

炒王不留行的化学成分分析

李娜^{1,2}, 马长华², 刘冬¹, 王爱国¹, 何秀峰^{1*}

(1. 北京协和药厂, 北京 100050; 2. 北京中医药大学, 北京 100102)

[摘要] 目的: 分析炒王不留行中化学成分。方法: 采用 C₁₈ 反相硅胶柱色谱法、凝胶柱色谱法、聚酰胺柱色谱法和制备高效液相色谱法对化合物进行分离、纯化, 通过理化常数测定和紫外 (UV)、红外 (IR)、质谱 (FAB-MS) 核磁共振 (¹H-NMR, ¹³C-NMR) 等光谱法鉴定其化学结构。结果: 从炒王不留行中分离并鉴定了 4 个化合物, 分别为 (2S)-N,N,N-三甲基色氨酸内铵盐, 洋芹素-6-C-阿拉伯糖-葡萄糖苷, 王不留行黄酮苷 (洋芹素-6-C-葡萄糖-阿拉伯糖-4'-O-葡萄糖苷), 洋芹素-6-C-双葡萄糖苷。结论: (2S)-N,N,N-三甲基色氨酸内铵盐为首次从植物中分离得到。

[关键词] 炒王不留行; 化学成分; 氨基酸衍生物; 色氨酸; 黄酮苷

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0073-03

[doi] 10.11653/syfy2013100073

Chemical Constituents Analysis of Fried *Vaccaria segetalis*

LI Na^{1,2}, MA Chang-hua², LIU Dong¹, WANG Ai-guo¹, HE Xiu-feng^{1*}

(1. Beijing Union Pharmaceutical Factory, Beijing 100050, China;

2. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze chemical compositions in the seed of fried *Vaccaria segetalis*. **Method:** Compounds were isolated and purified by C₁₈ reverse phase silica gel column chromatography, gel column chromatography, polyamide column chromatography and preparative HPLC; Chemical structure was identified by determining physico-chemical constants and UV, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, FAB-MS, et al. **Result:** Four compounds were obtained and identified as (2S)-N, N, N- trimethyl tryptophane betabine, celereoin-6-C-arabinose-glucopyranoside, vaccaria flavonoid glycosides (apigenin-6-C-glucose-arabinose-4'-O-glucosiede), celereoin-6-C-double-glucopyranoside. **Conclusion:** Among them, (2S)-N, N, N- trimethyl tryptophane betabine was first isolated from plants.

[Key words] fried *Vaccaria segetalis*; chemical constituents; amino acid derivatives; tryptophan; flavonoid glycosides

王不留行性走而不住, 虽有王命而不能留其行, 因此得名。其味苦, 性平, 入肝、胃经, 具有活血痛经、通络下乳、消肿敛疮、利水通淋的功效, 用于痛经、闭经、缺乳、乳痛、金疮等, 与灵芝共用可治疗冻

伤^[1]。其化学成分研究国内外均有报道, 主要含有皂苷、黄酮、环肽、脂肪酸、糖等成分^[2-11], 并有报道测定了王不留行黄酮苷含量^[12]。为进一步研究王不留行的活性成分, 本实验对其化学成分进行研究, 从炒制王不留行中分离并鉴定出 4 个化合物, 分别为 (2S)-N,N,N-三甲基色氨酸内铵盐 (1), 洋芹素-6-C-阿拉伯糖-葡萄糖苷 (2), 王不留行黄酮苷 (洋芹素-6-C-葡萄糖-阿拉伯糖-4'-O-葡萄糖苷) (3), 洋芹素-6-C-双葡萄糖苷 (4), 其中化合物 1 为首次从植物中分离得到。

1 材料

Nicolet 5700 FTIR 型傅立叶变换红外光谱仪

[收稿日期] 20130121(009)

[基金项目] 高寒作训部队冻伤预防治疗药物的研制 (2008ZXJ09004-014)

[第一作者] 李娜, 学士, 实习研究员, 从事药物开发研究, Tel: 15810036061, E-mail: lina198407@163.com

[通讯作者] * 何秀峰, 学士, 副研究员, 从事药物开发研究, Tel: 13601212295, E-mail: hexiufeng111@sina.com

(赛默飞世尔科技公司), UV-2450 型紫外分光光度计(日本岛津公司), Mercury-400 MHz 型核磁共振仪(VARIAN 公司), Finnigan LTQFT 型质谱仪(赛默飞世尔科技公司), 1200 型高效液相色谱系统(Agilent 公司), WZZ-2S/2SS 型数字式自动旋光仪(厦门亿辰科技有限公司), 柱色谱用大孔树脂(日本三菱公司), C_{18} 反相柱色谱(日本 YMC 公司), 凝胶柱色谱(美国 GE Healthcare 公司), 所用试剂均为国产分析纯。炒王不留行于 2008 年购于同仁堂药业饮片厂, 由解放军第 302 医院袁海龙教授鉴定为石竹科植物麦蓝菜 *Vaccaria segetalis* (Neck.) Garcke 的干燥成熟种子。

2 提取与分离

取炒王不留行 1 kg, 用 60% 乙醇提取 3 次, 提取液减压浓缩, 得相对密度 1.05 (25 °C) 的浓缩液 103 g, 经大孔树脂柱分离, 水-乙醇系统梯度洗脱(1:19, 3:7, 5:5, 7:3), 合并乙醇-水(1:19)洗脱的流分, 浓缩得浸膏 A1。收集乙醇-水(3:7)洗脱的流分, 浓缩得浸膏 H1。

A1 经反相 C_{18} 柱色谱分离, 用甲醇-水系统梯度洗脱(9:1, 8.5:1.5, 7:3), 再经过凝胶色谱柱分离, 收集水洗脱的流分, 减压浓缩, 冷冻干燥, 得化合物 1(182 mg)。

H1 经过反相 C_{18} 柱色谱分离, 用甲醇-水系统梯度洗脱(9:1, 8.5:1.5, 7:3), 收集甲醇-水(7:3)洗脱出的流分, 回收溶剂, 先经凝胶柱色谱用水洗脱, 再经聚酰胺柱色谱洗脱得化合物 2(278 mg)、化合物 3(147 mg)、化合物 4(25 mg)。

3 化学结构鉴定

化合物 1 黄色粉末, 比旋度 +104.4°, FAB-MS 给出了准离子峰 m/z 为 247.2, 推断化合物的分子式 $C_{14}H_{19}N_2O_2$ 。红外光谱显示化合物结构中含有羟基(3345 cm^{-1})、羰基(1628 cm^{-1})和苯环(1488, 1458 cm^{-1}), 且分子中含邻位二取代苯环。化合物 1H -NMR 所见的 4 个芳环质子的化学位移分别为 7.59 ($d, J = 7.6$ Hz), 7.32 ($d, J = 8.0$ Hz), 7.15 ($t, J = 7.6$ Hz, 7.8 Hz) 和 6.87 ($t, J = 7.8$ Hz, 7.6 Hz), 与红外光谱峰推断符合。 1H -NMR 谱中还有 1 个化学位移 7.15 的双峰 ($J = 2.0$ Hz), 可推断为芳环取代的双键氢。结合化学方法的氨基酸反应, 推断为含芳环类氨基酸衍生物。另由 1H -NMR 谱化学位移 3.17 有 1 个质子数为 9 的单峰, 表明可能为色氨酸的 N-甲基化产物。 ^{13}C -NMR 谱中化学位移 78.8 ppm 也证明是氮原子连接的碳, ^{13}C -NMR 谱

中还显示 1 个羰基碳 (δ 166.9), 8 个芳香环碳 (δ 分别为 109.3, 111.3, 118.1, 118.4, 120.8, 123.8, 127.1, 136.0), 另一个 δ 51.0 的碳可指认为氨基酸 α -氨基碳, δ 23.2 ppm 则为 β 位 CH_2 的碳原子。质谱图中, 除有分子离子峰 m/z 248 之外, 还有一母核吲哚环的碎片峰 m/z 130。另外, 脱羧及脱甲基所得到的碎片峰 m/z 188 也十分明显, 固可以推断为 (2S)-N,N,N-三甲基色氨酸内铵盐。

IR (KBr) ν_{max} cm^{-1} : 3345, 2928, 1628, 1488, 1458, 1396, 1356, 1078, 1044, 959, 823, 47, 596。 1H -NMR (400 MHz, D_2O) δ : 3.17 (9H, $s, 3 \times CH_3$), 3.31 (2H, $br s, H-8$), 3.66 (1H, $q, J = 4.0, 5.2$ Hz, H-9), 6.97 (1H, $t, J = 7.2, 6.8$ Hz, H-5), 7.05 (1H, $t, J = 6.8, 7.2$ Hz, H-6) 7.15 (1H, $d, J = 2.0$ Hz, H-2), 7.31 (1H, $d, J = 8, C-7$), 7.59 (1H, $d, J = 7.6$ Hz, H-4), 10.85 (1H, $s, N-H$)。 ^{13}C -NMR (400 MHz, D_2O) δ : 166.9 (C-11), 136.0 (C-7), 27.1 (C-4), 123.8 (C-2), 120.8 (C-4), 118.4 (C-6), 118.1 (C-5), 111.3 (C-7), 109.3 (C-3), 78.8 (C-11), 51.0 (C-9), 23.2 (C-11)。

化合物 2 黄色粉末 (H₂O-MeOH)。HR-FABMS m/z : 565.1530 [M + H]。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 2.92 (1H, $dd, J = 1.2, 12.4$ Hz), 3.10 ~ 3.70 (9H, m), 3.8 (1H, $dd, J = 1.8, 12.3$ Hz), 4.30 (1H, $d, J = 6.4$ Hz), 4.74 (1H, $d, J = 7.8$ Hz), 6.41 (1H, s), 6.53 (1H, s), 6.88 (2H, $d, J = 8.7$ Hz), 7.80 (2H, $d, J = 8.7$ Hz)。 ^{13}C -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 165.1 (C-2), 116.5 (C-3), 182.8 (C-4), 162.4 (C-5), 109.5 (C-6), 164.1 (C-7), 94.2 (C-8), 157.5 (C-9), 104.5 (C-10), 121.9 (C-1'), 128.7 (C-2'), 103.6 (C-3'), 106.8 (C-4'), 105.4 (C-5'), 121.7 (C-6'), 74.3 (C-1''), 80.4 (C-2''), 73.2 (C-3''), 71.8 (C-4''), 81.9 (C-5''), 105.1 (C-1'''), 67.4 (C-2'''), 73.5 (C-3'''), 73.0 (C-4'''), 72.5 (C-5'''), 65.3 (C-6'')。与文献波谱数据对照^[7], 鉴定化合物 2 为洋芹素-6-C-阿拉伯糖-葡萄糖苷。

化合物 3 黄色粉末 (H₂O-MeOH)。HR-FABMS m/z : 727.2079 [M + H]。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 3.00 ~ 4.00 (16H, m), 4.22 (1H, $d, J = 6.7$ Hz), 4.35 (1H, m), 4.96 (1H, $d, J = 7.8$ Hz), 5.10 (1H, $d, J = 7.1$ Hz), 6.64 (1H, s), 6.89 (1H, s), 6.90 (2H, $d, J = 8.7$ Hz), 7.88 (2H, $d, J = 8.7$ Hz)。 ^{13}C -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 162.5 (C-2), 103.0 (C-3), 181.8 (C-4), 158.2 (C-5), 107.5 (C-

6), 164.0 (C-7), 93.2 (C-8), 155.8 (C-9), 104.5 (C-10), 120.9 (C-1'), 127.3 (C-2'), 114.0 (C-3'), 165.2 (C-4'), 115.2 (C-5'), 129.7 (C-6'), 75.8 (C-1''), 80.9 (C-2''), 77.5 (C-3''), 72.0 (C-4''), 83.2 (C-5''), 62.5 (C-6''), 102.9 (C-1'''), 71.5 (C-2'''), 7.8 (C-3'''), 69.0 (C-4'''), 74.1 (C-5'''), 60.8 (C-6'''), 105.1 (C-1''''), 66.5 (C-2''''), 72.1 (C-3''''), 72.0 (C-4''''), 70.5 (C-5''''). 与文献波谱数据对照^[7,13], 鉴定化合物 3 为王不留行黄酮苷(洋芹素-6-C-葡萄糖-阿拉伯糖-4'-O-葡萄糖苷, vaccarin)。

化合物 4 黄色粉末, (H₂O-MeOH)。HR-FABMS m/z : 595.3251 [M + H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 4.05 (1H, *d*, $J = 9.3$ Hz), 4.10 ~ 4.50 (7H, *m*), 4.62 (3H, *m*), 5.21 (1H, *t*, $J = 9.1$ Hz), 5.62 (1H, *d*, $J = 7.1$ Hz), 5.82 (1H, *d*, $J = 7.6$ Hz), 6.91 (1H, *s*), 7.12 (2H, *d*, $J = 8.5$ Hz), 7.13 (1H, *s*), 7.83 (2H, *d*, $J = 8.5$ Hz)。¹³C-NMR (500M, CD₃OD) δ : 164.7 (C-2), 116.8 (C-3), 182.9 (C-4), 162.7 (C-5), 103.9 (C-6), 163.7 (C-7), 94.7 (C-8), 157.2 (C-9), 106.1 (C-10), 121.8 (C-1'), 128.7 (C-2'), 103.1 (C-3'), 111.8 (C-4'), 105.4 (C-5'), 128.9 (C-6'), 74.6 (C-1''), 80.9 (C-2''), 73.0 (C-3''), 71.2 (C-4''), 82.5 (C-5''), 68.3 (C-6''), 106.1 (C-1'''), 62.3 (C-2'''), 73.5 (C-3'''), 75.1 (C-4'''), 79.1 (C-5'''), 61.9 (C-6''')。结合文献波谱数据鉴定为洋芹素-6-C-双葡萄糖苷^[7]。

[参考文献]

[1] 韩晋,周旭,袁海龙,等. 复方灵芝乳膏对兔耳轻(II)度冻伤治疗作用的初步研究[J]. 中国药学杂志, 2012,22(9):689.

- [2] Oik K, Jia Z, Nikaido T. Triterpenoid saponins from *Vaccaria segetalis*[J]. Phytochem,1998(47):1343.
- [3] Sang S M, Lao A N, Wang H C. A phenylpropanoid glycoside from *Vaccaria segetalis*[J]. Phytochem,1998(48):569.
- [4] Sang S M, Lao A N, Wang H C. Triterpenoid saponin from *Vaccaria segetalis*[J]. J Asian Nat Prod Res,1999(1):199.
- [5] Young S Y, Hiroshi Morita, Koichi Takeya, et al. Cyclic peptides from higher plants. 34. ¹segetalins G and H, structures and estrogen-like activity of cyclic pentapeptides from *Vaccaria segetalis*[J]. J Nat Prod, 1997(60):216.
- [6] Hiroshi Morita, Young S Y, Koichi Takeya, et al. A cyclic heptapeptide from *Vaccaria segetalis*[J]. Phytochem,1996,(42):439.
- [7] 桑圣民,麦曾华,毛士龙,等. 中药王不留行中黄酮苷类成分的研究[J]. 中国中药杂志,2000,25(4):221.
- [8] 桑圣民,劳爱娜,王洪诚. 中药王不留行化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发,1998,10(4):1.
- [9] 李帆,梁敬钰. 王不留行的研究进展[J]. 海峡药学,2007,19(3):1.
- [10] 张荣平,邹澄,谭宁华,等. 王不留行环肽研究[J]. 云南植物研究,1998,20(1):105.
- [11] 劳爱娜,桑圣民. 常用中药基础研究[M]. 北京:高等教育出版社,2002:80.
- [12] 孟贺,陈玉平,秦文杰,等. HPLC 测定王不留行中王不留行黄酮苷的含量[J]. 中国中药杂志,2010,35(16):2072.
- [13] 孟贺,陈玉平,秦文杰,等. 王不留行中王不留行黄酮苷的分离与鉴定[J]. 中草药,2011,42(5):874.

[责任编辑 仝燕]