

牛蒡子提取物中咖啡酰奎宁酸类化合物的分离与结构确证^①

胥秀英¹, 陈海芹², 郑一敏¹, 周在富³

1. 重庆理工大学 药学与生物工程学院, 重庆 400050; 2. 潍坊银海医药有限公司, 山东 潍坊 262700;
3. 重庆科瑞制药(集团)有限公司, 重庆 400060

摘要: 采用乙酸乙酯萃取法从牛蒡子提取物中除去脂溶性成分, 再取水相干燥物用制备型 HPLC 分离, 共得到 6 个化合物, 并通过理化性质与光谱方法进行了结构确证, 分别为 3,4-二羟基苯丙烯酸-4-氧- β -D-葡萄糖苷、3-O-咖啡酰奎宁酸、3,4-二羟基苯丙烯酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、1,5-二咖啡酰奎宁酸和 3,4-二咖啡酰奎宁酸。

关键词: 牛蒡子提取物; 咖啡酰奎宁酸; 分离; 结构确证

中图分类号: R282.5

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2017)11-0172-05

牛蒡子为菊科植物牛蒡 *Arctium lappa* L. 的干燥成熟果实, 性寒, 味苦辛, 归肺经、胃经, 具有疏散风热、宣肺透疹和解毒利咽的功效, 临床用于治疗风热感冒、咳嗽痰多、麻疹和风疹等症^[1]。其药理作用主要有降血糖^[2]、抗病毒^[3]、防治糖尿病肾病^[4]、抗肿瘤^[5]、镇咳、促进有丝分裂^[6]、保护肝^[7]等, 牛蒡子木脂素类化合物具有分化诱导作用^[8]。

自 1929 年日本人田川越等从牛蒡中获得牛蒡苷以来, 关于牛蒡化学活性物质的研究得到了重要进展, 从其种子、根、茎和叶中分别获得了 30 余种不同类型的天然化合物^[9]。牛蒡子的化学成分主要有木脂素和挥发油; 牛蒡根中主要含有蛋白质、淀粉、牛蒡酸、菊糖、醛类、多炔类物质及聚糖类化合物, 新鲜牛蒡根中含多种多酚物质如咖啡酸、绿原酸、异绿原酸、一咖啡酰衍生物和二咖啡酰衍生物等^[10]; 牛蒡叶中化学成分较少, 含有微量牛蒡子苷及牛蒡子苷元, Drozdova 等从牛蒡叶中获得了 17 个苯酚类化合物^[11]。但未见从牛蒡子中分离得到咖啡酰奎宁酸类化合物的报道。

1 仪器与材料

1.1 仪器

美国 Waters 制备型高效液相色谱仪(Waters Delta 600 二元泵, Waters 2487 紫外检测器); 美国 Waters 分析型高效液相色谱仪(Waters1525 二元泵, Waters2487 紫外检测器)。

1.2 材料与试剂

牛蒡子提取物: 由重庆科瑞制药(集团)有限公司提供。

乙腈(色谱纯, 安徽时联特种溶剂股份有限公司)、乙酸乙酯等其它试剂均为分析纯; 分析型色谱柱: Boston Crest ODS C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μ m); 制备型色谱柱: Boston Crest ODS C₁₈(21.5 mm×

① 收稿日期: 2017-03-07

基金项目: 重庆市科委重点项目(CSTC2014zjkjcxxyBX0034)。

作者简介: 胥秀英(1965-), 女, 四川射洪人, 教授, 主要从事药物质量控制技术研究。

250 mm, 5 μm).

2 实验方法与结果

2.1 牛蒡子提取物处理

取牛蒡子提取物 3 g, 加水 80 mL 溶解, 置于分液漏斗中, 加入乙酸乙酯 80 mL, 用力振摇 8~10 min, 静置 25 min, 收集水相. 水相重复萃取 2 次, 合并 3 次水相溶液浓缩, 干燥, 即得. 经前期研究有机相大多数为木脂素类^[12], 弃去有机相.

2.2 咖啡酰奎宁酸类化合物分离纯化

色谱柱: Boston Crest ODS C_{18} (21.5 mm $\times$ 250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈: 0.1%冰醋酸水溶液梯度洗脱(乙腈浓度 2%~30%(0~60 min)); 流速为 10 mL/min; 检测波长为 327 nm; 柱温为室温.

取 2.1 中制备的干燥物约 0.5 g, 用 10 mL 甲醇超声溶解, 以 3000 r/min 离心 15 min, 取上清液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 进样 1 mL(色谱图见图 1). 分别收集 1,2,3,4,5,6 号峰, 干燥得 1~6 号化合物.

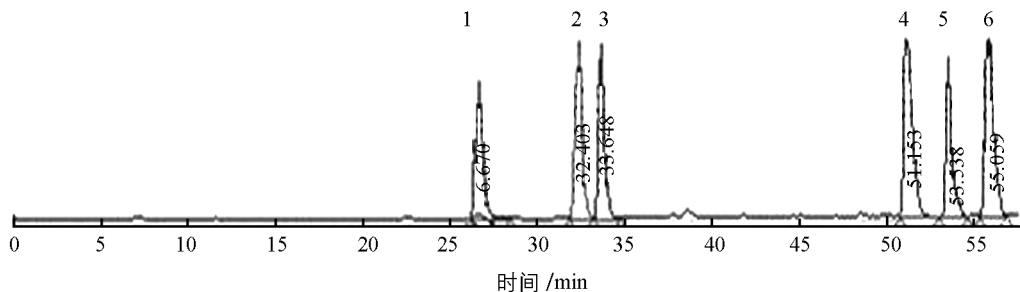


图 1 液相色谱图

3 结构确证

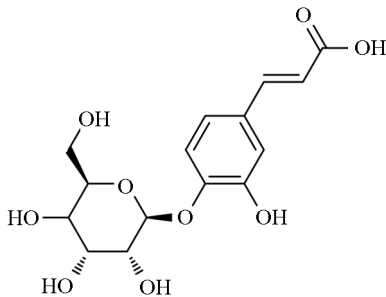
3.1 仪器

Bruker HCT/Esquire 质谱仪; Bruker DRX-500 型超导核磁共振仪.

3.2 结构确证

1 号化合物 白色无定型粉末, $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_9$, EI-MS: m/z : 180 [$\text{M}-160$] $^+$, ^1H NMR (500 MHz, $\text{DM}-\text{SO}-d_6$) δ_{H} : 7.45 (1H, d, $J=15.6$ Hz, H-7), 7.02 (H, s, H-2), 6.96 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-6), 6.75 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-5), 6.20 (1H, d, $J=15.6$ Hz, H-8); ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ_{C} : 125.7 (C-1), 115.8 (C-2), 145.6 (C-3), 148.2 (C-4), 114.6 (C-5), 121.1 (C-6), 144.5 (C-7), 114.6 (C-8), 166.0 (C-9), 103.7 (C-1'), 70.7 (C-2'), 77.1 (C-3'), 78.9 (C-4'), 73.2 (C-5'), 63.1 (C-6').

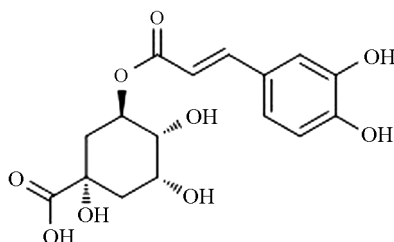
参照文献[13]的报道, 鉴定该化合物为 3,4-二羟基苯丙烯酸-4-氧- β -D-葡萄糖苷.



2 号化合物 白色无定型粉末, $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$, EI-MS m/z : 355($\text{M}+\text{H}$) $^+$, ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ_{H} : 7.56 (1H, d, $J=15.6$ Hz, H-7'), 7.04 (1H, s, H-2'), 6.94 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-6'), 6.77 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-5'), 6.26 (1H, d, $J=15.6$ Hz, H-8'), 5.34 (1H, m, H-5), 4.18 (1H, m, H-3), 3.73 (1H, dd, $J=6.3, 3.0$ Hz, H-4), 2.11 (1H, m, H-2, 6). ^{13}C -NMR (75 MHz, CD_3OD) δ_{C} : 77.9 (C-1), 38.4 (C-2), 71.2 (C-3), 73.3 (C-4), 71.6 (C-5), 37.7 (C-6), 177.2 (C-7), 128.1 (C-1'), 116.2 (C-2'),

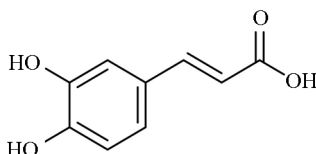
145.9(C-3'), 146.5(C-4'), 117.2(C-5'), 123.2(C-6'), 145.1(C-7'), 115.2(C-8'), 166.5(C-9').

参照文献报道[13]的报道, 鉴定该化合物为 3-咖啡酰奎宁酸。



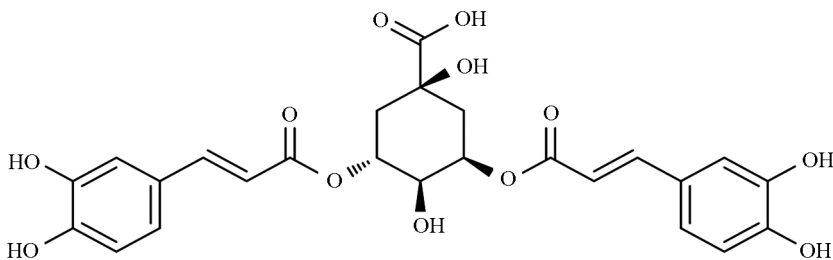
3 号化合物 白色无定型粉末, $C_9H_8O_4$, EI-MS: m/z : 180 $[M]^+$, 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ_H : 7.49 (1H, d, $J=15.6$ Hz, H-7), 7.02 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2), 6.99 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-6), 6.76 (d, $J=7.8$ Hz, H-5), 6.26 (d, $J=15.6$ Hz, H-8), 4.69 (s, —OH), 4.11 (s, —OH), 3.87 (s, —OH); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ_C : 125.6 (C-1), 115.6 (C-2), 145.6 (C-3), 148.3 (C-4), 114.7 (C-5), 121.2 (C-6), 144.7 (C-7), 114.6 (C-8), 166.3 (C-9).

参照文献[13]的报道, 鉴定该化合物为 3,4-二羟基苯丙烯酸。



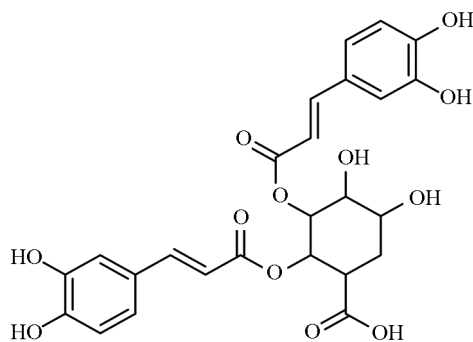
4 号化合物 白色无定型粉末, $C_{25}H_{24}O_{12}$, ESI-MS: m/z : 539 $[M+Na]^+$, 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ_H : 7.44 (1H, d, $J=15.8$ Hz, H-7''), 7.42 (1H, d, $J=15.8$ Hz, H-7''), 6.97 (1H, m, H-6'), 6.72 (1H, dd, $J=7.8, 4.8$ Hz, H-5'), 6.22 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-8'), 6.19 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-8''), 5.43 (1H, s, H-3), 4.95 (1H, s, H-5); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ_C : 73.1 (C-1), 38.1 (C-2), 72.9 (C-3), 68.6 (C-4), 72.9 (C-5), 35.7 (C-6), 175.9 (C-7), 125.6 (C-1'), 116.0 (C-2'), 145.6 (C-3'), 148.7 (C-4'), 114.9 (C-5'), 121.7 (C-6'), 145.8 (C-7'), 114.3 (C-8'), 166.2 (C-9'), 125.6 (C-1''), 116.0 (C-2''), 145.4 (C-3''), 148.6 (C-4''), 114.8 (C-5''), 121.6 (C-6''), 145.8 (C-7''), 114.0 (C-8''), 166.1 (C-9'').

参照文献[14]的报道, 鉴定该化合物为 3,5-二咖啡酰奎宁酸。



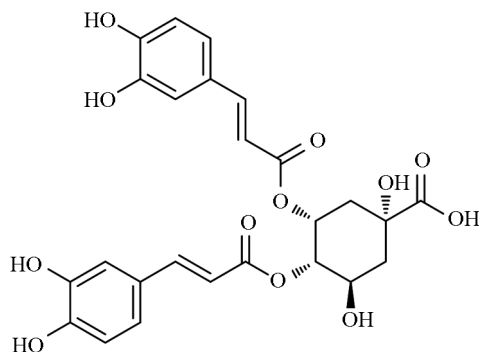
5 号化合物 白色粉末, $C_{25}H_{24}O_{12}$, EI-MS m/z 517.1 $(M+H)^+$, 1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ_H : 7.58 (2H, d, $J=15.9$ Hz, H-7', 7''), 7.05 (2H, m, H-2', 2''), 6.98 (1H, d, $J=6.0$ Hz, H-6'), 6.95 (1H, d, $J=6.0$ Hz, H-6''), 6.79 (1H, d, $J=6.0$ Hz, H-5'), 6.76 (1H, d, $J=6.0$ Hz, H-5''), 6.30 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-8'), 6.27 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-8''), 5.39 (1H, dt, $J=6.0, 3.3$ Hz, H-5), 4.29 (1H, dt, $J=6.0, 3.3$ Hz, H-3), 3.78 (1H, dd, $J=8.0, 3.3$ Hz, H-4), 2.57 (2H, td, $J=12.4, 3.3$ Hz, H-2a), 2.45 (1H, m, H-2b), 2.05 (2H, m, H-6). ^{13}C NMR (75 MHz CD_3OD) δ_C : 76.3 (C-1), 37.8 (C-2), 70.6 (C-3), 71.8 (C-4), 71.9 (C-5), 37.8 (C-6), 178.2 (C-7), 128.0 (C-1'), 117.2 (C-2'), 145.9 (C-3'), 146.5 (C-4'), 116.2 (C-5'), 123.2 (C-6'), 145.1 (C-7'), 115.2 (C-8'), 166.5 (C-9'), 128.0 (C-1''), 117.2 (C-2''), 146.5 (C-3''), 146.5 (C-4''), 116.2 (C-5''), 123.2 (C-6''), 145.1 (C-7''), 115.2 (C-8''), 166.2 (C-9'').

谱图数据与文献报道[14]的 1,5-二咖啡酰奎宁酸一致, 故鉴定该化合物为 1,5-二咖啡酰奎宁酸。



6 号化合物 白色无定型粉末, $C_{25}H_{24}O_{12}$, EI-MS m/z 516.13, 1H NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ_H : 7.41 (1H, d, $J=15.8$ Hz, H-7'), 7.33 (1H, d, $J=15.8$ Hz, H-7''), 7.00 (2H, d, $J=8.0$ Hz, H-5', 5''), 6.90 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-6'), 6.87 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-6''), 6.74 (1H, s, H-2'), 6.73 (1H, s, H-2''), 6.18 (1H, d, $J=15.8$ Hz, H-8'), 6.07 (1H, d, $J=15.8$ Hz, H-8''), 5.26 (1H, m, H-3), 4.89 (1H, m, H-4); ^{13}C NMR (125 MHz, $DMSO-d_6$) δ_C : 75.2 (C-1), 37.8 (C-2), 69.2 (C-3), 73.9 (C-4), 68.2 (C-5), 38.9 (C-6), 175.1 (C-7), 126.1 (C-1'), 116.5 (C-2'), 145.9 (C-3'), 148.8 (C-4'), 114.4 (C-5'), 122.2 (C-6'), 146.1 (C-7'), 115.2 (C-8'), 166.7 (C-9'), 126.1 (C-1''), 116.5 (C-2''), 145.9 (C-3''), 148.8 (C-4''), 114.2 (C-5''), 122.1 (C-6''), 146.1 (C-7''), 115.2 (C-8''), 166.3 (C-9'').

参照文献[14]的报道, 鉴定该化合物为 3,4-二咖啡酰奎宁酸。



4 讨 论

咖啡酰奎宁酸类化合物, 具有抗氧化、抗炎、抗菌抗病毒、细胞保护、免疫调节、抗高血糖高血脂和抗癌等药理活性^[15]. 近年来, 对于牛蒡子化学成分的分纯化主要集中在木脂素类化合物^[12], 本研究利用咖啡酰奎宁酸类化合物亲水性强的特点, 采用萃取法除去木脂素类化合物, 再利用制备型 HPLC 成功分离得到了 6 个咖啡酰奎宁酸类化合物并进行了结构确证. 该类化合物在其他植物中虽也存在^[15], 但在牛蒡子提取物中分离得到还未见文献报道。

致谢: 本实验的核磁共振图谱、质谱图谱由云南省中国科学院植物研究所重点实验室精密仪器分析室测定, 在此致以衷心的感谢!

参考文献:

- [1] 赵 华, 王 劲, 杨松松. 药用植物牛蒡化学成分和药理活性研究述要 [J]. 辽宁中医学院学报, 2005, 7(2): 128—129.
- [2] 徐朝晖, 李 婷, 邓 毅, 等. 牛蒡子提取物的降血糖作用 [J]. 中草药, 2005, 36(7): 1043—1045.
- [3] PEREIRA J V, BERGAMO D C, PEREIRA J O, et al. Antimicrobial Activity of *Arctium lappa* Constituents Against Microorganisms Commonly Found in Endodontic Infections [J]. Braz Dent J, 2005, 16(3): 192—196.
- [4] HE X, ZHANG S Y, CHEN Y P, et al. Study on Prevention and Cure Nonage Renal Lesions of STZ-DM Rat by *Fructus arctii* [J]. Zhejiang J Tradit Chin Med, 2003, 38(2): 88—90.
- [5] ISHIHARA K, YAMAGISHI N, SAITO Y, et al. Arctigenin from *Fructus arctii* is a Novel Suppressor of Heat Shock

Response in Mammalian Cells [J]. Cell Stress Chaperones, 2006, 11(2): 154–161.

[6] KARDOSOVÁ A, EBRINGEROVÁ A, ALFÖLDI J, et al. A Biologically Active Fructan from the Roots of *Arctium lappa* L., var. *Herkules* [J]. Int J Biol Macromol, 2003, 33: 135–140.

[7] LIN S C, LIN C H, LIN C C, et al. Hepatoprotective Effects of *Arctium lappa* Linne on Liver Injuries Induced by Chronic Ethanol Consumption and Potentiated by Carbon Tetrachloride [J]. J Biomed Sci, 2002, 9(5): 401–409.

[8] 徐传芬, 孙隆儒. 牛蒡的研究现状 [J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(6): 818–821.

[9] 蒋淑敏. 牛蒡化学成分和药理作用的研究现状 [J]. 时珍国医国药, 2001, 12(10): 941–942.

[10] MARUTA Y, KAWABATA J. Antioxidative Caffeoylquinic Acid Derivatives in the Roots of Burdock (*Arctium lappa* L.) [J]. J Agric Food Chem, 1995, 43(10): 2592–2595.

[11] DROZDOVA I L, BUBENCHIKOVA V N. Study of Phenolic Compounds in the Burdock (*Arctium lappa* L.) Leaves [J]. CA, 140: 258787–1–258787–7.

[12] 王 宁, 林海珠, 刘 红, 等. 牛蒡子木脂素类化合物的分离与制备 [J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2013, 38(8): 104–107.

[13] 陶华明, 王隶书, 赵大庆, 等. 羊齿天门冬根中酚酸类化学成分研究 [J]. 中草药, 2011, 42(11): 2181–2185.

[14] 王 珏, 王乃利, 姚新生, 等. 小花鬼针草中咖啡酰奎宁酸类成分及其抑制组胺释放活性 [J]. 中草药, 2006, 37(7): 966–970.

[15] 朱乃亮, 彭 平, 赵丽敏, 等. 植物中常见咖啡酰奎宁酸类化合物研究进展 [C]. 中华中医药学会中药化学论文集, 2013.

Isolation and Identification of Caffeoylquinic Acid
Compounds in the Extractive of *Fructus arctii*

XU Xiu-ying¹, CHEN Hai-qin², ZHENG Yi-min¹, ZHOU Zai-fu³

1. School of Pharmacy and Bioengineering, Chongqing University of Technology, Chongqing 400050, China;
2. Weifang Yin Hai Pharmaceutical CO., Ltd., Weifang Shandong 262700, China;
3. Chongqing Kerui Pharmaceutical (Group) Co. Ltd., Chongqing 400060, China

Abstract: The fat soluble components in the extractive of *Fructus arctii* were removed by ethyl acetate, the aqueous phase drying was isolated by preparative HPLC, and six compounds were isolated from the extractive of *F. arctii* and their structures were identified by physicochemical property analysis, specially by spectral analysis. Their structures were identified as 3,4-dihydroxy cinnamic acid-4-O-β-D-glucoside, 3-O-caffeoylquinic acid, 3,4- dihydroxy cinnamic acid, 3,5-dicaffeoylquinic acid, 1,5-dicaffeoylquinic acid and 3,4-dicaffeoylquinic acid. Isolation of caffeoylquinic acid compounds from the extractive of *F. arctii* has not been reported in related literature, and the results of this study may provide support for the research of *F. arctii* and *F. arctii*-based preparations.

Key words: extractive of *Fructus arctii*; dihydroxy cinnamic acid; isolation; structure identification

责任编辑 潘春燕

