- cademiae Sinicae Edita. *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志) [M]. Tomus 60. Beijing: Science Press, 1977.
- [2] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1985.
- [3] Hu H B, Zheng X D. The chemical constituents of *Elsholtzia bodinier* V. Seeds grown in Ziwuling [J]. *Chin Acad Med Magn Org* (中国医学生物技术应用), 2004, 3(4): 54-57.
- [4] Hu H B, Liu J X, Zheng X D. The chemical constituents of *Elsholtzia bodinieri* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2006, 37(1): 18-20.
- [5] Hu H B, Jian Y F, Zheng X D, et al. Extraction and determination of β -carotene in *Elsholtzia bodinieri* Van't seeds [J]. *Food Sci* (食品科学), 2006, 27(1): 175-177.
- [6] Hu H B, Jian Y F, Cao H, et al. Study on the extraction process for flavonoids in *Elsholtzia bodinieri* Van't by orthogonal design [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2006, 29(3): 296-298.
- [7] Agrawal P K. NMR Spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(1): 3307-3330.
- [8] Breitmaier E, Voelter W. *Carbon-13-NMR Spectroscopy* [M]. New York: VCH, 1987.
- [9] Zhao Y X, Sun X Y. *Spectroscopic Identification of The Organic Molecular Structure* (有机分子结构光谱鉴定) [M]. Beijing: Science Press, 2003.
- [10] Ma G E, Shen Y W, Lu X Z. To study antimicrobial active principle of *Koeleruteria paniculata* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1998, 29(5): 84-86.
- [11] Bae Y S, Burger J F W, Steynberg J P, et al. Flavan and procyanidin glycosides from the bark of blackjack oak [J]. *Phytochemistry*, 1994, 35(2): 473-478.
- [12] Atsushi N, Kenzo K, Chika T, et al. Occurrence of epijuvaione type sesquiterpenoids in *Abies sachalinensis* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(11): 3373-3780.
- [13] Yang X H, Liu Y Y, Liu L J, et al. A new flavonoid glycoside from *Allium cepa* L. var. *agrogatum* Don [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2003, 35(10): 752-755.

金龙胆草化学成分及其抗溃疡活性研究(I)

苏艳芳^{1*}, 陈磊¹, 罗洋¹, 柴欣¹, 吕敏¹, 果德安²

(1. 天津大学药学院, 天津 300072; 2. 北京大学药学院, 北京 100083)

摘要:目的 研究金龙胆草 *Conyza blinii* 的化学成分及其抗溃疡活性。方法 采用溶剂提取、重结晶和硅胶、聚酰胺柱色谱方法分离纯化, 根据氢谱、碳谱、质谱以及与对照品共薄层色谱鉴定化合物的结构。用幽门结扎大鼠模型进行抗溃疡活性筛选。结果 从金龙胆草的乙醇提取物中分离鉴定了8个化合物: 5, 8, 3', 4'-四羟基-7-甲氧基黄酮(I)、5, 8, 4'-三羟基-7, 3'-二甲氧基黄酮(II)、 β -谷甾醇(III)、菝葜醇(IV)、正二十六烷酸(V)、5, 7-二羟基-3, 3', 4'-三甲氧基黄酮(VI)、5, 7-二羟基-3, 8, 4'-三甲氧基黄酮(VII)和苦蒿素(VIII)。苦蒿素能明显减少模型大鼠胃溃疡面积, 明显减少胃黏膜组织中的MDA的水平。结论 化合物I~III和V~VII为首次从该植物中分离得到。苦蒿素对幽门结扎大鼠胃溃疡的形成有明显抑制作用, 其可能作用机制与抑制胃黏膜组织中MDA的生成有关。

关键词: 金龙胆草; 黄酮; 苦蒿素; 抗溃疡

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)03-0332-03

Chemical constituents and their antiulcerogenic studies on whole herb of *Conyza blinii* (I)

SU Yan-fang¹, CHEN Lei¹, LUO Yang¹, CHAI Xin¹, LÜ Min¹, GUO De-an²

(1. College of Pharmaceutical Sciences and Biotechnology, Tianjin University, Tianjin 300072, China;

2. School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100083, China)

Abstract; Objective To study the chemical constituents in the whole herb of *Conyza blinii* and seek its antiulcerogenic principles. **Methods** Compounds were separated and purified by solvent extraction, recrystallization, and chromatography on silica gel and polyamide column. Their structures were elucidated on the basis of ¹H-NMR, ¹³C-NMR, and MS spectral data and co-TLC with authentic samples. Pylorus-ligated rat model was used for the evaluation of antiulcerogenic activity. **Results** Eight compounds were identified: 5, 8, 3', 4'-tetrahydroxy-7-methoxy flavone (I), 5, 8, 4'-trihydroxy-7, 3'-dimethoxy flavone (II), β -sitosterol (III), spinasterol (IV), *n*-hexacosanic acid (V), 5, 7-dihydroxy-3, 3', 4'-trimethoxy flavone (VI), 5, 7-dihydroxy-3, 8, 4'-trimethoxy flavone (VII), blinin (VIII). Blinin could sig-

收稿日期: 2006-04-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30200024); 天津市自然科学基金资助项目(033607711)

* 通讯作者 苏艳芳 Tel: (022)27402885 Fax: (022)27892025 E-mail: yfsuphd@yahoo.com

nificantly narrow the ulcer area and lower the level of gastric mucous MDA. **Conclusion** Compounds I — III and V — VII are obtained from the title plant for the first time. Blinin is found to possess significant antiulcer property.

Key words: the whole herb of *Conyza blinii* Lévl.; flavonoids; blinin; antiulcer

菊科白酒草属植物全世界共有 80 余种,对其中约 20 种植物的化学研究表明,二萜类、黄酮类和多聚炔类化合物是白酒草属植物的特征成分。金龙胆草为白酒草属植物苦蒿 *Conyza blinii* Lévl. 的干燥全草,主要分布于我国西南地区,具有清热解暑、消炎祛痰、止咳平喘的功效,用于治疗多种炎症,如胃炎和慢性支气管炎等。笔者对金龙胆草乙醇提取物的高极性部位进行了系统的化学研究,分离并鉴定了 17 种新的三萜皂苷,系首次从白酒草属植物分离得到皂苷类化合物^[1~3]。进一步对金龙胆草乙醇提取物的低极性部位的化学研究,获得了 8 个化合物,分别鉴定为 5,8,3',4'-四羟基-7-甲氧基黄酮(I)、5,8,4'-三羟基-7,3'-二甲氧基黄酮(II)、β-谷甾醇(III)、蒽甾醇(IV)、正二十六烷酸(V)、5,7-二羟基-3,3',4'-三甲氧基黄酮(VI)、5,7-二羟基-3,8,4'-三甲氧基黄酮(VII)和苦蒿素(VIII)。在这些化合物中,黄酮类化合物 I、II、VI 和 VII,β-谷甾醇(III)和正二十六烷酸(V)均为首次从金龙胆草中分离得到。苦蒿素是金龙胆草中量最多的一个二萜,因此实验采用幽门结扎大鼠模型,对其抗消化道溃疡活性进行了研究,结果表明苦蒿素能够明显减少模型大鼠胃溃疡面积,并能够明显减少模型大鼠胃黏膜组织中 MDA 的水平。

1 仪器与试剂

熔点用 XT4A 型显微熔点测定仪测定;红外光谱用 Perkin-Elmer 红外光谱仪测定;核磁共振谱用 Bruker AV400 和 INOVA 500 FT 核磁共振仪测定;EI-MS 用 AEI-MS-50 型质谱仪测定。柱色谱、薄层色谱用硅胶为青岛海洋化工厂产品,柱色谱用聚酰胺为浙江黄岩化工厂出品。所用试剂均为分析纯。金龙胆草分 2 次采集,第 1 次于 1996 年 8 月采自四川成都,标本(No. 960818)存放于北京大学药学院;第 2 次于 1999 年 8 月采自同一地点,药材标本存放于天津大学药学院。

2 提取与分离

第一批药材(20 kg)用 95%乙醇回流提取 2 次,提取物经硅胶柱色谱分离,依次用石油醚、氯仿和醋酸乙酯洗脱。石油醚洗脱部分(65 g)经硅胶柱色谱分离,用石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱,流分 67 用

丙酮处理得到化合物 V。氯仿洗脱部分(160 g)经硅胶柱色谱分离,用石油醚-丙酮梯度洗脱,从流分 27.32 和 102~105 分别得到化合物 III、IV 和 I。醋酸乙酯部分经硅胶柱色谱分离,流分 66~75 经聚酰胺柱色谱分离进一步纯化,得到化合物 I。

第二批药材(17 kg)用 95%乙醇回流提取 2 次,然后用 60%乙醇回流提取 1 次。滤液合并后减压浓缩,加水混悬至适当体积,然后依次用石油醚、氯仿萃取。氯仿萃取部分(177 g)经硅胶柱色谱分离,石油醚-丙酮梯度洗脱,流分 73~76 经丙酮处理后得到化合物 VIII(约 5 g);流分 43~46 和流分 48~50 分别经反复硅胶柱色谱分离、重结晶处理后得到化合物 VI 和 VII。

3 结构鉴定

5,8,3',4'-四羟基-7-甲氧基黄酮(I):黄色固体,mp 205~206 °C。¹H-NMR(DMSO-d₆)δ:3.75(3H,s,7-OCH₃),6.56(1H,s,H-6),6.69(1H,s,H-3),6.89(1H,d,J=8.0 Hz,H-5'),7.40(1H,d,J=2.0 Hz,H-2'),7.42(1H,dd,J=2.0,8.0 Hz,H-6'),9.43(1H,s,3'-OH),9.95(1H,s,4'-OH),10.74(1H,s,8-OH),13.10(1H,s,5-OH);¹³C-NMR(DMSO-d₆)δ:163.9(C-2),102.4(C-3),182.0(C-4),157.2(C-5),94.1(C-6),152.4(C-7),131.3(C-8),152.8(C-9),104.1(C-10),121.5(C-1'),113.3(C-2'),145.7(C-3'),149.7(C-4'),116.0(C-5'),119.0(C-6');EI-MS m/z (%):316(M⁺,100),301(M-CH₃,64),298(M-H₂O,55),273(M-CH₃-CO,67),182(A₁⁺,1),167(A₁-CH₃,16),137(B₂⁺,21),135(B₁+H,28),134(B₁⁺,13),109(B₂-CO,3)^[4]。

5,8,4'-三羟基-7,3'-二甲氧基黄酮(II):黄色结晶(丙酮),mp 220~222 °C。¹H-NMR(DMSO-d₆)δ:3.76,3.90(各 3H,s,2×OCH₃),6.63(1H,s,H-6),6.92(1H,s,H-3),6.94(1H,d,J=9.0 Hz,H-5'),7.56(1H,d,J=2.0 Hz,H-2'),7.57(1H,dd,J=9.0,2.0 Hz,H-6'),9.99(1H,s,4'-OH),10.71(1H,s,8-OH),13.10(1H,s,5-OH);¹³C-NMR(DMSO-d₆)δ:163.7(C-2),102.7(C-3),182.2(C-4),157.2(C-5),94.3(C-6),152.4(C-7),131.3(C-

8), 152.7 (C-9), 104.1 (C-10), 121.5 (C-1'), 110.1 (C-2'), 150.7 (C-3'), 148.0 (C-4'), 115.7 (C-5'), 120.3 (C-6'); EI-MS m/z (%): 330 (M^+ , 100), 315 ($M-CH_3$, 68), 312 ($M-H_2O$, 63), 287 ($M-CH_3-CO$, 63), 183 (A_1+H , 3), 167 (A_1-CH_3 , 11), 148 (B_1^+ , 5)^[4]。

β-谷甾醇(Ⅲ): 白色针状结晶(石油醚-醋酸乙酯), mp 134~135 °C。与对照品共薄层色谱, 3种溶剂系统展开, R_f和显色行为均相同。石油醚-醋酸乙酯(4:1), R_f 0.63; 苯-氯仿-丙酮(8:5:1), R_f 0.60; 苯-乙醚(4.2:0.8), R_f 0.44。

菠甾醇(Ⅳ): 白色结晶(石油醚), mp 153~154 °C。IR ν_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 420(OH), 2 953, 2 863(CH), 1 627 (C=C), 1 451 (C=CH); ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 0.55(3H, s, H-18), 0.80(3H, s, H-19), 0.82(3H, d, $J=7.5$ Hz, H-27), 0.85(3H, d, $J=6.5$ Hz, H-26), 1.02(3H, d, $J=6.5$ Hz, H-21), 3.60(1H, m, H-3), 5.02(1H, br d, $J=15$ Hz, H-7), 5.15(2H, m, H-22, 23); ¹³C-NMR (CDCl₃) δ: 37.0 (C-1), 31.4 (C-2), 70.9 (C-3), 37.9 (C-4), 40.2 (C-5), 29.5 (C-6), 117.3 (C-7), 139.4 (C-8), 49.4 (C-9), 34.1 (C-10), 21.4 (C-11), 39.4 (C-12), 43.2 (C-13), 55.0 (C-14), 22.9 (C-15), 28.3 (C-16), 55.8 (C-17), 11.9 (C-18), 12.9 (C-19), 40.6 (C-20), 21.2 (C-21), 138.0 (C-22), 129.4 (C-23), 51.1 (C-24), 31.7 (C-25), 20.9 (C-26), 18.9 (C-27), 25.2 (C-28), 12.0 (C-29); EI-MS m/z (%): 412 (M^+), 397 ($M-CH_3$), 379, 369, 300, 271(100)。

正二十六烷酸(V): 白色固体(丙酮), mp 62~63 °C, 硅胶薄层板上用溴甲酚绿显色, 呈亮黄色。¹H-NMR (CDCl₃) δ: 0.88(3H, t, H-26), 1.25(H-4~25), 1.63 (H-3), 2.35 (2H, t, H-2); EI-MS: 396 (M^+), 382, 368, 354, 340, 326, 312, 218, 213, 185, 171, 130, 129, 116, 115, 101, 87, 73, 60。

5,7-二羟基-3,3',4'-三甲氧基黄酮(Ⅵ): 黄色结晶(甲醇)。¹H-NMR (DMSO- d_6) δ: 3.80, 3.84, 3.85(各3H, s, 3×OCH₃), 6.20(1H, d, $J=2.4$ Hz, H-6), 6.48(1H, d, $J=2.4$ Hz, H-8), 7.62(1H, d, $J=2.4$ Hz, H-2'), 7.15(1H, d, $J=8.8$ Hz, H-5'), 7.67(1H, dd, $J=2.4, 8.8$ Hz, H-6'), 10.82(1H, s, 7-OH), 12.91(1H, s, 5-OH)^[5]。

5,7-二羟基-3,8,4'-三甲氧基黄酮(Ⅶ): 黄色针晶(甲醇)。¹H-NMR (DMSO- d_6) δ: 3.80, 3.81, 3.86(各3H, s, 3×OCH₃), 6.29(1H, s, H-6), 7.16(2H,

d, $J=8.8$ Hz, H-3', 5'), 8.03(2H, d, $J=9.2$ Hz, H-2', 6'), 10.72(1H, s, 7-OH), 12.30(1H, s, 5-OH); ¹³C-NMR (DMSO- d_6) δ: 155.0 (C-2), 137.9 (C-3), 178.0 (C-4), 155.9 (C-5), 98.8 (C-6), 156.9 (C-7), 127.5 (C-8), 148.6 (C-9), 104.1 (C-10), 122.3 (C-1'), 129.8 (C-2'), 114.3 (C-3'), 161.3 (C-4'), 114.3 (C-5'), 129.8 (C-6'), 55.4, 59.7, 60.9 (3×OCH₃)^[4]。

苦蒿素(Ⅷ): 白色针晶(丙酮)。¹H-NMR (CDCl₃) δ: 0.81 (6H, s, H-17, 20), 1.98 (3H, s, CH₃CO), 4.04, 4.50(各1H, d, $J=11.2$ Hz, H-19), 4.27 (1H, brs, H-2), 4.70 (2H, brs, H-16), 5.77 (1H, brs, H-14), 5.82 (1H, brs, H-3); ¹³C-NMR (CDCl₃) δ: 31.6 (C-1), 64.2 (C-2), 125.2 (C-3), 147.8 (C-4), 41.2 (C-5), 27.9 (C-6), 27.1 (C-7), 36.3 (C-8), 38.4 (C-9), 41.4 (C-10), 35.2 (C-11), 21.8 (C-12), 171.1 (C-13), 114.7 (C-14), 174.8 (C-15), 73.5 (C-16), 15.8 (C-17), 62.8 (C-18), 67.2 (C-19), 18.4 (C-20), 21.2 (CH₃CO)^[6]。

4 抗溃疡活性研究

采用幽门结扎大鼠模型,以西咪替丁作为阳性对照药物,对苦蒿素的抗消化道溃疡活性进行了初步研究。结果表明:与西咪替丁每天50 mg/kg相比,苦蒿素剂量为每天50 mg/kg时,能明显减少模型大鼠胃溃疡面积($P<0.05$),并能明显减少模型大鼠胃黏膜组织中MDA的水平($P<0.05$),对胃液分泌、胃液总酸度、胃黏膜组织中·OH的水平没有影响。提示苦蒿素对幽门结扎大鼠胃溃疡的形成有明显抑制作用,其可能作用机制与抑制胃黏膜组织中MDA的生成有关。

References:

- [1] Su Y F, Koike K, Nikaido T, et al. Conyzasaponins I-Q, nine new triterpenoids saponins from *Conyza blinii* [J]. *J Nat Prod*, 2003, 66(12): 1593-1599.
- [2] Su Y F, Koike K, Guo D A, et al. New apiose-containing triterpenoid saponins from *Conyza blinii* [J]. *Tetrahedron*, 2001, 57(31): 6721-6726.
- [3] Su Y F, Guo D A, Guo H Z, et al. Four new triterpenoid saponins from *Conyza blinii* [J]. *J Nat Prod*, 2001, 64(1): 32-36.
- [4] Horie T, Ohtsuru Y, Shibata K, et al. ¹³C-NMR Spectral assignment of the A-ring of polyoxygenated flavones [J]. *Phytochemistry*, 1998, 47(5): 865-874.
- [5] Su Y F, Liu J S, Guo D A, et al. Flavonoids from aerial parts of *Conyza blinii* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(6): 496-497.
- [6] Yang C R, He Z T, Li X C, et al. Blinin, a neoclerodane diterpene from *Conyza blinii* [J]. *Phytochemistry*, 1989, 28(11): 3131-3134.