

· 化学与分析 ·

黄芩茎叶中的化学成分

王宏伟, 尹志峰, 李洪波, 袁晓旭, 杨明明, 赵桂琴*
(承德医学院中药研究所, 河北省中药研究与开发重点实验室,
河北省中医药抗痴呆重点实验室, 河北承德 067000)

[摘要] 目的:探讨黄芩茎叶的抗菌活性物质基础。方法:60%乙醇冷浸提取,通过硅胶柱色谱,聚酰胺柱色谱,羟丙基葡聚糖凝胶(Sephadex LH-20)柱色谱及 HPLC,重结晶等方法分离纯化,根据化合物的理化性质和波谱数据($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, UV, MS)鉴定化学结构。结果:从黄芩茎叶 60%乙醇提取物中,分离得到 8 个单体化合物,分别鉴定为:芹菜素-7- O - β -D-葡萄糖醛酸苷(1), 5,4'-二羟基-7-甲氧基二氢黄酮(2), 芫花素(3), 千层纸素 A-7- O - β -D-葡萄糖醛酸苷(4), 7-甲氧基白杨素(5), 白杨素(6), 3',4',5,5',7-五甲氧基黄酮(7), 红花素-7- O - β -D-葡萄糖醛酸苷(8)。结论:化合物 3 为首次从黄芩茎叶中分离得到,化合物 2,5,7 为首次从黄芩植物中分离得到。

[关键词] 黄芩茎叶; 化学成分; 分离纯化; 结构鉴定

[中图分类号] R284.1;R284.2 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2016)22-0041-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016220041

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160906.0910.024.html>

[网络出版时间] 2016-09-06 9:10

Chemical Constituents from Stems and Leaves of *Scutellaria baicalensis*

WANG Hong-wei, YIN Zhi-feng, LI Hong-bo, YUAN Xiao-xu, YANG Ming-ming, ZHAO Gui-qin*
(Institute of Chinese Mateia Medica, Chengde Medical College, Hebei Key Laboratory of Research and
Development of Traditional Chinese Medicine, Hebei Province Key Research Office of
Traditional Chinese Medicine Against Dementia, Chengde 067000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the active components for antimicrobial activity in stems and leaves of *Scutellaria baicalensis*. **Method:** The components were extracted by using 60% ethanol cold immersion method, isolated and purified by silica gel chromatography, polyamide chromatography, Sephadex LH-20 column and HPLC, recrystallization and other methods. Their chemical structures were identified on the basis of physicochemical properties and spectral analysis ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, UV and MS). **Result:** Eight monomeric compounds were isolated from 60% ethanol extracts for stems and leaves of *S. baicalensis*, and their structures were identified as carthamidin-7- O - β -D-glucuronide (1), 5, 4'-dihydroxy-7-methoxyflavone (2), genkwanin (3), oroxylin-A-7- O - β -D-glucuronide (4), 7-methoxychrysin (5), chrysin (6), 3', 4', 5, 5', 7-pentamethoxyflavone (7), and carthamidin-7- O - β -D-glucuronide (8). **Conclusion:** Compound 3 was isolated from stems and leaves of the plant for the first time. Compounds 2, 5, 7 were isolated from this plant for the first time.

[Key words] stems and leaves of *Scutellaria baicalensis*; chemical constituents; isolation and purification; structure identification

[收稿日期] 20151126(001)

[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2011BAI07B04)

[第一作者] 王宏伟, 硕士, 实验师, 从事中草药有效成分分离纯化工作, Tel: 0314-2291144, E-mail: 382857982@qq.com

[通讯作者] * 赵桂琴, 博士, 教授, 从事中草药药效物质研究工作, Tel: 0314-2291908, E-mail: zhaoguiqin1971@sina.com

黄芩为唇形科植物,传统药用其根,具有清热燥湿、泻火解毒等功效。承德产“热河黄芩”是河北省最为知名的道地药材品种之一,因品质好、疗效显著畅销全国。为充分利用“热河黄芩”药用资源,作者所在的承德医学院中药研究所近年来一直致力于黄芩茎叶提取物的相关研究,先后开展了黄芩茎叶总黄酮提取工艺、黄芩茎叶提取物的药理活性,如抗菌、抗炎、抗痴呆等的研究工作。结果表明,黄芩茎叶提取物对金黄色葡萄球菌等 13 种 38 株细菌的大部分表现了明显的抗菌活性,适宜剂量的该提取物对金黄色葡萄球菌感染造成的小鼠死亡表现明显的保护作用^[1];黄芩茎叶总黄酮可以调节胶原性关节炎小鼠 Th1/Th2 细胞的平衡及其相关细胞因子干扰素- γ (IFN- γ),白细胞介素-10 (IL-10) 的表达^[2];黄芩茎叶总黄酮可通过减轻大脑皮质神经元和突触超微结构损伤,保护缺血再灌注脑神经功能^[3];黄芩茎叶总黄酮对海马区微血管、血脑屏障和神经损伤有预防性保护作用,其作用机制可能是通过增加有效微血管再通数量,维持血脑屏障完整和功能,减轻脑水肿实现的^[4]。

为进一步阐明黄芩茎叶药效物质基础,本文以体外抗菌活性为指标,采用活性追踪分离的方法,对黄芩茎叶 60% 乙醇冷浸提取物的化学成分进行了深入研究,共分离得到 8 个单体化合物,通过理化性质和波谱数据分别鉴定为芹菜素-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷(1),5,4'-二羟基-7-甲氧基二氢黄酮(2),芫花素(3),千层纸素 A-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷(4),7-甲氧基白杨素(5),白杨素(6),3',4',5,5',7-五甲氧基黄酮(7),红花素-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷(8)。化合物 3 为首次从黄芩茎叶中分离得到,化合物 2,5,7 为首次从黄芩植物中分离得到。

1 材料

LC-10A 型高效液相色谱仪(日本岛津仪器有限公司),1200 系列高效液相色谱仪(安捷伦科技有限公司),二极管阵列检测器 DAD,Agilent Chemstation 化学工作站,AG-245 型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多国际股份有限公司),CT ALPHA 1-4LD RZ6 型冷冻干燥机(德国 Christ 公司),XT-4 型显微熔点测定仪(河南豫华仪器有限公司),Spectrum-752 型紫外分光光度计(上海光谱仪器有限公司),INAVO-600 型核磁共振仪(TMS 为内标,美国 Varian 公司),Zabspec 型高分辨磁质谱仪(美国 Micromass 公司)。

AB-8 大孔吸附树脂(南开大学化工厂,批号

20120301),柱色谱硅胶(青岛海洋化工厂,批号 120211),LH-20 型羟丙基葡聚糖凝胶(Sephadex,瑞典 GE Healthcare 公司,批号 10083101),聚酰胺粉(浙江黄岩化工厂,批号 20120601),所用试剂均为分析纯。

黄芩茎叶 2012 年 10 月采集于河北省承德市隆化县,经中国药材集团承德药材有限责任公司主任中药师张学文鉴定为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* 的干燥茎叶,标本(CMSBG-001)现存于承德医学院中药研究所植化研究室。

2 提取分离

干燥黄芩茎叶 20 kg,用 10 倍量 60% 乙醇冷浸提取 3 次,每次 72 h,滤过,合并滤液,浓缩得浸膏 2.2 kg。浸膏用适量水分散,用石油醚、三氯甲烷、水饱和和正丁醇依次萃取,得三氯甲烷萃取部位 320 g,正丁醇萃取部位 900 g。取三氯甲烷部位 100 g,正相硅胶柱色谱,石油醚-乙酸乙酯(4:1)洗脱,得 fr. 1~4,fr. 1 经反复硅胶柱色谱,得化合物 5(28 mg);fr. 2 经反复硅胶柱色谱,得化合物 3(22 mg);fr. 3 经反复硅胶柱色谱,结合重结晶法纯化,得化合物 6(25 mg),化合物 7(18 mg)。取正丁醇部位 900 g,AB-8 大孔吸附树脂分离,乙醇-水梯度洗脱,得 50% 乙醇洗脱物(Fr-C)190 g,取 Fr-C 190 g,用硅胶柱分离,分别以三氯甲烷-甲醇(9:1,5:1)洗脱,合并极性相近组分,得 Fr. 1~4。Fr. 1 经反复硅胶柱色谱,三氯甲烷-甲醇(9:1,5:1)洗脱,结合重结晶法纯化,得化合物 2(23 mg);Fr. 2 经反复硅胶柱色谱,三氯甲烷-甲醇-水(90:35:6,60:35:10)洗脱,结合 HPLC 纯化,得化合物 8(21 mg);Fr. 4 经反复硅胶柱色谱,三氯甲烷-甲醇-水(90:35:6,60:35:10)洗脱,结合聚酰胺柱分离,Sephadex LH-20 纯化,分别得化合物 1(24 mg),化合物 4(21 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1 黄色粉末(甲醇)。UV: λ_{\max} 267,332 nm;EI-MS m/z 445 [M + H]⁺, 287 [M + H - 176]⁺。¹H-NMR (CH₃OH-*d*₄, 600 MHz) δ : 7.90 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-2', 6'), 6.94 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-3', 5'), 6.83 (1H, s, H-3), 6.67 (1H, s, H-8), 6.50 (1H, s, H-6), 5.17 (1H, d, J = 6.2 Hz, H-1")。¹³C-NMR (CH₃OH-*d*₄, 150 MHz) δ : 164.6 (C-2), 104.1 (C-3), 184.1 (C-4), 162.9 (C-5), 101.2 (C-6), 162.9 (C-7), 96.1 (C-8), 158.9 (C-9), 104.1 (C-10), 123.1 (C-1'), 129.8 (C-2', 6'), 117.1 (C-3'5'), 162.8 (C-4'), 96.1 (C-1"),

73.0 (C-2''), 76.6 (C-3''), 74.4 (C-4''), 77.3 (C-5''), 176.0 (C-6'')。与文献[5]中芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷波谱数据比较基本一致,化合物1确定为芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷。

化合物2 淡黄色粉末。¹H-NMR, (DMSO-*d*₆, 600 MHz) δ: 11.80 (1H, s, 5-OH), 9.54 (1H, s, 4'-OH), 8.07 (1H, s, H-8), 7.33 (2H, t, *J* = 8.4 Hz, H-2', 6'), 6.79 (2H, m, H-3', 5'), 6.18 (1H, s, H-6), 5.42 (1H, dd, *J* = 12.0, 3.0 Hz, H-2), 3.75 (1H, dd, *J* = 16.8, 12.0 Hz, H-3a), 2.74 (1H, dd, *J* = 16.8, 3.0 Hz, H-3b), 3.82 (3H, s, 7-OCH₃)。 ¹³C-NMR, (DMSO-*d*₆, 150 MHz) δ: 78.4 (C-2), 42.3 (C-3), 197.2 (C-4), 148.3 (C-5), 92.4 (C-6), 157.6 (C-7), 92.4 (C-8), 148.3 (C-9), 102.3 (C-10), 155.7 (C-1'), 128.3 (C-2'), 126.5 (C-3'), 157.1 (C-4'), 129.0 (C-5'), 115.0 (C-6'), 56.1 (7-OCH₃)。与文献[6]中5,4'-二羟基-7-甲氧基二氢黄酮波谱数据比较基本一致,化合物2确定为5,4'-二羟基-7-甲氧基二氢黄酮。

化合物3 淡黄色粉末。¹H-NMR, (DMSO-*d*₆, 600 MHz) δ: 12.95 (1H, s, 5-OH), 10.36 (1H, s, 4'-OH), 6.36 (1H, s, H-3), 7.95 (2H, m, H-2', 6'), 6.92 (2H, m, H-3', 5'), 6.83 (1H, s, H-8), 6.75 (1H, s, H-6), 3.86 (3H, s, 7-OCH₃)。 ¹³C-NMR, (DMSO-*d*₆, 150 MHz) δ: 163.8 (C-2), 102.7 (C-3), 182.8 (C-4), 158.3 (C-5), 97.5 (C-6), 164.8 (C-7), 92.3 (C-8), 156.2 (C-9), 104.3 (C-10), 122.3 (C-1'), 130.4 (C-2', 6'), 116.9 (C-3', 5'), 162.5 (C-4'), 55.0 (C-OCH₃)。与文献[7]中芫花素波谱数据比较基本一致,化合物3确定为芫花素。

化合物4 淡黄色粉末。¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz) δ: 12.81 (1H, s, 5-OH), 7.04 (1H, s, H-3), 7.10 (1H, s, H-8), 8.08 (2H, m, H-2', 6'), 7.60 (3H, m, H-3', 4', 5'), 5.56 (1H, d, *J* = 5.4 Hz, H-1'')。 ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 150 MHz) δ: 163.7 (C-2), 105.0 (C-3), 182.5 (C-4), 152.2 (C-5), 132.6 (C-6), 156.2 (C-7), 94.1 (C-8), 152.5 (C-9), 106.0 (C-10), 130.6 (C-1'), 126.5 (C-2', 6'), 129.2 (C-3', 5'), 132.1 (C-4'), 99.5 (C-1''), 72.8 (C-2''), 75.5 (C-3''), 71.2 (C-4''), 75.9 (C-5''), 169.9 (C-6''), 60.3 (C-OCH₃)。与文献[8]中千层纸素 A-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷波谱数据比较基本一致,化合物4确定为千层纸素 A-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷。

化合物5 淡黄色粉末。¹H-NMR (DMSO-*d*₆,

600 MHz) δ: 12.80 (1H, s, 5-OH), 7.02 (1H, s, H-3), 6.39 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-6), 6.81 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-8), 8.09 (2H, m, H-2', 6'), 7.62 (3H, m, H-3', 4', 5')。 ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 150 MHz) δ: 163.2 (C-2), 105.2 (C-3), 181.9 (C-4), 161.5 (C-5), 99.0 (C-6), 164.5 (C-7), 94.1 (C-8), 157.5 (C-9), 104.0 (C-10), 130.7 (C-1'), 126.4 (C-2', 6'), 129.2 (C-3', 5'), 132.0 (C-4')。与文献[9]中7-甲氧基白杨素波谱数据比较基本一致,化合物5确定为7-甲氧基白杨素。

化合物6 淡黄色针晶(三氯甲烷-甲醇)。¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz) δ: 12.81 (1H, s, 5-OH), 10.88 (1H, s, 7-OH), 6.95 (1H, s, H-3), 6.21 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-6), 6.51 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-8), 8.05 (2H, m, H-2', 6'), 7.58 (3H, m, H-3', 4', 5')。 ¹³C-NMR, (DMSO-*d*₆, 150 MHz) δ: 163.2 (C-2), 105.2 (C-3), 181.9 (C-4), 161.5 (C-5), 99.0 (C-6), 164.5 (C-7), 94.1 (C-8), 157.5 (C-9), 104.0 (C-10), 130.7 (C-1'), 126.4 (C-2', 6'), 129.2 (C-3', 5'), 132.0 (C-4')。与文献[10]中白杨素波谱数据比较基本一致,化合物6确定为白杨素。

化合物7 淡黄色片状结晶(甲醇)。FAB-MS *m/z* 373 [M + H]⁺, 359, 327, 283, 219, 181, 132, 93, 75。¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz) δ: 7.31 (2H, s, H-2', 6'), 6.92 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-8), 6.90 (1H, s, H-3), 6.52 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-6), 3.91 (6H, s, H-3', 5'-OCH₃), 3.89 (3H, s, H-4'-OCH₃), 3.84 (3H, s, H-7-OCH₃), 3.74 (3H, s, H-5-OCH₃)。 ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 150 MHz) δ: 175.7 (C-4), 163.7 (C-7), 160.2 (C-2), 159.3 (C-9), 159.1 (C-5), 108.3 (C-10), 108.1 (C-3), 96.3 (C-6), 93.5 (C-8), 153.2 (C-3', 5'), 140.2 (C-4'), 126.2 (C-1'), 103.6 (C-2', 6')。与文献[11]对照,该化合物鉴定为3',4',5,5',7-五甲氧基黄酮

化合物8 黄色粉末(甲醇)。UV: λ_{max} 202, 285 nm; EI-MS *m/z* 463 [M + H]⁺, 287 [M + H - 176]⁺。¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz) δ: 11.80 (1H, s, 5-OH), 11.66 (1H, s, 8-OH), 9.59 (1H, s, 4'-OH), 8.10 (2H, d, *J* = 8.2 Hz, H-2', 6'), 8.00 (2H, d, *J* = 8.2 Hz, H-3', 5'), 6.81 (1H, s, H-6)。 ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 150 MHz) δ: 74.7 (C-2), 65.0 (C-3), 199.9 (C-4), 160.0 (C-5), 96.8 (C-6), 130.7 (C-7), 156.5 (C-8), 155.5 (C-9), 105.2 (C-10), 130.8 (C-1'), 130.2 (C-2', 6'),

117.0 (C-3'5'), 156.0 (C-4'), 102.0 (C-1''), 74.7 (C-2''), 77.1 (C-3''), 74.1 (C-4''), 80.7 (C-5''), 172.0 (C-6'')。与文献[12]中红花素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷波谱数据比较基本一致,化合物 8 确定为红花素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷。

4 体外抗菌活性检测^[13-14]

以金黄色葡萄球菌临床株、金黄色葡萄球菌标准株、白色葡萄球菌标准株、大肠埃希菌标准株为供试菌,对分离得到的 8 个单体化合物进行了体外抗菌活性检测。结果表明,化合物 1(芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷)对白色葡萄球菌有一定的抑制作用,最小抑菌浓度(MIC)为 2.5 g·L⁻¹,最小杀菌浓度(MBC)为 5 g·L⁻¹。

5 讨论

河北省承德地区为黄芩的道地产区,所产“热河黄芩”以条大整齐、质地坚实、色泽金黄纯正、品质好、疗效显著畅销全国。黄芩传统药用其根,大量茎叶被遗弃,造成资源的极大浪费。为充分利用黄芩药用资源,近年来科学工作者对黄芩茎叶提取物的药理活性展开了多方面的研究,取得了一定成果,但对于黄芩茎叶中化学成分的研究报道却相对较少,尚难以全面阐述其药效物质基础。本文以承德隆化产“热河黄芩”茎叶为研究对象,对其化学成分进行了分离纯化、结构鉴定和体外抗菌活性检测,共分离得到 8 个单体化合物,其中 1 个化合物为首次从黄芩茎叶中分离得到,3 个化合物为首次从黄芩植物中分离得到。相关研究成果为黄芩茎叶药效物质基础研究提供了科学依据,为指导黄芩茎叶临床用药奠定了基础。

[参考文献]

[1] 赵铁华,邓淑华,杨鹤松,等. 黄芩茎叶活性部位抗菌作用的研究[J]. 中国药理学通报,2007,23(7): 882-886.

[2] 封桂英,宋鸿儒,邢恩鸿,等. 黄芩茎叶总黄酮对胶原性关节炎小鼠 Th1/Th2 细胞平衡的调节[J]. 免疫学杂志,2014,30(6): 525-528.

[3] 白江涛,龚理,赵淑敏,等. 黄芩茎叶总黄酮对缺血再灌注大鼠皮质神经元和突触超微结构的保护作用[J]. 中华老年心脑血管病杂志,2015, 17(10): 1091-1093.

[4] 孔祥玉,孔维,苗光新,等. 黄芩茎叶总黄酮对大鼠大脑海马区微血管和血脑屏障缺血再灌注损伤的预防作用[J]. 解剖学报,2015, 45(6): 773-776.

[5] 洪燕龙. 妇炎康泡腾片的制剂工艺、质量标准 and 广东紫珠化学成分的研究[D]. 北京:北京中医药大学,2004.

[6] 赵东保,杨玉霞,张卫. 黑沙蒿黄酮类化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(18):1430-1432.

[7] 赵颖,胡少南,王昌华,等. 兰科药用植物见血青乙酸乙酯部位化学成分研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(22): 111-113.

[8] 周锡欣,梁鸿,路新华,等. 中药黄芩主要黄酮类成分及其生物活性研究[J]. 北京大学学报:医学版, 2009, 41(5): 578-581.

[9] 李箐. 大黄药化学成分的研究[D]. 昆明:昆明医学院,2008.

[10] 卢静,杨丰庆,夏之宁. 尖嘴林檎叶的化学成分[J]. 中成药, 2014, 36(8):1692-1696.

[11] Alan W F, John R L. Flavonoids from *Merrillia caloxylon* [J]. *Phytochemistry*, 1974, 13(13): 1561-1564.

[12] 马森林. 黄芩茎叶化学成分研究[D]. 石家庄:河北师范大学,2011: 29.

[13] 罗红,刘文炜,江滢,等. 大蝎子草不同膜分离片段的体外抗菌活性研究[J]. 华西药学杂志,2014, 29(4):398-400.

[14] 王春娟,左国营,韩峻,等. 21 种中药的体外抗菌活性筛选[J]. 华西药学杂志,2013, 28(8): 479-492

[责任编辑 邹晓翠]