

• 化学成分 •

青蒿中 1 个新的生物碱类化合物

李海波^{1,2}, 黄玉欣¹, 秦大鹏³, 曹亮², 王振中², 姚新生^{1*}, 于洋^{1*}

1. 暨南大学中药及天然药物研究所, 广东 广州 510632

2. 江苏康缘药业股份有限公司, 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001

3. 深圳大学医学部药学院, 广东 深圳 518060

摘要:目的 研究青蒿(*Artemisia annua*)干燥地上部分的化学成分。方法 综合应用 HP-20、硅胶、ODS、Sephadex LH-20 和半制备液相等多种色谱学方法进行分离纯化, 并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 从青蒿干燥地上部分水提取物中分离得到了 5 个化合物, 分别鉴定为 (S)-2,6,11-trimethyl-7,8-dihydro-6H-cyclohepta[b]pyridine-9-carboxylic acid (1)、arteannoide E (2)、蚱蜢酮 (3)、(6S,9S)-长寿花糖苷 (4)、artemanin B (5)。结论 化合物 1 为新的生物碱, 命名为青蒿生物碱; 化合物 3 为首次从蒿属植物中分离得到。

关键词:青蒿; 生物碱; (S)-2,6,11-trimethyl-7,8-dihydro-6H-cyclohepta[b]pyridine-9-carboxylic acid; 青蒿生物碱; 蚱蜢酮; (6S,9S)-长寿花糖苷

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)02-0327-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.02.003

A new alkaloid from *Artemisia annua*

LI Hai-bo^{1,2}, HUANG Yu-xin¹, QIN Da-peng³, CAO Liang², WANG Zhen-zhong², YAO Xin-sheng¹, YU Yang¹

1. Institute of Traditional Chinese Medicine and Natural Products, Jinan University, Guangzhou 510632, China

2. State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

3. School of Pharmaceutical Sciences, Shenzhen University Health Science Center, Shenzhen 518060, China

Abstract: Objective To study the constituents from the dried aboveground part of *Artemisia annua*. **Methods** The compounds were isolated and purified by column chromatography of HP-20 macroporous resin, silica gel, ODS, Sephadex LH-20, and semi-preparative RP-HPLC. Their structures were elucidated by physicochemical properties and spectral analyses. **Results** Five compounds were isolated and identified from the water extract of *A. annua*, including alkaloid; (S)-2,6,11-trimethyl-7,8-dihydro-6H-cyclohepta[b]pyridine-9-carboxylic acid (1), arteannoide E (2), grasshopper ketone (3), (6S,9S)-roseoside (4) and artemanin B (5). **Conclusion** Compound 1 is a new alkaloid named arteannine. Compound 3 is identified from *Artemisia* genus for the first time.

Key words: *Artemisia annua* L.; alkaloid; (S)-2,6,11-trimethyl-7,8-dihydro-6H-cyclohepta[b]pyridine-9-carboxylic acid; arteannine; grasshopper ketone; (6S,9S)-roseoside

青蒿为菊科(Compositae)蒿属 *Artemisia* L. 一年生草本植物黄花蒿 *Artemisia annua* L. 的干燥地上部分, 秋季花盛开时采割, 除老茎, 阴干^[1-2]。青

蒿以全草入药, 其味苦、辛, 性寒, 归肝胆经, 具有清虚热、截疟、退黄等功效, 主要用于治疗温邪伤热、骨蒸劳热、疟疾等^[1]。主要分布在我国重庆、

收稿日期: 2020-09-15

基金项目: 重大新药创制科技重大专项“十三五”计划(2018ZX09711001-008-005); 国家自然科学基金重点项目(81630097)

作者简介: 李海波, 女, 高级工程师, 博士, 研究方向为中药及天然药物的活性成分研究。E-mail: lihaibo1985124@sina.com

*通信作者 于洋, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向为中药及天然药物活性成分研究。Tel: (020)5225849 E-mail: 1018yuyang@163.com
姚新生, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药及天然药物活性成分研究。Tel: (020)5225849 E-mail: tyaoxs@jnu.edu.cn

广西、四川等地，越南和印度等国家也有少量分布^[3]。青蒿化学成分多样，主要含有倍半萜、二萜、黄酮、苯丙酸、香豆素、黄酮和挥发油等成分，具有抗疟疾、抗肿瘤、抑菌杀虫、解热抗炎、免疫调节等药理活性^[4]。课题组前期对黄花蒿干燥地上部分水提取物经大孔树脂 95%乙醇洗脱部位进行化学成分研究，从中分离鉴定 31 个倍半萜类化合物，包括 3 个具有新颖骨架的杜松烷倍半萜衍生物，以及 15 个不同骨架类型的新的倍半萜类化合物^[5-6]。为了进一步丰富其化学多样性，本研究对黄花蒿干燥地上部分水提取物经大孔树脂 50%乙醇洗脱部位进行研究，从中分离鉴定了 5 个化合物，分别为 (S)-2,6,11-trimethyl-7,8-dihydro-6H-cyclohepta[b]pyridine-9-carboxylic acid (**1**)、arteannoide E (**2**)、蚱蜢酮 (grasshopper ketone, **3**)、(6S,9S)-长寿花糖苷 [(6S,9S)-roseoside, **4**]、artemanin B (**5**)，其中化合物 **1** 为新的生物碱，结构见图 1，命名为青蒿生物碱；化合物 **3** 为首次从蒿属植物中分离得到。

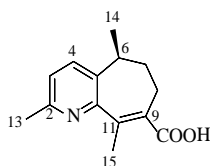


图 1 化合物 **1** 的结构

Fig. 1 Structure of compound **1**

1 仪器与材料

Brucker AVANCE 600 型核磁共振仪 (Bruker, 瑞士), Finnigan LCQ Advantage MAX 质谱仪 (Thermo Electron, 美国), Waters Snapt G2 mass spectrometer 高分辨质谱仪 (Waters, 美国), Shimadzu 分析高效液相色谱 (Shimadzu LC-6AD series pump equipped with a UV detector)、Shimadzu 制备型高效液相色谱 (Shimadzu, 日本), JASCO P-1020 旋光测定仪、JASCO FT/IR-480 PLUS 红外测定仪 (KBr 压片)、JASCOV-550 紫外-可见光谱仪 (JASCO 公司, 日本)。分析高效液相色谱柱为 Phenomenex Gemini (C₁₈, 250 mm×4.6 mm, 5 μm), 制备高效液相色谱柱为 C₁₈ 柱 (250 mm×20 mm, 5 μm, 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 110 kg, 2014 年在江西吉安药材市场购买, 药材经江苏康缘药业股份有限公司吴舟教授鉴定为黄花蒿 *A. annua* L. 的干燥地上部分, 样品标本 (2014AA206) 现保存于暨南大学药学院天然及药物研究所。

2 提取与分离

黄花蒿干燥地上部分 100 kg, 经 3 倍量水, 加热回流提取 2 次, 每次 2 h, 合并提取液, 减压浓缩之后, 加入 95%乙醇调至乙醇体积分数为 80%, 静置过夜, 收集上清液减压浓缩得到总浸膏 5.2 kg。总浸膏用适量水分散后, 经大孔吸附树脂 HP-20 柱色谱, 依次用水及 50%、95%乙醇梯度洗脱, 得到水洗脱部位 (AA-1) 3.2 kg、50%乙醇洗脱部位 (AA-2) 1.4 kg、95%乙醇洗脱部位 (AA-3) 240 g。取 50%乙醇水洗脱部分 AA-2 (325 g) 进行硅胶柱色谱 (8.5 cm×110.0 cm) 分离, 二氯甲烷-甲醇 (100:0、98:2、95:5、90:10、85:15、80:20、70:30、60:40、50:50、0:100) 梯度洗脱, 共得到 11 个流分 Fr. 2A~2K。Fr. 2B 经硅胶柱色谱分离, 二氯甲烷-甲醇 (100:0、98:2、95:5) 梯度洗脱, 得到 Fr. 2B1~2B4, Fr. 2B3 经 ODS 柱色谱 (1.5 cm×22.0 cm) 分离, 10%、20%、30%、50%、70%、100% 甲醇溶液梯度洗脱得到 Fr. 2B3A~2B3F, Fr. 2B3D 经半制备液相色谱 [30% 乙腈 (含 0.1% 甲酸), 检测波长 208 nm] 纯化得到化合物 **2** (11.8 mg, *t_R*=10.0 min)、**5** (20.9 mg, *t_R*=15.0 min)。Fr. 2D 经 ODS 柱色谱 (5.0 cm×80.0 cm) 分离, 甲醇-水 (1:9、1:4、1:1、1:0) 梯度洗脱得到 Fr. 2D1~2D5, Fr. 2D2 和 2D3 分别经半制备液相色谱纯化, 得到化合物 **1** [26.7 mg, 15% 甲醇 (含 0.1% 甲酸), *t_R*=12.0 min, 208 nm] 和 **3** [23.3 mg, 20% 甲醇 (含 0.1% 甲酸), *t_R*=11.0 min, 225 nm]。Fr. 2G 经 ODS 柱色谱 (5.0 cm×80.0 cm) 分离, 甲醇溶液 (15%、20%、30%、35%、45%) 梯度洗脱得到 Fr. 2G1~2G5, Fr. 2G3 经 Sephadex LH-20 (2.5 cm×133.0 cm) 柱色谱, 纯甲醇等度洗脱, 得到 Fr. 2G3A~2G3E, Fr. 2G3B 经半制备液相色谱制备得到化合物 **4** [22.0 mg, 20% 甲醇 (含 0.1% 甲酸), *t_R*=13.0 min, 225 nm]。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 棕黄色胶状固体。HR-ESI-MS 给出 *m/z* 232.133 6 [M+H]⁺ (计算值为 232.133 8), 确定

分子式为 $C_{14}H_{17}NO_2$ ，计算不饱和度为 7。UV (MeOH) 图谱可见 λ_{max} (log ϵ): 204 (3.47), 248 (3.34), 294 (3.28) nm 给出最大吸收带, IR ν_{max}^{KBr} (cm^{-1}): 3403, 1699 为羧基特征吸收峰。

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) 图谱显示 1 组邻位偶合芳香氢信号 [δ_H 7.54 (1H, d, $J = 7.9$ Hz), 7.09 (1H, d, $J = 7.9$ Hz)]、3 个甲基氢信号 [δ_H 2.43 (3H, s), 2.25 (3H, s), 1.20 (3H, d, $J = 6.9$ Hz)], 以及若干亚甲基及次甲基氢信号。 ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) 结合 DEPT-135 图谱共显示 14 个碳信号, 包括 6 个季碳信号 (δ_C 172.6, 153.7, 152.4, 136.3, 134.6, 129.0)、3 个次甲基碳信号 (δ_C 135.5, 121.7, 31.7)、2 个亚甲基碳信号 (δ_C 30.9, 27.7)、3 个甲基碳信号 (δ_C 23.8, 21.3, 17.7)。通过 HSQC 谱将直接相连的碳和氢进行归属见表 1。

1H - 1H COSY 谱 (图 2) 中, 可见 H-3/H-4 相关, HMBC 谱 (图 2) 中, H-3 与 C-2/C-5 相关, H-4 与 C-2/C-12 相关, 结合分子式及 C-2 (δ_C 153.7, C-2) 与 C-12 (δ_C 152.4, C-12) 特征化学位移, 推测结构中含有 1 个吡啶环片段。 1H - 1H COSY 谱中, 可见 H₃-14/H-6/H₂-7/H₂-8 相关; HMBC 谱中, H₃-14 与 C-5/C-6/C-7 相关, H-7 与 C-9 相关, 亚甲基氢信号 H₂-8 与两个双键碳信号 C-9/C-11 相关, 此外, H-4

与 C-6 也可见明显相关。甲基氢信号 [δ_H 2.25 (3H, s, H₃-15)] 与七元环内双键碳信号 C-9/C-11 及吡啶环碳信号 C-12 相关, 结合化合物不饱和度推测, 吡啶环与 1 个七元环骈合。HMBC 谱中, 甲基氢信号 [δ_H 2.43 (3H, s, H-13)] 与吡啶环上 C-2/C-3 相关, 确定 C-2 位连有 1 个甲基。同时, 甲基氢信号 H₃-15 与羧基碳信号 C-10 有明显的远程相关, 确定 C-9 位连有 1 个羧基。综合以上信息, 得到化合物 1 的平面结构。

根据文献报道^[7], 化合物在氯仿溶剂中, C-6 位 *S* 构型为右旋, *R* 构型为左旋, 化合物 1 在氯仿溶剂中, 旋光为右旋 [$\alpha_D^{25} + 26.0$ (c 1.0, CHCl₃)], 确定其绝对构型为 *S* 构型。经 SciFinder 等网络检索, 未发现相关报道, 表明这是 1 个新的生物碱, 命名为青蒿生物碱。

化合物 2: 无色块状固体。HR-ESI-MS 给出 m/z 221.118 6 [$M+H$]⁺ (计算值为 221.117 8), 确定分子式为 $C_{13}H_{16}O_3$, 计算不饱和度为 6。 1H -NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 6.50 (1H, s, H-12a), 5.70 (1H, s, H-12b), 5.64 (1H, s, H-4), 3.51 (1H, dd, $J = 12.7, 4.5$ Hz, H-6), 2.60 (1H, dd, $J = 18.7, 6.5$ Hz, H-2a), 2.41 (1H, m, H-1), 2.09 (1H, dd, $J = 18.7, 1.5$ Hz, H-2b), 2.01 (1H, m, H-7a), 1.91 (1H, ddd, $J = 13.3, 13.3, 3.1$

表 1 化合物 1 的核磁数据 (400/100 MHz, DMSO- d_6)

Table 1 NMR data of compound 1 (400/100 MHz, DMSO- d_6)

碳位	δ_C	δ_H	碳位	δ_C	δ_H
2	153.7		9	134.6	
3	121.7	7.09 (d, $J = 7.9$ Hz)	10	172.6	
4	135.5	7.54 (d, $J = 7.9$ Hz)	11	129.0	
5	136.3		12	152.4	
6	31.7	2.85 (m)	13	23.8	2.43 (s)
7	30.9	1.93 (m), 1.42 (m)	14	21.3	1.20 (d, $J = 6.9$ Hz)
8	27.7	2.72 (m), 2.50 (m)	15	17.7	2.25 (s)

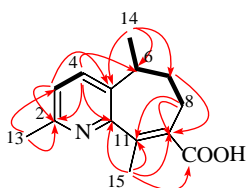


图 2 化合物 1 的主要 1H - 1H COSY (—) 和 HMBC (→) 相关

Fig. 2 Key 1H - 1H COSY (—) and HMBC (→) correlations of compound 1

Hz, H-8a), 1.63 (1H, qd, $J = 12.8, 3.3$ Hz, H-7b), 1.40 (1H, ddd, $J = 13.0, 13.0, 3.3$ Hz, H-8b), 1.31 (1H, m, H-9), 1.05 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-13); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 208.8 (C-3), 185.8 (C-5), 169.4 (C-11), 140.6 (C-10), 126.9 (C-12), 126.1 (C-4), 49.1 (C-1), 42.5 (C-6), 41.3 (C-9), 41.2 (C-2), 31.9 (C-7), 34.0 (C-8), 21.0 (C-13)。氢谱、碳谱数据与文献报道的数据一致^[5], 故鉴定化合物 2 为 arteannoide E。

化合物 3: 棕色胶状固体, HR-ESI-MS 给出 m/z

225.149 4 [M+H]⁺ (计算值为 225.149 1), 确定分子式为 C₁₃H₂₀O₃, 计算不饱和度为 4。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ: 5.83 (1H, s, H-8), 4.21 (1H, m, H-3), 2.21 (1H, m, H-2a), 2.19 (3H, s, H-10), 1.92 (1H, dd, *J* = 4.1, 2.1 Hz, H-4a), 1.39 (1H, m, H-2b), 1.38 (6H, m, H-12, 13), 1.15 (3H, s, H-13); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ: 211.5 (C-9), 200.9 (C-7), 119.9 (C-6), 101.1 (C-8), 72.4 (C-5), 64.4 (C-3), 49.9 (C-2), 49.7 (C-4), 37.0 (C-1), 32.3 (C-12), 30.8 (C-13), 29.3 (C-11), 26.5 (C-10)。氢谱、碳谱数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 **3** 为蚱蜢酮。

化合物 **4**: 棕色块状固体, HR-ESI-MS 给出 *m/z* 387.201 8 [M+H]⁺ (计算值为 387.201 9), 确定分子式为 C₁₉H₃₀O₈, 计算不饱和度为 5。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 5.95 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, H-7), 5.76 (1H, s, H-4), 5.64 (1H, dd, *J* = 15.6, 6.4 Hz, H-8), 4.42 (1H, m, H-9), 4.09 (1H, d, *J* = 7.7 Hz, H-1'), 3.64 (1H, brd, *J* = 10.4 Hz, H-6'a), 3.41 (1H, dd, *J* = 11.7, 6.0 Hz, H-6'b), 2.90~3.08 (4H, m, H-2'~5'), 2.55 (1H, d, *J* = 16.6 Hz, H-2a), 2.05 (1H, d, *J* = 16.6 Hz, H-2b), 1.82 (3H, s, H-13), 1.18 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-10), 0.92 (3H, s, H-11), 0.91 (3H, s, H-12); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 197.4 (C-3), 163.8 (C-5), 131.6 (C-8), 131.5 (C-7), 125.6 (C-4), 100.0 (C-1'), 78.0 (C-6), 77.2 (C-3'), 77.0 (C-5'), 73.3 (C-2'), 72.0 (C-9), 70.0 (C-4'), 61.1 (C-6'), 49.4 (C-2), 41.0 (C-1), 24.1 (C-12), 23.1 (C-11), 22.1 (C-10), 18.6 (C-13)。氢谱、碳谱数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 **4** 为 (6*S*,9*S*)-长寿花糖苷。

化合物 **5**: 淡黄色油状物, HR-ESI-MS 给出 *m/z* 267.159 1 [M+H]⁺ (计算值为 267.159 6), 确定分子式为 C₁₅H₂₂O₄, 计算不饱和度为 5。UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 205 (3.37) nm 给出最大吸收带, IR (KBr) 光谱有 1704 cm⁻¹ 羰基的特征峰存在。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ: 6.17 (1H, d, *J* = 1.1 Hz, H-13a), 5.63 (1H, brs, H-13b), 3.84 (1H, dd, *J* = 9.4, 6.6 Hz, H-5), 2.82 (1H, ddd, *J* = 12.4, 6.6, 3.1 Hz, H-3), 2.39 (1H, td, *J* =

11.6, 3.1 Hz, H-7), 2.20 (3H, s, H-15), 2.04 (2H, ddd, *J* = 12.4, 7.0, 3.1 Hz, H-2), 1.77 (1H, ddd, *J* = 13.3, 6.6, 3.5 Hz, H-9), 1.66 (1H, m, H-8a), 1.48 (1H, m, H-6), 1.55 (1H, dd, *J* = 12.7, 3.3 Hz, H-8b), 1.25 (1H, m, H-10), 0.96 (1H, m, H-1), 0.90 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, H-14); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ: 213.0 (C-4), 170.9 (C-12), 145.7 (C-11), 124.6 (C-13), 80.6 (C-5), 59.6 (C-3), 57.6 (C-6), 49.6 (C-1), 45.3 (C-7), 39.1 (C-10), 36.5 (C-9), 34.3 (C-8), 30.7 (C-2), 29.6 (C-15), 20.0 (C-14)。氢谱、碳谱数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **5** 为 artemanin B。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 207.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1991: 62-63.
- [3] 张小波, 赵宇平, 黄晓巍, 等. 青蒿地道药材研究综述 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(11): 2015-2018.
- [4] 李海波, 秦大鹏, 葛雯, 等. 青蒿化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2019, 50(14): 3461-3470.
- [5] Qin D P, Pan D B, Xiao W, *et al.* Dimeric cadinane sesquiterpenoid derivatives from *Artemisia annua* [J]. *Org Lett*, 2018, 20(2): 453-456.
- [6] Qin D P, Li H B, Pang Q Q, *et al.* Structurally diverse sesquiterpenoids from the aerial parts of *Artemisia annua* (Qinghao) and their striking systemically anti-inflammatory activities [J]. *Bioorg Chem*, 2020, 103: 104221.
- [7] Chavan S P, Khatod H S. Enantioselective synthesis of the essential oil and pheromonal component ar-himachalene by a chiral pool and chirality induction approach [J]. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2012, 23(18/19):1410-1415.
- [8] 张广求, 尤慧梅, 赵佳文, 等. 柳叶五层龙中的 1 个新的木栓烷型三萜 [J]. 中草药, 2019, 50(18): 4266-4271.
- [9] 龙志敏, 吴立军, 孙博航, 等. 板栗种仁的化学成分 (IV) [J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(8): 614-616.
- [10] Takenaka Y, Seki S, Nishi T, *et al.* Two new sesquiterpenes from *Artemisia annua* L. [J]. *J Nat Med*, 2020, 74(4): 811-818.

[责任编辑 王文倩]