

素-3'-葡萄糖苷的数据一致^[10], 鉴定化合物Ⅶ为木犀草素-3'-葡萄糖苷。

化合物Ⅷ: 黄色粉末, mp 230 °C~231 °C, 光谱数据与文献报道的异金雀花素的数据一致^[11], 鉴定化合物Ⅶ为异金雀花素。

化合物Ⅸ: 黄色粉末, mp 225 °C~227 °C。光谱数据与文献报道的异荛素的数据一致^[12], 鉴定化合物Ⅸ为异荛素。

References

- [1] Wu Z Y. *Compendium of New China (Xinhua) Herbal* (新华本草纲要) [M]. Vol 1. Shanghai: Shanghai Scientific and Technic Publishers, 1998.
- [2] Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae, Agendae Academiae Sinicae Edit. *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志) [M]. Tomus 27. Beijing: Science Press, 1979.
- [3] Adam ska T, Mlynarczyk W, Jodynis-Liebert J, et al. Hepatoprotective effect of the extract and isocytiside from *Aquilegia vulgaris* [J]. *Phytother Res*, 2003, 17(6): 691-696.
- [4] Nishida M, Yoshimitsu H, Okawa M, et al. Four new cycloartane glycosides from *Aquilegia vulgaris* and their immunosuppressive activities in mouse allogeneic mixed lymphocyte reaction [J]. *Chem Pharm Bull*, 2003, 51(6): 683-687.
- [5] Chen S B, Gao G Y, Li Y S, et al. Cytotoxic constituents from *Aquilegia ecalcarata* [J]. *Planta Med*, 2002, 68(6): 554-556.
- [6] Chen S B, Wang L W, Gao G Y, et al. Chemical studies on flavonoids from *Aquilegia oxysepala* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1999, 24(3): 158-160.
- [7] Chen S B, Gao G Y, Wang L W, et al. Chemical studies on alkaloids from *Aquilegia oxysepala* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30(1): 8-10.
- [8] Li F Y, Deng S Z, Rao Z G, et al. A study on the chemical constituents of the South China Sea hard coral *Montipora ramose* Bernard [J]. *Chin J Mar Drugs* (中国海洋药物杂志), 1997, (1): 4-6.
- [9] Yang G J, Dong T Y, Chen Z Q. Studies on the chemical constituents of dyerswood (*Isatis tinctoria*) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1996, 27(7): 389-391.
- [10] Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences. *Handbook of Identification of Flavonoids* (黄酮体化合物鉴定手册) [M]. Beijing: Science Press, 1981.
- [11] Abou-Zaid M M, Lombardo D A, Kite G C, et al. A clyated flavone C-glycosides from *Cucumis sativus* [J]. *Phytochemistry*, 2001, 58(1): 167-172.
- [12] Zhang Y J, Yang C R. Chemical studies on *Gentianella azurea*, a Tibetan medicinal plant [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 1994, 16(4): 401-406.

百蕊草的化学成分研究

鲁云霞¹, 汪俊松^{2*}

(1. 安徽医科大学 生化教研室, 安徽 合肥 230032; 2. 中国科学院昆明植物研究所 植物化学室, 云南 昆明 650204)

摘要: 目的 研究百蕊草 *Thesium chinense* 的化学成分。方法 采用反复柱色谱和制备性 HPLC 百蕊草的醋酸乙酯萃取物中分离得到 5 种化合物, 通过理化和光谱分析鉴定其化学结构, 并研究其抗氧化活性。结果 自百蕊草的醋酸乙酯萃取物中分离得到 5 种黄酮苷类化合物, 分别鉴定为: 山柰素-3-O-葡萄糖苷 (kaempferol-3-O-glucoside, I), 柚皮素-4-O-葡萄糖苷 (naringenin-4-O-glucoside, II), 芹菜素-7-O-葡萄糖苷 (apigenin-7-O-glucoside, III), 木犀草素-7-O-葡萄糖苷 (luteolin-7-O-glucoside, IV), 芸香苷 (rutinoside, V)。抗氧化实验结果表明, 化合物 I 的抗氧化作用最强, 3 个浓度中以 1×10^{-4} mol/L 作用最明显。结论 化合物 I 具有较强的抗氧化作用。

关键词: 百蕊草; 黄酮苷; 抗氧化

中图分类号: R 284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)05-0491-03

Study on chemical constituents of *Thesium chinensis*

LU Yun-xia¹, WANG Jun-song²

(1. Department of Biochemistry, Anhui Medical University, Hefei 230032, China; 2. Laboratory of Phytochemistry, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China)

Abstract: **Object** To study the chemical constituents of *Thesium chinensis* Turcz. and their antioxidant effects. **Methods** Isolation and purification were repeatedly carried out on gel column chromatography and preparative HPLC. The structures were identified and elucidated by physicochemical properties and spectral analysis. **Results** Five compounds were elucidated as: kaempferol-3-O-glucoside (I),

naringenin-4-O-glucoside (II), apigenin-7-O-glucoside (III), luteolin-7-O-glucoside (IV), rutinoside (V). It was found that kaempferol-3-O-glucoside (I) was the strongest one in the antioxidation experiment, its optimum concentration was $1 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$. **Conclusion** Compound I is the main antioxidation component isolated from *T. chinensis*.

Key words: *Thesium chinensis* Turcz.; flavone glycoside; antioxidation

百蕊草, 又称百乳草、打食草、一棵松, 为檀香科植物百蕊草 *Thesium chinensis* Turcz. 的全草, 春秋采集晒干, 资源丰富, 全国各地均有分布。苦涩, 性温, 补气益肾, 清热解毒, 解暑, 对多种致病菌有抑制作用, 主治肾虚腰痛, 肾虚头晕, 急性乳腺炎, 大叶性肺炎, 肺脓疡, 各种感染。安徽省合肥中药总厂, 滁州药厂等生产百蕊草片剂、颗粒剂、糖浆剂等多种剂型, 在省内外畅销, 且出口东南亚地区; 安徽省还将其立项为“十五”发展重点, 由合肥神鹿集团拟用现代生物工程技术进行组织培养工厂化生产, 建立百蕊草片剂、颗粒剂、胶囊剂、注射剂等系列制剂产品的生产线。百蕊草中含有黄酮、有机酸、生物碱、甾醇、酚类、挥发油等多种化学成分, 本实验重点对其中的黄酮糖苷类化合物进行了分离和结构鉴定, 并对其抗氧化作用作了初步分析。关于百蕊草中黄酮苷类化合物的抗氧化活性研究国内尚属首次报道。

1 材料与方法

1.1 试剂: 乙醇、甲醇、正己烷、醋酸乙酯、氯仿、硫代巴比妥酸、二甲基亚砷(DMSO)、三氯醋酸等皆为AR级。丙二醛(MDA)测试药盒为南京建成生物工程技术公司产品; 百蕊草购自安徽中医学院附属中医院药房。

1.2 仪器: RY-1型熔点测定仪, 温度未校正(天津分析仪器厂); Nicolet Magna 型红外光谱仪(美国Micronicolet公司), KBr压片; UV-160A型紫外-可见分光光度计(日本岛津制作所); JNM-GX400型核磁共振波谱仪(日本电子株式会社), TMS为内标; ZabSpec型质谱仪(英国Micromass公司); 柱色谱用硅胶及薄层色谱用硅胶G板(青岛海洋化工厂); ODS(10-40 μm) RP-18F₂₅₄S薄层预制板为Merck公司产品; D101型大孔树脂为天津农药厂产品; 分析和制备用HPLC为Waters 600E型高效液相仪, 检测器为Waters 996 Photodiode Array Detector, 色谱柱为Waters Nova-Pak C₁₈(7.8 mm $\times$ 150 mm)。

1.3 提取与分离: 百蕊草粗粉 4.2 kg, 用 95% EtOH 热回流提取 3 次, 每次 3 h, 合并提取液, 减压回收至浓浸膏, 用 30% EtOH 溶解, 分别用石油醚

EtOAc 和 *n*-BuOH 萃取, 得到石油醚萃取物 30 g, EtOAc 萃取物 348 g 和 *n*-BuOH 萃取物 42 g。EtOAc 萃取物经硅胶柱(CHCl₃-MeOH 系统梯度洗脱)和 ODS 柱(MeOH-H₂O 3:7~9:1), 反复柱色谱, 得到化合物 I (40 mg), II (30 mg), III (30 mg), 通过制备性 HPLC 分离纯化得到化合物 IV (120 mg), V (20 mg)。

1.4 抗氧化实验: 利用以上分离黄酮苷进行抗脂质过氧化测定。将老年 SD 大鼠处死, 取肝脏, 以生理盐水制成体积分数为 10% 的肝匀浆。在对照管中加入 0.9 mL 肝匀浆, 0.1 mL DMSO 及 1 mmol/L 硫酸亚铁, 1 mmol/L 维生素 C 各 20 μL ; 在测定管中加入 0.9 mL 肝匀浆, 不同浓度的黄酮苷(用 DMSO 溶解) 0.1 mL 及 1 mmol/L 的硫酸亚铁, 1 mmol/L 维生素 C 各 20 μL , 各做 3 个重复。37 $^{\circ}\text{C}$ 温育 0.5 h, 然后加 1 mL 质量分数为 10% 的三氯醋酸(TCA)及 1 mL 0.67% 硫代巴比妥酸(TBA)。振荡后沸水浴 15 min, 冷却后 3 000 r/min 离心 1 min, 取上清液, 于波长 532 nm 处测吸光度(A_{532})值^[1]。

2 结果与分析

2.1 结构鉴定

化合物 I: 黄色针晶(甲醇), 分子式 $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$, mp 174 $^{\circ}\text{C}$ ~176 $^{\circ}\text{C}$ 。盐酸-镁粉反应呈阳性。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ nm: 349, 267 处有吸收; FAB+ (m/z , %): 449 ($M+1$, 13), 316 (17), 228 (100); EIMS (m/z , %): 286 (苷元, 100), 285 (28), 258 (12), 257 (10), 153 (5), 121 (14), 129 (7), 93 (6); $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): δ 6.40 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-8), 6.18 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-6), 8.0 (2H, d, $J=8.79$ Hz, H-2 和 6), 6.85 (2H, d, $J=8.79$ Hz, H-3 和 5), 5.38 (1H, d, $J=7.3$ Hz, H-1'); $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD): δ 156.3 (C-2), 133.2 (C-3), 177.4 (C-4), 161.2 (C-5), 98.6 (C-6), 164.1 (C-7), 93.5 (C-8), 156.3 (C-9), 104.0 (C-10), 120.9 (C-1), 130.8 (C-2', 6'), 115.0 (C-3', 5'), 159.9 (C-4'), 101.0 (C-1'), 74.1 (C-2'), 76.4 (C-3'), 69.9 (C-4'), 77.3 (C-5'), 60.8 (C-6')。以上数据均与文献一致^[2], 鉴定化合物 I 为山柰素-3-O-葡萄糖苷。

化合物 II: 白色粉末(丙酮), 分子式 $C_{21}H_{22}O_{10}$ 。盐酸-镁粉反应呈阳性, Molish 试剂检验呈阳性反应, 说明化合物是黄酮苷。EIMS, 1H -NMR, ^{13}C -NMR 光谱数据均与文献一致^[3], 因此确定化合物 II 为柚皮素-4-O-葡萄糖苷。

化合物 III: 黄色粉末, mp 178 °C~180 °C, 盐酸-镁粉反应阳性。IR, UV, 1H -NMR, ^{13}C -NMR, FAB-MS 数据与文献对照^[4], 鉴定该化合物为芹菜素-7-O-葡萄糖苷。

化合物 IV: 黄色颗粒状结晶, mp 255 °C~260 °C, 盐酸-镁粉反应阳性。IR, UV, 1H -NMR, ^{13}C -NMR, FAB-MS 数据与文献对照^[5], 鉴定化合物 IV 为槲草素-7-O-葡萄糖苷。

化合物 V: 浅黄色针晶(热乙醇), mp 174 °C~176 °C, 盐酸-镁粉反应阳性, Molish 反应阳性, IR, UV, 1H -NMR, EIMS 光谱数据与文献对照^[6], 鉴定化合物 V 为芸香苷, 即芦丁。

2.2 抗氧化结果评定: 吸光度低表示抗氧化作用强, 吸光度高表示抗氧化作用弱。结果见表 1。

本研究结果初步证明从百蕊草中分得的黄酮苷类化合物(尤其是化合物 I)能明显抑制老年 SD 大鼠肝匀浆的脂质过氧化物的生成, 为进一步研究其药理作用机制奠定了基础。

表 1 化合物 I~V 的抗氧化活性($\bar{x} \pm s$, n=3)

Table 1 Antioxidation of compounds I-V ($\bar{x} \pm s$, n=3)

化合物	A 532		
	$1 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$	$1 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$	$1 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$
I	0.34±0.02	0.31±0.01	0.33±0.03
II	0.37±0.02	0.33±0.04	0.36±0.01
III	0.38±0.03	0.37±0.01	0.41±0.02
IV	0.39±0.01	0.37±0.02	0.38±0.01
V	0.65±0.05	0.65±0.04	0.62±0.03
对照组	0.68±0.03		

References:

- [1] Qian Y G, Jiang H H. Antioxidation effect of isoflavonoids from *Paeonia suffruticosa* Andr [J]. *J Nanjing Agric Univ* (南京农业大学学报), 1998, 21(2): 104-108.
- [2] Markham K R, Ternai B, Stanley R, et al. Carbon-13-NMR studies of flavonoids III naturally occurring flavonoid glycosides and their acylated derivatives [J]. *Tetrahedron*, 1978, 34: 1389-1397.
- [3] Singh V P, Binneta Y, Pandey V B. Flavonone glycosides from *Ahagipnevda hagi* [J]. *Phytochemistry*, 1999, 51(4): 587-590.
- [4] Phytochemical Department of Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences. *Handbook for Identification of Flavonoids* (黄酮体化合物鉴定手册) [M]. Beijing: Science Press, 1981.
- [5] Liang Q L, Ding L S. Chemical study on the flower of *Dolichos lablab* L. [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 1996, 27(4): 205-207.
- [6] Information Center of Chinese Herbal Medicine, State Pharmaceutical Administration of China. *Handbook of Active Constituents in Phytochemistry* (植物药有效成分手册) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1986.

人工蛹虫草化学成分研究

王 刚¹, 麻兵继¹, 刘吉开^{2*}

(1. 安徽中医学院 药理学系, 安徽 合肥 230038; 2. 中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650205)

人工蛹虫草 *Cordyceps militaris* (L.) Link 又称北冬虫夏草, 与冬虫夏草同属麦角菌科虫草属。北方民间曾把蛹虫草作为冬虫夏草应用^[1]。《新华本草纲要》记载其“性平, 味甘, 有益肺肾, 补精髓, 止血化痰”等功效, 用于肺结核及老人虚弱和贫血等症, 为珍贵的中药材^[2]。目前由于人们疯狂搜寻挖掘冬虫夏草, 导致生态环境的破坏, 因而与冬虫夏草齐名的蛹虫草在国际上日益受到人们的关注, 它的开发与生产也为我国开辟了新的营养源和药源。对于冬虫夏草化学成分的研究较多, 而对人工蛹虫草化学成分研究较少, 仅见姜弘等^[3]从人工蛹虫草子实体中

分离得到 8 个化合物, 分别为核苷类、甾醇和脂肪酸类化合物。我们现报道从其人工培养的子实体中得到 7 个化合物, 其中化合物 I, V~VII, 为首次从该真菌中分离得到。本实验通过对人工蛹虫草化学成分的系統研究, 对比两者的化学成分的异同, 为人工蛹虫草代替冬虫夏草药用提供研究基础。

1 仪器与材料

XRC-1 型显微熔点仪(温度计未校正), 四川大学科仪厂出品。NMR 用 Bruker AM-400 和 Bruker DRX-500, 以 TMS 为内标。MS 用 VG Autospec-3000。薄层色谱硅胶及柱色谱硅胶由青

* 收稿日期: 2003-08-12

作者简介: 王 刚, 男, 副研究员, 主要从事天然产物化学成分研究。

* 通讯作者