

板蓝根水溶性化学成分的研究

李霞<sup>1</sup>, 陈安家<sup>1</sup>, 李春<sup>2\*</sup>

( 1. 山西医科大学药学院, 太原 030001; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[ 摘要] 目的: 提取、分离、鉴定板蓝根水溶性化学成分。方法: 板蓝根水提取液上 HP-20 大孔吸附树脂, 不同浓度乙醇梯度洗脱, 洗脱部分经硅胶、凝胶、反相硅胶柱色谱反复分离、纯化, 利用波谱技术确定化合物的结构。结果: 从板蓝根水提取液中分离得到 6 个化合物, 分别鉴定为( + )-异落叶松树脂醇( 1)、落叶松树脂醇-4-O-  $\beta$ -D-吡 型葡萄糖苷( 2)、落叶松树脂醇-4, 4'-二-O-  $\beta$ -D-吡 型葡萄糖苷( 3)、表告依春( 4)、吲哚-3-乙腈-6-O-  $\beta$ -D-葡萄糖苷( 5)、4-羟基-3-吲哚醛( 6)。结论: 化合物( 6) 为首次从该植物中分离得到。

[ 关键词] 板蓝根; 水溶性化学成分; 生物碱

[ 中图分类号] R284.1 [ 文献标识码] B [ 文章编号] 1005-9903(2010) 05-0064-04

Studies on Water-soluble Chemical Constituent in Radix Isatidis

LI Xia<sup>1</sup>, CHEN An-jia<sup>1</sup>, LI Chun<sup>2\*</sup>

( 1. Medical Academy in Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China;  
2. Institute of Chinese Material Medical, China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100007, China)

[ **Abstract**] **Objective:** To extract, separate and identify the water-soluble chemical constituent from Radix Isatidis. **Method:** The *Radix Isatidis* water extract underwent adsorption by HP-20 macroporous resin, the portion eluted by ethanol of different content was isolated and purified on silica gel column repeatedly. The structures of the compounds were identified by spectra data. **Result:** 6 compounds temporarily separated from *Radix Isatidis* water extract, were identified as: ( + )-isolariciresinol( 1), lariciresinol-4-bis-O-  $\beta$ -D-glucopyranoside( 2), lariciresinol-4, 4'-bis-O-  $\beta$ -D-glucopyranoside ( 3), epigoitrin ( 4), indole-3-acetonitrile-6-O-  $\beta$ -D-glucopyranoside ( 5), 4-

[ 收稿日期] 2009-10-14

[ 基金项目] 中国中医科学院自选课题 z27

[ 通讯作者] \* 李春, Tel: ( 010) 64014411-2984; E-mail: wenyeli@ yahoo. com. cn

[ 3] 吴彦, 孙建宁, 张爱林, 等. 黄连解毒汤有效部位对实验性脑缺血的保护作用[ J]. 中药材, 2004, 27( 5): 357.

[ 4] 肖雁凌, 陆付耳, 徐丽君, 等. 黄连解毒汤对 2 型糖尿病大鼠血管内皮功能的影响[ J]. 中国中药杂志, 2005, 30( 22): 1767.

[ 5] 方青, 詹小萍, 莫剑翎, 等. 黄连解毒汤对 AD 大鼠的治疗作用及对细胞因子含量的影响[ J]. 中国中药杂志, 2004, 29( 6): 575.

[ 6] 肖曾平, 吉爱国. 老年痴呆的发病机制及治疗的研究进展[ J]. 中国老年学杂志, 2008, 28( 1): 99.

[ 7] 温丽萍. 老年性痴呆研究进展[ J]. 中西医结合心脑血管杂志, 2008, 6( 8): 953.

[ 8] Luciana L, Mensor. F S. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the Use of DPPH free radical method[ J]. Phytother. Res.( 2001) 15: 127.

[ 9] George L, Ellman, K, Diane Courtney, et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity [ J]. Biochem. Pharm., 1961, 7: 88.

[ 10] Vinutha B, Prashanth D, Salma K, et al. Screening of selected indian medicinal plants for acethylcholinesterase inhibitory activity[ J]. J. Ethnopharmacol, 2007, 109: 359.

hydroxyindole-3-carboxaldehyde(6)。**Conclusion:** For the first time, Compound 6 was isolated from Radix Isatidis.

**[Key words]** Radix Isatidis; water-soluble chemical composition; alkaloids

板蓝根为常用中药,始载于《神农本草经》,味苦,性寒,有清热解毒、凉血利咽功能。临床上常用于治疗病毒性疾病及细菌感染性疾病,尤其在抗病毒方面疗效确切<sup>[1]</sup>;板蓝根抗病毒作用相关的成分主要集中在大极性部位,这与板蓝根临床应用以水提物为主相符。但目前板蓝根的抗病毒活性成分不是十分清晰,为明确其抗菌和抗病毒疗效的有效成分和物质基础,作者对板蓝根化学成分进行了系统的研究。本实验从大孔树脂 20%、50% 乙醇洗脱部分中共分离得到 6 个化合物,根据理化性质和谱学分析(UV、<sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR、<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY、HMQC、HMBC、EI-MS、ESI-MS、等)确定了它们的结构,分别为:(+)-异落叶松树脂醇(1)、落叶松树脂醇-4-O-β-D-吡喃型葡萄糖苷(2)、落叶松树脂醇-4,4'-二-O-β-D-吡喃型葡萄糖苷(3)、表告依春(4)、吲哚-3-乙醇-6-O-β-D-葡萄糖苷(5)、4-羟基-3-吲哚醛(6)。

## 1 材料

X-6 型显微熔点测定仪(北京泰克仪器有限公司)。ESI-MS 测定用 Q-Torat LC/MS system 质谱仪, EI-MS 测定用 Micromass Autospec Ultima Tof 质谱仪。NMR 用 AL-300、VNS 600 型核磁共振仪。旋光测定用 Pwzz-2B 自动旋光仪。薄层色谱硅胶 GF<sub>254</sub> 和柱色谱硅胶(100~200 目,200~300 目)均为青岛海洋化工厂产品。大孔吸附树脂 HP-20 为天津海光化工有限公司产品, C<sub>18</sub> 反相硅胶为日本 YMC 公司产品, Sephadex LH-20 为瑞士 Pharmacia biotech 公司产品。液相色谱仪为 Agilent 1100(色谱柱: Hypersil GOLD C<sub>18</sub>; 4.6 mm×250 mm, 5 μm)。

板蓝根药材购于河北安国药材市场,经中国中医科学院中药研究所生药室冯学锋副研究员鉴定为十字花科植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的根,标本储存在中国中医科学院中药研究所。

## 2 提取分离

板蓝根药材 10 kg,粉碎后用蒸馏水提取 2 次,每次 2 h,合并提取液过滤,滤液上 HP-20 大孔吸附树脂,依次用水,20%,50%,95% 乙醇梯度洗脱,其中 20% 乙醇部分 243 g,50% 乙醇部分 58 g。20% 乙醇浸膏用 70% 乙醇回流提取 2 次,每次 1 h,得 88.8 g 浸膏,经硅胶柱色谱,三氯甲烷-甲醇梯度洗

脱得到 1~201 个组分。第 67 分中有白色晶体析出,经甲醇反复洗涤后重结晶得化合物 3(14.1 mg)。第 5~8 流分合并经硅胶柱色谱,以二氯甲烷-丙酮(丙酮比例从 0 增加至 40%)为洗脱剂,其中第 15~21 流分合并,经凝胶柱色谱纯化得化合物 4(200 mg);第 32~38 流分合并,经正相、反相硅胶、凝胶柱色谱纯化得化合物 5(7.7 mg)。50% 乙醇浸膏用甲醇回流提取 3 次,每次 1 h,合并滤液得 27.3 g 浸膏,经硅胶柱色谱,三氯甲烷-甲醇梯度洗脱得 1~241 个组分。其中第 81~87 流分合并,反复经硅胶、凝胶柱色谱分离纯化得化合物 1(80 mg)。第 24~35 流分合并,经硅胶柱色谱,三氯甲烷洗脱,第 4 和 5 流分合并,经硅胶、凝胶柱色谱纯化得化合物 6(6 mg);第 93~104 流分合并,经硅胶、凝胶柱色谱纯化得化合物 2(40 mg)。

## 3 结构鉴定

化合物 6 浅黄色不定型粉末,香草醛-浓硫酸先显红色迅速变为黄色再渐渐变为蓝色。ESI-MS  $m/z$ : 160[ $M-1$ ]<sup>-</sup>,相对分子量为 161,表明分子中含有奇数个氮原子;碳谱显示有 9 个碳原子,化学位移均在 100 ppm 以上,提示结构中含有苯环和双键;δ 87.0 ppm 的碳信号提示有醛基或羧基取代,δ 53.0 ppm 的碳信号提示苯环上有羟基取代。<sup>1</sup>H-NMR 谱显示 7 个氢质子,其中 3 个芳香氢 δ 7.02(1H, d,  $J=7.8$  Hz, 5-H), 7.06(1H, d,  $J=8.4$  Hz, 7-H), 7.28(1H, t,  $J=8.4, 7.8$  Hz, 6-H), 偶合常数和 <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY 谱的信息表明 3 个氢原子在苯环上连续排列。由 <sup>1</sup>H-NMR 谱、<sup>13</sup>C-NMR 谱和 MS 数据推测该化合物分子式为 C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>N, 分子母核为吲哚环,有一个羟基和一个醛基取代。<sup>1</sup>H-NMR 谱上 δ 8.24 ppm 的氢为吲哚环上 2 位的氢,该氢直接相连的碳的化学位移为 δ 39.1 ppm。HMBC 谱上醛基氢(δ 9.79 ppm)与 2 位碳(δ 39.1 ppm)相关,由此确定醛基连接在吲哚环的 3 位。<sup>1</sup>H-NMR 谱显示 3 个芳香氢直接相连,那么羟基只能连接在 4 位或 7 位上, HMBC 谱上羟基氢(δ 1.4 ppm)与 9 位碳(δ 15.3 ppm)相关,说明羟基连接在 4 位上。经上述推断确定化合物 6 为 4-羟基-3-吲哚醛。化合物 6 的碳谱数据与 3-吲哚醛的碳谱数据基本相似,两化合物的碳谱数据



H), 5. 93( 1H, m, 1 <sup>1</sup>H)。 <sup>13</sup> C-NMR( CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) δ 49. 06( C-4), 83. 37( C-5), 120. 62( C-2 <sup>1</sup>), 132. 89( C-1 <sup>1</sup>), 189. 53( C-2)。以上数据与文献<sup>[7]</sup>对照, 确定该化合物为表告依春( epigoitrin)。

表 2 化合物 1 ~3 的碳谱数据( C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 75、150 MHz)

| No.                    | 1             | 2             | 3             |
|------------------------|---------------|---------------|---------------|
| C-1                    | 128. 07       | 139. 04       | 138. 97       |
| C-2                    | 112. 57       | 111. 01       | 111. 04       |
| C-3                    | 147. 01       | 148. 72       | 149. 52       |
| C-4                    | 146. 25       | 147. 13       | 147. 15       |
| C-5                    | 117. 88       | 116. 24       | 116. 25       |
| C-6                    | 134. 31       | 118. 78       | 118. 78       |
| C-7                    | 33. 67        | 83. 13        | 83. 11        |
| C-8                    | 40. 48        | 53. 81        | 53. 72        |
| C-9                    | 65. 62        | 62. 36        | 59. 70        |
| C-1 <sup>1</sup>       | 138. 01       | 132. 60       | 135. 16       |
| C-2 <sup>1</sup>       | 113. 61       | 113. 18       | 113. 69       |
| C-3 <sup>1</sup>       | 148. 66       | 149. 72       | 149. 72       |
| C-4 <sup>1</sup>       | 146. 54       | 146. 54       | 146. 45       |
| C-5 <sup>1</sup>       | 116. 36       | 116. 62       | 116. 25       |
| C-6 <sup>1</sup>       | 124. 15       | 121. 79       | 121. 34       |
| C-7 <sup>1</sup>       | 48. 17        | 33. 41        | 33. 35        |
| C-8 <sup>1</sup>       | 47. 97        | 43. 30        | 43. 08        |
| C-9 <sup>1</sup>       | 61. 85        | 73. 29        | 73. 17        |
| G-1( 1 <sup>1</sup> )  | —             | 102. 41       | 102. 48       |
| G-2( 2 <sup>1</sup> )  | —             | 74. 94        | 74. 94        |
| G-3( 3 <sup>1</sup> )  | —             | 78. 60        | 78. 61        |
| G-4( 4 <sup>1</sup> )  | —             | 71. 26        | 71. 27        |
| G-5( 5 <sup>1</sup> )  | —             | 78. 88        | 78. 89        |
| G-6( 6 <sup>1</sup> )  | —             | 60. 02        | 62. 36        |
| G-1( 1 <sup>13</sup> ) | —             | —             | 102. 42       |
| G-2( 2 <sup>13</sup> ) | —             | —             | 74. 94        |
| G-3( 3 <sup>13</sup> ) | —             | —             | 78. 61        |
| G-4( 4 <sup>13</sup> ) | —             | —             | 71. 27        |
| G-5( 5 <sup>13</sup> ) | —             | —             | 78. 89        |
| G-6( 6 <sup>13</sup> ) | —             | —             | 62. 36        |
| -OCH <sub>3</sub>      | 56. 04、55. 67 | 55. 96、55. 87 | 55. 95、55. 95 |

化合物 5 棕黄色针状晶体( 三氯甲烷-甲醇), mp: 240 °C ~242 °C, Molish 反应呈阳性。<sup>1</sup> H-NMR( C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 300 MHz) δ 4. 12( 1H, s, 8-H), 4. 36 ~4. 60( 6H, m, 2 <sup>1</sup>~6 <sup>1</sup>H), 5. 73( 1H, d, *J* = 8. 1 Hz, β-Glc-1 <sup>1</sup>), 7. 13( 1-H, s, 5-H), 7. 19( 1H, overlap, 4-H), 7. 33( 1H, d, *J* = 7. 2 Hz, 7-H), 7. 54( 1H, s, 3-H)。 <sup>13</sup> C-NMR( C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 75 MHz) δ 16. 07( 3-CH<sub>2</sub>) 62. 36( G-6 <sup>1</sup>), 71. 23( G-4 <sup>1</sup>), 75. 26( G-2 <sup>1</sup>), 78. 89( G-3 <sup>1</sup>), 78. 95( G-5 <sup>1</sup>), 103. 23( G-1 <sup>1</sup>), 104. 97( C-5), 105. 22( C-9), 106. 86( C-7), 118. 23( -C≡N), 120. 48( C-3), 123. 50( C-4), 123. 83( C-2), 139. 50( C-8), 153. 29( C-6)。以上数据与文献<sup>[8]</sup>对照基本一致, 确定该化合物为吲哚-3-乙腈-6-O-β-D-葡萄糖苷( indole-3-acetonitrile-6-O-β-D-glucopy2ranoside)。

[ 参考文献]

[ 1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[ M]. 第 3 分册. 上海: 上海科学技术出版社, 1977: 709.

[ 2] 左丽, 李建北, 徐景, 等. 板蓝根的化学成分研究[ J]. 中国中药杂志, 2007, 32( 8): 690.

[ 3] 刘云海, 吴立军, 李华. 板蓝根化学成分研究[ J]. 沈阳药科大学学报, 2002, 19( 2): 93.

[ 4] 何立巍, 李祥, 陈健伟. 板蓝根水溶性化学成分的研究[ J]. 中国药房, 2006, 17( 3): 232.

[ 5] Li B, Chen W S, Zhao Y, *et al.* Phenylpropanoids isolated from tetraploidroots of *I satis ind igotica* [ J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2005, 36( 3): 3262.

[ 6] Laruhisa K, Hideki S, Tsuyoshi T. Studies on the constituents of Clematis species. VI. The constituents of *Clem atis stans* Sieb. etZucc[ J]. Chem Pharm Bull, 1995, 43( 12): 2187.

[ 7] 刘云海, 吴立军, 李华. 板蓝根化学成分研究[ J]. 沈阳药科大学学报, 2002, 19( 2): 93.

[ 8] Li B, Chen WS, Zheng SQ, *et al.* Two new alkaloidsisolated from tetraploidy Banlangen [ J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2000, 35( 7): 5081.