

青蒿中 1 个新的木脂素类化合物

刘平平¹, 于会明², 田友清^{1*}

1. 江苏医药职业学院, 江苏 盐城 224005

2. 盐城市第一人民医院, 江苏 盐城 224006

摘要: 目的 对青蒿 *Artemisiae Annuae Herba* (黄花蒿 *Artemisia annua* 干燥地上部分) 进行化学成分研究。方法 综合应用各种现代色谱分离技术进行系统的分离纯化, 根据化合物的理化性质和核磁共振波谱数据进行结构鉴定。结果 从青蒿水提取物醋酸乙酯萃取部位共分离得到了 6 个化合物, 分别鉴定为 5-(4-羟基-3-甲氧基苯基)-2,3-二羟基萘(1)、东莨菪内酯(2)、滨蒿内酯(3)、猫眼草酚 B(4)、棕鳞矢车菊黄酮素(5)、mikanin(6)。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为青蒿木脂素。

关键词: 青蒿; 黄花蒿; 青蒿木脂素; 东莨菪内酯; 滨蒿内酯; 猫眼草酚 B; 棕鳞矢车菊黄酮素

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)06-1481-04

DOI:10.7501/j.issn.0253-2670.2020.06.014

A new lignan from *Artemisiae Annuae Herba*

LIU Ping-ping¹, YU Hui-ming², TIAN You-qing¹

1. Jiangsu Vocational College of Medicine, Yancheng 224005, China

2. Yancheng NO. 1 People's Hospital, Yancheng 224006, China

Abstract: Objective To study the constituents from the dried aboveground part of *Artemisia annua*. **Methods** The chemical constituents were isolated by various chromatographic techniques and their structures were elucidated by spectroscopic analyses and comparison of NMR data with those reported in literatures. **Results** Six compounds were obtained and characterized as artelignan (1), scopoletin (2), scoparone (3), chrysosplenol B (4), jaceidin (5) and mikanin (6). **Conclusion** Compound 1 is identified as a new compound named artelignan.

Key words: *Artemisiae Annuae Herba*; *Artemisia annua* L.; artelignan; scopoletin; scoparone; chrysosplenol B; jaceidin

青蒿为菊科植物黄花蒿 *Artemisia annua* L. 的干燥地上部分, 秋季花盛开时采割, 除去老茎, 阴干^[1-2], 主要分布在我国重庆、广西、四川等地^[3]。其味苦、辛, 性寒, 归肝胆经, 具有清虚热、截疟、退黄等功效, 主要用于温邪伤热、骨蒸劳热、疟疾等^[1]。青蒿药用历史悠久, 可追溯至 2 000 年前《五十二病方》中的“牝痔方”, 晋代葛洪《肘后备急方》治疟方载有:“青蒿一握, 以水二升渍, 绞取汁, 尽服之”, 为现存最早的关于青蒿截疟的记录^[4]。受古书所载“绞汁”用药启发, 中国中医科学院屠呦呦研究员等在 60 °C 用乙醚对青蒿进行提取, 经反复实验, 最终获得抗疟疾的有效单体青蒿素, 这一发现获得了 2015 年诺贝尔生理学或医学奖。国内外研究表明青蒿化学成分多样, 主要包括倍半萜类、黄

酮类、酚酸类、香豆素类、二萜类和挥发油等成分^[5]。本实验从黄花蒿干燥地上部分水提取物醋酸乙酯萃取部位中分离得到了 6 个化合物, 分别鉴定为 artelignan (1)、东莨菪内酯 (scopoletin, 2)、滨蒿内酯 (scoparone, 3)、猫眼草酚 B (chrysosplenol B, 4)、棕鳞矢车菊黄酮素 (jaceidin, 5)、mikanin (6)、其中化合物 1 为新化合物, 命名为青蒿木脂素。

1 仪器与材料

Brucker AVANCE 600 和 400 型核磁共振仪 (德国 Brucker 公司); Finnigan LCQ Advantage MAX 质谱仪 (美国 Thermo Fisher 公司); Waters Smapt G2 mass spectrometer 高分辨质谱仪 (美国 Waters 公司); Shimadzu 分析高效液相色谱、Shimadzu 制备型高效液相色谱 (日本岛津公司); 分析高效液相色谱柱

收稿日期: 2019-11-14

作者简介: 刘平平 (1986—), 女, 硕士, 讲师, 研究方向为中药及天然药物活性成分研究。E-mail: 043005137@163.com

*通信作者 田友清, 博士, 教授, 研究方向为中药化学, 中药制剂分析。E-mail: wenzhangtgyx@163.com

为 Phenomenex Gemini (C_{18} , 250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 制备高效液相色谱柱为 C_{18} 柱 (250 mm $\times$ 20 mm, 5 μ m, Nacalai tesque Inc., 日本); 薄层硅胶 GF₂₅₄ 和柱色谱硅胶 (青岛海洋化工厂); HP-20 大孔树脂 (Mitsubishi-Chemical, 日本); 反相 ODS 填料 (Merck 公司); Sephadex LH-20 填料 (Amersham Biosciences 公司); Toyo-pearl HW-40 填料 (Toyo Soda MFG)。

青蒿药材于 2018 年 4 月购自安徽亳州药材市场, 批号 20180401, 由南京中医药大学药学院吴启南教授鉴定为菊科植物黄花蒿 *Artemisia annua* L. 的干燥地上部分。样品标本 (QH20180401) 现保存于江苏医药职业学院中药化学系。

2 提取与分离

黄花蒿干燥地上部分 15 kg, 用 8 倍量水加热回流提取, 提取 2 次, 每次 2 h, 合并提取液, 浓缩后得到总浸膏 1.45 kg, 用适量水均匀分散后, 依次用等体积石油醚、醋酸乙酯和正丁醇反复萃取, 各萃取部位减压浓缩得到石油醚部位 AA-1 (375.2 g)、醋酸乙酯部位 AA-2 (332.4 g)、正丁醇部位 AA-3 (328.0 g)、水部位 AA-4 (315.0 g)。取醋酸乙酯部位 AA-2 进行硅胶柱色谱分离, 环己烷-醋酸乙酯 (100:0、98:2、95:5、90:10、85:15、80:20、70:30、60:40、50:50、0:100) 梯度洗脱得到 10 个流分 Fr. 2A~2J。Fr. 2D 经过 ODS 中低压柱色谱分离, 甲醇-水 (35:75、50:50、70:30、90:10、100:0) 梯度洗脱得到 Fr. 2D1~2D6, Fr. 2D3 (985 mg) 经 HPLC 半制备色谱分离 (34%乙腈-水), 得到化合物 6 (46.3 mg, t_R =22.5 min); Fr. 2E 经过 ODS 中低压柱色谱分离, 甲醇-水 (40:60、50:50、75:25、100:0) 梯度洗脱得到 Fr. 2E1~2E8, Fr. 2E6 (1.2 g) 经 HPLC 半制备色谱分离 (35%乙腈-水), 得到化合物 1 (35.0 mg, t_R =16.5 min)、3 (45.5 mg, t_R =23.2 min); Fr. 2F 再经过硅胶柱色谱分离, 二氯甲烷-甲醇 (98:2、95:5、90:10、80:20、70:30、60:40、50:50、0:100) 梯度洗脱, 得到 Fr. 2F1~2F9, Fr. 2F4 经过 Sephadex LH-20 (氯仿-甲醇 1:1) 柱色谱分离得到 Fr. 2F4a~2F4e, Fr. 2F4b 经 HPLC 半制备色谱分离 (30%乙腈-水), 得到化合物 2 (63.2 mg, t_R =15.3 min)、4 (26.3 mg, t_R =18.9 min); Fr. 2F4c 经 HPLC 半制备色谱分离 (30%乙腈-水), 得到化合物 5 (44.9 mg, t_R =14.3 min)。

3 结构鉴定

化合物 1 为白色粉末状固体。HR-ESI-MS 给出

准分子离子峰 m/z 283.097 0 $[M+H]^+$ (计算值为 283.097 0), 确定分子式为 $C_{17}H_{14}O_4$, 计算不饱和度为 11。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) 显示 1 组 1,2,4-三取代苯环氢信号 [δ_H 6.98 (1H, d, J =1.8 Hz, H-2'), 6.90 (1H, d, J =7.8 Hz, H-5'), 6.87 (1H, dd, J =1.8, 7.8 Hz, H-6')]; 1 组 1,2,3-三取代苯环氢信号 [δ_H 7.52 (1H, d, J =8.4 Hz, H-8), 7.21 (1H, dd, J =7.2, 8.4 Hz, H-7), 7.10 (1H, dd, J =1.2, 7.2 Hz, H-6)], 此外可见另 2 个孤立的芳香质子信号 [δ_H 7.22 (1H, s, H-4), 7.15 (1H, s, H-1)], 以及 δ_H 3.87 (3H, s, 3'-OCH₃) 的甲氧基质子信号。 ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) 结合 DEPT 135 图谱, 共显示 17 个碳信号, 其中包括 8 个芳香季碳信号 (δ_C 129.1, 131.5, 134.7, 139.8, 146.8, 147.4, 147.7, 148.7), 8 个芳香叔碳信号 (δ_C 109.2, 111.0, 114.7, 116.1, 123.6, 123.9, 125.3, 126.3) 以及 1 个甲氧基碳信号 (δ_C 56.6)。

1H - 1H COSY 谱 (图 1) 中, 可见 H-6 (δ_H 7.10)/H-7 (δ_H 7.21)/H-8 (δ_H 7.52) 相关, 结合 HMBC 谱中, H-6 与 C-8/C-4a、H-7 与 C-5/C-8a、H-8 与 C-1/C-6/C-4a、H-1 与 C-3/C-4a/C-8、H-4 与 C-2/C-5/C-8a 有相关, 并根据 1D 核磁谱中给出的芳香氢耦合信息, 归属结构中存在的 1 个萘环结构片段 (C-1-C-2-C-3-C-4-C-4a-C-5-C-6-C-7-C-8-C-8a); 同时在 HMBC 谱中可见 H-2' 与 C-4'/C-6'、H-5' 与 C-1'/C-3'、H-6' 与 C-2'/C-4' 有相关, 结合 1D 谱中芳香氢的耦合信息, 对结构中 1,2,4-三取代苯环结构片段进行归属 (C-1'-C-2'-C-3'-C-4'-C-5'-C-6')。进一步通过 H-2' 与 H-6' 同萘环 C-5 的远程相关, 以及萘环质子 H-6 与 C-1' 的相关, 将 1,2,4-三取代苯环结构片段和萘环片段通过 C-5-C-1' 连接在一起。3'-OCH₃ 与 C-3' 有相关, 表明甲氧基连接在 C-3' 位; 结合化合物的分子式, 以及芳环取代基化学位移规律, 推断 C-2、C-3、C-4' 位有羟基取代。

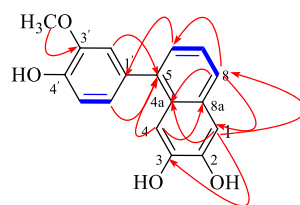


图 1 化合物 1 的主要 1H - 1H COSY (—) and HMBC (→) 相关

Fig. 1 Key 1H - 1H COSY (—) and HMBC (→) correlations of compound 1

综合 HSQC 和 HMBC 谱信息,对化合物 **1** 的全部碳氢信号进行了准确的归属(表 1)。经过 SciFinder Scholar 网络检索,未发现相关报道,表明化合物 **1** 为 1 个新的木脂素化合物,将其命名为 5-(4-羟基-3-甲氧基苯基)-2,3-二羟基萘,命名为青蒿木脂素。

表 1 化合物 **1** 的 ^1H - 和 ^{13}C -NMR 数据 (600/150 MHz, CD_3OD)

Table 1 ^1H - and ^{13}C -NMR spectral data of compound **1** (600/150 MHz, CD_3OD)

碳位	δ_{C}	δ_{H}
1	111.0	7.15 (s)
2	147.7	—
3	147.4	—
4	109.2	7.22, s
4a	129.1	—
5	139.8	—
6	125.3	7.10 (dd, $J = 7.2, 1.2$ Hz)
7	123.9	7.21 (dd, $J = 8.4, 7.2$ Hz)
8	126.3	7.52 (d, $J = 8.4$ Hz)
8a	131.5	—
1'	134.7	—
2'	114.7	6.98 (d, $J = 1.8$ Hz)
3'	148.7	—
4'	146.8	—
5'	116.1	6.90 (d, $J = 7.8$ Hz)
6'	123.6	6.87 (dd, $J = 7.8, 1.8$ Hz)
4'-OCH ₃	56.6	3.87 (s)

化合物 **2**: 无色针状结晶(甲醇), HR-ESI-MS 给出 m/z 193.050 0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (计算值为 193.050 1), 确定分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_4$, 不饱和度为 7。 ^1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.87 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-4), 6.22 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-3), 7.11 (1H, s, H-5), 6.77 (1H, s, H-8), 3.88 (3H, s, 6-OCH₃); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 164.2 (C-2), 112.5 (C-3), 146.1 (C-4), 112.3 (C-4a), 109.0 (C-5), 147.0 (C-6), 151.6 (C-7), 102.0 (C-8), 152.9 (C-8a), 56.9 (6-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[6], 故鉴定化合物 **2** 为东莨菪内酯。

化合物 **3**: 白色粉末, HR-ESI-MS 给出 m/z 207.065 9 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (计算值为 207.065 7), 确定分子式为 $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_4$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.61 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-4), 6.84 (1H, s, H-5), 6.82 (1H, s, H-8), 6.24 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3), 3.91 (3H,

s, 6-OCH₃), 3.89 (3H, s, 7-OCH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 161.3 (C-2), 113.4 (C-3), 143.3 (C-4), 111.5 (C-4a), 108.0 (C-5), 146.4 (C-6), 152.8 (C-7), 100.0 (C-8), 150.2 (C-8a), 56.3 (6-OCH₃), 56.5 (7-OCH₃)。以上数据与文献报道的数据一致^[7], 故鉴定化合物 **3** 为滨蒿内酯。

化合物 **4**: 黄色粉末, HRESIMS 给出 m/z 375.108 2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (计算值为 375.108 0), 确定分子式为 $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_8$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.72 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2'), 7.66 (1H, dd, $J = 1.8, 8.4$ Hz, H-6'), 7.04 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.50 (1H, s, H-8), 3.99 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.96 (3H, s, 7-OCH₃), 3.92 (3H, s, 3-OCH₃), 3.86 (3H, s, 6-OCH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 156.1 (C-2), 138.8 (C-3), 178.9 (C-4), 152.8 (C-5), 132.5 (C-6), 158.9 (C-7), 90.6 (C-8), 152.6 (C-9), 106.7 (C-10), 122.6 (C-1'), 111.3 (C-2'), 146.3 (C-3'), 148.5 (C-4'), 114.8 (C-5'), 122.8 (C-6'), 60.4 (3-OCH₃), 61.0 (6-OCH₃), 56.5 (7-OCH₃), 56.3 (3'-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 **4** 为猫眼草酚 B。

化合物 **5**: 淡黄色粉末, HR-ESI-MS 给出 m/z 361.093 6 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (计算值为 361.092 3), 确定分子式为 $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_8$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.71 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2'), 7.64 (1H, dd, $J = 1.8, 8.4$ Hz, H-6'), 6.94 (1H, d, $J = 8.4$, H-5'), 6.53 (1H, s, H-8), 3.96 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.89 (3H, s, 6-OCH₃), 3.81 (3H, s, 3-OCH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 156.3 (C-2), 138.2 (C-3), 178.9 (C-4), 152.6 (C-5), 131.4 (C-6), 158.2 (C-7), 94.1 (C-8), 152.3 (C-9), 105.0 (C-10), 121.5 (C-1'), 111.4 (C-2'), 147.8 (C-3'), 149.7 (C-4'), 115.2 (C-5'), 122.4 (C-6'), 59.6 (3-OCH₃), 60.0 (6-OCH₃), 55.5 (3'-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 **5** 为棕鳞矢车菊黄酮素。

化合物 **6**: 黄色粉末, HR-ESI-MS 给出 m/z 345.096 8 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (计算值为 345.097 4), 确定分子式为 $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_7$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 8.21 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-2', 6'), 7.33 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-3', 5'), 6.80 (1H, s, H-8), 4.01 (3H, s, 4'-OCH₃), 3.99 (3H, s, 6-OCH₃), 3.89 (3H, s, 7-OCH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 147.5 (C-2), 138.5 (C-3), 176.3 (C-4), 152.4 (C-5), 132.5 (C-6), 153.1 (C-7), 92.0 (C-8), 161.0 (C-9), 106.0 (C-10), 125.0

(C-1'), 130.3 (C-2', 6'), 114.3 (C-3', 5'), 159.3 (C-4'), 60.8 (6-OCH₃), 56.5 (7-OCH₃), 55.5 (4'-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[10-11], 故鉴定化合物 **6** 为 mikanin。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1991.
- [3] 康振国. 青蒿精油研究进展 [J]. 黑龙江医药, 2016, 29(1): 36-40.
- [4] 张小波, 赵宇平, 黄晓巍, 等. 青蒿道地药材研究综述 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(11): 2015-2018.
- [5] 李海波, 秦大鹏, 姚新生, 等. 青蒿的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2019, 50(14): 3461-3470.
- [6] 李海波, 于洋, 姚新生, 等. 热毒宁注射液抗病毒活性成分研究 (I) [J]. 中草药, 2014, 45(12): 1682-1688.
- [7] Fillion E, Dumas A M, Kuropatwa B A, *et al.* Yb (OTf)₃-catalyzed reactions of 5-alkylidene Meldrum's acids with phenols: One-pot assembly of 3,4-dihydrocoumarins, 4-chromanones, coumarins, and chromones [J]. *J Org Chem*, 2006, 71(1): 409-412.
- [8] Huong D T, Luong D V, Thao T P, *et al.* A new flavone and cytotoxic activity of flavonoid constituents isolated from *Miliusa balansae* (Annonaceae) [J]. *Die Pharmazie*, 2005, 60(8): 627-629.
- [9] Long C, Sauleau P, David B, *et al.* Bioactive flavonoids of *Tanacetum parthenium* revisited [J]. *Phytochemistry*, 2003, 64(2): 567-569.
- [10] Wei X Y, Huang H J, Wu P, *et al.* Phenolic constituents from *Mikania micrantha* [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2004, 32(11): 1091-1096.
- [11] 吴玉荷, 朱国元, 洪耿标, 等. 薇甘菊化学成分研究 [J]. 深圳大学学报: 理工版, 2007, 24(1): 102-105.