

蒲黄化学成分研究

李 芳, 陈佩东, 丁安伟*

南京中医药大学 江苏省方剂研究重点实验室, 江苏 南京 210046

摘要: 目的 研究蒲黄 *Typha angustifolia* 的化学成分。方法 利用硅胶柱色谱、聚酰胺柱色谱、重结晶等手段进行分离纯化, 通过理化性质和波谱分析鉴定化合物结构。结果 从蒲黄中分离并鉴定了 14 个化合物, 分别为 β -谷甾醇 (1)、二十五烷酸 (2)、正十九烷醇 (3)、柚皮素 (4)、香草酸 (5)、烟酸 (6)、琥珀酸 (7)、胸腺嘧啶 (8)、胡萝卜苷 (9)、尿嘧啶 (10)、香蒲新苷 (11)、十八烷酸丙酸醇酯 (12)、异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷 (13)、蔗糖 (14)。结论 化合物 2、3、6、8 为首次从蒲黄中发现。

关键词: 蒲黄; 二十五烷酸; 正十九烷醇; 烟酸; 胸腺嘧啶

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)04-0667-03

Study on chemical constituents in pollen of *Typha angustifolia*

LI Fang, CHEN Pei-dong, DING An-wei

Jiangsu Key Laboratory for Traditional Chinese Medicine Formulae Research, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China

Key words: pollen of *Typha angustifolia* L.; tetracosanoic acid; nonadecanol; nicotinic acid; thymine

蒲黄为香蒲科植物水烛香蒲 *Typha angustifolia* L.、东方香蒲 *Typha orientalis* Presl 或同属植物的干燥花粉。该药长于收敛止血, 兼有活血化瘀之功, 有止血不留瘀的特点, 用于吐血、咯血、崩漏、尿血等, 亦可用于跌打损伤、痛经、产后疼痛、心腹疼痛等瘀血作痛者。蒲黄含有多种化学成分, 主要包括黄酮类、甾类、烷烃类及糖类等。为了深入研究蒲黄的化学成分, 本实验对蒲黄的醇提取物进行了系统研究, 共分离并鉴定了 14 个化合物, 分别为 β -谷甾醇 (β -sitosterol, 1)、二十五烷酸 (tetracosanoic acid, 2)、正十九烷醇 (nonadecanol, 3)、柚皮素 (naringenin, 4)、香草酸 (vanillic acid, 5)、烟酸 (nicotinic acid, 6)、琥珀酸 (succinic acid, 7)、胸腺嘧啶 (thymine, 8)、胡萝卜苷 (daucosterol, 9)、尿嘧啶 (uracil, 10)、香蒲新苷 (typhaneoside, 11)、十八烷酸丙酸醇酯 (stearic acid propanetriol ester, 12)、异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷 (isorhamnetin-3-*O*-neohesperidoside, 13)、蔗糖 (sucrose, 14), 其中化合物 2、3、6、8 为首次从蒲黄中分离得到。

1 材料和仪器

Bruker ARX500 核磁共振波谱仪 (TMS 为内标, 瑞士 Bruker 公司); Waters 515 高效液相色谱仪, 2996 检测器, Empower 色谱工作站; Synapt 质谱仪 (Waters 公司); X-4 数字显示显微熔点仪 (北京泰克仪器有限公司)。柱色谱硅胶 (青岛海洋化工厂)、GF₂₅₄ 薄层硅胶 (青岛海洋化工厂)。高效液相色谱所用试剂为色谱纯, 其余均为分析纯。

蒲黄药材采自内蒙古巴彦淖尔市五原县境内, 经南京中医药大学吴启南教授鉴定为香蒲科植物水烛香蒲 *Typha angustifolia* L. 的干燥花粉。

2 提取与分离

取蒲黄药材 13 kg, 加 6 倍量的 95%乙醇加热回流提取 2 次, 每次 2 h, 残渣再加 6 倍量 75%乙醇加热回流提取 2 次, 每次 2 h, 回收乙醇得浸膏。用适量的水溶解浸膏得混悬液, 分别用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取。取醋酸乙酯部位浸膏 (355 g), 经硅胶柱色谱分离, 用石油醚-醋酸乙酯和醋酸乙酯-甲醇梯度洗脱, TLC 检测合并相同组分, 并经多次

收稿日期: 2011-09-27

基金项目: 国家中医药局公益性行业科研专项 (HY11076631)

作者简介: 李 芳, 硕士研究生, 研究方向为中药复方及中药炮制机制研究。Tel: 15150566196 E-mail: lifang19870801@126.com

*通讯作者 丁安伟 Tel: (025)85811523 E-mail: awding105@163.com

硅胶柱色谱及结晶纯化, 得化合物 **1** (27 mg)、**2** (23 mg)、**3** (13 mg)、**4** (800 mg)、**5** (17 mg)、**6** (544 mg)、**7** (7 mg)、**8** (96 mg)、**9** (32 mg)、**10** (5 mg)。取正丁醇部位浸膏 (700 g), 经硅胶柱色谱分离, 用二氯甲烷-甲醇梯度洗脱, TLC 检测合并相同组分, 并经聚酰胺柱色谱及结晶纯化, 得化合物 **11** (150 mg)、**12** (25 mg)、**13** (600 mg)、**14** (17 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色针状结晶 (醋酸乙酯), mp 132~134 °C, 薄层色谱检视, 其 R_f 值在多个溶剂系统中均与 β-谷甾醇一致。与 β-谷甾醇对照品混合熔点不下降。故鉴定化合物 **1** 为 β-谷甾醇。

化合物 **2**: 白色粉末 (醋酸乙酯), ESI-MS m/z : 383 [M+H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 0.88 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, -CH₃), 1.26~1.35 (42H, m, 21 × -CH₂), 1.63 (2H, m, $J = 7.5$ Hz), 2.35 (2H, t, $J = 7.5$ Hz); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 178.8 (-COOH), 14.1 (-CH₃), 以上数据与文献报道基本一致^[1], 故鉴定化合物 **2** 为二十五烷酸。

化合物 **3**: 白色点状结晶 (醋酸乙酯), ESI-MS m/z : 266 [M-H₂O]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 3.60 (1H, t, 1-OH), 0.88 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, H-19), 1.25~1.52 (35H, m, H-2~18)。以上数据与文献报道基本一致^[2], 故鉴定化合物 **3** 为正十九烷醇。

化合物 **4**: 白色针晶 (醋酸乙酯), mp 246~249 °C。ESI-MS m/z : 271 [M-H]⁻, 盐酸镁粉反应呈樱红色, 四氢硼钠反应呈红紫色, Molish 反应呈阴性, 说明该化合物可能是黄酮苷元。¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) 中有 3 个邻位偶合的质子 δ 5.46 (1H, dd, $J = 2.6, 12.9$ Hz), 3.32 (1H, dd, $J = 12.4, 16.7$ Hz), 2.70 (1H, dd, $J = 3.0, 17.2$ Hz), 结合化学反应, 显示该化合物具有二氢黄酮的结构特征, 分别是 2 位的 1 个 H 和 3 位的 2 个 H 分别发生偶合所形成的峰。δ 7.33 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.80 (2H, d, $J = 8.0$ Hz) 显示化合物的 B 环 4' 位有取代。氢谱中 δ 12.1 的 H 应为 5 位 H, 因与羰基形成分子内氢键化学位移增大, 所以 δ 5.87 的 2 个 H 应是 A 环的 6, 8 位 H, 因耦合弱而没表现出裂分。另外 δ 10.8, 9.6 的 2 个 H 应是 2 个羟基 H。¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) 中可见 δ 196.5 的羰基 C, 还有 B 环 4' 位取代的特征 C 信号 δ 128.5 和 δ 115.3。以上数据与文献比较基本一致^[3], 故鉴定化合物 **4** 为柚皮素。该化合物

的核磁数据如下: ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): 7.33 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2', 6'), 6.80 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3', 5'), 5.87 (2H, s, H-6, 8), 5.46 (1H, dd, $J = 2.6, 12.9$ Hz, H-2), 3.32 (1H, dd, $J = 12.4, 16.7$ Hz, H-3_{trans}), 2.70 (1H, dd, $J = 3.0, 17.2$ Hz, H-3_{cis}); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): 196.5 (C-4), 166.8 (C-7), 163.6 (C-5), 163.1 (C-9), 157.9 (C-4'), 129.0 (C-1'), 128.5 (C-2', 6'), 115.3 (C-3', 5'), 101.9 (C-10), 95.9 (C-6), 95.1 (C-8), 78.6 (C-2), 42.1 (C-3)。

化合物 **5**: 无色针晶 (醋酸乙酯)。ESI-MS m/z : 167 [M-H]⁻, ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.19 (1H, s), 9.66 (1H, s), 为 2 个活泼质子; 6.85 (1H, d, $J = 8.6$ Hz), 7.45 (1H, d, $J = 1.6$ Hz), 7.72 (1H, dd, $J = 8.6, 1.6$ Hz) 为 1, 3, 4 三取代苯环上 3 个质子; 3.81 (3H, s) 为 1 甲氧基质子。与文献报道对照^[4], 故鉴定化合物 **5** 为香草酸。

化合物 **6**: 白色粉末 (醋酸乙酯)。mp 234~237 °C。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 9.07 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-2), 8.79 (1H, dd, $J = 4.5, 1.5$ Hz, H-6), 8.27 (1H, dd, $J = 8.0, 1.5$ Hz, H-4), 7.55 (1H, dd, $J = 8.0, 4.5$ Hz, H-5); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 173.5 (-COOH), 153.3 (C-2), 150.2 (C-6), 137.0 (C-4), 126.5 (C-3), 123.8 (C-5)。与文献报道对照^[5], 故鉴定化合物 **6** 为烟酸。

化合物 **7**: 无色针晶 (醋酸乙酯), ESI-MS m/z : 117 [M-H]⁻。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.09 (1H, s, -COOH), 2.50 (2H, s)。与文献报道对照^[6], 故鉴定化合物 **7** 为琥珀酸。

化合物 **8**: 淡黄色粉末 (醋酸乙酯), mp 307~308 °C。ESI-MS m/z : 126 [M]⁺, ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.94 (1H, s), 10.53 (1H, s), 7.24 (1H, s), 1.72 (3H, s, 5-CH₃)。根据以上数据并与文献报道对照^[7], 故鉴定化合物 **8** 为胸腺嘧啶。

化合物 **9**: 白色粉末 (醋酸乙酯), 薄层色谱行为与胡萝卜苷对照品一致, 与胡萝卜苷对照品混合熔点不下降, 故鉴定化合物 **9** 为胡萝卜苷。

化合物 **10**: 黄色粉末 (醋酸乙酯), ESI-MS m/z : 113 [M+H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.97 (1H, s, -NH), 10.76 (1H, s, -NH), 7.38 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-6), 5.44 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-5); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 100.3 (C-6), 142.3 (C-5), 151.6 (C-2), 164.4 (C-4)。在 HSQC 谱中 C-6 与 H-6 相关, C-5 与 H-5 相关, HMBC 谱中 C-6 与

H-5 相关, C-2 和 C-4 分别与 H-6 相关。根据以上信息, 对照文献数据^[8], 故鉴定化合物 **10** 为尿嘧啶。

化合物 **11**: 黄色针晶 (醋酸乙酯), mp 194~196 °C。ESI-MS m/z : 769 $[M-H]^-$, 盐酸镁粉反应呈樱红色, 三氯化铁显绿色, Molish 反应呈阳性, 说明该化合物可能是黄酮苷。¹H-NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 3.85 (3H, s, -CH₃), 6.21 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6), 6.43 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 7.84 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2'), 6.92 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5'), 7.48 (1H, dd, $J = 1.9, 8.2$ Hz, H-6'), 5.63 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1''), 5.01 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-1'''), 4.38 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-1'''), 0.96 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, 6'''-CH₃), 0.72 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, 6'''-CH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ 177.4, 156.7, 132.3 为黄酮醇类化合物 C 环中的 2, 3, 4 位碳信号。同时还有糖的端基碳信号 δ 101.1, 101.0, 98.7, 表明是黄酮醇化合物的三糖苷, δ 55.9 是甲氧基信号, δ 17.8, 17.3 是甲基信号, 表明有 2 个鼠李糖。 δ 77.8~68.5 是 2 个糖上的碳信号。对照文献报道^[9], 鉴定化合物 **11** 为香蒲新苷。

化合物 **12**: 白色粉末 (醋酸乙酯), ESI-MS m/z : 353 $[M+Na]^+$ 。¹H-NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 4.82 (1H, brs, 2'-OH), 4.58 (1H, brs, 3'-OH), 4.04 (1H, dd, $J = 11.0, 4.2$ Hz, H-1'a), 3.90 (1H, dd, $J = 11.0, 4.2$ Hz, H-1'b), 3.62 (1H, m, H-2'), 3.54 (1H, dd, $J = 11.4, 4.0$ Hz, H-3'a), 3.40 (1H, dd, $J = 11.4, 4.0$ Hz, H-3'b), 2.28 (2H, t, $J = 7.3$ Hz, H-2), 1.51 (2H, m, H-3), 0.85 (3H, t, $J = 6.7$ Hz, H-18), 1.27 (28H, m, H-4~17); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 173.0 (羰基), 69.4, 65.6, 62.7 (甘油); ¹H-¹H COSY 谱中可见 H-18 与 H-4~17 相关, H-4~17 与 H-3 相关, H-3 与 H-2 相关。而 H-2' 与 H-1', 3', 2'-OH 相关, 3'-OH 与 H-3' 相关。以上数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **12** 为十八烷酸丙酸醇酯。

化合物 **13**: 黄色针晶 (醋酸乙酯), mp 186~

188 °C。ESI-MS m/z : 623 $[M-H]^-$, 盐酸镁粉反应呈樱红色, 三氯化铁显绿色, Molish 反应呈阳性, 说明该化合物可能是黄酮苷。¹H-NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 3.86 (3H, s, -CH₃), 6.20 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-6), 6.43 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-8), 7.95 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 6.92 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 7.50 (1H, dd, $J = 2.1, 8.5$ Hz, H-6'), 5.76 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1''), 5.03 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-1'''), 0.66 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, 6'''-CH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 177.4 (C-2), 156.4 (C-3), 132.7 (C-4), 100.8 (C-1''), 98.8 (C-1'''), 55.8 (-OCH₃), 17.1 (C-6''')。对照文献报道^[9], 故鉴定化合物 **13** 是异鼠李素-3-O-新橙皮苷。

化合物 **14**: 无色结晶 (甲醇), 易溶于水, 与蔗糖对照品共薄层 R_f 值一致, 故鉴定化合物 **14** 为蔗糖。

参考文献

- [1] 连冠, 初正云, 王添敏, 等. 刺槐花的化学成分研究 (II) [J]. 中草药, 2011, 42(9): 1706-1708.
- [2] 许小方, 李会军, 李萍, 等. 灰毡毛忍冬花蕾中的化学成分 [J]. 中国天然药物, 2006, 4(1): 45-48.
- [3] 廖矛川, 刘永滢, 肖培根. 蒙古香蒲、宽叶香蒲和长苞香蒲花粉的黄酮类化合物的研究 [J]. 植物学报, 1989, 31(12): 939-947.
- [4] 徐利峰, 王素贤, 朱廷儒. 狭香蒲雌花序的化学成分 [J]. 植物学报, 1986, 28(5): 523-527.
- [5] 郑公铭, 魏孝义, 徐良雄, 等. 龙眼果核化学成分的研究 [J]. 中草药, 2011, 42(6): 1053-1056.
- [6] 巢志茂, 尚尔金, 何波. 牛膝水提取物化学成分的研究 [J]. 中国药学杂志, 1999, 34(9): 587-588.
- [7] 张维库, 张晓琦, 叶文才. 对叶大戟地上部分的化学成分 [J]. 中国药科大学学报, 2007, 38(4): 315-319.
- [8] 汤华, 程萍, 林厚文. 总合草苔虫的化学成分研究 [J]. 中药材, 2007, 30(6): 655-657.
- [9] 刘斌, 陆蕴如. 东方香蒲花粉化学成分的研究 [J]. 中国药学杂志, 1998, 33(10): 587-590.
- [10] Bus J, Lok C M, Groenewegen A. Determination of enantiomeric purity of glycerides with a chiral PMR shift reagent [J]. *Chem Phys Lipids*, 1976, 16(2): 123-132.