

素-3'-葡萄糖苷的数据一致^[10], 鉴定化合物Ⅶ为木樨草素-3'-葡萄糖苷。

化合物Ⅷ: 黄色粉末, mp 230 °C ~ 231 °C, 光谱数据与文献报道的异金雀花素的数据一致^[11], 鉴定化合物Ⅷ为异金雀花素。

化合物Ⅸ: 黄色粉末, mp 225 °C ~ 227 °C。光谱数据与文献报道的异荛草素的数据一致^[12], 鉴定化合物Ⅸ为异荛草素。

References:

- [1] Wu Z Y. *Compendium of New China (Xinhua) Herbal* (新华本草纲要) [M]. Vol 1. Shanghai: Shanghai Scientific and Technic Publishers, 1998.
- [2] Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae, *Agendae Academiae Sinicae Edit. Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志) [M]. Tomus 27. Beijing: Science Press, 1979.
- [3] Adamska T, Mlynarczyk W, Jodynis-Liebert J, *et al.* Hepatoprotective effect of the extract and isocytoside from *Aquilegia vulgaris* [J]. *Phytother Res*, 2003, 17(6): 691-696.
- [4] Nishida M, Yoshimitsu H, Okawa M, *et al.* Four new cycloartane glycosides from *Aquilegia vulgaris* and their immunosuppressive activities in mouse allogeneic mixed lymphocyte reaction [J]. *Chem Pharm Bull*, 2003, 51(6): 683-

- 687.
- [5] Chen S B, Gao G Y, Li Y S, *et al.* Cytotoxic constituents from *Aquilegia ecalcarata* [J]. *Planta Med*, 2002, 68(6): 554-556.
- [6] Chen S B, Wang L W, Gao G Y, *et al.* Chemical studies on flavonoids from *Aquilegia oxysepala* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1999, 24(3): 158-160.
- [7] Chen S B, Gao G Y, Wang L W, *et al.* Chemical studies on alkaloids from *Aquilegia oxysepala* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30(1): 8-10.
- [8] Li F Y, Deng S Z, Rao Z G, *et al.* A study on the chemical constituents of the South China Sea hard coral *Montipora ramose* Bernard [J]. *Chin J Mar Drugs* (中国海洋药物杂志), 1997, (1): 4-6.
- [9] Yang G J, Dong T Y, Chen Z Q. Studies on the chemical constituents of dyers woad (*Isatis tinctoria*) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1996, 27(7): 389-391.
- [10] Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences. *Handbook of Identification of Flavonoids* (黄酮体化合物鉴定手册) [M]. Beijing: Science Press, 1981.
- [11] Abou-Zaid M M, Lombardo D A, Kite G C, *et al.* Acylated flavone C-glycosides from *Cucumis sativus* [J]. *Phytochemistry*, 2001, 58(1): 167-172.
- [12] Zhang Y J, Yang C R. Chemical studies on *Gentianella azurea*, a Tibetan medicinal plant [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 1994, 16(4): 401-406.

百蕊草的化学成分研究

鲁云霞¹, 汪俊松²

(1. 安徽医科大学 生化教研室, 安徽 合肥 230032; 2. 中国科学院昆明植物研究所 植物化学室, 云南 昆明 650204)

摘要:目的 研究百蕊草 *Thesium chinense* 的化学成分。方法 采用反复柱色谱和制备性 HPLC 百蕊草的醋酸乙酯萃取物中分离得到 5 种化合物, 通过理化和光谱分析鉴定其化学结构, 并研究其抗氧化活性。结果 自百蕊草的醋酸乙酯萃取物中分离得到 5 种黄酮苷类化合物, 分别鉴定为: 山柰素-3-O-葡萄糖苷 (kaempferol-3-O-glucoside, I), 柚皮素-4-O-葡萄糖苷 (naringenin-4-O-glucoside, II), 芹菜素-7-O-葡萄糖苷 (apigenin-7-O-glucoside, III), 木犀草素-7-O-葡萄糖苷 (luteolin-7-O-glucoside, IV), 芸香苷 (rutinoside, V)。抗氧化实验结果表明, 化合物 I 的抗氧化作用最强, 3 个浓度中以 1×10^{-4} mol/L 作用最明显。结论 化合物 I 具有较强的抗氧化作用。

关键词: 百蕊草; 黄酮苷; 抗氧化

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)05-0491-03

Study on chemical constituents of *Thesium chinensis*

LU Yun-xia¹, WANG Jun-song²

(1. Department of Biochemistry, Anhui Medical University, Hefei 230032, China; 2. Laboratory of Phytochemistry, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China)

Abstract: Object To study the chemical constituents of *Thesium chinensis* Turcz. and their antioxidant effects. Methods Isolation and purification were repeatedly carried out on gel column chromatography and preparative HPLC. The structures were identified and elucidated by physicochemical properties and spectral analysis. Results Five compounds were elucidated as: kaempferol-3-O-glucoside (I),

naringenin-4-*O*-glucoside (Ⅱ), apigenin-7-*O*-glucoside (Ⅲ), luteolin-7-*O*-glucoside (Ⅳ), rutinoid (Ⅴ). It was found that kaempferol-3-*O*-glucoside (Ⅰ) was the strongest one in the antioxidation experiment, its optimum concentration was 1×10^{-4} mol/L. **Conclusion** Compound Ⅰ is the main antioxidation component isolated from *T. chinensis*.

Key words: *Thesium chinensis* Turcz.; flavone glycoside; antioxidation

百蕊草, 又称百乳草、打食草、一棵松, 为檀香科植物百蕊草 *Thesium chinensis* Turcz. 的全草, 春、秋季采集晒干, 资源丰富, 全国各地均有分布。苦涩, 性温, 补气益肾, 清热解毒, 解暑, 对多种致病菌有抑制作用, 主治肾虚腰痛, 肾虚头晕, 急性乳腺炎, 大叶性肺炎, 肺脓疡, 各种感染。安徽省合肥中药总厂, 滁州药厂等生产百蕊草片剂、颗粒剂、糖浆剂等多种剂型, 在省内外畅销, 且出口东南亚地区; 安徽省还将其立项为“十五”发展重点, 由合肥神鹿集团拟用现代生物工程技术进行组织培养工厂化生产, 建立百蕊草片剂、颗粒剂、胶囊剂、注射剂等系列制剂产品的生产线。百蕊草中含有黄酮、有机酸、生物碱、甾醇、酚类、挥发油等多种化学成分, 本实验重点对其中的黄酮糖苷类化合物进行了分离和结构鉴定, 并对其抗氧化作用作了初步分析。关于百蕊草中黄酮糖苷类化合物的抗氧化活性研究国内尚属首次报道。

1 材料与方法

1.1 试剂: 乙醇、甲醇、正己烷、醋酸乙酯、氯仿、硫代巴比妥酸、二甲基亚砜(DMSO)、三氯醋酸等皆为 AR 级。丙二醛(MDA)测试药盒为南京建成生物工程技术公司产品; 百蕊草购自安徽中医学院附属医院药房。

1.2 仪器: RY-1 型熔点测定仪, 温度未校正(天津分析仪器厂); Nicolet Manga 型红外光谱仪(美国 Micronicolet 公司), KBr 压片; UV-160A 型紫外-可见分光光度计(日本岛津制作所); JNM-GX400 型核磁共振波谱仪(日本电子株式会社), TMS 为内标; Zabspec 型质谱仪(英国 Micromass 公司); 柱色谱用硅胶及薄层色谱用硅胶 G 板(青岛海洋化工厂); ODS(10-40 μ m) RP-18F₂₅₄S 薄层预制板为 Merck 公司产品; D101 型大孔树脂为天津农药厂产品; 分析和制备用 HPLC 为 Waters 600E 型高效液相仪, 检测器为 Waters 996 Photodiode Array Detector, 色谱柱为 Waters Nova-Pak C₁₈(7.8 mm \times 150 mm)。

1.3 提取与分离: 百蕊草粗粉 4.2 kg, 用 95% EtOH 热回流提取 3 次, 每次 3 h, 合并提取液, 减压回收至浓浸膏, 用 30% EtOH 溶解, 分别用石油醚、

EtOAc 和 *n*-BuOH 萃取, 得到石油醚萃取物 30 g, EtOAc 萃取物 348 g 和 *n*-BuOH 萃取物 42 g。EtOAc 萃取物经硅胶柱(CHCl₃-MeOH 系统梯度洗脱)和 ODS 柱(MeOH-H₂O 3:7~9:1), 反复柱色谱, 得到化合物 Ⅰ(40 mg), Ⅱ(30 mg), Ⅲ(30 mg), 通过制备性 HPLC 分离纯化得到化合物 Ⅳ(120 mg), Ⅴ(20 mg)。

1.4 抗氧化实验: 利用以上分离黄酮苷进行抗脂质过氧化测定。将老年 SD 大鼠处死, 取肝脏, 以生理盐水制成体积分数为 10% 的肝匀浆。在对照管中加入 0.9 mL 肝匀浆、0.1 mL DMSO 及 1 mmol/L 硫酸亚铁、1 mmol/L 维生素 C 各 20 μ L; 在测定管中加入 0.9 mL 肝匀浆, 不同浓度的黄酮苷(用 DMSO 溶解) 0.1 mL 及 1 mmol/L 的硫酸亚铁、1 mmol/L 维生素 C 各 20 μ L, 各做 3 个重复。37 $^{\circ}$ C 温育 0.5 h, 然后加 1 mL 质量分数为 10% 的三氯醋酸(TCA)及 1 mL 0.67% 硫代巴比妥酸(TBA)。振荡后沸水浴 15 min, 冷却后 3 000 r/min 离心 1 min, 取上清液, 于波长 532 nm 处测吸光度(A_{532})值^[1]。

2 结果与分析

2.1 结构鉴定

化合物 Ⅰ: 黄色针晶(甲醇), 分子式 C₂₁H₂₀O₁₁, mp 174 $^{\circ}$ C~176 $^{\circ}$ C。盐酸-镁粉反应呈阳性。UV λ_{max}^{MeOH} nm: 349, 267 处有吸收; FAB+ (m/z , %): 449 ($M+1$, 13), 316(17), 228(100); EI-MS (m/z , %): 286 (苷元, 100), 285(28), 258(12), 257(10), 153(5), 121(14), 129(7), 93(6); ¹H-NMR (CD₃OD): δ 6.40(1H, d, $J=2.2$ Hz, H-8), 6.18(1H, d, $J=2.2$ Hz, H-6), 8.0(2H, d, $J=8.79$ Hz, H-2' 和 6'), 6.85(2H, d, $J=8.79$ Hz, H-3' 和 5'), 5.38(1H, d, $J=7.3$ Hz, H-1''); ¹³C-NMR (CD₃OD): δ 156.3 (C-2), 133.2 (C-3), 177.4 (C-4), 161.2 (C-5), 98.6 (C-6), 164.1 (C-7), 93.5 (C-8), 156.3 (C-9), 104.0 (C-10), 120.9 (C-1'), 130.8 (C-2', 6'), 115.0 (C-3', 5'), 159.9 (C-4'), 101.0 (C-1'), 74.1 (C-2'), 76.4 (C-3'), 69.9 (C-4'), 77.3 (C-5'), 60.8 (C-6')。以上数据均与文献一致^[2], 鉴定化合物 Ⅰ 为山柰素-3-*O*-葡萄糖苷。

化合物Ⅱ:白色粉末(丙酮),分子式 $C_{21}H_{22}O_{10}$ 。盐酸-镁粉反应呈阳性,Molish 试剂检验呈阳性反应,说明化合物是黄酮苷。EI-MS, 1H -NMR, ^{13}C -NMR 光谱数据均与文献一致^[3],因此确定化合物Ⅱ为柚皮素-4-*O*-葡萄糖苷。

化合物Ⅲ:黄色粉末,mp 178 °C~180 °C,盐酸-镁粉反应阳性。IR,UV, 1H -NMR, ^{13}C -NMR,FAB-MS 数据与文献对照^[4],鉴定该化合物为芹菜素-7-*O*-葡萄糖苷。

化合物Ⅳ:黄色颗粒状结晶,mp 255 °C~260 °C,盐酸-镁粉反应阳性。IR,UV, 1H -NMR, ^{13}C -NMR,FAB-MS 数据与文献对照^[5],鉴定化合物Ⅳ为槲草素-7-*O*-葡萄糖苷。

化合物Ⅴ:浅黄色针晶(热乙醇),mp 174 °C~176 °C,盐酸-镁粉反应阳性,Molish 反应阳性,IR,UV, 1H -NMR,EI-MS 光谱数据与文献对照^[6],鉴定化合物Ⅴ为芸香苷,即芦丁。

2.2 抗氧化结果评定:吸光度低表示抗氧化作用强,吸光度高表示抗氧化作用弱。结果见表 1。

本研究结果初步证明从百蕊草中分得的黄酮苷类化合物(尤其是化合物Ⅰ)能明显抑制老年 SD 大鼠肝匀浆的脂质过氧化物的生成,为进一步研究其药理作用机制奠定了基础。

表 1 化合物Ⅰ~Ⅴ的抗氧化活性($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 1 Antioxidation of compounds I—V ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

化合物	A_{532}		
	$1 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$	$1 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$	$1 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$
I	0.34 ± 0.02	0.31 ± 0.01	0.33 ± 0.03
Ⅰ	0.37 ± 0.02	0.33 ± 0.04	0.36 ± 0.01
Ⅱ	0.38 ± 0.03	0.37 ± 0.01	0.41 ± 0.02
Ⅳ	0.39 ± 0.01	0.37 ± 0.02	0.38 ± 0.01
Ⅴ	0.65 ± 0.05	0.65 ± 0.04	0.62 ± 0.03
对照组	0.68 ± 0.03		

References:

- [1] Qian Y G, Jiang H H. Antioxidation effect of isoflavonoids from *Paeonia suffruticosa* Andr. [J]. *J Nanjing Agri Univ* (南京农业大学学报), 1998, 21(2): 104-108.
- [2] Markham K R, Ternai B, Stanley R, et al. Carbon-13-NMR studies of flavonoids. II naturally occurring flavonoid glycosides and their acylated derivatives [J]. *Tetrahedron*, 1978, 34: 1389-1397.
- [3] Singh V P, Binneta Y, Pandey V B. Flavonone glycosides from *Ahagi pnevduhagi* [J]. *Phytochemistry*, 1999, 51(4): 587-590.
- [4] Phytochemical Department of Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences. *Handbook for Identification of Flavonoids* (黄酮体化合物鉴定手册) [M]. Beijing: Science Press, 1981.
- [5] Liang Q L, Ding L S. Chemical study on the flower of *Dolichos lablab* L. [J]. *J China Pharma Univ* (中国药科大学学报), 1996, 27(4): 205-207.
- [6] Information Center of Chinese Herbal Medicine, State Pharmaceutical Administration of China. *Handbook of Active Constituents in Phytomedicine* (植物药有效成分手册) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1986.

人工蛹虫草化学成分研究

王 刚¹,麻兵继¹,刘吉开^{2*}

(1. 安徽中医学院 药理学系,安徽 合肥 230038; 2. 中国科学院昆明植物研究所,云南 昆明 650205)

人工蛹虫草 *Cordyceps militaris* (L.) Link 又称北冬虫夏草,与冬虫夏草同属麦角菌科虫草属。北方民间曾把蛹虫草作为冬虫夏草应用^[1]。《新华本草纲要》记载其“性平,味甘,有益肺肾,补精髓,止血化痰”等功效,用于肺结核及老人虚弱和贫血等症,为珍贵的中药材^[2]。目前由于人们疯狂搜寻挖掘冬虫夏草,导致生态环境的破坏,因而与冬虫夏草齐名的蛹虫草在国际上日益受到人们的关注,它的开发与生产也为我国开辟了新的营养源和药源。对于冬虫夏草化学成分的研究较多,而对人工蛹虫草化学成分研究较少,仅见姜弘等^[3]从人工蛹虫草子实体中

分离得到 8 个化合物,分别为核苷类、甾醇和脂肪酸类化合物。我们现报道从其人工培养的子实体中得到 7 个化合物,其中化合物Ⅰ,Ⅴ~Ⅶ,为首次从该真菌中分离得到。本实验通过对人工蛹虫草化学成分的系統研究,对比两者的化学成分的异同,为人工蛹虫草代替冬虫夏草药用提供研究基础。

1 仪器与材料

XRC-1 型显微熔点仪(温度计未校正),四川大学科仪厂出品。NMR 用 Bruker AM-400 和 Bruker DRX-500,以 TMS 为内标。MS 用 VG Autospec-3000。薄层色谱硅胶及柱色谱硅胶由青

收稿日期:2003-08-12

作者简介:王 刚,男,副研究员,主要从事天然产物化学成分研究。

* 通讯作者