

仙鹤草地上部分仙鹤草酚 B 的分离与鉴定

贺 成, 秦文杰*, 唐晓晶, 陈玉武, 叶祖光*

中药复方新药开发国家工程研究中心, 北京 100075

摘 要: 目的 分离鉴定仙鹤草 *Agrimonia pilosa* 地上部分的特征成分。方法 应用硅胶及 Sephadex LH-20 柱色谱技术进行分离与纯化, 通过理化性质及波谱数据鉴定其结构。结果 分离鉴定了一个丁酰基间苯三酚类化合物: 仙鹤草酚 B (1)。结论 化合物 1 为仙鹤草地上部分中量相对较高的一个酚性成分, 为研究制定其药材标准提供一个指标成分。仙鹤草酚 B 的 ^{13}C -NMR 光谱数据为首次发表。

关键词: 仙鹤草; 仙鹤草酚 B; 丁酰基间苯三酚; 仙鹤草酚 F; 仙鹤草酚

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)02-0255-02

Isolation and identification of agrimol B from the aerial part of *Agrimonia pilosa*

HE Cheng, QIN Wen-jie, TANG Xiao-jing, CHEN Yu-wu, YE Zu-guang

National Engineering Research Center for R & D of TCM Multi ingredient Drugs, Beijing 100075, China

Key words: *Agrimonia pilosa* Ledeb.; agrimol B; butyrylphloroglucinol; agrimol F; agrimophol

仙鹤草为蔷薇科植物龙牙草 *Agrimonia pilosa* Ledeb. 的干燥地上部分^[1], 主产于浙江、江苏、湖北, 其他地区亦有分布, 具有止血、消炎、驱虫等功效。为研究制定仙鹤草的药材标准, 本实验从仙鹤草的地上部分分离得到一个量相对较高的酚性化合物, 其结构鉴定为仙鹤草酚 B (agrimol B), 首次发表该化合物的 ^{13}C -NMR 光谱数据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

VNS-600M 核磁共振仪 (美国 Inova 公司)。QTRAP LC-MS-MS SYSTEM 型质谱仪 (美国 Applied Biosystem 公司)。

1.2 试剂

柱色谱硅胶 (100~200 目) 及硅胶 G 预制板 (青岛海洋化工厂); Sephadex LH-20 (Pharmacia 公司), 其他试剂均为分析纯。仙鹤草药材由浙江中医药大学中药饮片厂提供, 产地浙江, 批号 080505, 经中国药品生物制品检定所标本馆馆长张继鉴定为仙鹤草 *Agrimonia pilosa* Ledeb.。

2 提取与分离

仙鹤草粗粉 1 kg, 加石油醚 (60~90 °C) 浸渍提取 2 次, 提取液减压浓缩得提取物浸膏 10 g, 经硅胶柱色谱分离, 石油醚-氯仿 (70:30) 洗脱, 自有色带洗下起 100 mL/份接收, 第 6~9 份得针状结晶 70 mg。经 Sephadex LH-20 柱色谱纯化, 氯仿-甲醇 (50:50) 洗脱, 得化合物 1 纯品 50 mg。

3 结构鉴定

化合物 1: 淡黄色针晶 (石油醚-氯仿), 三氯化铁反应阳性, 示有酚羟基。 ^1H -NMR 谱中无芳香氢存在, 示有 2 个芳甲基 (δ 2.03, 6H, s), 2 个甲氧基 (δ 3.67, 6H, s) 及 7 个酚羟基质子信号, 其中 3 个活泼氢位于较低场 (δ 15.62, 15.98, 16.17), 分别与相邻的乙酰基形成分子内氢键, 提示该化合物为酰基间苯三酚类衍生物。氢谱还显示 2 个亚甲基质子信号 (δ 3.82, 4H, s), 提示为酰基间苯三酚的三聚体; 并给出两组丁酰基结构片段信号 δ 0.94 (6H, t, $J = 7.2$ Hz), δ 1.66 (4H, m) 和 δ 3.01 (4H, t, $J = 7.2$ Hz) 及一组 2-甲基丁酰基结构片段信号: δ 0.87 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 1.11 (3H, d, $J = 7.2$ Hz), 1.35 (1H, m), 1.73 (1H, m) 及 3.86 (1H, m, $J = 6.6$ Hz)。以

收稿日期: 2010-04-12

基金项目: 国家药典委员会课题《中国药典》2010 版一部标准研究 (YS-084, 085)

*通讯作者 秦文杰 Tel: (010)87632624 E-mail: zzwjiejieqin@yahoo.com.cn

叶祖光 Tel: (010)87632601 E-mail: yezuguang@sina.com

上数据与相关化合物仙鹤草酚 F (agrimol F) 及仙鹤草酚 (agrimophol) 基本一致。

化合物 1 的 ^{13}C -NMR 谱 (表 1) 中给出 21 个碳的信号。 δ 205.7、209.7 为 C-8、C-7'' 及 C-8 酰基信号; δ 61.2 为 C-4、C-4'' 位甲氧基信号; δ 9.0 为 C-5、C-3'' 位甲基信号; δ 17.4 为 C-7、C-7' 位亚甲基信号。7 个有羟基取代的芳环碳的化学位移均与相关化合物仙鹤草酚 F 基本一致^[2], 见表 1。结构中 3 组丁酰基侧链各个碳原子的化学位移与相关化合物仙鹤草酚的碳谱数据基本一致^[3]。

化合物 1 的 ESI-MS m/z : 681 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。结合 NMR 数据确定其分子式为 $\text{C}_{37}\text{H}_{46}\text{O}_{12}$ 。其结构 AB 环为 2,6(2'',6'')-二羟基,4(4'')-甲氧基-5(3'')-甲基-3(5'')-丁酰苯; C 环为 2',4',6'-三羟基- α -甲基丁酰苯, 以 1',5'-亚甲基与 AB 环连接, 即仙鹤草酚 B。

4 讨论

仙鹤草酚 B 为间苯三酚类化合物, 该类化合物对称性强, 极性小。在提取过程中, 发现直接用低极性的石油醚提取要比先用乙醇提取后再用石油醚萃取得率高、杂质少, 后续柱色谱分离更容易。

仙鹤草酚 B 分子中 3 个芳环的碳原子均为季碳, 文献报道核磁共振碳谱中季碳信号强度一般较弱^[4]。该化合物 ($\text{C}_{37}\text{H}_{46}\text{O}_{12}$) 对称性强, 去掉对称碳在核磁共振碳谱中应有 21 个碳信号。实验发现若仅用 CDCl_3 做溶剂测试, 碳谱中仅显示 15 个碳信号, 用 $\text{CDCl}_3+\text{D}_2\text{O}$ 混合溶剂测试时, 碳谱信号明显增强, 但谱线数量无明显增加。后根据文献报道^[5], 用 $\text{DMSO}-d_6+\text{CDCl}_3$ 混合溶剂测试, 碳谱信号明显增强, 且给出完整的 21 个碳信号。本研究首次报道了仙鹤草酚 B 的碳谱数据, 并进行了信号归属, 以供借鉴。混合溶剂能显著增强仙鹤草酚 B 碳谱信号的机制, 还有待进一步研究。

致谢: 中国医学科学院药物研究所分析测试中心代测 NMR、ESI-MS 谱。

表 1 化合物 1 及相关化合物 ^{13}C -NMR 数据及归属 ($\text{DMSO}-d_6+\text{CDCl}_3$, 125 MHz)

Table 1 ^{13}C -NMR data and attribution of compound 1 with relative compounds ($\text{DMSO}-d_6+\text{CDCl}_3$, 125 MHz)

碳位	化合物 1	agrimol F	agrimophol
1,1''	103.3	105.4	
2,6''	160.6	160.5	
2',4'	158.9	160.5	
3,5''	109.8	108.1	
3'	108.5	108.1	
4,4''	158.2	158.0	
4-OCH ₃ ,4''-OCH	61.2	61.4	
5,3''	110.6	112.4	
5-CH ₃ ,3''-CH ₃	9.0	9.14	
6,6',2''	158.7	160.4	
7,7'	17.4	19.3	
8,7''	205.7	204.2	
1',5'	106.0	107.9	
8'	209.7	207.1	
9',8''	44.7	44.2	(C-2')/44.2
10',9''	16.7		(C-3'')/18.1
10-CH ₃ ,9''-CH ₃	13.6		(C-4'')/13.9
9'	43.9		(C-2'')/43.0
9'-CH ₃	16.6		(C-2''-CH ₃)/ 16.8
10'	26.4		(C-3'')/26.5
10'-CH ₃	11.7		(C-4'')/11.8

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] Masae Y, Mikiko K, Kyoko I, et al. Antimicrobial principles of Xianhecao (*Agrimonia pilosa*) [J]. *Planta Med*, 1989, 55: 169-170.
- [3] 杜超, 李锐. HPLC 法测定仙鹤草中鹤草酚含量及鹤草酚结构的 2D NMR 分析研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2008.
- [4] 谭仁祥. 植物成分分析 [M]. 北京: 科学出版社, 2004.
- [5] 王文祥, 丁杏苞. 月腺大戟根中的乙酰间苯三酚类衍生物 [J]. *药学学报*, 1999, 34(7): 514-517.