$ ), 说明有邻位二取代的苯环存在。另外,  $^1\text{H-NMR}$  显示存在 2 个对称的芳质子:  $\delta$ . 6.44 (2H, s) 和 2 个对称的甲氧基:  $\delta$ . 67(6H, s), 在  $^{13}\text{CNMR}$  中进一步确证了这一点,  $\delta$ 105.2 ( $2 \times \text{CH}$ ), 56.0 ( $2 \times \text{CH}_3$ ), 147.2 ( $2 \times \text{C}$ )。又因分子中除此外别无对称质子和碳, 说明分子中存在一个对称的苯环取代基(2, 6 位或 3, 5 位分别为甲氧基或芳质子)。进一步研究  $^{13}\text{CNMR}$  谱, 发现 显示出高度的芳香化, 即在  $\delta$ 105.2 ~ 147.6 之间有 14 个烯碳: 6 个  $\text{CH}$  和 8 个季碳, 即除了邻位二取代苯环和一个对位的苯环取代基外, 分子中另外一个烯键存在。在高场区, 除 2 个甲氧基的碳外, 还有 3 个  $\text{CH}_2$  和 2 个  $\text{CH}$ , 结合  $^1\text{H-NMR}$ 、 $^1\text{H}-^{13}\text{C-COSY}$  及  $^1\text{H}-^1\text{H-COSY}$  推出存在以下结构片断:  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}$ , 具体为:  $\text{CH}_2$  ( $\delta$ 45.7)  $-\text{CH}_2$  ( $\delta$ 22.1)  $-\text{CH}_2$  ( $\delta$ 32.0)  $-\text{CH}$  ( $\delta$ 1.6)  $-\text{CH}$  ( $\delta$ 48.5), 根据以上的特征, 并查阅已知生物碱的骨架, 推测 的骨架如图 1 所示, 为 2-喹啉酮类生物碱。又根据 HMBC 谱, 发现  $\delta$ 48.5 ( $\text{CH}$ ) 与对称苯环取代基上的芳质子  $\delta$ 6.44 之间有偶合相关点, 可以推出苯环取代基连接于  $\delta$ 48.5 的碳上, 即与片断  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}$  (48.5) 中边缘的  $\text{CH}$  相连。

现已证明分子中存在的邻位二取代的苯环、一

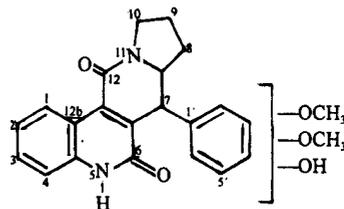


图 1 化合物的基本骨架

个对称的苯环取代基, 和结构片断  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}$ , 所以 3 个取代基的位置只能是 2 和 6 位。又因为取代苯环的对称性, 所以羟基必定在 4 位。在 HMBC 谱中, 2 个对称的芳质子  $\delta$ 6.44 与  $\delta$ 48.5 (C-7) 有偶合相关点, 说明对称芳质子分别在 2, 6 位, 所以 2 个甲氧基分别在 3, 5 位, 如图 2 所示。

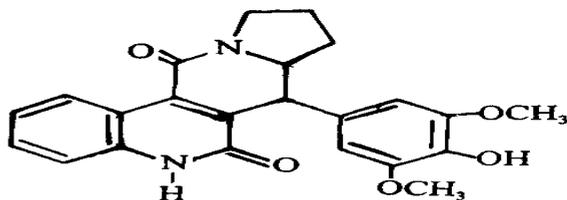


图 2 化合物的化学结构式

据  $^1\text{H}-^{13}\text{C-COSY}$  可知 C-7 ( $\delta$ 48.5) 的氢信号为  $\delta$ . 89(1H, d,  $J = 12.2\text{ Hz}$ ), 由  $J = 12.2\text{ Hz}$  可知 H-7 与 H-7<sub>a</sub> 均为 a 键, 且为反式, 则 的结构有两种可能, 如图 3 所示。

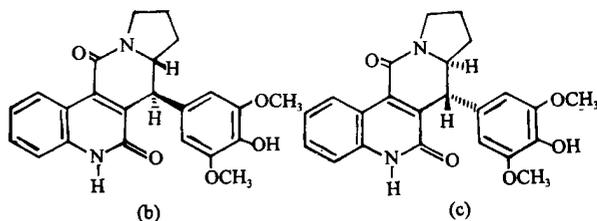


图 3 化合物的 2 种可能的构型

X-衍射实验确证化合物的绝对构型如 (b) 式所示, 即 7-(3, 5-dimethoxy-4-hydroxy) phenyl-7a, 8, 9, 10-tetrahydro-indolizino [7, 6-c] quinoline-6, 12 (5H, 7H) -dione, 经查阅, 发现此化合物为新化合物, 命名为依靛蓝双酮 (isaindigotidione)。NMR 的归属及 C 和 H 远程耦合谱分别见图 4、表 1 和表 2。

2.2.2 化合物 是黄色柱状晶体, mp 204 ~ 206, 碘化铋钾试验呈阳性。EIMS 显示分子量为 297, 通过元素分析推定分子式为  $C_{17}H_{15}NO_4$ 。 的 IR 显示有羟基 ( $3480\text{ cm}^{-1}$ ) 和羰基 ( $1690\text{ cm}^{-1}$ ),  $^1\text{H-NMR}$  中  $\delta$ . 90(6H, s) 表明存在 2 个甲氧基,  $^{13}\text{CNMR}$  中  $\delta$ 170.3 的季碳为羰基碳,  $\delta$ 6.4 的两个  $\text{CH}_3$  应为甲氧基的碳, 综上所述, 中存在 1 个羟基, 2 个甲氧基和 1 个羰基。由此说明了分子式中 4

表 1 的 HMBC 谱的相关性

<sup>13</sup> C	<sup>1</sup> H (δ)	结论
116.6	11.7N(H-5), 7.31(H-4), 7.19(H-2)	116.6(C-12b)
138.5	8.76(H-1), 7.47(H-3)	138.5(C-4a)
135.6	11.7N(H-5), 3.83(H-7a)	135.6(C-6a)
132.1	3.83(H-7a), 6.44(H-2, 6)	132.1(C-1)
147.6	6.44(H-2, 6), 8.10(OH), 3.67(OCH <sub>3</sub> )	147.6(C-3, 5)
134.0	6.44(H-2, 6)	134.0(C-4)
135.3	9.76(H-1)	135.3(C-12a)

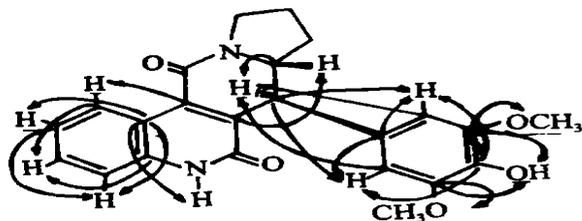


图 4 化合物的 HMBC 耦合相关示意图

表 2 的 NMR 数据(DMSO)

Position	δ <sub>c</sub>	δ <sub>h</sub>	J(Hz)
1	127.6	8.76 d	7.7
2	121.4	7.19 t	7.7
3	129.5	7.47 t	7.7
4	114.9	7.31 d	7.7
4 <sub>a</sub>	138.5		
5(NH)		11.7 s	
6	160.3		
6 <sub>a</sub>	135.6		
7	48.5	3.89 d	12.2
7 <sub>a</sub>	61.6	3.83 m	
8	32.0	1.86, 1.79 m	
9	22.1	1.94, 1.72 m	
10	45.7	3.68, 3.56 m	
12	159.3		
12 <sub>a</sub>	135.3		
12 <sub>b</sub>	116.6		
1	132.1		
2	105.2	6.44	
3	147.6		
4	134.0		
5	147.6		
6	105.2	6.44 s	
OCH <sub>3</sub> × 2	56.0	3.67 s	
OH		8.10 s	

个氧原子的性质。另外，<sup>13</sup>CNMR 中，除季碳外，有 7 个 CH，2 个 CH<sub>3</sub>，即连接在碳上的氢共有 13 个，加上 1 个羟基氢，共有 14 个氢，而分子式中有 15 个氢，说明另一个氢与氮相连。所以分子式中的氮以 NH 的形式存在。不饱和度为 11，<sup>13</sup>CNMR 显示有 1 个羰基碳(δ170.3)，不饱和度为 1；另外在 δ106.8~147.0 之间有 14 个烯碳，说明分子中存在 7 个烯键，不饱和度为 7。由以上可推出分子中共有 3 个环(不饱和度为 3=11-7-1)。<sup>1</sup>HNMR 结合 <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>HCOSY 推出存在四个相互耦合的芳香质子: δ7.78, 6.88(each 1H, d, J=7.70 Hz), δ7.20, 6.89

(each 1H, t, J=7.70 Hz), 说明有邻位二取代的苯环存在。另外<sup>1</sup>HNMR 显示存在 2 个对称的芳质子: δ6.95(2H, s) 和 2 个对称的甲氧基: δ3.90(6H, s), 在<sup>13</sup>CNMR 中进一步确证了这一点, δ106.8(2 × CH), 56.4(2 × CH<sub>3</sub>), 147.0(2 × C)。又因分子中除此外别无对称质子和碳, 说明分子中存在 1 个对称的苯环取代基(2, 6 位或 3, 5 位分别为甲氧基或芳质子)。除以上氢以外,<sup>1</sup>HNMR 中还有 1 个单峰的烯质子: δ7.74。进一步研究<sup>13</sup>CNMR 谱, 发现 显示高度的芳香化, 即在 δ106.8~147.0 之间有 14 个烯碳(7 个 CH 和 7 个季碳), 而在高场区, 除 2 个甲氧基的碳外, 不存在任何其它的碳信号。根据以上官能团, 不饱和度, 碳、氧、氮的特征, 并查阅已知生物碱的骨架, 推测 的骨架如图 5 所示。

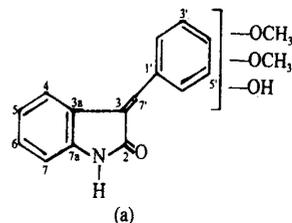


图 5 化合物的基本骨架

的 UV(log ε): 211(4.44), 256(4.22), 379(4.22), 与化合物 1 和 2(见图 6) 的 UV 数据相比较吸收位置和峰的形状十分相似<sup>[3]</sup>, 进一步确证了的骨架。

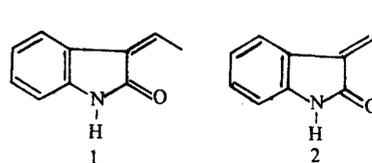


图 6 化合物 1, 2 的骨架

因为分子中存在邻位二取代的苯环和一个对称的苯环取代基, 所以 3 个取代基的位置只能是 1, 7 位。具体可能有以下 3 种可能: 如图 7(b), (c), (d) 式所示。NOE 照射单峰的烯质子 δ7.74(2H, s) 时, 2 个对称的芳质子 δ6.95(2H, s) 有 2.16% 的增益说明烯质子和 2 个对称芳质子的空间位置较近, 说明只有(b) 式符合条件。

(b) 式可能有(E) 和(Z) 两种可能构型。如图 8(b1), (b2) 式所示, 当照射二个对称芳质子 δ6.95(2H, s) 时, 邻位二取代苯环上的芳质子 δ7.78(1H, d, J=7.70 Hz), 即 H-4 有 3.51% 的增益。由此可确定的结构如图 8(b1) 式所示为(E)-3-(3, 5-dimethoxy-4-hydroxybenzylidene)-2-indolinone。

为了进一步确证化合物的结构,我们做了X-衍射实验,结果与上述推断完全相符。经查阅,发现此化合

物为一新化合物。命名为(*E*)-3-(3,5-二甲氧基-4-羟亚苄基)-2-吲哚酮。

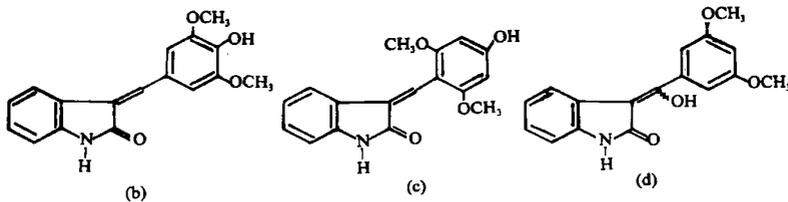


图7 化合物的可能的构型

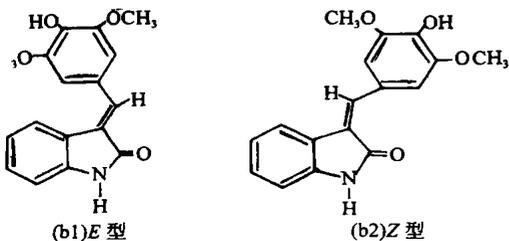


图8 化合物的2种可能构型

NMR的归属见表3。

### 3 讨论

化合物的基本骨架为吲哚[7,6-c]喹啉(indolizino[7,6-c]quinoline),如(d)式所示。通过查阅CA,发现该骨架为新骨架,无论是天然产物还是合成物中,都未曾有此骨架的发现,此骨架是由杂环吲哚和喹啉稠合而成,稠合方式为[7,6-c]。天然产物中只发现这两种杂环以[1,2-b],[1,2-c],[2,3-b]和[2,

3-g]的形式稠合而成的骨架。因此此骨架的发现具有重要的意义。此骨架与已知骨架的沟通如图9所示。

表3 的NMR数据(CDCI<sub>3</sub>)

Position	$\delta_c$	$\delta_H$	J(Hz)
2	170.3		
3	121.9		
3a	125.8		
4	122.8	7.78 d	7.70
5	121.6	6.89 t	7.70
6	129.5	7.20 s	7.70
7	110.2	6.88 d	7.70
7 <sub>a</sub>	141.4		
1	125.8		
2	106.8	6.95 s	
3	147.0		
4	136.6		
5	147.0		
6	106.8	6.95 s	
7	138.2	7.74 s	
OCH <sub>3</sub> × 2	56.4	3.90 s	

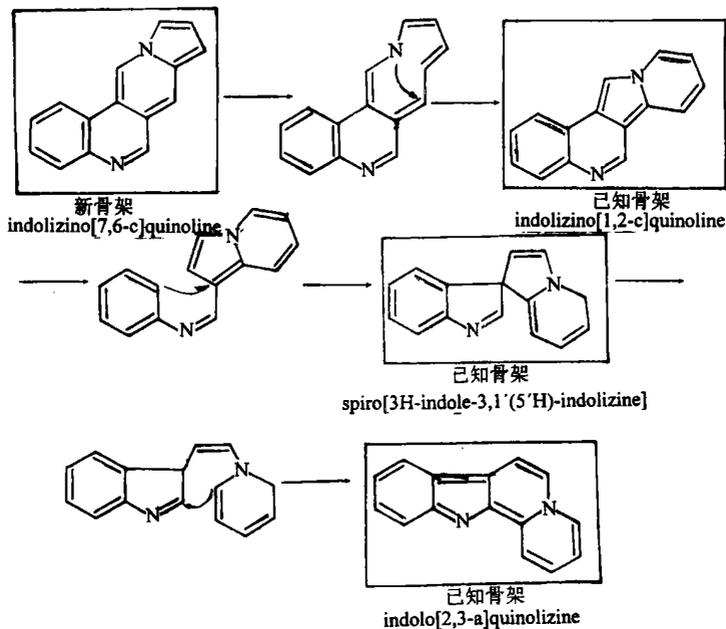


图9 化合物与已知骨架的转换

### 参考文献:

[1] 刘云海. 板蓝根注射液抗内毒素作用的实验研究[J]. 中草药, 1993, 24(8): 413-414.  
 [2] 丁水平, 刘云海, 李敬, 等. 板蓝根化学成分研究( ) [J].

医药导报, 2001, 20(8): 5-6.

[3] Toshikazu N, Tatsuya N, Akinori K. Reactions of indole-related compounds. (*E*) and (*Z*)-2-oxindolin-3-ethylidenedes [J]. Chem Pharm Bull, 1997, 25(1): 196.