

# 西藏胡黄连化学成分的分离和鉴定

尹立子<sup>1</sup>, 欧阳萍<sup>1</sup>, 徐 雪<sup>1</sup>, 周丽光<sup>1,2</sup>, 王大成<sup>1</sup>, 邓旭明<sup>1</sup>

(1. 吉林大学畜牧兽医学院, 长春 130062; 2. 吉林省五星动物保健药厂, 长春 130062)

**摘要** 从西藏胡黄连中分离和鉴定了4个化合物, 其中化合物**1**是新化合物, 命名为西藏胡黄连酚苷 E (Scrophenoside E), 结构为(2-甲氧基-4-乙酰基)苯酚-3- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基-6-O-(4- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基)香草酰基- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷.

**关键词** 西藏胡黄连; 苯乙醇苷; 西藏胡黄连酚苷 E

**中图分类号** O629.9

**文献标识码** A

**文章编号** 0251-0790(2010)01-0084-04

西藏胡黄连为双子叶植物玄参科西藏胡黄连 (*Picrorhiza scrophulariiflora* Pennell) 的干燥根茎, 味苦, 性寒, 是重要的清虚热药材, 主要分布于我国西藏南部、云南西北部和四川西南部的海拔 3600 ~ 4400 m 的高寒地区的岩石上及石堆中, 或浅土层的向阳处. 具有清热凉血、燥湿消痞及除骨蒸的功效, 主要治疗阴虚骨蒸、潮热盗汗、小儿疳疾、湿热泻痢、黄疸、吐血、衄血、目赤肿痛、痈肿疮疡及痔疮肿毒等<sup>[1]</sup>. 在民间用于利胆、抗疟、苦味健脾及治疗尿路感染及肝炎等. 人们从西藏胡黄连根茎分离得到了3大类化合物<sup>[2]</sup>, 分别为环烯醚萜类、酚苷类和葫芦素类化合物, 另外还有少量的有机酸类化合物和甘露醇等化合物, 其中环烯醚萜类化合物中的胡黄连苦苷为其主要有效成分, 且含量丰富. 对胡黄连的药理作用研究的过程中发现, 其对各种因素引起的肝脏损伤具有良好的保护作用<sup>[3~6]</sup>, 此外还具有抗溃疡<sup>[7,8]</sup>、抗炎免疫<sup>[9,10]</sup>和神经保护<sup>[11]</sup>等作用. 国外已经使用其有效成分开发了治疗肝脏疾病的“Picroliv”的标准制剂<sup>[12]</sup>. 我们曾报道了西藏胡黄连的8个新化合物的分离和鉴定<sup>[13~15]</sup>, 并对其中的两个化合物的体外抗炎免疫活性进行了研究, 实验结果表明, 该化合物在体外具有较好的抗炎免疫活性<sup>[9,10]</sup>. 本文从干燥的西藏胡黄连根茎中分离鉴定了4个化合物, 其中化合物**1**是新化合物. 化合物**2~4**均为已知化合物.

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

西藏胡黄连药材样品购于长春仁德大药房, 产地为四川, 经沈阳药科大学中药鉴定教研室孙启时教授鉴定为双子叶植物玄参科西藏胡黄连的干燥根茎. 高效液相色谱用甲醇为禹王集团生产的色谱纯试剂, 石油醚、乙酸乙酯、氯仿、正丁醇和甲醇均为北京化工厂生产的分析纯试剂.

FTSI-35 傅里叶变换红外光谱仪, KBr 压片; Bruker-AV400 核磁共振仪, DMSO 为溶剂, TMS 为内标; PE-341 型旋光仪; UV-2600 型紫外-可见分光光度计; QTRAP 串联四极杆线性离子阱质谱仪; Lab Alliance BZ300 型高效液相色谱仪, Model 500 检测器; 制备柱为 Kromasil-C<sub>18</sub> (250 mm × 10 mm, 5  $\mu$ m); 薄层和柱色谱用硅胶均为青岛海洋化工厂产品(100 ~ 200 目); 大孔吸附树脂用天津制胶厂产 D101 型树脂.

### 1.2 提取分离

将 2.9 kg 干燥生药用 95% (体积分数) 乙醇加热回流提取 4 次, 提取液减压浓缩回收溶剂, 得浸膏, 水悬. 分别用等体积的石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取数次, 减压浓缩回收溶剂得 4 层浸膏. 取水

收稿日期: 2009-04-01.

基金项目: 国家科技支撑计划(批准号: 2006B6AD31B05, 2008BAD4B04-4)资助.

联系人简介: 邓旭明, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药活性成分的药理作用研究. E-mail: xumingdeng@jluhp.edu.cn

层浸膏用适量的水稀释后通过大孔吸附树脂, 用 75% 的乙醇洗脱, 收集洗脱液, 减压回收乙醇, 得到 34.7 g 干浸膏. 将其溶于甲醇, 经硅胶色谱分离, 用  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (体积比 10:0 ~ 3:7) 梯度洗脱, 薄层检查合并相同部分, 得 A, B, C, D, E 和 F 共 6 个部分. C 部分经硅胶色谱分离, 用  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (体积比 8:2 ~ 4:6) 梯度洗脱, 得到化合物 **2** (150 mg). D 部分经硅胶色谱分离, 用  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (体积比 7:3 ~ 3:7) 梯度洗脱. 得到化合物 **3** (235 mg). E 部分经硅胶色谱分离, 用  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (体积比 6:4 ~ 2:8) 梯度洗脱, 按馏分接收回收有机溶剂, 共得 52 个馏分, 将第 15 ~ 34 馏分合并, 用 HPLC 分离, 流动相为 47% 的  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ , 检测波长 254 nm, 得到化合物 **1** (12 mg) 和化合物 **4** (23 mg).

### 1.3 薄层酸水解

取少量化合物 **1**, 用甲醇溶解, 点于高效薄层板上, 置于浓盐酸蒸气中 12 h, 挥干浓盐酸, 点标准糖, 用氯仿-甲醇-水 (体积比 16:9:2) 和氯仿-甲醇-水 (体积比为 30:12:4, 下层每 9 mL 加 1 mL 醋酸, 展开 2 次) 展开, 用邻苯二甲酸苯胺显色<sup>[16]</sup>.

### 1.4 结构鉴定

胡黄连新苷 E (化合物 **1**) 为白色无定形粉末, Molish 反应呈现阳性. HR-MS 给出其分子式  $\text{C}_{35}\text{H}_{46}\text{O}_{21}$ , 分子量为 802.2528 (实测值) [802.2531 (计算值)];  $[\alpha]_{\text{D}} = 32.5^\circ$  ( $c$  0.023, MeOH); UV (MeOH),  $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}(\lg\epsilon)$ : 290(1.24), 254(2.07), 218(2.15), 202(2.12); IR (KBr),  $\tilde{\nu}_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 3500 ~ 3300 (br), 2919, 1704, 1678, 1592, 1513, 1463, 1420, 1281, 1215, 1077, 1030, 763;  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) 和  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) 数据列于表 1.

Table 1  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz),  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz) and HMBC data of compound **1**

C No.	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (J/Hz)	HMBC (H→C)	C No.	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (J/Hz)	HMBC (H→C)
1	150.7			1''	98.7	5.14d(7.4)	C1
2	148.6			2''	71.6	3.20—3.40m*	
3	111.0	7.44d(1.6)	C2, C4	3''	77.6	4.96t(9.2)	C1''', C2'', C4''
4	130.8			4''	68.1	3.20—3.40m*	
5	122.7	7.30dd(1.6, 8.4)	C4, C6	5''	76.9	3.20—3.40m*	
6	114.3	7.14d(8.8)	C1, C5	6''	61.9	4.22m(a), 4.51m(b)	C7'
7	196.5			1'''	99.5	5.05d(8.0)	C4'
8	26.4	2.48s	C7	2'''	73.1	3.20—3.40m*	
9	55.6	3.81s	C2	3'''	76.8	3.20—3.40m*	
1'	122.1			4'''	69.5	3.20—3.40m*	
2'	112.7	7.46d(1.6)	C1', C3'	5'''	77.1	3.20—3.40m*	
3'	148.6			6'''	60.5	3.18m(a), 3.44m(b)	
4'	150.2			1''''	99.2	5.10d(8.0)	C3''
5'	114.1	7.15d(8.4)	C4', C6'	2''''	72.8	3.20—3.40m*	
6'	122.9	7.52dd(1.6, 8.4)	C1', C5'	3''''	77.0	3.20—3.40m*	
7'	165.1			4''''	70.7	3.20—3.40m*	
8'	55.7	3.78s	C3'	5''''	77.1	3.20—3.40m*	
				6''''	60.7	3.20m(a), 3.38m(b)	

\* Signal pattern unclear due to overlapping.

## 2 结果与讨论

化合物 **1** 的 Molish 反应呈现阳性. HR-ESI-MS 给出其分子式为  $\text{C}_{35}\text{H}_{46}\text{O}_{21}$ , 分子量为 802.2528 (实测值) [802.2531 (计算值)]. 从 IR 谱图可知, 1704 和 1678  $\text{cm}^{-1}$  处分别为羰基和酯基的吸收峰, 而 1592, 1513, 1463 和 1420  $\text{cm}^{-1}$  处为苯环的吸收峰, 这些信息提示化合物 **1** 为含有苯环和羰基的化合物.

在  $^1\text{H}$  NMR 谱中, 由  $\delta$  7.14 ~ 7.53 的 6 个氢信号 [ $\delta$  7.44(d, 1H,  $J=1.6$  Hz), 7.30(dd, 1H,  $J=1.6, 8.4$  Hz), 7.14(d, 1H,  $J=8.4$  Hz), 7.46(d, 1H,  $J=1.6$  Hz), 7.19(d, 1H,  $J=8.2$  Hz), 7.53(dd, 1H,  $J=2.0, 8.2$  Hz)] 可知, 化合物 **1** 有 2 个三取代的 ABX 系统的苯环<sup>[17]</sup>, 这也可从  $^{13}\text{C}$  NMR 中 12 个碳信号 ( $\delta$  150.7, 148.6, 130.8, 122.1, 148.6, 150.2, 111.0, 122.9, 114.3, 112.7, 114.1,

122.9) 来确证; 其中较为低场的 4 个季碳  $\delta$  150.7, 148.6, 148.6 和 150.2 很可能直接与氧相连. 此外在  $^{13}\text{C}$  NMR 谱上最为低场处出现了 2 个羰基信号, 其中  $\delta$  196.5 为酮羰基,  $\delta$  165.1 处可能为酯羰基的信号. 从  $^1\text{H}$  NMR 谱可知化合物 **1** 有 3 个甲基信号, 即  $\delta$  3.81(s, 3H), 3.78(s, 3H) 和 2.47(s, 3H). 通过 HMQC 实验证明与之对应的  $^{13}\text{C}$  NMR 信号分别为  $\delta$  55.6, 55.7 和 25.5. 在  $^1\text{H}$  NMR 谱中  $\delta$  5.14 (d, 1H,  $J=7.2$  Hz), 5.05(d, 1H,  $J=8.0$  Hz) 和 5.10(d, 1H,  $J=7.2$  Hz) 和  $^{13}\text{C}$  NMR 谱中  $\delta$  98.7, 99.5 及 99.2 的糖部分的信号, 提示可能为  $\beta$ -D-葡萄糖的端基信号, 至此可以推测化合物 **1** 是含有酚苷的化合物.

化合物 **1** 经薄层酸水解后与糖的标准品对照, 只检测出葡萄糖, 根据氢谱中糖端基质子的偶合常数( $J=7.2, 8.0$  Hz) 及碳谱中糖端基碳的化学位移( $\delta$  99.5, 99.2, 98.7) 可确定葡萄糖为  $\beta$  构型. 由 HMBC 可知糖部分: 端基 1'' 位的氢( $\delta$  5.14) 与碳  $\delta$  150.98(C1)、4'' 位氢( $\delta$  4.96) 与碳  $\delta$  150.98(C1'')、6'' 位氢( $\delta$  4.71、4.41) 与碳  $\delta$  165.1(C7')、端基 1''' 位的氢( $\delta$  5.05) 与碳  $\delta$  150.2(C4')、端基 1'''' 位的氢( $\delta$  5.10) 与碳  $\delta$  68.5(C4'') 均远程相关, 这可证明化合物 **1** 为含有 3 个糖的苷类化合物. 此外,  $\delta$  150.8(C1) 与  $\delta$  7.44(d, 1H,  $J=1.6$  Hz) 和  $\delta$  7.30(dd, 1H,  $J=1.6, 8.4$  Hz) 均有远程相关, 结合 ABX 系统的性质可以推断  $\delta$  7.44 为 3 位氢,  $\delta$  7.30 为 5 位氢,  $\delta$  7.14(d, 1H,  $J=8.4$  Hz) 为 6 位氢; 由于  $\delta$  195.9(C8) 与  $\delta$  7.44(H3) 和  $\delta$  7.30(H5) 相关, 可以说明乙酰基连接在 4 位,  $\delta$  2.48 和  $\delta$  7.14(H6) 与  $\delta$  130.8 也有相关, 这说明  $\delta$  130.8 为 4 位碳;  $\delta$  7.14(H6) 和  $\delta$  3.81(OCH<sub>3</sub>) 均与  $\delta$  148.6 相关, 证明  $\delta$  148.6 为 2 位碳, OCH<sub>3</sub> 连接在 2 位.

另一个 ABX 苯环的取代: 由 HMBC 结合 HMQC 可知,  $\delta$  165.1(C7') 与  $\delta$  7.46(d, 1H,  $J=1.6$  Hz) 和 7.52(dd, 1H,  $J=1.6, 8.4$  Hz) 有远程相关, 结合 ABX 系统的性质可以推断  $\delta$  7.46 为 2' 位氢,  $\delta$  7.52 为 6' 位氢,  $\delta$  7.14(d, 1H,  $J=8.4$  Hz) 为 5' 位氢;  $\delta$  7.46(H2') 和 7.52(H6') 均与  $\delta$  150.2 远程相关, 说明  $\delta$  150.2 为 4' 位碳;  $\delta$  3.78(OCH<sub>3</sub>) 和 7.14(H5') 均与  $\delta$  148.6 远程相关, 说明  $\delta$  148.6 为 3' 位碳,  $\delta$  3.78 的甲氧基接在 3' 位上;  $\delta$  7.14(H5') 与  $\delta$  122.1 之间也出现了远程相关, 可以证明  $\delta$  122.1 为 1' 位碳. 最终确定化合物 **1** 的结构(图 1) 为 (2-甲氧基-4-乙酰基) 苯酚-3- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基-6-O-(4- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基) 香草酰基- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷. 化合物 **1** 为新化合物, 命名为西藏胡黄连酚苷 E (Scrophenoside E). 化合物 **2, 3, 4** 经波谱分析和对比文献波谱数据分别鉴定为松柏苷<sup>[18]</sup> (Coniferin)、熊果苷<sup>[19]</sup> (Arbutin) 和盾叶夹竹桃苷<sup>[20]</sup> (Androsin).

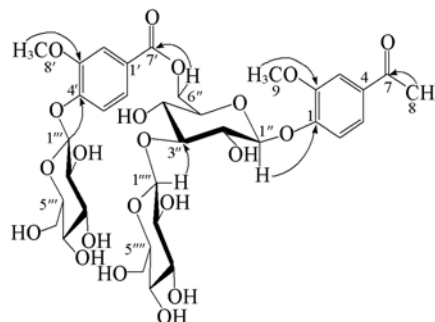


Fig. 1 Structure and key HMBC correlation for compound **1**

## 参 考 文 献

- [1] State Pharmacopoeia Commission of P. R. China(中国药典编委会). Pharmacopoeia of the P. R. China(中华人民共和国药典) [M], Beijing: People's Health Publishing House, 1995, **1**: 204
- [2] Ji Wen-Liang(吉文亮), ZHANG Chao-Hui(张朝辉). Chinese Tradition and Herbal Drugs(中草药) [J], 1998, **29**(1): 54—56
- [3] Rastogi R., Saksena S., Narendra K. G., *et al.*. Planta Med. [J], 1996, **62**(3): 283—285
- [4] Anandan R., Devaki T.. Fitoterapia [J], 1999, **70**(1): 54—57
- [5] Dhuley J. N.. Hindustan Antibiot Bull. [J], 2005/2006, **47/48**: 13—19
- [6] Rahman S., Sultana S.. J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol. [J], 2007, **26**(3): 195—205
- [7] Johnson D. K., Schillinger K. G., Kwait D. M., *et al.*. Endothelium [J], 2002, **9**(3): 191—203
- [8] Banerjee D., Maity B., Nag S. K., *et al.*. BMC Complement Altern Med. [J], 2008, **8**: 3
- [9] ZENG Sheng, WANG Da-Cheng, CAO Yong-Guo, *et al.*. Int. Immunopharmacology [J], 2008, **8**: 1707—1712
- [10] AN Na, WANG Da-Cheng, ZENG Sheng, *et al.*. Immunopharmacol Immunotoxicol [J], 2009, **31**(3): 451—458
- [11] LI P., Matsunaga K., Yamakuni T., *et al.*. Eur. J. Pharmacology [J], 2000, **406**: 203—208
- [12] Dwivedi Y., Rasogi R., Chander R., *et al.*. Ind. J. Med. Res. [J], 1990, **92**: 195—197

- [13] ZOU Lian-Chun, ZHU Tong-Fei, GAN Shu-Cai, *et al.*. *Chin. Chem. Lett.* [J], 2008, **19**: 1224—1227
- [14] ZHU Tong-Fei, HUANG Kai-Yi, DENG Xu-Ming, *et al.*. *Molecules*[J], 2008, **13**: 729—735
- [15] ZOU Lian-Chun, ZHU Tong-Fei, XIANG Hua, *et al.*. *Molecules*[J], 2008, **13**: 2049—2057
- [16] XU Ya-Juan(徐雅娟), HUANG Xiao-Lei(黄小蕾), XIE Sheng-Xu(解生旭), *et al.*. *Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)*[J], 2007, **28**(3): 484—486
- [17] MEI Wen-Li(梅文莉), DAI Hao-Fu(戴好富), WU Da-Gang(吴大刚). *Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)*[J], 2006, **27**(8): 1480—1481
- [18] Junior P. . *Planta Med.* [J], 1986, **52**(3): 218—220
- [19] Zhong Xi-Ning, Otsuka H. , Ide T. , *et al.*. *Phytochemistry*[J], 1998, **49**(7): 2149—2153
- [20] Sticher O. , Lahloub M. F. . *Planta Med.* [J], 1982, **46**(11): 145—148

## Isolation and Identification of a New Compound from the Roots of *Picrorhiza Scrophulariiflora*

YIN Li-Zi<sup>1</sup>, OUYANG Ping<sup>1</sup>, XU Xue<sup>1</sup>, ZHOU Li-Guang<sup>1,2</sup>, WANG Da-Cheng<sup>1</sup>, DENG Xu-Ming<sup>1\*</sup>

(1. *College of Animal Science and Veterinary Medicine, Jilin University, Changchun 130062, China;*

2. *Five-star Animal Health Pharmaceutical Factory of Jilin Province, Changchun 130062, China*)

**Abstract** Xizang Huhuaglian, the roots of *Picrorhiza scrophulariiflora* Pennell, is a traditional Chinese Medicine used to treat damp-heat dysentery, jaundice, indigestion, common fever, acute viral hepatitis, and steaming of bone. The scholars of domestic and foreign have studied on the pharmacological effects of the plant, and found that the plant will be one of the most effective preparation in protecting the liver. This plant is rich in terpenoids, iridoid glycosides, phenolic glycosides and phenylethanoid glycosides. These compounds of the plant were isolated *via* silica gel column, D101 macroporous column, Sephadex LH-20 column, ODS column chromatography and HPLC. The structures of these compounds were identified by spectroscopic methods(NMR, IR, UV and MS) and chemical methods. Four compounds from this plant were obtained. Their names are Scrophenoside E (**1**) [ ( 6-(4-acetyl-2-methoxyphenoxy)-3, 5-dihydroxy-4-(3, 4, 5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl) tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy) tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl) methyl-3-methoxy-4-(3, 4, 5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl) tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy) benzoate ], Coniferin (**2**), Arbutin (**3**) and Androsin (**4**). Scrophenoside E is a new compound. Coniferin, Arbutin and Androsin are three known compounds.

**Keywords** *Picrorhiza scrophulariiflora* Pennell; Phenylethanoid glycosides; Scrophenoside E

(Ed. : H, J, Z)