

夏枯草果穗的化学成分

余茜^{1,2}, 戚进², 刘守金^{1*}

(1. 安徽中医学院药学院 安徽省现代中药重点实验室, 合肥 230038;
2. 中国药科大学中药复方研究室, 南京 211198)

[摘要] 目的: 研究夏枯草 *Prunella vulgaris* L. 果穗中的化学成分。方法: 用色谱法分离夏枯草的化学成分, 用波谱法鉴定其结构。结果: 从夏枯草果穗中分离并鉴定了 8 个化合物, 其结构分别为 $2\alpha, 3\alpha$ -24-trihydroxyursa-12-en-28-oic acid-28-*O*- β -*D*-glucopyranosyl ester (**1**), rotundic acid 28-*O*- α -*D*-glucopyranosyl (1 \rightarrow 6)- β -*D*-glucopyranoside (**2**), 槲皮苷 (**3**), 槲皮素 (**4**), 豆甾-7-烯-3 β -醇 (**5**), β -谷甾醇 (**6**), 豆甾醇 (**7**), α -波甾醇 (**8**)。结论: 化合物 **1**~**3** 为首次从该属植物中分离得到。

[关键词] 夏枯草; 化学成分; 波谱解析

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)05-0107-03

Study on Chemical Constituents from *Prunella vulgaris*

YU Qian^{1,2}, QI Jin², LIU Shou-jin^{1*}

(1. Anhui Province Key Laboratory of Modern Chinese Medicine, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230038, China; 2. Department of Complex Prescription of Traditional Chinese Medicine, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the chemical constituents from *Prunella vulgaris*. **Method:** The compounds were separated by using various kinds of chromatography and their structures were identified on the basis of chemical and spectroscopic methods. **Result:** Eight compounds were isolated from the spikes of *P. vulgaris*. Their structures were established as $2\alpha, 3\alpha$ -24-trihydroxyursa-12-en-28-oic acid-28-*O*- β -*D*-glucopyranosyl ester (**1**), rotundic acid 28-*O*- α -*D*-glucopyranosyl (1 \rightarrow 6)- β -*D*-glucopyranoside (**2**), quercitrin (**3**), quercetin (**4**), stigmast-7-en-3 β -ol (**5**), β -sitosterol (**6**), stigmasterol (**7**), α -spinasterone (**8**). **Conclusion:** Compounds **1-3** were isolated from this genus for the first time.

[Key words] *Prunella vulgaris*; chemical constituents; spectrometric identification

夏枯草产自国内大部分省区, 生于荒坡、草地、溪边及路旁等湿润地上^[1], 有清肝泻火, 明目、散结消肿之功效, 用于目赤肿痛、目珠夜痛、头痛眩晕、瘰疬、癭瘤、乳痈、乳癖、乳房肿痛^[2]。现代临床多用于治疗甲状腺肿、淋巴结核、乳腺增生症, 高血压、肺结核、急性黄疸型肝炎等。国内外对夏枯草活性成分、质量控制等方面已有较多研究报

道^[3-5]。从夏枯草中分离得到的化合物主要有三萜、黄酮、甾醇和香豆素等类型化合物^[6-8]。本研究从夏枯草果穗中分离得到 8 个化合物, 化合物 **1**~**3** 为首次从该属植物中分离得到。

1 材料

X-4 型显微熔点测定仪 (温度未校正), Brucker AV-300, AV-500 型核磁共振仪 (TMS 内标), HP-1100LC/API/MSD system 质谱仪, Beckman 型分光光度计, Buchi Rotavapor R-200 型旋转蒸发器。

柱色谱用硅胶 (100~200, 200~300 目) 和薄层色谱用硅胶 (GF₂₅₄) 为青岛海洋化工厂产品, MCI 为三菱公司产品, RP-18 为 YMC 公司产品, 所用试剂规格为分析纯和色谱纯, 夏枯草样品在 2010 年 7~8 月采于河南省, 经安徽中医学院生药学教研室刘

[收稿日期] 20111025(003)

[第一作者] 余茜, 硕士, Tel: 025-86185157, E-mail: yuxi024@163.com

[通讯作者] * 刘守金, 教授, 从事中药资源、活性成分和生药质量标准研究, Tel: 0551-5169036, E-mail: liushujin@hotmail.com

守金教授鉴定为唇形科夏枯草属植物夏枯草 *Prunella vulgaris* L.。

2 提取分离

夏枯草干燥果穗 20 kg, 纯甲醇加热回流提取 2 次, 第 1 次加 20 倍量, 第 2 次加 10 倍量, 每次 3 h, 分别滤过, 合并滤液, 减压浓缩得浸膏约 1.3 kg。取夏枯草甲醇提取物加水溶解, 分别以石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取, 减压回收溶剂, 得到石油醚部位 177 g、乙酸乙酯部分 230 g 和正丁醇部位 200 g。

取夏枯草乙酸乙酯部位 (230 g), 经硅胶柱色谱, 以石油醚-醋酸乙酯 (95:5 ~ 6:4) 梯度洗脱得到 9 个分离组分 (分别以 A, B, C, D, E, F, G, H, I 指代); Fr. B, D 经 MCI 柱色谱, 以甲醇-水 (3:7, 7:3, 9:1, 10:0) 洗脱得到 4 个分离组分; 乙-Fr. B-2 与 Fr. C-3 经 ODS 柱色谱, 以丙酮-水 (7:3, 8:2, 9:1, 10:0) 洗脱, 分离组分得化合物 **5** (200 mg), **6** (35 mg), **7** (65 mg), **8** (20 mg)。

取夏枯草正丁醇部位 (200 g), 经硅胶柱色谱, 以氯仿-甲醇 (95:5 ~ 1:1) 梯度洗脱得到 4 个分离组分 (分别以 J, K, L, M 指代); Fr. K 与 L 经反复硅胶柱色谱和 ODS 柱色谱, 分离组分得化合物 **1** (1.5 g), **2** (100 mg), **3** (1 g), **4** (0.5 g)。

3 结构鉴定

化合物 **1** 白色粉末 (甲醇), Liebermann-Burchard 反应阳性, 5% 硫酸-乙醇体系显蓝色。ESI-MS (m/z) 685 [M + Cl]⁻; ¹H-NMR (pyridine-*d*₅, 500 MHz) δ : 0.86, 0.94, 0.96, 0.99, 1.16, 1.22 (各 3H, s, CH₃), 3.81 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, 24-Ha), 4.05 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, 24-Hb), 4.43 (1H, m, 2-H), 4.56 (1H, br s, 3-H), 5.41 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H_{glu}-1); ¹³C-NMR (pyridine-*d*₅, 500 MHz) δ : 42.0 (C-1), 66.2 (C-2), 73.9 (C-3), 45.1 (C-4), 49.5 (C-5), 18.9 (C-6), 32.5 (C-7), 39.3 (C-8), 47.0 (C-9), 38.6 (C-10), 23.9 (C-11), 122.7 (C-12), 135.7 (C-13), 42.1 (C-14), 27.2 (C-15), 28.5 (C-16), 47.0 (C-17), 41.7 (C-18), 46.1 (C-19), 30.8 (C-20), 34.1 (C-21), 32.5 (C-22), 23.7 (C-23), 65.2 (C-24), 16.8 (C-25), 16.9 (C-26), 26.2 (C-27), 176.2 (C-28), 33.2 (C-29), 23.7 (C-30), 95.7 (C-1'), 74.2 (C-2'), 78.9 (C-3'), 71.2 (C-4'), 79.2 (C-5'), 62.3 (C-6')。以上数据与文献报道一致^[9], 故鉴定为 2 α , 3 α -24-trihydroxyursa-12-en-28-oic acid-28-*O*- β -*D*-glucopyranosyl ester。

化合物 **2** 白色粉末 (甲醇), Liebermann-

Burchard 反应阳性, 5% 硫酸-乙醇体系显蓝色。ESI-MS (m/z) 848 [M + Cl]⁻; ¹H-NMR (pyridine-*d*₅, 500 MHz) δ : 2.70 (1H, s, H-18), 1.61, 1.34, 1.18, 1.11, 0.95, 0.82 (各 3H, s, H-23, 24, 25, 26, 27, 29), 1.01 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-30), 5.61 (1H, br s, H-12), 6.12 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, H_{glu}-1'), 5.61 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H_{glu}-1''); ¹³C-NMR (pyridine-*d*₅, 500 MHz) δ : 38.7 (C-1), 29.3 (C-2), 73.7 (C-3), 42.9 (C-4), 48.8 (C-5), 18.5 (C-6), 33.5 (C-7), 40.8 (C-8), 47.6 (C-9), 38.7 (C-10), 24.5 (C-11), 123.7 (C-12), 135.6 (C-13), 42.2 (C-14), 29.8 (C-15), 26.0 (C-16), 48.9 (C-17), 54.6 (C-18), 72.8 (C-19), 42.9 (C-20), 26.9 (C-21), 37.4 (C-22), 67.8 (C-23), 22.2 (C-24), 16.7 (C-25), 17.3 (C-26), 24.5 (C-27), 177.0 (C-28), 26.7 (C-29), 16.6 (C-30), 93.7 (C-1'), 73.4 (C-2'), 78.2 (C-3'), 70.8 (C-4'), 79.3 (C-5'), 68.0 (C-6'), 100.7 (C-1''), 78.1 (C-2''), 75.8 (C-3''), 72.6 (C-4''), 72.8 (C-5''), 63.8 (C-6'')。以上数据与文献报道一致^[10], 故鉴定为 rotundic acid 28-*O*- α -*D*-glucopyranosyl (1 \rightarrow 6)- β -*D*-glucopyranoside。

化合物 **3** 淡黄色粉末 (甲醇); 三氯化铁反应呈阳性, 盐酸-镁粉反应呈阳性, Molish 反应呈阳性, 提示其可能为黄酮苷类化合物。ESI-MS (m/z) 471 [M + Na]⁺; ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 12.65 (1H, s), 10.83 (1H, s), 9.70 (1H, s), 9.31 (1H, s) 为 4 个活泼酚羟基质子信号, 7.30 (1H, d, $J = 2.2$ Hz), 7.26 (1H, dd, $J = 8.3, 2.2$ Hz), 6.88 (1H, d, $J = 8.3$ Hz), 6.39 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 6.21 (1H, d, $J = 2.0$ Hz) 为 5 个芳香质子信号, 5.26 (1H, d) 为糖的端基质子信号, 根据其偶合常数判断该苷键为 α 构型; ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 156.3 (C-2), 134.1 (C-3), 177.7 (C-4), 161.2 (C-5), 98.6 (C-6), 164.1 (C-7), 93.5 (C-8), 157.2 (C-9), 104.0 (C-10), 121.0 (C-1'), 115.6 (C-2'), 145.1 (C-3'), 148.3 (C-4'), 120.6 (C-6'), 115.6 (C-5'), 101.8 (C-1''), 70.3 (C-2''), 70.5 (C-3''), 71.1 (C-4''), 70.0 (C-5''), 17.4 (C-6''), 以上数据与文献 [11-12] 一致, 故鉴定为槲皮苷。

化合物 **4** 黄色细针状结晶 (甲醇), 在 365 nm 下显黄色荧光, 三氯化铁反应呈阳性, 示有酚羟基存在, 盐酸-镁粉反应呈阳性, 提示其为黄酮类化合物。EI-MS (m/z) 302 [M]⁺; ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 12.48 (1H, s, 5-OH), 10.73 (1H, s, 7-OH),

9.54(1H,s),9.30(1H,s),9.25(1H,s)为5个活泼酚羟基质子信号,7.67(1H,d, $J=2.2$ Hz),7.53(1H,dd, $J=2.2,8.5$ Hz,H-6'),6.88(1H,d, $J=8.5$ Hz),6.40(1H,d, $J=2.0$ Hz),6.18(1H,d, $J=2.0$ Hz)为5个芳香质子信号。以上数据与文献[11-12]报道的槲皮素一致,与槲皮素对照品共薄层,在3种展开系统中Rf值完全一致,且显色相同,二者混合熔点不下降,故确定为槲皮素。

化合物5 白色针晶(丙酮); $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 ,500 MHz) δ :0.55(3H,s,H-18),1.05(3H,s,H-19),0.80(3H,t, $J=2.8$ Hz,H-29),0.80(3H,d, $J=2.8$ Hz,H-27),0.86(3H,d, $J=6.6$ Hz,H-26),1.01(3H,d, $J=6.6$ Hz,H-21),5.03(1H,dd, $J=15.4$ Hz,H-7),5.16(2H,m,H-22,23); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 ,500 MHz) δ :37.2(C-1),31.9(C-2),71.0(C-3),38.0(C-4),40.3(C-5),29.6(C-6),117.4(C-7),138.2(C-8),49.4(C-9),34.2(C-10),21.9(C-11),39.8(C-12),43.3(C-13),55.1(C-14),23.0(C-15),27.8(C-16),56.8(C-17),12.2(C-18),13.5(C-19),36.5(C-20),18.7(C-21),34.7(C-22),25.3(C-23),45.8(C-24),29.3(C-25),19.4(C-26),19.0(C-27),23.1(C-28),12.0(C-29)。以上数据与文献[13]比较,确定为豆甾-7-烯-3 β -醇。

化合物6 无色针状结晶(石油醚),Liebermann-Burchard反应阳性,5%硫酸-乙醇体系显紫红色; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 ,500 MHz) δ :5.29(1H,t, $J=5.2$ Hz,H-6),3.4(1H,m,H-3),1.04(3H,s, CH_3 -19),0.96(3H,d, $J=4.4$ Hz, CH_3 -21),0.87(3H,t, $J=6.8$ Hz, CH_3 -29),0.70(3H,d, $J=7.2$ Hz, CH_3 -27),0.73(3H,d, $J=7.2$ Hz, CH_3 -26),0.61(3H,s, CH_3 -18)。数据与文献[14-15]报道本一致,鉴定该化合物为 β -谷甾醇。

化合物7 白色针状结晶(氯仿),Liebermann-Burchard反应呈阳性,5%硫酸-乙醇体系显紫红色。与豆甾醇对照品共薄层,在3种展开系统中Rf值完全一致,且显色相同,二者混合熔点不下降,故鉴定为豆甾醇。

化合物8 白色粉末(丙酮),Liebermann-Burchard反应呈阳性,5%硫酸-乙醇体系显紫红色。与 α -菠甾醇对照品共薄层,在3种展开系统中Rf值完全一致,且显色相同,二者混合熔点不下降,故鉴定为 α -菠甾醇。

4 讨论

作者对《中国药典》规定的药用部位果穗进行

化学成分的分,不难发现这2个部位的主要化学成分都为三萜、甾醇、黄酮。果穗中首次分离得到的2个三萜苷,进一步丰富了夏枯草中三萜类化合物的数量。

[参考文献]

- [1] 中国科学院中国植物志编委会. 中国植物志. 第65卷. 第2分册[M]. 北京:科学技术出版社,2005:386.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2005:263.
- [3] 林丽美,许招懂,闫积彪,等. 夏枯草中活性成分迷迭香酸的提取分离、结果鉴定与富集[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(8):35.
- [4] 查孝柱,谢晓梅,吕美红,等. 含齐墩果酸和熊果酸的10种果实类中药HPLC分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(18):60.
- [5] 刘伟,郭兴辉,徐倩. 原子吸收光谱法测定不同产地夏枯草中重金属含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(4):53.
- [6] 顾晓洁,钱士辉,李友宾,等. 夏枯草的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国野生植物资源,2007,26(2):5.
- [7] 王祝举,赵玉英,陈雅研,等. 夏枯草属植物化学成分和药理活性[J]. 国外医药:植物药分册,2001,16(1):7.
- [8] 付晓瑞,李继昌,张明智. 夏枯草近代研究进展概述[J]. 中医研究,2005,18(6):60.
- [9] Nguyen Xuan Nhiema, Bui Huu Taia, Tran Hong Quang, et al. A new ursane-type triterpenoid glycoside from *Centella asiatica* leaves modulates the production of nitric oxide and secretion of TNF- α in activated RAW 264.7 cells [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2011, 21: 1777.
- [10] Kayoko Amimoto, Kazuko Yoshikawa, Shigenobu Arihara. Triterpenoid saponins of aquifoliaceous plants. XI [J]. Chem Pharm Bull, 1993, 1(41): 39.
- [11] 马军利,李春钢,张博男,等. 甜荞麦花叶化学成分的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(13):94.
- [12] 张忠立,左月明,徐璐,等. 三白草黄酮类化学成分的研究[J]. 中草药,2011,42(8):1490.
- [13] 牛晓峰,刘霞,潘兰,等. 佛甲草中甾醇类成分的研究[J]. 中国中药杂志,2011,36(10):1913.
- [14] 侯凤飞,郑亚夫,张海鸣,等. 蒙药白益母草的化学成分研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(9):18.
- [15] 王希,张焜,陈优生. 仙鹤草降糖活性成分的提取分离[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(6):85.
- [16] 戚进,胡正芳,刘志军,等. 夏枯草的化学成分[J]. 中国天然药物,2009,7(6):421.

[责任编辑 邹晓翠]