

抱石莲乙醇提取物的化学成分研究[△]

吴惠妃^{1*}, 张丽媛^{2#}, 高幼衡^{2#}, 梅全喜¹ (1. 广州中医药大学附属中山医院药学部, 广东 中山 528401; 2. 广州中医药大学中药化学教研室, 广州 510405)

中图分类号 R284.1; R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)31-2937-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.31.20

摘要 目的: 研究抱石莲的化学成分。方法: 利用反复硅胶和凝胶柱等色谱技术分离抱石莲的乙醇提取物, 并结合紫外光谱、红外光谱、核磁共振光谱、质谱等现代波谱技术鉴定所得化合物。结果: 从抱石莲乙醇提取物的石油醚萃取部位共分离鉴定出5个化合物, 分别为里白醇(1)、乌苏酸(2)、豆甾醇(3)、硬脂酸(4)、 β -谷甾醇(5)。其中, 化合物2、3、4为首次从该属植物中分离得到。结论: 该研究结果可为阐明抱石莲的药效物质基础提供依据。

关键词 抱石莲; 乙醇提取物; 化学成分; 分离; 鉴定; 乌苏酸; 豆甾醇; 硬脂酸

Study on the Chemical Constituents of Ethanol Extract from *Lepidogrammitis drymoglossoides*

WU Hui-fei¹, ZHANG Li-yuan², GAO You-heng², MEI Quan-xi¹ (1. Dept. of Pharmacy, Zhongshan Hospital Affiliated to Guangzhou University of TCM, Guangdong Zhongshan 528401, China; 2. Dept. of Phytochemistry, Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the chemical constituents of *Lepidogrammitis drymoglossoides*. METHODS: The ethanol extracts were isolated from *L. drymoglossoides* using silica gel and gel chromatographic technique, and the compound was identified by UV, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR and MS. RESULTS: 5 compounds were isolated and identified as diploterol (1), ursolic acid (2), stigmasterol (3), stearic acid (4), β -sitosterol (5). The compounds 2, 3, 4 were isolated from this genus for the first time. CONCLUSIONS: The study provide reference for the interpretation of pharmacodynamic basis of *L. drymoglossoides*.

KEY WORDS *Lepidogrammitis drymoglossoides*; Ethanol extract; Chemical component; Isolation; Identification; Ursolic acid; Stigmasterol; Stearic acid

抱石莲为水龙骨科骨牌蕨属植物抱石莲 *Lepidogrammitis drymoglossoides* (Bak.) Ching 的干燥全草, 主要产于云南富源、绥江、福贡、广南、马关等地, 生长于海拔 880~1 580 m 的常绿阔叶林下岩石或树干上, 另还分布于长江流域以南各省区及福建、湖北、陕西和甘肃等地。它具有凉血解毒、治瘰疬之功效^[1], 用于治疗咽喉痛、肺热咳血、风湿关节痛、淋巴结炎、胆囊炎、石淋、跌打损伤、疔毒脓肿^[2]。药理及临床研究表明, 抱石莲具有抗炎、镇痛、抑菌、降血脂的作用^[3-6], 用于治疗风湿热痹、小儿暑热症^[7-8], 湿敷可治疗带状疱疹^[9], 水煎液可治疗肛门出血^[10]。抱石莲的主要化学成分类型为植物甾体类和酚酸类, 另外还含有三萜、蒽醌和酰胺类^[3]。目前, 有关其系统的化学研究报告较少, 且有效成分不明确。为阐明其药效物质基础及开发新药, 本课题组采用现代分离手段和技术对抱石莲的化学成分进行了较系统的研究, 从其乙醇提取物的石油醚部位分离并鉴定了5个化合物, 分别为里白醇(1)、乌苏酸(2)、豆甾醇(3)、硬脂酸(4)、 β -谷甾醇(5)。其中, 化合物2、3、4为首次从该属植物中分离得到。

1 材料

1.1 仪器

△基金项目: 广东省中山市科技计划项目 (No. 20113A082)

* 副主任中药师。研究方向: 临床药学、中药化学。E-mail: afeismile@gmail.com

通信作者: 教授。研究方向: 中药化学。E-mail: gaoyouheng@gzhtcm.edu.cn

DSQ-II 型质谱 (MS) 仪 (美国 Thermo 公司); X-4 型数字显示显微熔点测定仪 (温度未校正, 北京泰克仪器有限公司); SB25-12DT 型超声波清洗机 (宁波新芝生物科技股份有限公司, 功率: 500 W, 频率: 40 kHz); AU120 型电子分析天平 (广州湘仪机电设备有限公司);

1.2 药材

样品药材于 2011 年 10 月采于广东新会, 经广州中医药大学潘超美教授鉴定为水龙骨科骨牌蕨属植物抱石莲 *L. drymoglossoides* (Bak.) Ching 的干燥全草。

1.3 试剂

柱色谱用硅胶 (200~300 目、300~400 目, 青岛海洋化工厂); 薄层色谱 (TLC) 用硅胶 GF₂₅₄ (化学纯, 青岛海浪硅胶干燥剂有限公司); Sephadex LH-20 凝胶 (英国 Pharmacia 公司); 500 MHz 核磁共振 (NMR) 仪 (TMS 为内标, 德国 Bruker 公司); 石油醚、乙酸乙酯、氯仿、正丁醇、丙酮、甲醇和无水乙醇均为分析纯。

2 提取与分离

取干燥的抱石莲全草 21 kg, 用 95% 乙醇溶液加热回流提取 2 次, 每次 2 h, 提取液减压回收溶剂后得乙醇浸膏。以适量蒸馏水分散浸膏, 依次以等体积的石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇萃取, 减压回收溶剂后得石油醚部位 239.5 g、氯仿部位 132.0 g、乙酸乙酯部位 56.0 g、正丁醇部位 122.5 g、水部位 280.9 g。

取石油醚部位 100 g 通过硅胶 (200~300 目) 柱色谱, 以石

油醚-乙酸乙酯(1:0→0:1, *V/V*)梯度洗脱,每50 ml为一份,经TLC检测,合并主斑点相同组分,浓缩后得8个部分(Fr.1~Fr.8)。其中,Fr.2用Sephadex LH-20凝胶柱色谱分离,氯仿-甲醇(2:1, *V/V*)洗脱,得到化合物4(14.5 mg)。Fr.4用硅胶(300~400目)柱色谱分离,石油醚-乙酸乙酯(30:1, *V/V*)洗脱,TLC检测,合并主斑点相同组分,对合并的各组分再经反复硅胶(300~400目)柱色谱和Sephadex LH-20凝胶柱色谱分离,氯仿-甲醇(2:1, *V/V*)洗脱,得到化合物2(40.1 mg)和化合物3(972.9 mg)。Fr.5用Sephadex LH-20凝胶柱色谱分离,氯仿-甲醇(1:1, *V/V*)洗脱,得到化合物1(4.4 mg)。Fr.8经重结晶,得到化合物5(161.2 mg)。

3 结构鉴定

化合物1:无色片状结晶(石油醚),mp 246~248 °C。Lieberman-Buchard反应为阳性,硫酸-乙醇加热显紫红色斑点。¹H-NMR(CDCl₃, 500 MHz) δppm: 1.20(3H, s, H-30), 1.18(3H, s, H-29), 0.95(6H, s, H-26, 27), 0.84(3H, s, H-23), 0.81(3H, s, H-25), 0.79(3H, s, H-24), 0.76(3H, s, H-28); ¹³C-NMR(CDCl₃, 500 MHz) δppm: 40.50(C-1), 18.90(C-2), 42.10(C-3), 33.42(C-4), 56.29(C-5), 18.90(C-6), 32.15(C-7), 41.43(C-8), 50.53(C-9), 37.59(C-10), 21.10(C-11), 24.34(C-12), 50.03(C-13), 42.04(C-14), 34.57(C-15), 22.16(C-16), 54.10(C-17), 44.29(C-18), 44.29(C-19), 26.82(C-20), 51.31(C-21), 74.19(C-22), 33.46(C-23), 21.81(C-24), 16.04(C-25), 16.36(C-26), 16.92(C-27), 22.92(C-28), 28.87(C-29), 31.05(C-30)。以上波谱数据与文献^[11-12]报道基本一致,故鉴定该化合物为里白醇(diploterol)。

化合物2:白色粉末(氯仿-甲醇),mp 257~260 °C。电子轰击离子源(EI)-MS *m/z*: 456[M⁺]; ¹H-NMR(C₅D₅N, 500 MHz) δppm: 5.14(1H, s, H-12), 2.90(1H, m, H-3), 为连氧碳上的质子信号;在高场区0.88~1.22之间出现7个角甲基信号峰。¹³C-NMR(C₅D₅N, 500 MHz) δppm: 39.84(C-1), 28.59(C-2), 78.63(C-3), 39.58(C-4), 56.32(C-5), 19.27(C-6), 30.43(C-7), 34.07(C-8), 48.53(C-9), 37.91(C-10), 17.93(C-11), 126.13(C-12), 139.74(C-13), 42.99(C-14), 29.27(C-15), 25.40(C-16), 40.47(C-17), 54.05(C-18), 39.97(C-19), 39.88(C-20), 31.55(C-21), 37.77(C-22), 29.17(C-23), 17.01(C-24), 16.14(C-25), 17.96(C-26), 24.38(C-27), 180.29(C-28), 24.11(C-29), 21.85(C-30)。在¹³C-NMR谱中C-12、C-13、C-28的化学位移分别为126.13、139.74和180.29,提示该化合物母核为典型的乌苏烷型。以上波谱数据与文献^[13]报道基本一致,故鉴定该化合物为乌苏酸(ursolic acid)。

化合物3:无色针状结晶(石油醚-乙酸乙酯),mp 165~167 °C,相对分子质量为412,分子式为C₂₉H₄₈O。¹H-NMR(CDCl₃, 500 MHz) δppm: 5.35(1H, m, H-6); 5.15(1H, dd, H-22); 5.01(1H, dd, H-23); 3.52(1H, m),为1个与氧相连碳上的氢,是甾醇类化合物C-3羟基取代的H-3的特征信号;1.03(3H, s),为21位甲基信号峰;1.01(3H, s),为19位甲基信号峰;0.86(6H, d),为27、28位2个甲基信号峰;0.83(3H, t),为29位甲基信号峰;0.68(3H, s),为18位甲基信号峰。¹³C-NMR(CDCl₃, 500 MHz) δppm: 37.45(C-1), 29.14(C-2), 72.01(C-3), 42.50(C-4), 140.95(C-5), 121.94(C-6), 31.85(C-7), 32.09(C-8), 50.31(C-9), 36.71(C-10), 21.28(C-11), 39.87(C-12),

42.41(C-13), 56.96(C-14), 24.51(C-15), 28.46(C-16), 56.23(C-17), 12.07(C-18), 19.23(C-19), 39.97(C-20), 19.61(C-21), 138.54(C-22), 129.46(C-23), 51.44(C-24), 34.12(C-25), 20.04(C-26), 23.25(C-27), 25.62(C-28), 12.47(C-29)。¹³C-NMR谱中显示29个碳信号,其中δ140.95、δ138.54、δ129.46、δ121.94提示有2个双键,分别为甾醇5、22、23、6位碳的特征信号;δ72.01为羟基取代信号^[14]。以上波谱数据与文献^[15]报道基本一致,故鉴定该化合物为甾醇(stigmasterol)。

化合物4:白色固体(石油醚-乙酸乙酯),mp 57~59 °C。¹H-NMR(CDCl₃, 500 MHz) δppm: 0.88(3H, t, *J*=6.5 Hz),为末端甲基信号峰;1.25(28H, m),为14个亚甲基信号峰;1.63(2H, m),为处于羧基β位的亚甲基信号峰;2.35(2H, t, *J*=7.5 Hz),为处于羧基α位的亚甲基信号峰;此外,在低场区没有不饱和氢信号,提示该化合物为长链脂肪酸类。¹³C-NMR(CDCl₃, 500 MHz) δppm: 180.49为羧基碳信号;34.29为α位的碳信号;32.15为β位的碳信号;29.92~29.28、24.89、22.92,为一系列的亚甲基碳信号;14.35为末端甲基碳信号。以上波谱数据与文献^[16]报道基本一致,故鉴定该化合物为硬脂酸(stearic acid)。

化合物5:无色针状结晶(石油醚-乙酸乙酯),mp 139~142 °C,相对分子质量为414,分子式为C₂₉H₅₀O。Lieberman-Buchard反应为阳性,与对照品在3种不同溶剂系统中展开的R_f值一致,硫酸-乙醇加热显紫红色斑点,与对照品混合熔点不下降,故鉴定该化合物为β-甾醇(β-sitosterol)。

4 讨论

笔者对药用蕨类植物抱石莲进行了比较系统的化学成分研究,从抱石莲乙醇提取物的石油醚部位分离得到5个化合物,包括,三萜类化合物2个:里白醇、乌苏酸;甾体类化合物2个:甾醇、β-甾醇;脂肪酸类化合物1个:硬脂酸。其中,乌苏酸、甾醇、硬脂酸为首次从该属植物中分离得到。本研究结果可为阐明抱石莲的药效物质基础提供依据,也可为进一步开发利用抱石莲药用植物资源及其质量控制奠定基础。

参考文献

- [1] 中国科学院昆明植物研究所.云南植物志:第21卷[M].北京:科学出版社,2005:342.
- [2] 何顺志,徐文芬.贵州中草药资源研究[M].贵阳:贵州科技出版社,2007:192.
- [3] 李治甫.抱石莲化学成分及其抗结核等生物活性研究[D].贵阳:贵阳中医学院,2011.
- [4] 陈祖盛,李常春,汪敏华.抱石莲水提物的抗炎作用[J].海峡药学,2000,12(3):37.
- [5] 周仁超,李淑彬.蕨类植物抗菌作用的初步研究[J].天然产物研究与开发,1999,11(4):53.
- [6] Lei YF, Chen JL, Cai YL, et al. Hypolipidemic potential of *Lepidogrammitis drymoglossoides* in high-fat diet fed mice[J]. *Int J Cardiol*. 2011,147(2):323.
- [7] 沈绍英.风湿热痹治疗体会[J].江西中医药,1996,27(2):50.
- [8] 方祥梅.抱石莲为主治疗小儿暑热症[J].安徽中医学院学报,1996,15(2):42.
- [9] 尹文题.抱石莲湿敷治疗带状疱疹2例报告[J].人民军

贝芩新咳合剂的质量标准研究[△]

沈洁^{1*}, 徐向辉^{2#}, 徐军¹, 车京梅¹, 许伟英¹, 任世禾¹(1.上海市中医医院药剂科, 上海 200071; 2.上海建工医院药剂科, 上海 200083)

中图分类号 R283.61;R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)31-2939-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.31.21

摘要 目的:建立贝芩新咳合剂的质量标准。方法:采用薄层色谱(TLC)法对贝芩新咳合剂中的黄芩、百部和麻黄分别进行定性鉴别;采用高效液相色谱法测定黄芩中黄芩苷的含量;色谱柱为 Diamonsil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水-磷酸(47:53:0.2, V/V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为280 nm。结果:黄芩、百部、麻黄的TLC鉴别具有较好的专属性,阴性对照无干扰。黄芩苷的进样量在0.14~1.40 μg范围内与其峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.9997$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD均<2%;平均加样回收率为100.39%,RSD=2.76%($n=6$)。结论:所建标准可用于贝芩新咳合剂的质量控制。

关键词 贝芩新咳合剂;质量标准;黄芩苷;黄芩;百部;麻黄;薄层色谱法;高效液相色谱法

Study on the Quality Standard of Beiqin Xinke Mixture

SHEN Jie¹, XU Xiang-hui², XU Jun¹, CHE Jing-mei¹, XU Wei-ying¹, REN Shi-he¹(1.Dept. of Pharmacy, Shanghai Hospital of TCM, Shanghai 200071, China; 2. Dept. of Pharmacy, Shanghai Jiangong Hospital, Shanghai 200083, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard of Beiqin xinke mixture. METHODS: *Scutellaria baicalensis*, *Stemona Radix* and *Ephedrae Herba* were identified by TLC. The content of baicalin in *S. baicalensis* was determined by HPLC. The determination was performed on Diamonsil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of methanol-water-phosphoric acid (47:53:0.2, V/V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 280 nm. RESULTS: TLC identification methods of 3 materials had good specificities without interference from negative control. The linear range of baicalin were 0.14-1.40 μg ($r=0.9997$) with an average recovery of 100.39% (RSD=2.76%, $n=6$). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 2%. CONCLUSIONS: The methods can be used for the quality control of Beiqin xinke mixture.

KEY WORDS Beiqin xinke mixture; Quality standard; Baicalin; *Scutellariae baicalensis*; *Stemona Radix*; *Ephedrae Herba*; TLC; HPLC

贝芩新咳合剂是上海市中医医院院内制剂(沪药制字Z05190744),由黄芩、麻黄(蜜炙)、百部(蒸)、甘草等7味中药组成,临床上用于治疗感冒咳嗽、咽痒及慢性支气管炎、咳嗽气急所致的有关脏器疾病。其君药黄芩味苦,性寒,归肺、胆、脾、胃、大肠、小肠经,功能为清热燥湿、泻火解毒,能止血、降血压,用于治疗湿温、暑温所致胸闷呕恶、湿热痞满、泻痢、黄疸、肺热咳嗽、高热烦渴、血热吐衄、痈肿疮毒;臣药麻黄功能为发汗散寒、宣肺平喘、行水消肿,能散阴疽、消症结;百部能

润肺、下气、止咳,用于治疗新旧咳嗽、肺癆咳嗽、百日咳。为有效控制该制剂的质量,笔者对其进行了定性与定量研究,制定了该制剂中黄芩、麻黄、百部的薄层色谱(TLC)定性鉴别方法及黄芩中黄芩苷的高效液相色谱(HPLC)含量测定方法。

1 材料

1.1 仪器

1200型HPLC仪(美国Agilent公司);AUW220D型电子分析天平(日本岛津公司);B5500S-MT型超声波发生器[必能

- 医,1975(Z1):100.
- [10] 张心根.山豆升草治疗肛门出血[J].中医杂志,1978(2):7.
- [11] 周铜水,周荣汉.榭藤根茎脂溶性成分的研究[J].中草药,1994,25(4):175.
- [12] 陈封政,向清祥,李书华.子遗植物桫欏叶化学成分的研究

- 究[J].西北植物学报,2008,28(6):1246.
- [13] 赵峰,王素娟,吴秀丽,等.红大戟中的非萜醌类化学成分[J].中国中药杂志,2012,37(14):2092.
- [14] 冯卫生,王彦志,郑晓珂.中药化学成分结构解析[M].北京:科学出版社,2008:439.
- [15] 吴希,夏厚林,黄立华,等.香附化学成分研究[J].中药材,2008,31(7):990.
- [16] 姚仲青,郭青.海州常山叶的化学成分研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(6):103.

[△]上海市中医医院科研课题(No.057601)

* 副主任药师。研究方向:中药制剂与新药研发。电话:021-56639828-4561。E-mail:metoglk@163.com

通信作者:副主任药师。研究方向:医院药学。电话:021-65313557。E-mail:samyayoyao@163.com

(收稿日期:2013-02-06 修回日期:2013-06-08)