

第16卷 第5期
1981年5月药 学 学 报
ACTA PHARMACEUTICA SINICAVol. XVI, No. 5
May, 1981

中 药 青 蒿 化 学 成 分 的 研 究 I

屠呦呦 倪慕云 钟裕容 李兰娜
崔淑莲 张慕群 王秀珍 梁晓天*(中医研究院中药研究所)
(中国医学科学院药物研究所, 北京)*

摘要 近年来我们对中药青蒿的化学成分进行了较系统的研究, 其中抗疟有效成分—青蒿素(qinghaosu)为具有过氧基的新倍半萜内酯, 有专文报道^(1~4)。本文报道其它倍半萜内酯, 黄酮, 香豆素及挥发油的分离鉴定, 其中青蒿甲素及丙素(qinghaosu I 及 III)为新化合物。

中药青蒿为常用中药之一, 在我国已有二千多年沿用历史, 除截疟外, 尚有清热凉血等功效。

青蒿的化学成分据文献报道有挥发油, 油中含有蒿酮(artemisia ketone), 异蒿酮(iso-artemisia ketone), 按油精(cineol), 左旋樟脑(1-camphor), 丁香烯(caryophyllene), α -蒎烯(α -pinene), 倍半萜烯醇及酯类等^(5,6), 两种香豆素—东莨菪内酯(scopoletin)及东莨菪甙(scopolin)⁽⁷⁾, 烯炔化合物⁽⁸⁾, 倍半萜内酯—arteannuin A 及 B^(9,10), 黄酮—万寿菊黄素 6,7,3',4'-四甲基醚(quercetagenin 6,7,3',4'-tetramethyl ether)⁽¹¹⁾, 廿九烷, 廿五烷, 饱和烷酮, 烷醇及 β -香树脂的乙酸酯(β -amyryn acetate)⁽¹²⁾等。

我们从中药青蒿(菊科艾属植物 *Artemisia annua* L.)的脂溶性部分, 经硅胶柱层析, 分离得到六种结晶, 根据光谱数据, 化学反应及 X-射线单晶分析确定了化学结构。其中四种为倍半萜内酯, 一种为黄酮醇, 一种为香豆素。青蒿素(1), 青蒿甲素(2)及青蒿丙素(4)为新型倍半萜内酯。此外还对青蒿挥发油的主要成分进行了分离及鉴定。

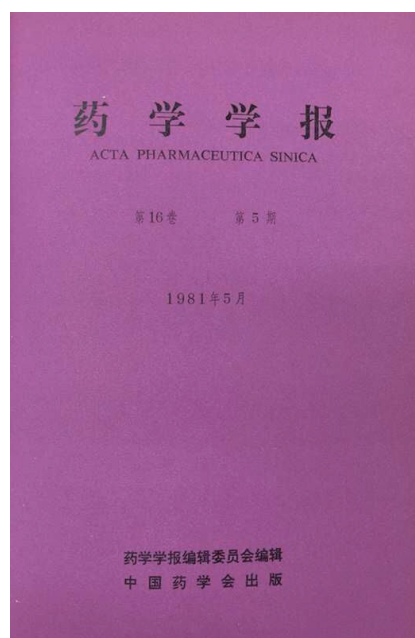
青蒿甲素(qinghaosu I)为无色针状结晶, 熔点 190~191°C, $[\alpha]_D^{25} - 50^\circ$ ($G=0.02$, 氯仿), 质谱分子量 m/e 206 (M^+), 分子式为 $C_{15}H_{18}O_2$ 。它的红外光谱有 γ -内酯 (1760 cm^{-1}) 的吸收峰, 核磁共振在 δ 0.75 (3H, br, $C_{12}-CH_3$) 及 1.83 (3 H, s, $C_{13}-CH_3$) 有二个甲基峰, 由于双键的影响, 13-位甲基在较低场出现。在 5.60 (1H, br, C_5-H) 有一个双键上的氢峰, 在 2.85 (1 H, br, s, C_7-H) 及 4.60 (1 H, br, C_5-H) 有二个次甲基峰。由 X-射线单晶分析⁽¹³⁾确定其化学结构为(2)。甲素经 $LiAlH_4$ 还原成双醇化合物, 与 2-苯基丁酸酐⁽¹⁴⁾反应, 所回收的 2-苯基丁酸 $[\alpha]_D^{25} - 8^\circ$ (含水吡啶)。围绕 5-位醇的集团, 6-位较 4-位的空间位阻为大, 因此(2)的绝对构型应如式中所示。

青蒿乙素(qinghaosu II)为无色方形结晶, 熔点 151~153°C, $[\alpha]_D^{25} - 73.5^\circ$ ($G=1.01$, 甲醇)。质谱, 红外光谱, 核磁共振以及结晶学参数均与 arteannuin B⁽⁹⁾一致, 其结构为(3)。

青蒿丙素(qinghaosu III)为无色针状结晶, 熔点 109~110°C, 质谱分子量 m/e 266 (M^+), 分子式 $C_{16}H_{22}O_4$ 。红外光谱有 δ -内酯 (1750 cm^{-1}) 的吸收峰, 核磁共振谱与青蒿素非

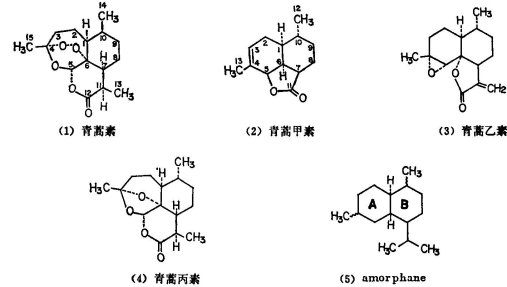
本文于 1980 年 3 月 3 日收到。

诺贝尔奖委员会将屠呦呦等发表在《药学报》1981年第5期366~370页的论文“中药青蒿化学成分的研究 I”作为获奖关键文献 (http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2015/press.html)。该文较全面研究和揭示了植物青蒿中的青蒿素及其他倍半萜内酯类化合物, 以及新化合物青蒿甲素和青蒿丙素, 为进一步确定青蒿素为主要抗疟成分起到了重要作用。





常近似,在 δ 0.88(3H,d,J=5 Hz),1.07(3H,d,J=6 Hz)及1.40(3H,s)有三个甲基峰,在3.02(1H,m)及5.5(1H,s)有两个亚甲基峰。上述数据与青蒿素氢化产物⁽²⁾一致,其结构为(4)。



由青蒿中现有的四个倍半萜内酯的生源关系来看,都属于A环顺联,异丙基与桥头氢呈反式关系。在(1)与(4)中,A环碳架均被一个氧原子所打断。异丙基的氧化程度则以(2)为最高,其中两个甲基均已失去。

黄酮甲为黄色针状结晶,熔点171~172°C,质谱分子量 m/e 374(M^+),分子式为 $C_{15}H_{16}O_3$ 。与盐酸-镁粉反应呈红色,紫外光谱 λ_{max}^{MeOH} nm 210,257,277,351,红外光谱有羰基(1650 cm^{-1})及羟基(3420 cm^{-1})的吸收峰,核磁共振(CF_3COOH)在 δ 3.90(3H,s),3.98(6H,S)及4.06(3H,s)有四个甲基峰,(DMSO- d_6)在9.40(C_5-OH)及12.60(C_6-OH)有二个羟基峰。上述数据与万寿菊素6,7,3',4'-四甲基⁽¹¹⁾一致,即3,5-二羟基,6,7,3',4'-四甲基黄酮醇。

香豆素为无色针状结晶,熔点204~206°C,紫外下呈蓝色荧光,与合成品混熔及红外光谱对照证明为东莨菪内酯(scopoletin)⁽⁷⁾,即6-甲氧基-7-羟基香豆素。

青蒿挥发油经气相色谱标准品添加法及光谱分析鉴定,其主要成分为萜烯(camphene),异萜酮(iso-artemisia ketone),左旋樟脑(1-camphor) β -丁香烯(β -caryophyllene)及 β -蒎烯(β -pinene)约占挥发油全量的70%左右。

实验部分

熔点均未校正。红外光谱用IR-S型仪测定,溴化钾压片。核磁共振谱用JNMG-60型60兆周测定,以四甲基硅烷为内标, δ 值单位为ppm,J值为赫。质谱用JMS-02B型仪测定。气相色谱用SP-2B05型仪测定。

(一) 青蒿甲素及乙素的提取和分离

取北京市售青蒿叶,加乙醚浸泡,乙醚浓缩液用2%氢氧化钠水溶液除去酸性部分(供分离黄酮醇及香豆素用),立即用水洗至中性,脱水后浓缩成膏状,拌聚酰胺粉用47%乙醇(V/V)浸泡,浸取液浓缩后用乙醚提取,醚液脱水浓缩并硅胶进行柱层析,用石油醚-乙酸乙酯洗脱。从石油醚-乙酸乙酯(90:10)部分得到青蒿甲素,石油醚-乙酸乙酯(85:15)部分得

到青蒿乙素。

1. 青蒿甲素的精制和鉴定

粗品经硅胶薄层证明为单一点石油醚-乙酸乙酯(1:1),2%香夹兰醛-硫酸显紫红色,乙醇重结晶两次,得无色针状结晶(2),质谱 m/e (相对强度)206(M^+ 100),191(24),178(21)167(8),163(32),149(32),145(18),136(26),135(39),119(26),108(39),105(42),95(84),83(32),69(24),55(45),44(37),41(42);元素分析 $C_{15}H_{16}O_3$ 计算值% C75.72,H8.73;实测值% C75.81,H8.22;红外光谱:2840(强),1760(强),1443(中),1358(中),1305(中),126(弱),1235(中),1215(弱),1185(强),1160(强),1135(弱),1085(弱),1030(弱),994(强),98(中),960(强),920(中),893(中),853(中),830(中),818(中),750(弱),732(弱) cm^{-1} 。

2. 青蒿乙素的精制和鉴定

粗品经硅胶薄层证明为单一点石油醚-乙酸乙酯(1:1),2%香夹兰醛-硫酸显蓝色,用乙醇重结晶两次,得无色方晶(3)。质谱 m/e 248(M^+),231,206,190,177,162,149,133,121,105,91,79,67,55,43;元素分析 $C_{15}H_{20}O_3$ 计算值% C72.6,H8.06;实测值% C72.09,H8.14;红外光谱2830(强),1770(强),1670(弱),1625(弱),1450(中),1420(中),1380(中),1260(中),1200(中),1180(中),1150(中),1140(中),1110(中),1070(中),990(中),960(中),945(中),864(中),818(中),803(弱),720(弱) cm^{-1} ;核磁共振谱[(CD_3) $_2CO$: $CDCl_3$ 1:1] δ 0.97(3H,d,J=6Hz, C_4-GH_3),1.27(3H,s, $C_{15}-GH_3$),2.60(1H,s, C_6-H),2.72(1H,br, C_7-H),5.44(1H,d,J=3Hz, $C_{13}-H$),5.96(1H,d,J=3Hz, $C_{13}-H$)。

(二) 黄酮醇及香豆素的提取和分离

取上述2%NaOH提取液加浓盐酸至pH2,有沉淀析出,再用乙醚萃取,醚液经水洗至中性,脱水后浓缩并硅胶进行柱层析,用石油醚-乙酸乙酯洗脱。从石油醚-乙酸乙酯(65:35)部分,顺次得到黄酮甲、香豆素和黄酮乙(待鉴定)。

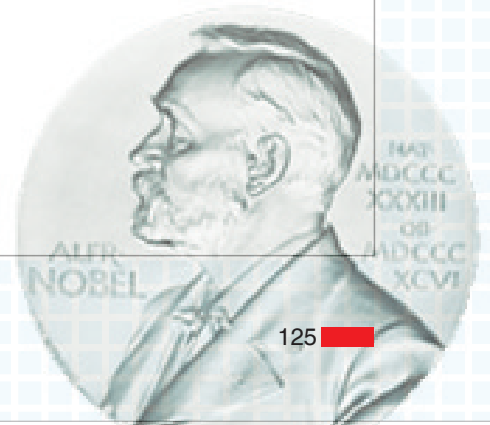
1. 黄酮甲的精制和鉴定

粗品经纸层析证明为单一点(国产新华滤纸,30%醋酸水溶液,1%三氯化铝溶液显色),用乙醇重结晶两次,得黄色针状结晶,对盐酸-镁粉反应呈红色,熔点171~172°C,质谱 m/e (相对强度)374(M^+ 100),359(58),355(15),341(9),331(10),316(5),301(4),231(3),217(1),197(2),187(3),181(4),173(5),164(6),151(6),142(5),135(4),97(3),83(3),69(8),57(6),43(6);紫外光谱 λ_{max}^{MeOH} nm 210,257,277,351(甲醇);210,273,387(三氯化铝);233,251,279,391(甲醇);210,257,273,350(醋酸钠)。红外光谱3420(强),2960(中),1650(强),1600(强),1550(中),1518(强),1458(强),1350(强),1268(强),1210(强),1160(中),1120(中),1090(弱),1060(弱),1025(弱),1000(中),980(中),870(弱),804(中),730(弱) cm^{-1} ;核磁共振谱(CF_3COOH) δ 3.90(3H,S, C_6-OCH_3),3.98(6H,S, C_6,C_7-OCH_3),4.06(3H,S, C_7-OCH_3),6.97(1H,S, C_8-H),7.09(1H,d,J=8Hz, $C_6'-H$),7.93(1H,q,J=2,8 Hz, $C_6'-H$),8.01(1H,d,J=2Hz, $C_7'-H$),(DMSO- d_6)9.40(C_5-OH),12.60(C_6-OH)。

2. 香豆素的精制和鉴定

粗品经硅胶薄层证明为单一点(石油醚-乙酸乙酯1:1,显蓝色荧光),用乙醇重结晶两次,得无色针状结晶,熔点204~206°C,与东莨菪内酯合成品混熔,熔点不降。红外光谱3360(中),1710(强),1610(中),1570(强),1510(中),1430(弱),1380(弱),1290(强),1140(中),1020(中),920(弱),860(中),820(弱) cm^{-1} 。

(三) 青蒿丙素的提取和分离





取四川西阳产青蒿经汽油浸泡后的残渣,加乙醚浸泡,浸取液浓缩并硅胶进行柱层析,用石油醚-乙酸乙酯洗脱。从石油醚-乙酸乙酯(9:1)部分,得到三种白色结晶,其中一种为青蒿丙素。

青蒿丙素的精制和鉴定 粗品经硅胶薄层证明为单一点(石油醚-乙酸乙酯1:1,2%香夹兰醛-硫酸显红色转棕色),用乙醇重结晶两次,得无色针状结晶(4)。质谱 m/e (相对强度) 266(M^+14), 238(3), 224(29), 222(36), 210(10), 206(5), 195(16), 192(8), 178(8), 165(100), 151(50), 135(13), 124(25), 107(11), 93(11), 81(6), 69(8), 55(16), 43(44); 红外光谱: 2940(强), 1750(强), 1450(中), 1390(中), 1360(弱), 1340(中), 1260(弱), 1178(中), 1134(中), 1104(弱), 1075(弱), 1050(弱), 1010(强), 865(中) 845(弱), 770(弱) cm^{-1} 。

(四) 挥发油的提取分离和鉴定

福建厦门产青蒿¹³经水蒸汽蒸馏,脱水得淡黄色油状液体,得率 0.2~0.25%, d_4^{20} 0.9103, n_D^{20} 1.482, $[\alpha]_D^{25}$ -18°(C=0.05, 无水乙醇), 经气相色谱¹⁴测定,含有 16 个成分。通过减压分馏(18mm),取不同馏分样品,进行硅胶¹⁵柱层析,得到一种结晶及四种油状物,经鉴定为左旋樟脑(24.6%), 异蒿酮(16.7%), β -丁香烯(12.7%), 茨烯(7.8%), β -蒎烯(7.1%)。

茨烯的分离和鉴定取 40~60°C 馏份,经硅胶柱层析,用石油醚洗脱,得一无色液体,以气相色谱标准品添加法测定,保留时间与茨烯相同,红外光谱也与茨烯¹⁶一致。

β -蒎烯的分离和鉴定取 68°C 馏份,经硅胶柱层析,用石油醚洗脱,得一无色油状物,以气相色谱标准品添加法测定,保留时间与 β -蒎烯相同。

异蒿酮的分离和鉴定取 68~90°C 馏份,经硅胶柱层析,用 5% 乙酸乙酯-石油醚洗脱,得一浅黄绿色油状物,其红外及紫外光谱均与文献¹⁷一致。

左旋樟脑的分离和鉴定继异蒿酮之后,仍用 5% 乙酸乙酯-石油醚洗脱,得一无色结晶,有升华性, $[\alpha]_D^{25}$ -12.8°(C=0.025, 乙醇)。经升华精制,以气相色谱标准品添加法测定,保留时间与左旋樟脑相同,红外光谱也与文献¹⁷一致。

β -丁香烯的分离和鉴定取分馏后的残留物,经硅胶柱层析,用石油醚洗脱,得一无色油状液体,以气相色谱标准品添加法测定,保留时间与 β -丁香烯相同,红外光谱也与文献¹⁸一致。

参 考 文 献

1. 青蒿素结构研究协作组: 一种新型的倍半萜内酯—青蒿素. 科学通报 22:142, 1977
2. 刘静明等: 青蒿素的结构和反应. 化学学报 37:129, 1979
3. 新医药杂志记者: 在中西医结合道路上攀登前进—记青蒿素治疗疟疾科研成果鉴定. 新医药学杂志 1:10, 1979
4. 青蒿研究协作组: 抗疟新药青蒿素的研究. 药学通报 14:49, 1979
5. 竹本常松, 中菜正: クリニンジンの精油成分. 薬学雑誌 77:1307, 1957
6. 中島正: クリニンジンの精油成分. 薬学雑誌 82:1,323, 1962
7. Saitbaeva I. M., et al: Coumarins from *Artemisia annua*. *Khim Prir Soedin* 8:758, 1970; *C A* 74:95, 433 h, 1971
8. Bonlmann F., et al: Constituents of *Artemisia afra*. *Phytochem* 11:2,329, 1972
9. Jeremic D., et al: A new type of sesquiterpene lactone isolated from *Artemisia annua* L. *Tetra Lett* 32:3039, 1973
10. Jeremic D., et al: *The 8th International Symposium on Chemistry of Natural Products*, New Delhi,

* 北京及四川西阳产青蒿挥发油主要成分基本上相同,只是含量有差别。因与厦门医药研究所协作进行青蒿挥发油治疗气管炎的研究,故重点研究了厦门产青蒿挥发油成分。

** 10% 阿皮松-L 白色担体,柱温 90~220°C(6°C/分),氢火焰离子鉴定器。

* 上海五四农场化工厂, 100~180目, 120°C 活化 2~3 小时。

- p 222, 1972 (Cited from 11)
11. Djermanovic M., et al: A new flavonol from *Artemisia annua*. *Phytochem* 14:1,873, 1975
 12. Ulubelen A., et al: phytochemical investigation of the herba of *Artemisia annua*. *Planta Medica* 29: 258, 1976
 13. 中国科学院生物物理研究所: 待发表
 14. Scott A. I., et al: *Chem Commun* 1184, 1964; *Tetra* 27:2339, 1971
 15. Vlachov R., et al: On terpenes. *Coll Czech Chem Comm* 32:622, 1967
 16. *The Sadler Infrared Spectra*, 6049
 17. *Ibid* 4927
 18. Motl H. M., et al: *Sammlung der Spektren und Physikalischen Konstanten, Teil 1 Sesquiterpene*, p 176, Akademie-verlag, Berlin, 1960

STUDIES ON THE CONSTITUENTS OF ARTEMISIA ANNUA L.

Tu Youyou, Ni Muyun, Zhong Yurong, Li Lanna,
Gui Shulian, Zhang Muqun, Wang xiuzhen and Liang Xiaotian*

(Institute of Chinese Materia Medica, Academy of Traditional Chinese Medicine,
* Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing.)

ABSTRACT

Six crystalline components were isolated from the lipophilic fraction of *Artemisia annua* L. They have been identified as four sesquiterpenes, one flavonol and one coumarin. Qinghaosu I and III are new sesquiterpenes. Five main constituents, camphene, iso-artemisia ketone, 1-camphor, β -carophyllene and β -pinene were identified from the volatile oil of this herb.

