

马兰中的五个酚性化合物

季 鹏¹, 王国凯^{1*}, 刘劲松¹, 罗争辉¹, 刘吉开², 王 刚¹

¹安徽中医药大学药学院, 现代中药安徽省重点实验室, 合肥 230031; 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, 昆明 650204

摘要: 采用大孔树脂、硅胶、Sephadex LH-20 等多种材料进行分离纯化, 通过理化方法和波谱数据分析进行结构鉴定, 从马兰全草 80% 乙醇提取物中分离并鉴定了 5 个酚性化合物, 分别是汉黄芩素(1)、千层纸素 A(2)、4-羟基苯乙酮(3)、7,4'-二羟基异黄酮(4)、芹菜素(5)。所有化合物均为首次从该属植物中分得。

关键词: 马兰; 化学成分; 提取; 分离; 结构鉴定

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

Five Phenols from *Kalimeris indica*

Ji Peng¹, WANG Guo-kai^{1*}, LIU Jin-song¹, LUO Zheng-hui¹, LIU Ji-kai², WANG Gang¹

¹Department of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine & Anhui Key Laboratory of Modernized Chinese Material, Hefei 230031, China; ²State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China

Abstract: Five phenols were isolated and purified with macroporous resin, silica gel and sephadex LH-20 column chromatography. Their structures were identified as wogonin(1), poryxilin A(2), 4-hydroxyacetophenone(3), 7,4'-dihydroxyisoflavone(4), apigenin(5). All of them were isolated from this genus for the first time.

Key words: *Kalimeris indica*; chemical constituent; extraction; isolation; structure identification

马兰为菊科马兰属植物马兰 *Kalimeris indica* (L.) Sch-Bip 的带根全草, 别名马菜、马兰头、泥鳅串、鸡儿肠、田边菊等。广泛分布于我国江苏、浙江、江西、福建、湖南、湖北、广东、海南、广西、四川、贵州等地, 常见于田埂、草丛、林缘、溪边等潮湿处, 具有非常丰富的研究资源^[1]。马兰是多年生草本植物, 其茎嫩叶肥、口味清香爽口、营养丰富, 常作为野菜食用^[2]。马兰常以全草或根入药, 具清热解毒, 散瘀止血, 温肺止咳, 散寒止痛, 消积之功效。主治感冒发热, 咳嗽, 急性咽炎, 扁桃体炎, 流行性腮腺炎, 传染性肝炎, 胃、十二指肠溃疡等^[3]。采用马兰治疗乙肝病的临床研究多有报道^[4,5], 疗效显著。本研究组已经发表了一系列马兰的化学成分研究报告^[6-9], 从马兰的乙醇提取物中分离到 22 个化合物(包括三萜类、脂肪酸类、甾体类、萜醌类等), 为了更加深入的探索马兰抗病毒活性的物质基础, 本研究改进提取分离方法, 采用热回流提取后, 大孔树脂

富集中小极性化合物, 不同浓度乙醇洗脱分段后, 再分别通过硅胶柱及凝胶柱等色谱分离, 以期寻找到活性先导母体化合物, 结果从马兰全草 80% 乙醇提取物中分离鉴定了 5 个酚性化合物, 分别是汉黄芩素(1)、千层纸素 A(2)、4-羟基苯乙酮(3)、7,4'-二羟基异黄酮(4)、芹菜素(5), 所有化合物均为首次从该属植物中分得。

1 仪器和材料

熔点由 XRC-1 型显微熔点仪测定, 四川大学科仪厂生产; EI-MS 由 VG AutoSpec-3000 质谱仪测定; ESI-MS 由 API Qstar Pulser 质谱仪测定; 核磁共振由 Bruker AVANCE III-600、DRX-500、AV-400 核磁共振波谱仪(TMS 为内标); 分析型和制备型 HPLC 为 Agilent 1100 HPLC, 色谱柱为 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 和 YMC 柱; 柱层析硅胶(80~100 目和 200~300 目)以及 GF₂₅₄ 薄层硅胶板均为青岛海洋化工厂生产; Sephadex LH-20 为瑞典 Amersham Biosciences 公司产品; AB-8 型大孔树脂为南开大学化工厂生产; 显色方法为紫外灯下波长 254 和 365 nm 处观察荧光, 10% 硫酸乙醇溶液和硫酸香草醛处理后加热显

收稿日期: 2013-09-05 接受日期: 2013-11-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(81303220); 安徽省自然科学基金项目(11040606W220); 康缘中医药科技创新基金项目(KYCX 201003)

* 通讯作者 Tel: 86-551-5169227; E-mail: wanggk7779@163.com

色及碘蒸气显色。

马兰药材 2012 年 4 月采自安徽合肥大蜀山, 经安徽中医药大学方成武教授鉴定为菊科马兰属植物马兰 *Kalimeris indica* (L.) Sch-Bip 的带根全草, 凭证标本保存于安徽中医药大学天然药物化学教研室。

2 提取与分离

马兰干燥带根全草 20 kg, 80% 乙醇回流提取 2 次 (300 L × 2), 每次 2 h, 滤过, 合并滤液, 减压回收溶剂, 浓缩至无醇味后稀释至 80 L (即每 mL 提取液相当于原药材 0.31 g), 通过 AB-8 大孔树脂 (干重 30 kg) 吸附, 即树脂与药材重量比 = 1.2:1, 然后, 分别用水、40%、60%、80% 乙醇依次洗脱, 流速 8 mL/min, 每个部分各洗脱 4 个柱体积 (直径: 柱高 = 20:120 cm), 浓缩至浸膏后, 得到 4 个部分, 80% 乙醇部分 (120 g) 上硅胶柱, 石油醚-丙酮 (100:0 → 0:100) 梯度洗脱得 6 个组分 (A、B、C、D、E、F)。组分 C (石油醚: 丙酮-50:1) 经硅胶柱, 石油醚-丙酮 (20:1 → 0:1) 梯度洗脱得 10 个亚组分, 其中 C₂ 经 sephadex LH-20 柱甲醇洗脱得到化合物 1 (22 mg), 组分 D (石油醚: 丙酮-30:1) 经硅胶柱色谱, 石油醚-丙酮 (20:1 → 0:1) 梯度洗脱得 13 个亚组分, 其中 D₃ 经 sephadex LH-20 柱甲醇洗脱, 得到化合物 2 (6 mg)。60% 乙醇部分 (200 g) 上硅胶柱, 二氯甲烷-甲醇 (100:0 → 0:100) 梯度洗脱得 8 个组分 (G、H、I、J、K、L、M、N)。组分 I (二氯甲烷: 甲醇-50:1) 上硅胶柱, 氯仿-甲醇 (50:1 → 0:1) 梯度洗脱, 得 15 个亚组分, 其中 I₃ 经 sephadex LH-20 柱以三氯甲烷-甲醇 (1:1) 洗脱, 得到化合物 3 (7 mg), I₅ 经 sephadex LH-20 柱, 甲醇洗脱, 再重结晶得到化合物 4 (10 mg)。I₈ 经硅胶柱色谱以三氯甲烷-甲醇 (30:1) 洗脱得到化合物 5 (12 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1 黄色针晶, mp. 203 ~ 205 °C, 易溶于丙酮, 盐酸镁粉反应阳性; ESI-MS m/z [M-H]⁻ 为 283, 分子式为 C₁₆H₁₂O₅; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ: 12.49 (1H, s, 5-OH), 7.52 ~ 7.56 (3H, m, H-3', 4', 5'), 7.89 ~ 7.90 (2H, m, H-2', 6'), 6.68 (1H, s, H-3), 6.43 (1H, s, H-6), 4.02 (s, OCH₃); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ: 182.7 (s, C-4), 163.7 (s, C-2), 157.9 (s, C-7), 155.5 (s, C-5), 149.1 (s, C-9), 132.2 (d, C-4'), 131.4 (s, C-1'), 129.5 (d, C-3', 5'),

127.0 (s, C-8), 126.4 (d, C-2', 6'), 106.1 (d, C-3), 105.5 (s, C-10), 99.0 (d, C-6), 62.3 (q, OCH₃)。以上数据与文献^[10]报道一致, 确定该化合物为汉黄芩素 (wogonin)。

化合物 2 淡黄色针状结晶, mp. 202 ~ 204 °C, 易溶于丙酮, 盐酸镁粉反应阳性, Molish 反应阴性; ESI-MS m/z [M-H]⁻ 为 283, 分子式为 C₁₆H₁₂O₅; ¹H NMR (acetone-*d*₆, 600 MHz) δ: 12.59 (1H, s, 5-OH), 9.51 (1H, s, 7-OH), 8.11 (2H, m, H-2', 6'), 7.73 ~ 7.56 (3H, m, H-3', 4', 5'), 6.83 (1H, s, H-3), 6.33 (1H, s, H-8), 3.96 (3H, s, OCH₃); ¹³C NMR (acetone-*d*₆, 150 MHz) δ: 183.3 (s, C-4), 164.4 (s, C-2), 158.2 (s, C-7), 153.9 (s, C-5), 153.7 (s, C-9), 132.8 (d, C-4'), 132.3 (s, C-1'), 130.1 (d, C-3', 5'), 127.2 (d, C-2', 6'), 106.1 (d, C-3), 105.4 (s, C-10), 95.8 (d, C-8), 61.9 (q, OCH₃)。以上数据与文献^[11]报道一致, 确定该化合物为千层纸素 A (oroxylin A)。

化合物 3 白色针晶, mp. 108 ~ 111 °C, ESI-MS m/z [M + H]⁺ 137, [M + Na]⁺ 159, 分子式 C₈H₈O₂; ¹H NMR (acetone-*d*₆, 600 MHz) δ: 7.89 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-2, 6), 6.91 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-3, 5), 2.48 (3H, s, CH₃); ¹³C NMR (acetone-*d*₆, 150 MHz) δ: 199.2 (s, C-7), 162.7 (s, C-4), 131.5 (d, C-2, 6), 130.4 (s, C-1), 116.0 (d, C-3, 5), 26.3 (q, C-8)。以上数据与文献^[12]报道一致, 确定该化合物为 4-羟基苯乙酮 (4-hydroxyacetophenone)。

化合物 4 白色粉末, mp. 309 ~ 311 °C, ESI-MS m/z [M + H]⁺ 为 255, 分子式 C₁₅H₁₀O₄; ¹H NMR (CD₃OD, 600 MHz) δ: 8.12 (1H, s, H-2), 7.88 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-5), 6.94 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-6), 6.91 (1H, s, H-8), 7.36 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-2', 6'), 6.84 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-3', 5'); ¹³C NMR (CD₃OD, 150 MHz) δ: 178.3 (s, C-4), 164.7 (s, C-7), 158.8 (s, C-4'), 158.2 (s, C-9), 154.8 (d, C-2), 131.5 (d, C-2', 6'), 128.6 (d, C-5), 126.0 (s, C-1'), 124.4 (s, C-3), 118.2 (s, C-10), 116.5 (d, C-6), 116.3 (d, C-3', 5'), 103.3 (d, C-8)。以上数据与文献^[13]报道基本一致, 确定该化合物为 7, 4'-二羟基异黄酮 (7, 4'-dihydroxyisoflavone)。

化合物 5 淡黄色无定形粉末, mp. 210 ~ 212 °C, ESI-MS m/z [M-H]⁻ 为 269, 分子式 C₁₅H₁₀O₅; ¹H NMR (CD₃OD, 600 MHz) δ: 7.37 (2H, d, *J* = 8.6

Hz, H-2' (6') ,6.91 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3' (5') , 6.58 (1H, s, H-3) ,6.42 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8) , 6.18 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-6) ; ^{13}C NMR (CD₃OD, 150 MHz) δ : 183.9 (s, C-4) ,166.9 (s, C-2) ,166.3 (s, C-7) ,163.3 (s, C-9) ,162.9 (s, C-4') ,159.6 (s, C-5) , 129.6 (d, C-2' (6') ,123.3 (s, C-1') ,117.1 (d, C-3' (5') ,105.2 (s, C-10) ,103.8 (d, C-3) ,100.4 (d, C-6) ,95.3 (d, C-8) 。以上数据与文献^[14]报道一致, 确定该化合物为芹菜素 (apigenin) 。

参考文献

- Chinese Herbal Editorial Board, State Administration of Traditional Chinese Medicine (China). *Chinese Herbal* (国家中医药管理局中华本草编委会). Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2006. 7886-889.
- Xu XF (徐秀芳), Zhang HY (张海洋). Exploitation and utilization on resources of *Kalimeris indica* in Zhe Jiang. *Northern Horticulture* (北方园艺) 2005 (2): 36-37.
- Editorial Office of National Chinese Herbal Medicine Collection. *Collection of National Chinese Herbal Medicine* (全国中草药汇编). Beijing: People's Medical Publishing House, 1975.
- Zhou HH (周海虹). Clinical application of TCM *Kalimeris indica*. *J Sichuan TCM* (四川中医) 2003 21(4): 23-24.
- Zhou HH (周海虹). Application of *Kalimeris indica* treating liver disease. *Zhejiang J TCM* (浙江中医杂志) 1994 5: 233.
- Lin BB (林彬彬), Wang G (王刚), Liu JS (刘劲松) et al. Studies on the Chemical Constituents of *Kalimeris indica*. *J Anhui Trad Chin Med Coll* (安徽中医学院学报) 2008 27(6): 48-49.
- Liu JS (刘劲松), Wang G (王刚), Wang GK (王国凯) et al. Triterpenoids from *Kalimeris indica*. *Chin Trad Patent Med* (中成药) 2010 32: 462-465.
- Wang G (王刚), Wang GK (王国凯), Liu JS (刘劲松) et al. Studies on the chemical constituents of *Kalimeris indica*. *J Chin Med Mat* (中药材) 2010 33: 551-554.
- Zhong WW (钟文武), Liu JS (刘劲松), Zhang CE (张聪) et al. Studies on the chemical constituents of *Kalimeris indica* (II). *Guihaia* (广西植物) 2012 32: 261-263.
- Huang W (黄伟), Tan GS (谭桂山), Xu KP (徐康平) et al. Cytotoxic constituents from the root of *Ardisia crispa*. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发) 2010 22: 949-951.
- Xiao LH (肖丽和), Wang HY (王红燕), Song SJ (宋少江) et al. Isolation and identification of the chemical constituents of roots of *Scutellaria amoena* C. H. Wright. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报) 2003 20: 181-183.
- Qiu YK (邱鹰昆), Dou DQ (窦德强), Yoshikawa Masayuki (吉川雅之) et al. Studies on the chemical constituents from the stems of *Opuntia dillenii*. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报) 2005 22: 263-266.
- Ren FZ (任风芝), Gao YQ (高月麒), Cheng XX (成晓迅) et al. Study on chemical constituents of *Zornia diphylla*. *Chin Pharm J* (中国药学杂志) 2012 47: 179-181.
- Li Q (李全), Xu QL (许琼明), Hao LL (郝丽莉) et al. Chemical constituents of *Syringa oblata* leaves. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药) 2009 40: 369-371.
- Huang ZY (黄泽元), Wang HB (王海滨), Liu ZW (刘志伟). Optimum extraction technology of flavonoids in sesame leaves. *Trans CSAE* (农业工程学报) 2004 20: 201-204.
- Cheng LJ (程丽娟), Su CH (苏成虎), Liu QC (刘青川) et al. Protective effect of F-6 from *Abelmoschus Manihot* on acute liver injury of mice induced by CCl₄. *Pharm J Chin PLA* (解放军药学学报) 2012 28: 214-217.
- Song M (宋敏), Li SP (李世朋), Chai LQ (柴连琴). Protective effects of flavonoids and decoction from *Cuscuta chinensis* to liver of mice. *Jiangsu Agric Sci* (江苏农业科学) 2010 (3): 280-282.
- Tong Y (童英), Wu SP (吴少平), Yan XD (阎向东) et al. Protection of wheat germ flavonoids on acute hepatic injury induced by carbon tetrachloride. *J Toxicol* (毒理学杂志) 2006 20: 177-178.

(上接第 187 页)

- Liu LH (刘丽辉), Wang YM (王亦民), Fang SS (方顺生). Tissue culture and rapid propagation of *Chrysanthemum morifolium*. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯) 2001 37: 314-315.
- Huang HS (黄河胜), Ma CG (马传庚). A progress in pharmacological research of flavonoids. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志) 2000 25: 589-592.
- Lv P (吕鹏), Huang XW (黄晓舞), Lv QJ (吕秋军). Advances in studies on absorption, distribution, metabolism of flavonoids. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志) 2007 32: 1961-1964.
- Chi RA, Tian J, Gao H et al. Kinetics of leaching flavonoids from *Pueraria Lobata* with ethanol. *Chin J Chem Eng* 2006, 14: 402-406.