

蒙药复方协日嘎四味汤散的化学成分研究^Δ

高建华*, 杨 婷, 董 玉[#](内蒙古医科大学药学院, 呼和浩特 010059)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)47-4470-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.47.18

摘要 目的:研究蒙药复方协日嘎四味汤散的化学成分。方法:采用硅胶柱色谱法和柱色谱法分离纯化复方协日嘎四味汤散的提取物,根据其理化性质并运用波谱技术鉴定化合物结构。结果:从复方协日嘎四味汤散中分离得到11个化合物,经鉴定为黄柏酮(1)、黄柏内酯(2)、十六烷酸(3)、去甲氧基姜黄素(4)、姜黄素(5)、小檗碱(6)、双去甲氧基姜黄素(7)、姜黄醇(8)、香草酸(9)、汉黄芩素(10)、京尼平苷龙胆二糖苷(11)。结论:鉴定的11个化合物均为首次从该复方中分离得到。本试验结果可为复方协日嘎四味汤散的药效物质基础研究提供依据。

关键词 复方协日嘎四味汤散;化学成分;分离;结构鉴定

Study on Chemical Component of Mongolian Medicine Compound Xieriga Siwei Soup Powder

GAO Jian-hua, YANG Ting, DONG Yu (College of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010059, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the chemical components of Mongolian medicine Compound xieriga siwei soup powder. METHODS: The extracts were isolated and purified from Compound xieriga siwei soup powder by silica gel column chromatography and column chromatography. The structures of compounds were identified by spectroscopy according to physicochemical properties. RESULTS: 11 compounds were isolated from effective fraction of Mongolian medicine Compound xieriga siwei soup powder as obacunone (1), obaculactone (2), palmitic acid (3), demethoxycurcumin (4), curcumin (5), berberine hydrochloride (6), bisdemethoxy curcumin (7), curcumenol (8), vanillic acid (9), wogonin (10) and genipin gentiobioside (11). CONCLUSIONS: The 11 compounds are isolated from the compound for the first time. This study can provide reference for fundamental research of effective substance from Compound xieriga siwei soup powder.

KEYWORDS Compound xieriga siwei soup powder; Chemical component; Isolation; Structure identification

蒙药协日嘎四味汤散的处方来源于《中华人民共和国卫生部药品标准-蒙药分册》,由姜黄、黄柏、梔子、蒺藜4味药组成^[1],具有利尿、清泻湿热的功能,临床主要用于小便闭止、尿频、尿急、尿中带血、膀胱刺痛等,是蒙医治疗膀胱热证的首选方剂^[2]。本课题组对协日嘎四味汤散的有效成分进行了分离富集,并采用波谱解析方法对其进行了结构鉴定,共分离鉴定了11个化合物,且均为首次从该复方中分离得到,现报道如下。

1 材料

1.1 仪器

AVANCE DRX-500型核磁共振(NMR)仪(美国Bruker公司);KQ-250DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);HH-S型水浴锅(巩义市英峪予华仪器有限公司);RE-52C型旋转蒸发器(巩义市英峪予华仪器厂);WFH-203B型紫外分析仪(上海精科实业有限公司);98-1-B型电子调温电热套(天津市泰斯特仪器有限公司);X-4型数字显微熔点测定仪(北京福凯仪器有限公司,温度未校正);JA5003N型电子天平(上海菁海仪器有限公司);HC-TP11B-5型架盘药物

天平(北京医用天平厂);SH-CB型循环水式多用真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司);柱色谱用硅胶及薄层色谱硅胶(青岛海洋化工厂);羟丙基葡聚糖凝胶[发玛西亚生物技术(上海)有限公司]。

1.2 试剂

甲醇、无水乙醇、乙酸乙酯、丙酮、氯仿、二氯甲烷、石油醚均购自天津威晨化学试剂科贸有限公司。

1.3 药材

姜黄、黄柏、梔子、蒺藜于2011年10月购自内蒙古天力药业有限责任公司(产地:内蒙古),经内蒙古医科大学药学院乔俊缠教授鉴定为姜黄 *Curcuma longa* L.、黄柏 *Phellodendron chinense* Schneid.、梔子 *Gardenia jasminoides* Ellis、蒺藜 *Tribulus terrestris* L.。

2 提取与分离

按复方协日嘎四味汤散的处方比例取药材共20 kg,用乙醇回流提取2次,每次2 h,合并提取液,减压回收乙醇后得乙醇浸膏。用水分散浸膏,上大孔树脂色谱柱,分别用水、乙醇洗脱,回收乙醇,得有效部位1 465 g。取有效部位1 100 g,上硅胶柱色谱,以二氯甲烷-甲醇(10:1, V/V, A)-甲醇(B)梯度洗脱(A→B),收集洗脱馏分,经薄层色谱(TLC)检测,喷以5%香草醛-浓硫酸溶液显色,合并主斑点相似的馏分,得Fr9-74、Fr75-94、Fr95-147三个组分。其中,Fr9-74部分用丙酮溶解后,用反复硅胶柱色谱分离,经TLC检测,合并斑点相近的馏分,放置,析出白色菱形结晶,以甲醇、丙酮反复洗涤,得化合

^Δ 基金项目:内蒙古自治区自然科学基金资助项目(No.2013JQ03);内蒙古自治区科技计划项目(No.20120411)

* 硕士研究生。研究方向:蒙药有效物质基础研究。E-mail: gaojhappy@126.com

[#] 通信作者:教授,硕士研究生导师,博士。研究方向:中蒙药(复方)有效物质基础及药物创新。E-mail: dongyu 010@126.com

物1;用反复硅胶柱色谱分离,以石油醚-丙酮(2:1, V/V, A)-丙酮(B)梯度洗脱(A→B),得黄色粉末,为化合物4;以石油醚-乙酸乙酯(20:1, V/V, A)-乙酸乙酯(B)梯度洗脱,得白色晶体,为化合物3;以氯仿-乙酸乙酯(1:1, V/V, A)-乙酸乙酯(B)梯度洗脱(A→B),得白色片状结晶,为化合物8;以氯仿:甲醇(60:1, V/V, A)-甲醇(B)梯度洗脱(A→B),得到化合物2、5、10;再经凝胶柱色谱分离得化合物9。Fr75-94部分用硅胶柱色谱分离,以氯仿-甲醇(30:1, V/V, A)-甲醇(B)梯度洗脱(A→B),经TLC检测,合并斑点相近的馏分,得黄色粉末,为化合物7。Fr95-147部分经反复硅胶柱色谱分离,以氯仿-甲醇(5:1, V/V, A)-甲醇(B)梯度洗脱(A→B),得黄色晶体,即化合物6;经反复硅胶柱色谱分离,以氯仿-甲醇(2:1, V/V, A)-甲醇(B)梯度洗脱(A→B),得白色粉末,即化合物11。

3 结构鉴定

从复方协日嘎四味汤散中共分离得到11个化合物,分别为:黄柏酮(1)、黄柏内酯(2)、十六烷酸(3)、去甲氧基姜黄素(4)、姜黄素(5)、小檗碱(6)、双去甲氧基姜黄素(7)、姜黄醇(8)、香草酸(9)、汉黄芩素(10)、京尼平苷龙胆二糖苷(11),均为首次从蒙药复方协日嘎四味中分离得到。

化合物1:白色菱形晶体,mp 232.5~233.5 °C,喷以5%硫酸香草醛溶液显紫色斑点。¹H-NMR(CDCl₃, 500 MHz)谱给出5个甲基氢信号δ:1.13(3H, s), 1.25(3H, s), 1.46(3H, s), 1.51(3H, s), 1.51(3H, s);5个C=C氢信号δ:6.51(1H, d, *J*=11.5 Hz), 5.95(1H, d, *J*=11.5 Hz), 7.42(1H, s), 6.37(1H, s)和7.41(1H, s);¹³C-NMR δ207.4提示B环有1个酮上C原子信号, δ166.9、166.6提示有2个酯上的C原子信号,推测该化合物有2个酯基团。¹³C-NMR(CDCl₃, 125 MHz)δ:156.8(C-1), 123.0(C-2), 166.9(C-3), 84.0(C-4), 57.3(C-5), 39.9(C-6), 207.4(C-7), 53.3(C-8), 49.2(C-9), 43.1(C-10), 17.00(C-11), 32.8(C-12), 37.4(C-13), 65.1(C-14), 53.2(C-15), 166.6(C-16), 78.0(C-17), 19.5(C-18), 21.1(C-19), 120.1(C-20), 143.2(C-21), 109.8(C-22), 141.0(C-23), 32.0(C-28), 26.8(C-29), 16.4(C-30)。以上数据^[3-4]经与已知化合物黄柏酮比较基本一致,故鉴定该化合物为黄柏酮。

化合物2:无色结晶,mp 294~295 °C,喷以5%香草醛浓硫酸显紫色。¹H-NMR(CDCl₃, 500 MHz)谱给出4个甲基的氢信号δ:1.18(3H, s), 1.18(3H, s), 1.20(3H, s)和1.30(3H, s);3个烯氢信号δ:7.41(1H, s), 6.51(1H, s), 7.57(1H, s);¹³C-NMR提示有1个酮上C原子信号,2个酯上的C原子信号,推测该化合物有2个酯基团,在δ100~160双键区有4个C原子信号,推测有2个双键;¹³C-NMR(CDCl₃, 125 MHz)δ:79.2(C-1), 35.7(C-2), 169.1(C-3), 80.3(C-4), 60.6(C-5), 36.4(C-6), 206.1(C-7), 51.3(C-8), 48.1(C-9), 45.9(C-10), 18.9(C-11), 30.9(C-12), 37.9(C-13), 65.7(C-14), 53.9(C-15), 166.6(C-16), 77.8(C-17), 20.7(C-18), 65.4(C-19), 112.0(C-20), 141.1(C-21), 109.7(C-22), 143.3(C-23), 30.2(C-28), 21.4(C-29), 17.6(C-30)。以上数据^[3]经与已知化合物黄柏内酯比较基本一

致,故鉴定该化合物为黄柏内酯。

化合物3:白色粉末,mp 59~60 °C。¹³C-NMR(CDCl₃, 125 MHz)δ:179.5(C-1), 33.9(C-2), 31.9(C-14), 29.0~29.7(C-4~C-13), 24.7(C-3), 22.7(C-15), 14.1(C-16);¹H-NMR(CDCl₃, 500 MHz)δ:2.36(2H, t, H-2), 1.63(2H, m, H-3), 1.25~1.30(24H, H-4~15), 0.88(3H, t, H-16)。以上数据与文献^[5]报道基本一致,故确定该化合物为十六烷酸。

化合物4:黄色粉末,mp 170~172 °C。¹H-NMR(CDCl₃, 500 MHz)中δ3.95(3H, s)提示有一甲氧基,并且存在5.85(1H, s)的质子信号,提示该化合物以烯醇式存在;¹³C-NMR数据提示存在对称结构。¹H-NMR(CDCl₃, 500 MHz)δ:7.60(2H, d, H-6, 10), δ7.58(2H, d, H-4, 4'), δ7.26(H, s, H-6'), δ7.14(1H, d, H-10'), 6.85(3H, d, H-7, 9, 9'), 6.51(1H, d, H-3, 3'), 5.81(1H, s, H-1);¹³C-NMR(CDCl₃, 125 MHz)δ:140.0(C-1), 128.1(C-2), 157.3(C-3), 147.9(C-4), 115.9(C-5), 123.0(C-6), 127.7(C-7), 121.9(C-8), 183.4(C-9), 101.3(C-10), 140.6(C-1'), 127.7(C-2'), 123.0(C-3'), 146.8(C-4'), 114.8(C-5'), 123.0(C-6'), 128.1(C-7'), 121.8(C-8'), 183.2(C-9')。以上数据与文献^[6]报道基本一致,故确定该化合物为单去甲氧基姜黄素。

化合物5:黄色粉末,mp 183 °C。¹H-NMR(CDCl₃, 500 MHz)δ:3.95(6H, s, O-CH₃), 5.89(1H, s, -CO-CH=COH-), 6.93(2H, d, *J*=15.8 Hz, Ph-CH=CH-CO-, Ph-CH=CH-CO-H-), 7.05(2H, d, *J*=8.2 Hz, Ph-H5', Ph-H5''), 7.13(2H, d, *J*=1.8Hz, Ph-H6', Ph-H6''), 7.26(2H, d, *J*=1.8Hz, Ph-H2', Ph-H2''), 7.61(2H, d, *J*=15.8 Hz, Ph-CH=CH-);¹³C-NMR(CDCl₃, 125 MHz)δ:183.3, 147.9, 146.8, 140.6, 127.7, 122.9, 121.8, 114.8, 109.6, 101.2, 6.0。以上数据与文献^[7]报道基本一致,故鉴定该化合物为姜黄素。

化合物6:黄色针状结晶,mp 193~196 °C。¹H-NMR(MEOD, 500 MHz)δ:7.67(1H, s, H-4), 7.06(1H, s, H-4), 3.24(2H, t, *J*=6.5 Hz, H-5), 4.94(2H, t, *J*=6 Hz, H-6), 9.77(1H, d, *J*=9 Hz, H-11), 8.01(1H, d, *J*=9 Hz, H-12), 8.81(1H, s, H-13);¹³C-NMR(MEOD, 125 MHz)δ:106.6(C-1), 131.0(C-2), 131.9(C-3), 109.4(C-4), 121.5(C-5), 27.8(C-6), 56.7(C-7), 145.8(C-8), 120.5(C-9), 149.9(C-10), 150.9(C-11), 124.5(C-12), 123.3(C-13), 145.8(C-14), 120.5(C-15), 146.4(C-16), 139.7(C-17), 103.7(C-O-CH₂-O-), 62.5(C-OCH₃), 57.0(C-OCH₃)。以上数据与文献^[8]报道基本一致,故鉴定改化合物为小檗碱。

化合物7:黄色粉末,mp 221~222 °C。¹H-NMR(MEOD, 500 MHz)δ:11.5 HzCH-7, 7'), 6.52(2H, d, *J*=19 Hz, H-8, 8'), 5.84(1H, s, H-10);¹³C-NMR(125 MHz, MEOD)δ:141.5(C-1, 1'), 130.7(C-2, 2'), 116.5(C-3, 3'), 160.2(C-4, 4'), 116.5(C-5, 5'), 130.7(C-6, 6'), 127.4(C-7, 7'), 121.5(C-8, 8'), 184.1(C-9, 9'), 101.6(C-10)。以上数据与文献^[6]报道基本一致,故鉴定该化合物为双去甲氧基姜黄素。

化合物8:白色针状结晶,mp 114~116 °C,喷以5%香草

醛浓硫酸显紫色。¹H-NMR (MEOD, 500 MHz) δ : 5.69 (1H, s, H-9), 2.67 (1H, d, $J=15.5$ Hz, H-6), 2.15 (1H, d, $J=16$ Hz, H-6), 2.03 (3H, s, H-13), 1.51 (3H, s, H-12), 1.04 (3H, d, $J=6.5$ Hz, H-14), 1.59 (3H, s, H-15), 1.95 (1H, t, $J=6$ Hz, H-1)。¹³C-NMR (MEOD, 125 MHz) δ : 51.0 (C-1), 28.7 (C-2), 30.9 (C-3), 40.9 (C-4), 85.2 (C-5), 36.8 (C-6), 138.1 (C-7), 101.3 (C-8), 128.5 (C-9), 136.7 (C-10), 121.1 (C-11), 28.7 (C-12), 19.7 (C-13), 11.6 (C-14), 21.1 (C-15)。以上数据与文献^[9]报道基本一致,故确定该化合物为姜黄醇。

化合物 9: 白色针状结晶, mp 180~182 °C, ¹H-NMR (MEOD, 500 MHz) δ : 4.63 (3H, s, 3-OCH₃), 7.76 (1H, d, $J=8$ Hz, H-5), 7.74 (1H, d, $J=8$ Hz, H-2), 8.22 (1H, d, $J=8$ Hz, H-6), 11.06 (1H, s, H-1), δ 10.59 (1H, s, H-4); ¹³C-NMR (MEOD, 125 MHz) δ : 154.3 (C-1), 127.4 (C-2), 149.4 (C-3), 130.0 (C-4), 111.9 (C-5), 116.7 (C-6), 192.3 (C-1-COOH), 56.8 (C-3-OCH₃)。以上数据与文献^[10]报道基本一致,故鉴定该化合物为香草酸。

化合物 10: 黄色针状结晶, mp 205~206 °C, 盐酸-镁粉反应呈阳性。¹H-NMR (MEOD, 500 MHz) δ : 13.30 (1H, s, 5-OH), 11.63 (1H, s, 7-OH), 8.88 (2H, dd, $J=7.5, 1.5$ Hz, 2', 6'-H), 8.44 (3H, m, 3', 4', 5'-H), 7.80 (1H, s, 3-H), 7.11 (1H, s, 6-H), 4.65 (3H, s, OCH₃); ¹³C-NMR (MEOD, 125 MHz) δ : 164.3 (C-2), 106.3 (C-3), 183.3 (C-4), 157.5 (C-5), 100.4 (C-6), 157.5 (C-7), 129.1 (C-8), 150.9 (C-9), 105.9 (C-10), 132.1 (C-1'), 130.6 (C-2', 6'), 127.6 (C-3', 5'), 133.4 (C-4'), 62.3 (OCH₃)。以上数据与文献^[11]报道基本一致,故鉴定该化合物为汉黄芩素。

化合物 11: 白色粉末, mp 194~196 °C, 易溶于甲醇, 喷以香草醛浓硫酸溶液加热呈紫红色。¹H-NMR (MEOD, 500 MHz) 信号显示 δ 4.36 (1H, d, $J=7.5$ Hz)、4.72 (1H, d, $J=7.5$ Hz) 和 4.37 (1H, d, $J=7.5$ Hz) 为两个糖端基质子, 提示该化合物有两个糖; δ 5.16 (1H, d, $J=8$ Hz, H-1), 7.51 (1H, s, H-3), 3.19~3.14 (1H, m, H-5), 2.72 (1H, d, $J=8$ Hz, H-6a), 2.18 (1H, m, H-6), 5.86 (1H, s, H-7), 2.70 (1H, d, $J=8$ Hz, H-9), 4.18 (1H, d, $J=14$ Hz, H-10a), 4.30 (1H, d, $J=14$ Hz, H-10b), 3.662 (3H, s, Me-12); ¹³C-NMR (MEOD, 125 MHz) δ : 168.2 (C-11), 151.9 (C-3), 143.4 (C-8), 127.6 (C-7), 111.0 (C-4), 103.4 (C-1'), 99.2 (C-1''), 97.4 (C-1), 76.6~61.4 (m, 糖上碳信号), 60.1 (C-10), 50.3 (OCH₃), 45.6 (C-9), 38.4 (C-5), 35.4 (C-6)。以上数据与文献^[12]报道基本一致,故鉴定该化合物为京尼平-1- β -D-龙胆二糖苷, 即京尼平苷龙胆二糖苷。

4 讨论

本研究分离鉴定出的 11 个化合物中, 姜黄素(5)、去甲氧

基姜黄素(4)和双去甲氧基姜黄素(7)为姜黄的主要活性成分^[13], 除了具有广谱抗菌消炎作用, 还有降血脂、抗凝、抗氧化、利胆、降血压等作用; 姜黄醇(8)和姜黄素(5)都有降血浆总胆固醇、 β -脂蛋白和甘油三酯的作用, 并能使主动脉中胆固醇和甘油三酯的含量降低, 其中姜黄醇的提取物及姜黄素的作用最强^[9]。据文献报道^[9], 小檗碱(6)除具有抗微生物及病原虫的作用外, 还具有降压、利胆、解热、抗利尿、局麻、镇静、镇痛等药理作用。

本研究利用大孔吸附树脂法对协日嘎四味汤散的有效成分进行了分离富集, 并对其进行了系统的结构鉴定, 为开发和应用蒙药协日嘎四味汤散、进一步阐释其药效物质基础提供了理论依据。

参考文献

- [1] 魏云, 吴爱萍, 马丽芳, 等. 协日嘎四味汤胶囊主要药效学试验研究[J]. 中成药, 2007, 29(12): 1738.
- [2] 图雅, 韩七十三. 蒙医药事业发展概况[J]. 时珍国医国药, 2003, 14(11): 11.
- [3] 周海燕. 关黄柏化学成分的研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2001: 1-82.
- [4] 秦民坚, 王衡奇. 黄皮树树皮的化学成分研究[J]. 林产化学与工业, 2003, (23)4: 42.
- [5] 汤海峰, 易杨华, 姚新生, 等. 铁钉菜化学成分的研究: 3 [J]. 中国中药杂志, 2002, 27(4): 269.
- [6] 刘春燕. 姜黄的化学成分研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2008: 1-51.
- [7] 白云飞, 李海霞, 王彩芳. 姜黄黄色素的化学成分研究[J]. 中国医药导报, 2010, 7(4): 46.
- [8] 胡文彦, 段金殿, 钱大玮, 等. 卷丹化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(16): 1656.
- [9] 葛跃伟, 高慧敏, 王维皓, 等. 桂郁金化学成分研究 I [J]. 中国药学杂志, 2007, 42(11): 822.
- [10] 申旭霁, 格日力, 王金辉. 广枣的化学成分[J]. 河南大学学报, 2009, 28(3): 196.
- [11] 沈小玲, 曾惠芳, 陈珍, 等. 山橘的化学成分研究[J]. 中国药学杂志, 2002, 37(1): 14.
- [12] 顾乾坤, 周小琴, 毕志明, 等. 大花梔子果实的化学成分研究[J]. 林产化学与工业, 2009, 29(6): 61.
- [13] 杨婷, 贾鑫, 董玉. 蒙药复方协日嘎四味的研究进展[J]. 内蒙古医学院学报, 2010, 32(3): 13.
- [14] 董玉, 贾鑫, 马强. RP-HPLC 法同时测定蒙药复方菖蒲四味中熊果酸与齐墩果酸的含量[J]. 中国药房, 2002, 13(1): 14.

(收稿日期: 2013-11-21 修回日期: 2013-12-02)

《中国药房》杂志——中国科技核心期刊, 欢迎投稿、订阅