

当归挥发油中内酯类成分的提取分离及结构鉴定

胡长鹰¹, 丁霄霖²

(1. 江南大学机械工程学院, 江苏 无锡 214036; 2. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214036)

当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 为伞形科当归属一种多年生草本植物, 是我国常用中药材之一, 有补血、和血、调经止血、润肠滑肠等多种功效^[1]。当归挥发油为当归药效的重要组成, 而多种内酯类物质是当归挥发油的主要有效成分^[1,2]。本实验采用超临界流体萃取技术 (supercritical fluid extraction, SFE) 提取当归挥发油, 用硅胶柱分离纯化得到藁本内酯、正丁烯基苯酞等 6 种内酯类化合物, 通过核磁共振技术 (NMR) 分别鉴定了其结构, 其中 2 种在当归中为首次报道。

1 试验材料

当归 (产地甘肃岷县) 购于江苏无锡山禾药业股份有限公司。粉碎过 20 目筛, 冷藏备用。试剂: 丙酮、正己烷皆为 AR 级 (上海化学试剂公司)。柱色谱硅胶: 100~200 目 (青岛海洋化工厂)。核磁共振仪: Buker-500。超临界萃取装置: HA 141-50-01 型 (江苏南通华安超临界萃取有限公司)。

2 试验方法

2.1 提取方法: 采用 SFE 法。每次试验取当归饮片粉 250 g, 投入萃取釜, 用超临界 CO₂ (SC-CO₂) 萃取。萃取釜压力 18 MPa, 温度 40 °C; 分离釜 I 压力 8 MPa, 温度 50 °C; 分离釜 II 压力 6 MPa, 温度为室温; CO₂ 流量为 10 kg/h; 萃取时间为 2.5 h。

2.2 当归内酯的分离: 将提取的挥发油合并, 用无水硫酸钠干燥, 上硅胶柱 (600 mm × 60 mm)。用正己烷与丙酮的混合溶剂 [正己烷-丙酮 (100:10~50)] 梯度洗脱, 每 100 mL 收集一次, 将收集物进行 GC-MS 检测后分成 1~4 个组份, 将各组份挥去溶剂后, 再反复上硅胶柱 (30 mm × 30 mm), 仍用正己烷与丙酮的混合溶剂 [正己烷-丙酮 (100:10~50)] 梯度洗脱, 每 10 mL 收集一次, 将收集物进行 GC-MS 检测, 直至得到纯的化合物。组份 1 得一个化合物 I, 组份 2 得二个化合物 II、III, 组份 3 得到一个化合物 IV, 组份 4 得 2 个化合物 V、VI。将这 6 个化合物用氘代氯仿溶解后作 ¹H-NMR, ¹³C-NMR 和

¹³⁵DEPT 及 HMQC 谱。

3 结果与讨论

3.1 化合物 I 结构鉴定: 化合物 I 为无色油状物, 相对分子质量 188, 其 ¹H-NMR, ¹³C-NMR 和 DEPT 谱, 同文献^[3], 该化合物为正丁烯基苯酞。由于 H-9 的 δ 值为 5.58, 判定该物为 Z 型, 即 Z-butylideneephthalide^[3]。

3.2 化合物 II 结构鉴定: 化合物 II 为淡黄色油状物, 相对分子质量 190, 其 ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT 谱同文献^[3,4], 该化合物为藁本内酯。由于 H-9 的 δ 值为 5.15, 判定该物为 Z 型, 即 Z-ligustilide^[2,3]。

3.3 化合物 III 结构鉴定: 化合物 III 为无色块状结晶, 其 ¹H-NMR, ¹³C-NMR 和 DEPT 数据见表 1。

表 1 化合物 III 的 ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT 和 HMQC 数据

Table 1 ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT, and HMQC data of compound III

¹ H-NMR (d-CHCl ₃ , δ)	¹³ C-NMR (d-CHCl ₃ , δ)	DEPT	HMQC	
			C	H
6.09 (1H, d, J = 9.4 Hz, H-4)	169.3 (s, C-1)			
5.93 (1H, q, J = 9.4, 4.1 Hz, H-3)	126.0 (d, C-2)			
2.71 (1H, m, H-10)	130.4 (s, C-3)	C-3 up	130.4	5.93
2.70 (1H, m, H-11a)	116.4 (s, C-4)	C-4 up	116.4	6.09
2.54 (1H, m, H-11b)	22.4 (s, C-5)	C-5 up	22.4	2.34
2.34 (2H, m, H-5)	20.5 (s, C-6)	C-6 up	20.5	1.08
1.56 (1H, m, H-9a)	93.4 (s, C-7)			
1.46 (1H, m, H-9b)	158.3 (s, C-8)			
1.08 (2H, m, H-6)	30.6 (s, C-9)	C-9 down	30.6	1.56, 1.46
0.80 (3H, d, J = 7.3 Hz, H-12)	45.4 (s, C-10)	C-10 up	45.4	2.71
	21.6 (s, C-11)	C-11 down	21.6	2.70, 2.54
	14.0 (s, C-12)	C-12 up		

从 ¹³C-NMR 可见共 12 个碳, 含有 1 个羰基结构, 和 1 个连氧双键碳, 4 个双键碳。δ 45.4 处为连氧烷基碳, 另有 5 个烷基碳。从 ¹³⁵DEPT 可见, 低场有 4 个季碳。从 ¹H-NMR 可见, 有二个双键氢, 表明 4 个双键碳成环, 且有 2 个为季碳, 根据以上分析,

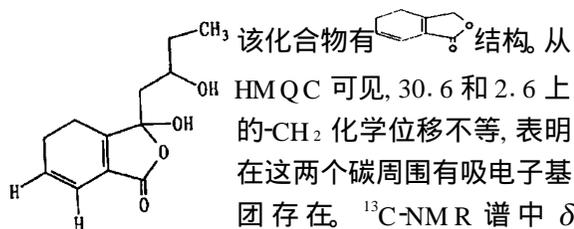
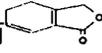


图 1 化合物 III 的结构
Fig. 1 Structure of compound III

该化合物有  结构。从 HMQC 可见, 30.6 和 2.6 上的 -CH₂ 化学位移不等, 表明在这两个碳周围有吸电子基团存在。¹³C-NMR 谱中 δ 45.4 的碳上仅有 1 个氢, 表明该碳上连有 -OH。δ 158.3 处碳连氧数可能超过 1。考虑到 DEPT 中在高场部分仅有 1 个 -CH, 判断 C₈ 位上一定连有 -OH。综合以上分析, 此化合物结构为图 1 所示, 命名为 8, 11-二羟基-藁本内酯, 此化合物在当归中为首次报道。

3.4 化合物 IV 结构鉴定: 化合物 IV 为无色针状结晶, 其 ¹H-NMR, ¹³C-NMR 和 DEPT 数据见表 2。

表 2 化合物 IV 的 ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT 和 HMQC 数据

Table 1 ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT, and HMQC data of compound IV

¹ H-NMR (d-CHCl ₃ , δ)	¹³ C-NMR (d-CHCl ₃ , δ)	DEPT	HMQC	
			C	H
6.13 (1H, q, J = 8.2, 9.6 Hz, H-4)	172.7 (s, C-1)			
5.73 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-3)	51.6 (s, C-2)			
4.79 (1H, t, J = 7.5, 7.5 Hz, H-9)	134.1 (s, C-4)	C-4 up	134.1	6.13
2.13 (2H, t, J = 7.5, 7.2 Hz, H-5)	120.8 (d, C-3)	C-3 up	120.8	5.73
2.06 (1H, m, H-6a)	27.4 (s, C-5)	C-5 down	27.4	2.13
1.84 (1H, t, J = 8 Hz, H-6b)	20.7 (s, C-6)	C-6 down	20.7	2.06, 1.84
1.79 (2H, q, J = 5.7, 8.2 Hz, H-10)	50.4 (s, C-7)			
1.37 (2H, m, H-11)	148.9 (s, C-8)			
	107.8 (s, C-9)	C-9 up	107.8	4.79
0.80 (3H, t, J = 7.4 Hz, H-12)	24.5 (s, C-10)	C-10 down	24.5	1.79
	22.5 (s, C-11)	C-11 down	22.5	1.73
	13.7 (s, C-12)	C-12 up	13.7	0.80

发 有

in Inner Mongolia

从 ¹H-NMR 可见, δ 4.79 为双键上的氢, 其为三重峰, 表明该双键一端为季碳, 另一端连有 -CH₂; δ 5.73 处的双键氢为二重峰, 表明该双键一端连有季碳; δ 6.13 处的双键氢为四重峰, 表明该双键一端连有 -CH₂。由于该化合物系从当归挥发油中分离, 结合上述分析, 应为藁本内酯类似物。但双键上氢的化学位移和裂分情况与藁本内酯正好相反且 H-3 向高场移动, 表明 H-3 邻位连有第二类取代基。从 ¹³C-NMR 谱可见, 该化合物共有 12 个碳, 1 个羰基碳, 1 个连氧双键碳, 另有 3 个双键碳, 51.6, 50.4 为 2 个连氧季碳。从 ¹³⁵DEPT 可见, 在高场区有 4 个 -CH₂ 和 1 个 -CH₃, 低场区有 3 个 -CH。从 HMQC 可见, 6 位 2 个氢化学位移不等, 表明 6-位的邻位有吸

电子基团存在。综合以上分析, 化合物 IV 为图 2 所示, 命名为 2, 7-羟基-藁本内酯, 此化合物在当归中为首次报道。

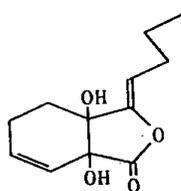


图 2 化合物 IV 的结构
Fig. 2 Structure of compound IV

3.5 化合物 V 结构鉴定: 化合物 V 无色油状物, 其 ¹H-NMR

δ 7.83 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-3), 7.61 (1H, t, J = 7.6, 7.6 Hz, H-4), 7.46 (1H, t, J = 7.6, 7.6 Hz, H-5), 7.37 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-6), 5.42 (1H, t, J = 6.8, 4.8 Hz, H-9), 5.28 (1H, q, J = 6.3, 6.3, 6.8 Hz, H-10), 3.97 (1H, d, J = 4.8 Hz, H-8), 1.59 (2H, H-11), 0.73 (3H, H-12)。

δ > 7 有 4 个氢, 表明为苯环上的二取代。从化学位移和峰的裂分可得, 苯环上为两个不同性质取代基的邻位二取代, 其中一个为第一类取代基, 另一个为第三类取代基, 因此判断有  的结构存在。δ 5.42 和 5.28 处的氢应为双键上的氢, 从氢的裂分峰来看, 应为 $-\overset{\text{H}}{\text{C}}=\overset{\text{H}}{\text{C}}-\text{CH}_2-$ 的结构(双键上为顺式氢)。

δ 3.97 处的氢应为连氧氢。由于该化合物系从当归挥发油中分离, 结合上述分析, 应为内酯类化合物, 命名为 9-丁烯基苯酞。

3.6 化合物 VI 的结构: 根据 ¹H-NMR 光谱数据分析并参照文献^[2, 3], 判断化合物 VI 为 senkyunolide H。

4 结论

超临界流体萃取技术提取当归挥发油具有条件温和、提取率高、内酯类物质得率高并且工艺灵活的特点。用硅胶柱分离纯化当归挥发油可以得到藁本内酯、正丁烯基苯酞等内酯类化合物。利用核磁共振(NMR)分别鉴定了 6 种化合物结构, 其中化合物 III 和 IV 在当归中为首次报道。

References

[1] Ko W C. A newly isolated antispasmodic-butylidenephthalide [J]. *Jpn J Pharmacol*, 1980, 30: 85-91.
 [2] Lin L Z, He X G, Lian L Z, et al. Liquid chromatographic-electrospray mass spectrometric study of the phthalides of *Angelica sinensis* and chemical changes of Z-ligustilide [J]. *J Chromatogr A*, 1998, 810: 71-79.
 [3] Masaru K, Miyuki F, Hiroshi M. Studies on the constituents of Umbelliferae plants. XV. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1987, 35: 1427-1433.
 [4] Kaoudji M, Francin D P, Corinne P, et al. Three additional phthalide derivatives, an epoxy monomer and two dimers, from *Ligusticum wallichii* rhizomes [J]. *J Nat Prod*, 1986, 49(5): 872-877.