

紫草化学成分

赵献敏¹, 李南², 宋艳丽¹, 杜彩霞¹, 高剑峰^{1*}, 朱艳琴¹

(1. 河南中医药大学, 郑州 450046; 2. 河南省职工医院, 郑州 450000)

[摘要] 目的:对紫草的主要化学成分进行研究。方法:利用硅胶、聚酰胺、羟丙基葡聚糖凝胶(Sephadex LH-20)等色谱技术进行分离纯化。根据化合物的理化性质和光谱数据鉴定其结构。结果:从紫草中分离得到 10 个化合物,分别鉴定为熊果酸(ursolic acid,1),没食子酸(gallic acid,2),柚皮素(naringenin,3),去氧紫草素(deoxyshikonin,4),紫草素(shikonin,5),5-羟基-2-乙氧基-1,4-萘醌(5-hydroxynaphthalene-2-ethoxy-1,4-dione,6),4,4'-二羟基-3,5-二甲氧基联苳(4,4'-dihydroxy-3,5-dimethoxybibenzyl,7),2',3-二羟基-4,5-二甲氧基联苳(2',3-dihydroxy-4,5-dimethoxybibenzyl,8),异槲皮素苷(querctin-3-O-β-D-glucopyrano-side,9),山柰酚-4'-O-甲醚(kaempferol-4'-O-methylether,10)。结论:化合物 1~3,6~10 为首次从该植物中分离得到。

[关键词] 紫草; 5-羟基-2-乙氧基-1,4-萘醌, 4,4'-二羟基-3,5-二甲氧基联苳; 2',3-二羟基-4,5-二甲氧基联苳

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)15-0047-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016150047

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160603.1142.028.html>

[网络出版时间] 2016-06-03 11:42

Chemical Constituents of Arnebiae Radix

ZHAO Xian-min¹, LI Nan², SONG Yan-li¹, DU Cai-xia¹, GAO Jian-feng^{1*}, ZHU Yan-qin¹

(1. Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China;

2. Henan Province Staff-Worker Hospital, Zhengzhou 450000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the major chemical constituents form Arnebiae Radix. **Method:** The compounds were isolated with chromatographic techniques, such as silica gel, polyamide and Sephadex LH-20. The structures of isolated compounds were identified by physiochemical properties and spectral analysis. **Result:** Ten compounds were obtained form Arnebiae Radix and identified as ursolic acid (1), gallic acid (2), naringenin (3), deoxyshikonin (4), shikonin (5), 5-hydroxynaphthalene-2-ethoxy-1,4-dione (6), 4,4'-dihydroxy-3,5-dimethoxybibenzyl (7), 2',3-dihydroxy-4,5-dimethoxy bibenzyl (8), quercetin-3-O-β-D-glucopyrano-side (9), kaempferol-4'-O-methylether (10). **Conclusion:** Eight compounds 1-3, 6-10 are reported from the plants for the first time.

[Key words] Arnebiae Radix; 5-hydroxynaphthalene-2-ethoxy-1,4-dione; 4,4'-dihydroxy-3,5-dimethoxybibenzyl; 2',3-dihydroxy-4,5-dimethoxy bibenzyl

紫草始载于《神农本草经》,紫草科植物新疆紫草或内蒙紫草的干燥根^[1],为常用方紫草透肌汤、紫草消毒饮、紫草饮(政和本草)、紫草饮(朱氏集验方)的君药,具有抗炎、抗病毒、抗肿瘤、抗生育、抗

氧化、抑菌、止血等药理作用^[2]。紫草的抗炎活性为当前临床应用热点,可用于治疗阴道炎^[3]、智齿冠状周围炎^[4]、化行性口腔炎^[5]、甲沟炎^[6]、口腔黏膜炎^[7]等,而醌类是其主要的活性部位^[8],通过抑

[收稿日期] 20151008(014)

[基金项目] 河南省中医药科学研究专项(2014ZY02044);河南中医学院科研苗圃工程项目(MP2013-14)

[第一作者] 赵献敏,硕士,讲师,从事中医学基本技术及药物活性成分研究,Tel: 0371-86635027,E-mail: zxm634@163.com

[通讯作者] *高剑峰,博士,教授,从事中医药疾病防治研究,Tel: 0371-65676898,E-mail: jc.gjfgeng@hotmail.com

制 TLR4, 肿瘤坏死因子- α (TNF- α), 核转录因子- κ B (NF- κ B) 等促炎症介质的表达, 调节炎症反应, 起到较好的抗炎作用^[9]。但近期有学者研究了紫草萘醌类成分对小鼠的急性毒性和蓄积毒性, 发现紫草萘醌类成分在小鼠体内产生中等蓄积毒性, 使小鼠肝脏、脾脏和胃肠道均有不同程度的损伤和病变^[10]。也有学者发现, 紫草石油醚提取物使小鼠卵巢指数和子宫指数降低, 摄食量减少, 体重下降, 对小鼠具有肝毒性和胃肠道毒性, 而紫草石油醚提取物主要含有醌类化合物^[11]。为找出紫草产生毒性的根源成分或组分, 保障紫草临床安全合理利用, 本研究以现代分离技术和波谱技术为研究手段, 对紫草关键活性部位化学成分进行了研究, 从中分离并鉴定了 10 个化合物, 其中首次从本植物中分离得到 8 个化合物, 为今后紫草毒性成分的筛选及结构改造提供依据, 有效促进紫草作为传统中药的研究和开发。

1 材料

DPX-400 型核磁共振波谱仪 (布鲁克北京科技有限公司), Kofler 型显微测熔仪 (金伦科技香港有限公司), DZKW-4 型电子恒温水浴锅 (北京中兴伟业仪器有限公司), SB-1000 型旋转蒸发仪 (上海爱朗仪器有限公司), Sartorius BSA-124S-CW 型分析天平 (天津因赛科技发展有限公司), 羟丙基葡聚糖凝胶 (Sephadex LH-20, 日本三菱公司, 批号 SH01001), 柱色谱硅胶 (青岛海洋化工厂, 批号 120211), 聚酰胺粉 (浙江省台州市路桥四甲生化塑料厂, 批号 20110601), 所用试剂均为分析纯。

紫草药材购自本草国药堂, 批号 130507, 经河南中医学院董诚明教授鉴定为紫草科植物新疆紫草 *Arnebia euchroma* 的干燥根。

2 提取与分离

取紫草药材 5 kg, 粉碎, 用 10 倍量乙醇回流提取 2 次, 每次 1 h, 合并滤液, 减压浓缩, 真空干燥得浸膏 (185 g)。将浸膏加适量水分散, 然后依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取, 回收溶剂, 分别得石油醚部位 (16 g), 乙酸乙酯部位 (60 g) 和正丁醇部位 (25 g)。石油醚部位经硅胶柱色谱, 三氯甲烷-甲醇 (30:1 ~ 10:1) 梯度洗脱, 甲醇重结晶得到化合物 **1** (5.4 mg), 化合物 **2** (8.5 mg); 乙酸乙酯部位先采用硅胶和聚酰胺柱色谱法进行反复分离, 然后用 Sephadex LH-20 柱色谱进行纯化, 得到化合物 **3** (13.1 mg), **4** (20.6 mg), **5** (17.8 mg), **6** (6.1 mg), **7** (5.7 mg), **8** (3.9 mg); 正丁醇部位, 采用硅胶柱色

谱, 三氯甲烷-甲醇 (6:1 ~ 1:1) 梯度洗脱, Sephadex LH-20 柱色谱纯化及重结晶得到化合物 **9** (9.8 mg), **10** (11.2 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1** 白色粉末, mp 282 ~ 285 °C。Liebermann-Burchard 反应为阳性。¹H-NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 3.06 (1H, dd, $J = 12.0, 5.8$ Hz, H-3), 5.10 (1H, s, H-12), 2.12 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-18), 0.69 (3H, s, H-23), 0.82 (3H, s, H-24), 0.90 (3H, s, H-25), 0.94 (3H, s, H-26), 0.72 (3H, s, H-27), 0.85 (3H, d, $J = 6.1$ Hz, H-29), 0.79 (3H, d, $J = 6.1$ Hz, H-30)。¹³C-NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ : 39.0 (C-1), 27.6 (C-2), 78.4 (C-3), 39.2 (C-4), 56.0 (C-5), 19.0 (C-6), 33.9 (C-7), 40.1 (C-8), 48.3 (C-9), 37.1 (C-10), 23.3 (C-11), 125.7 (C-12), 139.8 (C-13), 42.5 (C-14), 28.4 (C-15), 24.8 (C-16), 47.7 (C-17), 54.2 (C-18), 39.8 (C-19), 39.4 (C-20), 31.2 (C-21), 37.6 (C-22), 28.9 (C-23), 15.7 (C-24), 16.8 (C-25), 18.1 (C-26), 23.9 (C-27), 179.6 (C-28), 17.2 (C-29), 21.0 (C-30)。以上数据与文献 [12] 报道基本一致, 故鉴定该化合物 **1** 为熊果酸 (ursolic acid)。

化合物 **2** 白色固体, mp 238 ~ 240 °C。¹H-NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 7.02 (2H, s, H-2, 6)。¹³C-NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ : 120.6 (C-1), 109.4 (C-2), 145.6 (C-3), 138.2 (C-4), 145.6 (C-5), 109.5 (C-6), 168.1 (C-7)。以上数据与文献 [13] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **2** 为没食子酸 (gallic acid)。

化合物 **3** 黄色粉末, mp 249 ~ 251 °C。¹H-NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ : 5.37 (1H, dd, $J = 12.6, 2.2$ Hz, H-2), 6.01 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.99 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 7.37 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, H-2', 6'), 6.87 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, H-3', 5'), 3.05 (1H, dd, $J = 16.7, 12.6$ Hz, H-3a), 2.72 (1H, dd, $J = 16.7, 2.2$ Hz, H-3b)。¹³C-NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ : 80.2 (C-2), 43.9 (C-3), 197.6 (C-4), 165.2 (C-5), 97.2 (C-6), 168.4 (C-7), 96.1 (C-8), 165.1 (C-9), 103.2 (C-10), 130.8 (C-1'), 128.8 (C-2'), 116.1 (C-3'), 158.9 (C-4'), 116.1 (C-5'), 128.7 (C-6')。以上数据与文献 [14] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **3** 为柚皮素 (naringenin)。

化合物**4** 红色结晶, mp 88 ~ 90 °C, 遇碱变蓝色。¹H-NMR(CD₃OD, 500 MHz) δ: 6.86(1H, s, H-3), 7.19(2H, s, H-6,7), 2.74(2H, t, *J* = 7.1 Hz, H-11), 2.37(2H, m, H-12), 5.15(¹H, t, *J* = 7.1 Hz, H-13), 1.70(1H, s, H-15), 1.60(1H, s, H-16), 12.44(1H, s, 5-OH), 12.58(1H, s, 8-OH)。¹³C-NMR(CD₃OD, 125 MHz) δ: 182.9(C-1), 151.3(C-2), 134.5(C-3), 182.6(C-4), 162.0(C-5), 130.9(C-6), 131.4(C-7), 163.1(C-8), 111.7(C-9), 111.5(C-10), 29.4(C-11), 26.3(C-12), 122.3(C-13), 133.3(C-14), 18.0(C-15), 25.6(C-16)。以上数据与文献[15]报道基本一致,故鉴定化合物**4**为去氧紫草素(deoxyshikonin)。

化合物**5** 红褐色结晶, mp 146 ~ 149 °C。¹H-NMR(CD₃OD, 500 MHz) δ: 7.13(3H, s, H-3,6,7), 12.42(1H, s, H-5), 12.55(1H, s, H-8), 2.63(1H, m, H-11), 2.39(2H, m, H-12), 5.17(1H, t, *J* = 6.9 Hz, H-13), 1.72(3H, s, H-15), 1.66(3H, s, H-16)。¹³C-NMR(CD₃OD, 125 MHz) δ: 181.0(C-1), 151.5(C-2), 137.9(C-3), 179.9(C-4), 165.2(C-5), 132.9(C-6), 132.7(C-7), 165.5(C-8), 112.4(C-9), 111.6(C-10), 68.5(C-11), 36.1(C-12), 118.5(C-13), 132.0(C-14), 26.1(C-15), 18.1(C-16)。以上数据与文献[16]报道基本一致,故鉴定化合物**5**为紫草素(shikonin)。

化合物**6** 红色针状结晶, mp 192 ~ 195 °C。¹H-NMR(DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 6.11(1H, s, H-3), 7.23(1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-6), 7.55(1H, dd, *J* = 8.5, 7.2 Hz, H-7), 7.68(1H, d, *J* = 7.2 Hz, H-8), 4.16(2H, q, *J* = 6.9 Hz, H-11)。¹³C-NMR(DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ: 179.3(C-1), 160.4(C-2), 109.6(C-3), 190.4(C-4), 161.2(C-5), 124.9(C-6), 135.7(C-7), 119.8(C-8), 131.5(C-9), 114.2(C-10), 65.3(C-11), 14.0(C-12)。以上数据与文献[17]报道基本一致,故鉴定化合物**6**为5-羟基-2-乙氧基-1,4-萘醌(2-ethoxy-5-hydroxynaphthalene-1,4-dione)。

化合物**7** 无色结晶, mp 153 ~ 156 °C。¹H-NMR(DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 6.33(1H, s, H-2), 6.39(1H, d, *J* = 8.3 Hz, H-6), 7.01(2H, d, *J* = 8.3 Hz, H-2', 6'), 6.73(2H, d, *J* = 8.3 Hz, H-3', 5'), 3.81(6H, s, 2 × -OCH₃), 2.71(2H, s, H-a, a')。¹³C-NMR(DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ: 134.3(C-1), 107.0(C-2), 148.8(C-3), 130.4(C-4), 148.9

(C-5), 107.1(C-6), 130.3(C-1'), 130.2(C-2'), 115.9(C-3'), 156.2(C-4'), 116.0(C-5'), 130.1(C-6'), 56.8(2 × -OCH₃), 39.7(C-a), 38.2(C-a')。以上数据与文献[18]报道基本一致,故鉴定化合物**7**为4,4'-二羟基-3,5-二甲氧基联苕(4,4'-dihydroxy-3,5-dimethoxybibenzyl)。

化合物**8** 红色无定形粉末, mp 149 ~ 152 °C。¹H-NMR(DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 6.51(1H, s, H-2), 6.27(1H, s, H-6), 6.80(1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-3'), 7.02(1H, m, H-4'), 6.85(1H, t, *J* = 7.2 Hz, H-5'), 7.04(1H, m, H-6'), 3.91(3H, s, 4-OCH₃), 3.79(3H, s, 5-OCH₃), 2.90(2H, m, H-a), 2.84(2H, m, H-a')。¹³C-NMR(DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ: 138.5(C-1), 108.4(C-2), 149.4(C-3), 134.0(C-4), 152.5(C-5), 104.9(C-6), 128.3(C-1'), 154.1(C-2'), 114.9(C-3'), 127.2(C-4'), 121.0(C-5'), 130.2(C-6'), 61.1(4-OCH₃), 55.9(5-OCH₃), 36.4(C-a'), 32.2(C-a)。以上数据与文献[19]报道基本一致,故鉴定化合物**8**为2',3-二羟基-4,5-二甲氧基联苕(2',3-dihydroxy-4,5-dimethoxy-bibenzyl)。

化合物**9** 黄色粉末, mp 185 ~ 188 °C。¹H-NMR(DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 6.23(1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-6), 6.41(1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-8), 7.53(1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 6.78(1H, d, *J* = 7.1 Hz, H-5'), 7.60(1H, dd, *J* = 7.1, 2.0 Hz, H-6'), 5.50(1H, d, *J* = 5.8 Hz, H-1'')。¹³C-NMR(DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ: 156.3(C-2), 133.6(C-3), 177.5(C-4), 161.5(C-5), 98.8(C-6), 164.3(C-7), 93.3(C-8), 156.6(C-9), 104.2(C-10), 121.7(C-1'), 115.1(C-2'), 144.5(C-3'), 148.7(C-4'), 115.9(C-5'), 121.2(C-6'), 101.4(C-1''), 73.3(C-2''), 77.5(C-3''), 69.9(C-4''), 76.6(C-5''), 61.0(C-6'')。以上数据与文献[20]报道基本一致,故鉴定化合物**9**为异槲皮素苷(queracetin-3-O-β-D-glucopyranoside)。

化合物**10** 黄色粉末, mp 276 ~ 279 °C, 盐酸-镁粉反应阳性。¹H-NMR(DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 6.26(1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-6), 6.59(1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-8), 8.16(2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-2', 6'), 7.01(2H, dd, *J* = 1.8, 7.2 Hz, H-3', 5'), 3.92(3H, s, 4'-OCH₃)。¹³C-NMR(DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ: 145.7(C-2), 135.6(C-3), 176.4(C-4), 156.4(C-5), 98.8(C-6), 165.4(C-7), 94.7(C-

8), 160.5 (C-9), 105.0 (C-10), 123.3 (C-1'), 129.0 (C-2'), 114.1 (C-3'), 160.9 (C-4'), 114.2 (C-5'), 129.1 (C-6'), 55.0 (4'-OCH₃)。以上数据与文献[21]报道基本一致,故鉴定化合物**10**为山柰酚-4'-O-甲醚(kaempferol-4'-O-methylether)。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:320.

[2] 袁慧勤, 胡迪. 紫草的药理作用及单味药临床外用概述[J]. 医学综述, 2015, 21(3):504-506.

[3] 叶逢梅. 单味紫草联合制霉菌素治疗霉菌性阴道炎68例疗效观察[J]. 河南医学研究, 2015, 24(2):54-55.

[4] 王清. 紫草油治疗智齿冠周炎临床研究[J]. 中医学报, 2013, 28(9):1413-1414.

[5] 梁小珍, 梁耀君, 刘红杯. 紫草油复合剂治疗化脓性口腔炎疗效观察[J]. 新中医, 2013, 45(3):123-124.

[6] 王小琴, 王科. 自制紫草油纱用于甲沟炎拔甲后换药的疗效观察[J]. 中国医疗美容, 2014(3):101-102.

[7] 黄露, 梁键, 林海珍, 等. 复方紫草地榆油对鼻咽癌患者放射性口腔黏膜炎的疗效观察[J]. 中国中医药科技, 2015, 22(2):198-199.

[8] 杨海红, 杨雪梅, 杨春霞, 等. 紫草萘醌类成分的提取及其复合物栓的抗炎活性研究[J]. 中国民族民间医药, 2012(17):54-56.

[9] 徐佳, 伍春莲. 紫草素药理作用研究进展[J]. 药物生物技术, 2015, 22(1):87-90.

[10] 曹璐婷. 新疆紫草萘醌类成分的测定及毒性研究[D]. 长沙:湖南中医药大学, 2015.

[11] 戴冰, 曹璐婷, 肖子曾, 等. 新疆软紫草石油醚提取物对小鼠及其靶器官的毒性影响[J]. 中药药理与临床, 2015, 31(1):147-150.

[12] Fan X A, Lin S, Zhu C G, et al. Terpenoids of *Heteroplexis micocephala* and their bioactivities[J]. *Chi J Mat Med*, 2010, 35(3):315-317.

[13] 石钰, 马养民, 康永祥, 等. 美丽芍药化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(23):104-106.

[14] 刘志平, 周敏, 刘盛, 等. 枸棘根皮化学成分研究(II)[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(9):2059-2060.

[15] 刘洁宇, 徐新刚, 刘松艳, 等. 长白山产紫草化学成分研究[J]. 北京中医药大学学报, 2009, 32(11):773-775.

[16] 郭红军, 孔焕宇, 马长华. 紫草油膏中的化学成分研究[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(2):153-154.

[17] 周媛媛, 蒋艳秋, 孟颖, 等. 青龙衣活性部位的化学成分研究[J]. 中成药, 2015, 37(2):332-335.

[18] 周佳, 周先丽, 梁成钦, 等. 铁皮石斛化学成分研究[J]. 中草药, 2015, 46(9):1292-1295.

[19] 李来明, 李国强, 吴霞, 等. 黄药子芪类化学成分的研究[J]. 中草药, 2014, 45(3):328-332.

[20] Harbone J B. The flavonoids advances in research[M]. London: Chapman and Hall, 1982:351.

[21] Yue Y, Liu Y Q, Sun L, et al. Isolation and identification of chemical constituents from *Alpinia oxyphylla* Miq[J]. *Asia Pacific Tradit Med*, 2001, 7(4):19-20.

[责任编辑 邹晓翠]