

干姜药材的化学成分研究^Δ

王哲^{1,2*}, 金永日¹, 李绪文¹(1. 吉林大学化学学院, 长春 130012; 2. 齐齐哈尔大学化学与化学工程学院, 黑龙江齐齐哈尔 161006)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)24-3403-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.24.26

摘要 目的: 研究干姜的化学成分。方法: 采用硅胶、Sephadex LH-20 柱色谱和薄层色谱对干姜化合物进行分离纯化, 根据理化性质和波谱数据分析鉴定化合物结构。结果与结论: 从干姜中分离得到 5 个化合物, 分别鉴定为甲基-6-姜酚(1)、4-姜酚(2)、 β -桉醇(3)、2,5-二羟基没药烷-3,10-二烯(4)、6-姜脑(5), 化合物 2、3、4 为首次从干姜中分离得到。

关键词 干姜; 姜酚类化合物; 倍半萜类化合物; 化学成分

Study on Chemical Constituents from *Zingiberis Rhizoma*

WANG Zhe^{1,2}, JIN Yongri¹, LI Xuwen¹(1. Chemistry College, Jilin University, Changchun 130012, China; 2. Institute of Chemistry and Chemistry Engineering, Qiqihar University, Heilongjiang Qiqihar 161006, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the chemical constituents of *Zingiberis Rhizoma*. METHODS: The compounds of *Zingiberis Rhizoma* were classified and purified by silica gel, Sephadex LH-20 column chromatography and thin layer chromatography (TLC). The structure of compounds were analyzed and identified according to chemical property and spectrum data. RESULTS & CONCLUSIONS: Five compounds were isolated from *Zingiberis Rhizoma*, i.e. methyl-6- gingerol (1), 4- gingerol (2), β -eudesmol (3), 2, 5-dihydroxybisabol-3, 10-diene (4), 6-shogaol (5). The compounds 2, 3, 4 are isolated from *Zingiberis Rhizoma* for the first time.

KEYWORDS *Zingiberis Rhizoma*; Gingerol compound; Sesquiterpene compound; Chemical constituents

干姜为姜科草本单子叶植物姜 *Zinger officinale* Rosc. 的干燥根茎^[1], 主治脘腹冷痛、肢冷脉微、泄泻、血痢、寒饮喘咳、赤眼涩痛、脾寒疟疾、牙痛等^[2-3], 是药食兼用的常用中药。干姜药材的化学成分主要有挥发油^[4-5]、姜酚类化合物^[6-8]、二苯基庚烷类化合物^[9-10]和黄酮类化合物^[9-10]等。为了进一步研究干姜的化学成分, 本试验对其进行提取分离, 得到 5 个单体化合物, 利用质谱、核磁共振等波谱学手段, 并结合其理化性质鉴定了其化合物结构, 为干姜药材化合物的鉴别补充了新数据。

1 材料

1.1 仪器

6310 型四级杆-离子阱质谱仪(美国 Agilent 公司); AV600 型核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司); Avatar330 型红外光谱仪(美国 Thermo Nicolet 公司); RE-201C 型旋转蒸发仪、ZF-20D 型暗箱紫外分析仪、SHZ-CB 型循环水式多用真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司)。

1.2 试剂

柱色谱硅胶 200~300 目(青岛海洋化工厂); Silica 60 F254s 高效薄层层析板、ODS RP-18 F₂₅₄ 高效薄层层

析板(日本 Merck 公司); 试验所用试剂均为分析纯, 水为纯化水。

1.3 药材

干姜药材购于吉林大药房, 由吉林大学药学院张静敏教授鉴定为真品。标本存于吉林大学化学学院药物分析实验室。

2 提取与分离

取药材样品粉末 3.0 kg, 95% 乙醇溶液回流提取 3 次(95% 乙醇溶液用量分别为 10、15、10 L, 提取时间分别为 2、1.5、1 h), 滤过, 得提取液; 3 次提取液合并后减压蒸馏浓缩得浸膏, 分别以石油醚、正丁醇、乙酸乙酯萃取、减压、浓缩, 得石油醚、正丁醇、乙酸乙酯部分浸膏。

取石油醚部分浸膏 100 g, 经硅胶柱, 以石油醚-丙酮(20:1、15:1、10:1、3:1、1:1、1:2、1:5, V/V) 梯度洗脱, 收集洗脱液并经薄层色谱板鉴别后富集浓缩, 得 7 个流分(Fr.1-Fr.7)。其中, 流分 Fr.3 经硅胶柱, 以石油醚-乙酸乙酯(4:1、2:1、1:1、1:2、1:3, V/V) 梯度洗脱, 得流分 Fr.3-1~Fr.3-5; 其中, 流分 Fr.3-2 经反相 C₁₈, 以甲醇-水(1:2, V/V) 洗脱, 得化合物 2(0.8 g)。流分 Fr.4 经硅胶柱, 以石油醚-乙酸乙酯(3:1、2:1、1:1、1:2、1:3, V/V) 梯度洗脱, 得流分 Fr.4-1~Fr.4-4; 其中, 流分 Fr.4-2 在收集时出现结晶, 经重结晶纯化后得到化合物 4(70 mg); 流分 Fr.4-3 经硅胶柱色谱, 以石油醚-乙酸乙酯(5:3、4:

^Δ 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81403067); 黑龙江省基金项目(No.C2016059)

* 助理实验师, 硕士。研究方向: 天然药物化学。E-mail: zhew0316@163.com

3,1:1,1:3, *V/V*)梯度洗脱,得化合物5(55 mg)。流分Fr.5经硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯(4:3,1:1,2:3,1:2,1:3, *V/V*)梯度洗脱,得流分Fr.5-1~Fr.5-3;其中,Fr.5-1为针状结晶,重结晶纯化后得化合物1(0.6 g);Fr.5-3经反相C₁₈,以甲醇-水(1:3,1:1,2:1, *V/V*)梯度洗脱,得化合物3(0.4 g)。

3 结构鉴定

化合物1:白色针状结晶;mp:34.4~35.6 °C。ESI-MS: *m/z* 331.3[M+Na]⁻; ¹H-NMR(CDCl₃, 600 MHz) δ: 6.792(1H, d, *J*=8.0 Hz, H-3'), 6.713(1H, d, *J*=1.5 Hz, H-2'), 6.701(1H, dd, *J*=8.0、1.5 Hz, H-6'), 3.868(3H, s, 3'-OCH₃), 4.025(1H, m, H-5), 3.848(3H, s, 4'-OCH₃), 2.854(2H, t, *J*=7.5 Hz, H-1), 2.745(2H, t, *J*=7.5 Hz, H-2), 2.519(2H, m, H-4), 0.885(3H, t, *J*=7.0 Hz, 10-CH₃)。 ¹³C-NMR(CDCl₃, 150 MHz) δ: 211.34(C-3), 148.93(C-3'), 147.46(C-4'), 133.37(C-1'), 120.06(C-6'), 111.69(C-2'), 111.35(C-5'), 67.66(C-5), 55.92(4'-OCH₃), 55.84(3'-OCH₃), 49.38(C-1), 45.32(C-2), 36.47(C-4), 31.73(C-6)、29.19(C-7), 25.13(C-8), 22.59(C-9), 14.02(C-10)。与文献[11]对照,其波谱数据基本一致,可确定该化合物为甲基-6-姜酚(Methyl-6-gingerol)。

化合物2:白色粉末;mp:36.8~38.2 °C。ESI-MS: *m/z* 289.3[M+Na]⁻; ¹H-NMR(CDCl₃, 600 MHz) δ: 6.814(1H, d, *J*=8.0 Hz, H-5'), 6.680(1H, d, *J*=1.5 Hz, H-2'), 6.650(1H, dd, *J*=8.0、1.5 Hz, H-6'), 4.039(1H, m, 5-OH), 3.868(3H, s, 3'-OCH₃), 2.835(2H, t, *J*=7.5 Hz, H-1), 2.731(2H, t, *J*=7.5 Hz, H-2), 2.514(2H, m, H-4), 1.466(2H, m, H-6), 1.350(2H, m, H-7), 0.916(3H, t, *J*=7.5 Hz, H-8)。 ¹³C-NMR(CDCl₃, 150 MHz) δ: 211.46(C-3), 146.46(C-3'), 143.99(C-4'), 132.65(C-1'), 120.75(C-6'), 114.40(C-5'), 111.01(C-2'), 67.39(C-5), 55.89(3'-OCH₃), 49.37(C-4), 45.44(C-2), 38.59(C-6), 29.29(C-1), 18.65(C-7), 13.97(C-8)。与文献[12]对照,其波谱数据基本一致,可确定该化合物为4-姜酚(4-Gingerol)。

化合物3:白色针状结晶;mp:77.5~79.0 °C。ESI-MS: *m/z* 223.2[M+H]⁺; ¹H-NMR(CDCl₃, 600 MHz) δ: 4.714(1H, d, *J*=1.5 Hz, H-15), 4.446(1H, d, *J*=1.5 Hz, H-15), 2.006(1H, m, H-7), 1.758(1H, d, *J*=12 Hz, H-5), 1.205(6H, s, H-12, 13), 0.702(3H, s, H-14)。 ¹³C-NMR(CDCl₃, 150 MHz) δ: 151.16(C-4), 105.34(C-15), 72.91(C-11), 49.82(C-5), 49.47(C-7), 41.87(C-9), 41.15(C-1), 36.91(C-3), 35.91(C-10), 27.19(C-12), 27.15(C-13), 25.04(C-6), 23.51(C-8), 22.40(C-2), 16.32(C-14)。与文献[13]对照,其波谱数据基本一致,可确定该化合物为β-桉醇(β-Eudesmol)。

化合物4:白色针状结晶;mp:126.5~127.6 °C。

ESI-MS: *m/z* 261.3[M+Na]⁺; ¹H-NMR(CDCl₃, 600 MHz) δ: 5.548(1H, d, 1.0 Hz, H-3), 5.144(1H, t, *J*=1.0 Hz, H-10), 3.975(1H, br.s, 2-OH), 3.956(1H, br.s, 5-OH), 2.039(2H, m, H-9), 1.820(3H, s, H-13), 1.699(3H, s, H-12), 1.624(3H, s, H-15), 0.828(3H, d, *J*=7.0 Hz, H-14)。 ¹³C-NMR(CDCl₃, 150 MHz) δ: 136.67(C-4), 131.34(C-11), 129.95(C-3), 124.68(C-10), 69.14(C-5), 67.93(C-2), 40.57(C-1), 35.24(C-8), 30.56(C-7), 29.82(C-6), 26.10(C-9), 25.71(C-13), 20.49(C-15), 17.70(C-12), 14.40(C-14)。与文献[14]对照,其波谱数据基本一致,可确定该化合物为2,5-二羟基没药烷-3,10-二烯(2,5-Dihydroxybisabol-3,10-diene)。

化合物5:浅黄色油状物;mp:1.2~2.5 °C。ESI-MS: *m/z* 277.3[M+H]⁺、299.3[M+Na]⁺; ¹H-NMR(CDCl₃, 600 MHz) δ: 6.710(1H, d, *J*=8.0 Hz, H-2'), 6.835(1H, dd, *J*=8.0 Hz, 1.5 Hz, H-6'), 6.856(1H, d, *J*=7.0 Hz, H-5'), 6.127(1H, d, *J*=16.0 Hz, H-4), 3.882(3H, s, 3'-OCH₃), 2.875(2H, d, *J*=5.0 Hz, H-1), 2.865(2H, d, *J*=5.0 Hz, H-2)。 ¹³C-NMR(CDCl₃, 150 MHz) δ: 199.89(C-3), 147.94(C-5), 146.44(C-3'), 143.90(C-4'), 133.24(C-1'), 130.32(C-4), 120.80(C-6'), 114.35(C-5'), 111.15(C-2'), 55.88(3'-OCH₃), 41.98(C-2), 32.45(C-1), 31.34(C-6), 29.89(C-7), 27.77(C-8), 22.42(C-9), 13.95(C-10)。与文献[15]对照,其波谱数据基本一致,可确定该化合物为6-姜脑(6-Shogaol)。

本试验从干姜药材中分离得到5个化合物,分别鉴定为甲基-6-姜酚(1)、4-姜酚(2)、β-桉醇(3)、2,5-二羟基没药烷-3,10-二烯(4)和6-姜脑(5),其中化合物2、3、4为首次从干姜中分离得到的单体化合物。本研究结果对干姜的质量标准及开发提供了一定借鉴。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:14.
- [2] 王文心.干姜的化学、药理及临床应用特点分析[J].中医临床研究,2016,8(6):146-148.
- [3] 申成松.中药干姜临床配伍应用及药理研究[J].医药前沿,2016,6(7):330-331.
- [4] 谭建宁,王锐,黄静,等.干姜制备过程中挥发油化学成分变化的研究[J].时珍国医国药,2012,23(3):569-574.
- [5] 史琪荣,王莉,闫荟,等.GC-MS法测定干姜超临界CO₂萃取物的化学成分及其姜酚类成分的追踪[J].解放军药学学报,2011,27(4):296-302.
- [6] 王丽萍,郭鑫,裴贵珍,等.干姜中姜酚类成分的提取工艺研究[J].中国药师,2010,13(10):1386-1389.
- [7] 钮翠然.干姜中姜酚类成分的研究[D].长春:吉林大学,2008.
- [8] 高慧敏,王智民,王维皓.干姜中化学成分的HPLC-MS-MS分析[C]//2007中药药物创新与制药关键技术研讨会暨中华中医药学会中药化学中药制剂学术会议论文

HPLC法同时测定小儿化毒散中3种成分的含量^Δ

曾 桢^{1*},艾光丽²,李婷婷¹,文永盛¹,周世玉^{1#}(1.成都市食品药品检验研究院,成都 610045;2.成都中医药大学药学院,成都 611130)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)24-3405-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.24.27

摘要 目的:建立同时测定小儿化毒散中芍药苷、盐酸小檗碱、甘草酸铵含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Waters SunFire™-C₁₈,流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液(梯度洗脱),流速为1.0 mL/min,检测波长为238 nm,柱温为25℃,进样量为10 μL。结果:芍药苷、盐酸小檗碱、甘草酸铵检测质量浓度线性范围分别为8.808~88.08 μg/mL($r=0.999\ 8$)、1.778~17.78 μg/mL($r=0.999\ 6$)、2.533~25.33 μg/mL($r=0.999\ 9$);定量限分别为4.404、0.889、2.533 μg/mL,检测限分别为1.101、0.445、1.267 μg/mL;精密性、稳定性、重复性试验的RSD<2%;加样回收率分别为95.08%~99.61%(RSD=1.77%, $n=9$)、96.93%~99.94%(RSD=0.92%, $n=9$)、98.33%~102.05%(RSD=1.27%, $n=9$)。结论:该方法简单、准确、重复性好,可用于小儿化毒散中芍药苷、盐酸小檗碱、甘草酸铵含量的同时测定。

关键词 小儿化毒散;高效液相色谱法;芍药苷;盐酸小檗碱;甘草酸铵

Simultaneous Determination of 3 Components in Xiaoer Huadu Powder by HPLC

ZENG Zhen¹, AI Guangli², LI Tingting¹, WEN Yongsheng¹, ZHOU Shiyu¹(1.Chengdu Institute for Food and Drug Control, Chengdu 610045, China; 2.College of Pharmacy, Chengdu University of TCM, Chengdu 611130, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of paeoniflorin, berberine hydrochloride and ammonium glycyrrhizinate in Xiaoer huadu powder. METHODS: HPLC method was adopted. The separation was performed on Waters SunFire™-C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was set at 238 nm, and column temperature was 25℃. The sample size was 10 μL. RESULTS: The linear ranges of paeoniflorin, berberine hydrochloride and ammonium glycyrrhizinate were 8.808-88.08 μg/mL($r=0.999\ 8$), 1.778-17.78 μg/mL($r=0.999\ 6$), 2.533-25.33 μg/mL($r=0.999\ 9$), respectively. LOQ were 4.404, 0.889, 2.533 μg/mL; LOD were 1.101, 0.445, 1.267 μg/mL. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 2%. The recoveries were 95.08%-99.61% (RSD=1.77%, $n=9$), 96.93%-99.94% (RSD=0.92%, $n=9$), 98.33%-102.05% (RSD=1.27%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reproducible, and can be used for simultaneous determination of paeoniflorin, berberine hydrochloride and ammonium glycyrrhizinate in Xiaoer huadu powder.

KEYWORDS Xiaoer huadu powder; HPLC; Paeoniflorin; Berberine hydrochloride; Ammonium glycyrrhizinate

小儿化毒散是中医儿科经典方剂,由人工牛黄、珍珠、天花粉、雄黄、大黄、黄连、赤芍、甘草等中药材组成,

具有清热解毒、活血消肿的功效,主要用于热毒内蕴、毒邪未尽所致的口疮肿痛、疮疡溃烂、烦躁口渴、大便秘结

- 集.2007.
- [9] 营大礼.干姜的化学成分及药理研究进展[J].中国药房, 2008,19(18):1435-1436.
- [10] 李蜀眉,王丽荣,张卫东,等.干姜中黄酮类化合物的提取及抗氧化性能的研究[J].食品工业,2015,36(1):141-143.
- [11] Barbara G, Veronika M, Olaf K, et al. Putative mycobacterial efflux inhibitors from the seeds of *Aframomum melegueta*[J].*J Nat Prod*,2012,75(7):1393-1399.
- [12] Connel DW, Sutherland MD. A re-examination of gingerol, shogaol, and zingerone, the pungent principles of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe)[J].*Aust J Chem*,1969,22(5):1033-1043.
- [13] 赵庆,郝小江,陈耀祖,等.滇姜花的倍半萜成分[J].云南植物研究,1995,17(2):201-203.
- [14] Masaaki O, Masanori K, Akira U. Structures of sesquiterpenes from *Curcuma Longa*[J].*Phytochemistry*,1990,29(7):2201-2205.
- [15] 刘布鸣,姜惟恒.沙姜精油中沙姜脑的化学结构与光谱研究[J].分析测试学报,1993,12(4):49-52.

Δ 基金项目:国家药品标准提高暨2015年版药典科研项目;成都市食品药品监督管理局项目(No.201703)

* 主管中药师。研究方向:中药质量标准。电话:028-85362592。E-mail:zengzhen125@163.com

通信作者:主任中药师。研究方向:中药质量标准。电话:028-85362592。E-mail:zsyu9@sohu.com

(收稿日期:2017-02-22 修回日期:2017-04-11)
(编辑:张 静)