

马尔康柴胡地上部分化学成分研究

闫 婕¹, 晏永明², 卫莹芳¹, 孙 建¹, 龙 飞¹

1. 成都中医药大学药学院 中药材标准化教育部重点实验室 四川省中药资源系统研究与开发利用重点实验室——省部共建国家重点实验室培育基地, 四川 成都 611137

2. 中国科学院昆明植物研究所 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650204

摘要: 目的 对马尔康柴胡 *Bupleunum malconense* 的地上部分进行化学成分研究。方法 利用硅胶、MCI、Sephadex LH-20 等柱色谱技术分离纯化, 根据理化性质和波谱数据鉴定化合物的结构。结果 从马尔康柴胡地上部分乙醇提取物中分离得到 11 个化合物, 分别鉴定为槲皮素(1)、槲皮素-3-O- α -L-呋喃阿拉伯糖苷(2)、圣草酚(3)、3',4',5,7-四羟基-3-甲氧基黄酮(4)、原儿茶酸(5)、槲皮素-3-O- α -L-鼠李糖苷(6)、山柰酚(7)、异鼠李素(8)、芦丁(9)、 β -谷甾醇(10)、胡萝卜苷(11)。

结论 11 个化合物均为首次从该植物中分离得到, 化合物 3、4 为首次从柴胡属植物中分离得到。

关键词: 马尔康柴胡; 槲皮素; 圣草酚; 3',4',5,7-四羟基-3-甲氧基黄酮; 槲皮素-3-O- α -L-鼠李糖苷; 山柰酚

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章 0253 - 2670(2017)07 - 1282 - 04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.07.003

Chemical constituents of aerial part of *Bupleunum malconense*

YAN Jie¹, YAN Yong-ming², WEI Ying-fang¹, SUN Jian¹, LONG Fei¹

1. Pharmacy College, Chengdu University of TCM; The Ministry of Education Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicine; Key Laboratory of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources in Sichuan Province——Key Laboratory Breeding Base of Co-founded by Sichuan Province and MOST, Chengdu 611137, China

2. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents in the dried aerial part of *Bupleunum malconense*. **Methods** Column chromatography, such as silica gel, MCI, and Sephadex LH-20 were used to isolate the compounds. Spectroscopic methods such as ¹H-NMR and ¹³C-NMR were used to elucidate their structures. **Results** Eleven compounds were separated and identified as quercetin (1), quercetin-3-O- α -L-arabinofuranoside (2), eriodictyol (3), 3',4',5,7-tetrahydroxy-3-methoxyflavone (4), protocathechuic acid (5), quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside (6), kaempferol (7), isorhanmetin (8), rutin (9), β -sitosterol (10), and daucosterol (11). **Conclusion** All 11 compounds are isolated from the plants in *B. malconense* for the first time. Compounds 3 and 4 are isolated from the plants in genus *Bupleunum* L. for the first time.

Key words: *Bupleunum malconense* Shan et Y. Li; quercetin; eriodictyol; 3',4',5,7-tetrahydroxy-3-methoxyflavone; quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside; kaempferol

柴胡是常用中药材, 品种较为复杂。《中国药典》2015 年版收载柴胡 *Bupleunum chinense* DC. 和狭叶柴胡 *Bupleunum scorzonifolium* Willd. 的干燥根^[1], 此外, 全国尚有 20 多种柴胡属植物在不同地区作为地区习用品入药^[2]。马尔康柴胡 *Bupleunum malconense* Shan et Y. Li 主产于四川省阿坝州、绵阳等地, 多为野生, 全草入药, 以“柴胡”之名收载

于 1987 年版《四川省中药材标准》^[3], 自 2010 年版始更名为“竹叶柴胡”, 以防混淆。作为四川省地区习用品, 应用历史悠久、资源丰富、质优价廉。

马尔康柴胡与药典收载柴胡不仅品种不同, 且药用部位亦不同, 亟待对其疗效及物质基础进行研究。课题组前期药理学及成分分析研究认为, 马尔康柴胡根及地上部分均具有解热、保肝作用^[4], 根中

收稿日期: 2016-11-03

基金项目: 国家自然科学基金委青年科学基金项目 (81503200)

作者简介: 闫 婕 (1984—), 女, 博士, 讲师, 主要从事中药品种、质量及资源研究。Tel: 15882233271 E-mail: yanjie9@126.com

主要活性成分与柴胡一致,含大量柴胡皂苷,而地上部分皂苷量甚微^[5-6],亟待对马尔康柴胡地上部分的化学成分进行研究,为选取指标性成分、制定竹叶柴胡科学、可靠的质量标准提供依据,保证临床用药的安全、有效,及为科学评价柴胡属其他植物药用价值及资源的开发和利用奠定基础。

本研究利用硅胶、MCI、Sephadex LH-20等柱色谱技术分离纯化,从中分离得到11个化合物,分别鉴定为槲皮素(queracetin, **1**)、槲皮素-3-*O*- α -L-呋喃阿拉伯糖苷(queracetin-3-*O*- α -L-arabinofuranoside, **2**)、圣草酚(eriodictyol, **3**)、3',4',5,7-四羟基-3-甲氧基黄酮(3',4',5,7-tetrahydroxy-3-methoxyflavone, **4**)、原儿茶酸(proto catechuic acid, **5**)、槲皮素-3-*O*- α -L-鼠李糖苷(queracetin-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside, **6**)、山柰酚(kaempferol, **7**)、异鼠李素(isorhanmetin, **8**)、芦丁(rutin, **9**)、 β -谷甾醇(β -sitosterol, **10**)、胡萝卜苷(daucosterol, **11**)。11个化合物均为首次从该植物中分离得到,化合物**3**、**4**为首次从柴胡属植物中分离得到。

1 仪器与材料

Bruker AM-400/AM-500 Spectrometer 核磁共振仪;VG Autospec 3000 system Spectromete 质谱仪;Sephadex LH-20(GE Healthcare 公司);MCI GEL(Mitsubishi Chemical Corporation, 日本三菱化学公司);反相 ODS 填料(Merck 公司);薄层硅胶 G 和色谱柱硅胶(青岛海洋化工厂);硅胶 GF₂₅₄ 预制板(青岛海洋化工厂);提取、分离试剂为化学纯,萃取、展开剂试剂均为分析纯。

马尔康柴胡药材采自四川省汶川县,经成都中医药大学卫莹芳教授鉴定为马尔康柴胡 *Bupleium malconense* Shan et Y. Li 的干燥地上部分。

2 提取与分离

取干燥马尔康柴胡地上部分 10 kg,适当粉碎,用 70%乙醇冷浸 48 h 后,渗漉提取,回收溶剂,得总浸膏 1 600 g。将浸膏加水至 3 L 溶解,依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇提取 6 次,每次 3 L,提取液减压回收,得石油醚部位 224 g、醋酸乙酯部位 274 g、正丁醇部位 464 g、水部位 590 g。

取醋酸乙酯部位浸膏 274 g,经硅胶(100~200 目)柱色谱,以三氯甲烷-甲醇(100:1 $\rightarrow$ 0:100)梯度洗脱,收集 150 流分,经 TLC 检查,合并相同流分。每个流分根据主要化合物极性,选用硅胶(200~300 目)、凝胶(Sephadex LH-20)、MCI GEL、

反相 ODS 等柱色谱方法配合相应的洗脱剂,对化合物进行精细分离。从三氯甲烷-甲醇 90:10 洗脱部分中得到化合物 **1** (128 mg)、**2** (34 mg)、**6** (13 mg)、**7** (19 mg)、**8** (20 mg)、**9** (62 mg)、**11** (14 mg),从三氯甲烷-甲醇 95:5 洗脱部分中得到化合物 **3** (31 mg)、**4** (32 mg)、**10** (11 mg),从三氯甲烷-甲醇 80:20 洗脱部分得到化合物 **5** (32 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 黄色粉末,10%硫酸乙醇显色为黄色。ESI-MS m/z : 301 $[M-H]^-$ 。¹H-NMR (400 MHz, MeOD) δ : 7.75 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-2'), 7.65 (1H, dd, J = 6.8, 1.3 Hz, H-6'), 6.90 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 6.40 (1H, d, J = 1.1 Hz, H-8), 6.18 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-6)。以上数据与文献报道基本一致^[7],故鉴定化合物 **1** 为 3,3',4',5,7-五羟基黄酮,即槲皮素。碳信号归属见表 1。

化合物 **2**: 黄色粉末。10%硫酸乙醇显色为黄色。ESI-MS m/z : 433 $[M-H]^-$ 。¹H-NMR (400 MHz, MeOD) δ : 5.46 (1H, d, J = 1.4 Hz, H-1''), 7.52 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-2'), 7.48 (1H, dd, J = 8.4, 2.0 Hz, H-6'), 6.90 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 6.36 (1H, d, J = 1.2 Hz, H-6), 6.19 (1H, d, J = 1.4 Hz, H-8)。碳信号归属见表 1。以上数据与文献报道一致^[8],故鉴定化合物 **2** 为槲皮素-3-*O*- α -L-呋喃阿拉伯糖苷。

化合物 **3**: 淡黄色针晶(丙酮)。10%硫酸乙醇显色为黄色。ESI-MS m/z : 287 $[M-H]^-$ 。¹H-NMR (400 MHz, MeOD) δ : 7.05 (1H, d, J = 1.4 Hz, H-2'), 6.92 (1H, dd, J = 6.4, 1.6 Hz, H-6'), 6.83 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 5.95 (1H, d, J = 1.4 Hz, H-8), 5.99 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-6), 5.35 (1H, dd, J = 13.6, 3.0 Hz, H-2), 3.05 (1H, dd, J = 17.6, 13.0 Hz, H-3 α), 2.67 (1H, dd, J = 16.8, 3.0 Hz, H-3 β)。碳信号归属见表 1。以上数据与文献报道基本一致^[9],故鉴定化合物 **3** 为 3',4',5,7-四羟基黄酮,即圣草酚。

化合物 **4**: 黄色针晶(甲醇)。10%硫酸乙醇显色为黄色。ESI-MS m/z : 315 $[M-H]^-$, mp 257~259 °C。¹H-NMR (600 MHz, MeOD) δ : 7.86 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-2'), 7.75 (1H, dd, J = 8.4, 2.2 Hz, H-6'), 6.96 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 6.46 (1H, d, J = 1.2 Hz, H-6a), 6.22 (1H, d, J = 1.2 Hz, H-6b), 3.95 (3H, s, 3-OCH₃)。碳信号归属见表 1。以上数据与文献报道基本一致^[10],故鉴定化合物 **4** 为 3',4',5,7-四羟基-3-甲氧基黄酮。

表 1 化合物 1~4、6~9 的 ^{13}C -NMR (100 MHz, MeOD) 和 DEPT 数据
Table 1 ^{13}C -NMR (100 MHz, MeOD) and DEPT data of compounds 1—4 and 6—9

碳位	1	2	3	4	6	7	8	9
2	146.6 s	149.9 s	78.5 s	150.0 s	157.1 s	146.8 s	147.2 s	158.6 s
3	135.8 s	134.8 s	40.1 t	137.3 s	134.8 s	135.6 s	135.8 s	135.4 s
4	175.8 s	179.9 s	197.8 s	177.3 s	178.2 s	175.9 s	175.8 s	179.4 s
5	156.8 s	159.3 s	164.1 s	162.4 s	161.8 s	156.4 s	156.1 s	162.6 s
6	97.8 d	100.1 d	96.6 d	99.4 d	98.4 d	98.2 d	99.2 d	99.8 d
7	164.2 s	166.6 s	168.4 s	165.6 s	164.4 s	164.0 s	163.9 s	165.8 s
8	93.0 d	94.9 d	95.8 d	94.6 d	93.3 d	93.5 d	93.6 d	94.6 d
9	161.1 s	163.0 s	158.5 s	158.1 s	157.9 s	160.4 s	160.6 s	159.2 s
10	103.1 s	105.4 s	102.3 s	104.5 s	104.5 s	103.2 s	102.8 s	104.6 s
1'	122.8 s	123.1 s	125.2 s	124.0 s	121.6 s	121.5 s	121.9 s	123.5 s
2'	114.6 d	116.4 d	114.2 d	112.6 d	114.9 d	129.6 d	115.6 d	115.9 d
3'	144.8 s	146.3 s	144.5 s	147.8 s	145.0 s	115.6 d	146.6 s	145.7 s
4'	147.4 s	158.6 s	146.1 s	148.8 s	148.3 s	159.3 s	148.7 s	149.6 s
5'	114.8 d	116.8d	115.9 d	116.5 d	115.6 d	115.6 d	111.7 d	117.3 d
6'	120.3 d	123.0 d	120.1 d	123.0 d	121.5 d	129.6 d	121.7 d	123.5 d
-OCH ₃				56.6 q			55.8 q	
sugar		ara			rha			glc
1''		109.4 d			102.1 d			105.6 d
2''		83.3 d			70.6 d			75.7 d
3''		78.6 d			70.7 d			78.0 d
4''		88.0 d			71.9 d			71.4 d
5''		62.5 t			70.5 d			71.2 d
6''					16.3 q			68.6 t
sugar								rha
1''								102.2 d
2''								72.1 d
3''								72.3 d
4''								73.9 d
5''								69.8 d
6''								17.9 q

化合物 **5**: 白色粉末, 溴酚蓝反应呈阳性, 提示该化合物中可能含有羧基, FeCl_3 反应呈阳性, 推测该化合物可能含有酚羟基。ESI-MS m/z : 152 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, MeOD) δ : 6.81 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 7.43 (1H, dd, $J = 8.0, 1.4$ Hz, H-6), 7.45 (1H, d, $J = 1.4$ Hz, H-2); ^{13}C -NMR (100 MHz, MeOD) δ : 168.8 (-OCH₂), 122.5 (C-2), 116.3 (C-6), 114.3 (C-5), 150.1 (C-4), 144.7 (C-3), 121.7 (C-1)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **5** 为 3,4-二羟基苯甲酸, 即原儿茶酸。

化合物 **6**: 黄色粉末。10%硫酸乙醇显色为黄色。ESI-MS m/z : 449 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, MeOD) δ : 7.34 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 7.31 (1H, dd, $J = 8.0, 2.1$ Hz, H-6'), 6.93 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.35 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-6), 6.19 (1H, d, $J = 1.3$ Hz, H-8), 5.36 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-1''), 4.25 (1H, brs, H-5''), 3.77 (1H, brs, H-2''), 3.42 (1H, dd, $J = 9.5, 2.2$ Hz, H-3''), 3.40 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-4''), 4.25 (3H, d, $J = 5.6$ Hz, H-6'')。碳信号归属见表 1。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **6** 为槲皮素-3-

O- α -*L*-鼠李糖苷。

化合物 **7**: 黄色针晶(甲醇)。10%硫酸乙醇显色为黄色。ESI-MS m/z : 285 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (400 MHz, MeOD) δ : 8.07 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2', 6'), 6.92 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3', 5'), 6.43 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-6), 6.18 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8)。碳信号归属见表 1。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **7** 为山奈酚。

化合物 **8**: 黄色粉末。10%硫酸乙醇显色为黄色。mp 314~315 °C, ESI-MS m/z : 315 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (400 MHz, MeOD) δ : 7.72 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-2'), 7.69 (1H, dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz, H-6'), 7.01 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.58 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 6.27 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 6.27 (3H, s, OCH₃)。碳信号归属见表 1。以上数据与文献报道数据基本一致^[14], 故鉴定化合物 **8** 为异鼠李素。

化合物 **9**: 黄色粉末, 易溶于甲醇, 盐酸-镁粉反应显紫红色, Molish 反应显示有葡萄糖。mp 167~168 °C, ESI-MS m/z : 609 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (400 MHz, MeOD) δ : 7.68 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 7.63 (1H, dd, $J = 8.4, 2.2$ Hz, H-6'), 6.98 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.40 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-8), 6.19 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-6)。 δ 5.34~0.97 为糖质子峰, 碳信号归属见表 1。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 **9** 为槲皮素-3-*O*-芸香糖苷, 即芦丁。

化合物 **10**: 白色针晶(甲醇), mp 136~138 °C, Liebermann-Burchard 反应呈阳性。薄层板展开后, 10%硫酸-乙醇溶液加热显色后呈现紫红色。用 3 种不同展开条件展开, 与 β -谷甾醇对照品 Rf 值一致。故鉴定化合物 **10** 为 β -谷甾醇。

化合物 **11**: 白色无定形粉末, mp 294~296 °C, 10%硫酸乙醇溶液显紫色, Liebermann-Burchard 反应呈阳性, Molish 反应阳性。与胡萝卜苷对照品混

合后熔点不下降, 3 种展开系统均与对照品的 Rf 值一致, 故鉴定化合物 **11** 为胡萝卜苷。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 潘胜利, 顺庆生, 柏巧明, 等. 中国药用柴胡原色图志 [M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2002.
- [3] 四川省中药材标准 [S]. 2010.
- [4] 闫 婕, 卫莹芳, 龙 飞, 等. 马尔康柴胡不同药用部位解热、保肝作用与急性毒性研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2016, 18(8): 1368-1373.
- [5] 闫 婕, 卫莹芳, 古 锐, 等. HPLC 测定 4 种川产柴胡地上与地下部分柴胡皂苷 a, c, d 的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(13): 73-76.
- [6] 闫 婕, 卫莹芳, 古 锐. 应用自动质谱退卷积分性系统 (AMDIS) 和保留指数分析马尔康柴胡地上、地下部分与北柴胡挥发油的成分差异 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(6): 1048-1053.
- [7] 周先礼, 秦长红, 梅 莹, 等. 髯花杜鹃的化学成分研究 [J]. 中草药, 2010, 41(2): 206-208.
- [8] 周先礼, 张 钰, 梁 辉, 等. 鳞腺杜鹃化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(4): 483-489.
- [9] 王学贵, 沈丽淘, 曾芸芸, 等. 珍珠莲中的黄酮类化学成分 [J]. 中草药, 2010, 41(4): 526-529.
- [10] Van Puyvelde L, De Kimpe N, Costa J, *et al.* Isolation of flavonoids and a chalcone from *helichrysum odoratissimum* and synthesis of *helichrysetin* [J]. *J Nat Prod*, 1989, 52(3): 629-633.
- [11] 舒永志, 成 亮, 曹潜喆, 等. 黑老虎的化学成分研究 [J]. 中草药, 2012, 43(3): 428-431.
- [12] 李国成, 陈楚雄, 罗嘉玲, 等. 杨梅叶降血糖有效部位的化学成分研究 [J]. 中草药, 2011, 42(5): 863-865.
- [13] 吴慧星, 李晓帆, 李 荣, 等. 番石榴叶中抗氧化活性成分的研究 [J]. 中草药, 2010, 41(10): 1593-1597.
- [14] 海 平, 苏雅乐其其格. 蒙药多叶棘豆化学成分的研究 [J]. 中草药, 2015, 46(21): 3162-3165.
- [15] 吉腾飞, 刘翠花, 王爱国, 等. 西藏产异株荨麻化学成分的研究 [J]. 中药材, 2007, 30(6): 662-664.