

桂枝茯苓胶囊化学成分研究 (I)

王振中^{1,2}, 李成^{1,2}, 李家春^{1,2}, 萧伟^{1,2*}

1. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

2. 中药制药过程新技术国家重点实验室(筹), 江苏 连云港 222001

摘要: **目的** 对桂枝茯苓胶囊内容物氯仿萃取部分的化学成分进行研究。**方法** 采用柱色谱技术进行分离纯化, 利用理化性质及波谱方法对得到的单体化合物进行结构鉴定。**结果** 从桂枝茯苓胶囊内容物中共得到 15 个单体化合物, 分别鉴定为丹皮酚(1)、苯甲酸(2)、 β -谷甾醇(3)、反式桂皮酸(4)、白桦脂酸(5)、2,5-二羟基-4-甲基苯乙酮(6)、齐墩果酸(7)、茯苓酸(8)、花旗松素(9)、苦杏仁苷(10)、甘露醇(11)、3,3'-二甲氧基鞣花酸(12)、常春藤皂苷元(13)、没食子酸(14)、胡萝卜苷(15)。**结论** 化合物 1~15 均为首次从该复方中得到。

关键词: 桂枝茯苓胶囊; 2,5-二羟基-4-甲基苯乙酮; 花旗松素; 3,3'-二甲氧基鞣花酸; 齐墩果酸

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2011)05-0856-03

Chemical constituents in Guizhi Fuling Capsula (I)

WANG Zhen-zhong^{1,2}, LI Cheng^{1,2}, LI Jia-chun^{1,2}, XIAO Wei^{1,2}

1. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

2. State Key Laboratory of Pharmaceutical New-tech for Chinese Medicine, Lianyungang 222001, China

Abstract: **Objective** To investigate the chemical constituents of the chloroform extraction from Guizhi Fuling Capsula. **Methods** The compounds were separated with column chromatography and their chemical structures were identified by physiochemical and spectral methods, respectively. **Results** Fifteen compounds were isolated from the Capsula. They were identified as paeonol (1), benzoic acid (2), β -stigmasterol (3), *trans*-cinnamic acid (4), betulinic acid (5), 2,5-dihydroxy-4-methylacetophenone (6), oleanolic acid (7), pachymic acid (8), taxifolin (9), amygdalin (10), mannitol (11), 3,3'-di-*O*-methyl ether ellagic acid (12), hederagenin (13), gallic acid (14), and daucosterol (15). **Conclusion** Compounds 1—15 are isolated from the Capsula for the first time.

Key words: Guizhi Fuling Capsula; 2,5-dihydroxy-4-methylacetophenone; taxifolin; 3,3'-di-*O*-methyl ether ellagic acid; oleanolic acid

桂枝茯苓胶囊由桂枝、茯苓、牡丹皮、白芍、桃仁五味中药组成, 处方源自汉代名医张仲景的《金匮要略》, 具有活血、化瘀、消癥散结之功效。临床上常用于卵巢囊肿、子宫内膜异位症、子宫肌瘤、慢性盆腔炎、痛经等妇科血瘀证的治疗^[1]。目前对桂枝茯苓方的研究主要集中于制剂工艺、药物配伍、药理及临床等方面^[2], 而对于复方化学成分及其变化未见报道。本实验为了阐明经典名方治疗疾病的物质基础, 对该方进行了系统的化学成分研究。从该方的氯仿萃取部分分离得到 15 个化合物, 分别为丹皮酚(paeonol, 1)、苯甲酸(benzoic acid, 2)、谷甾醇(sitosterol, 3)、反式桂皮酸(*trans*-cinnamic

acid, 4)、白桦脂酸(betulinic acid, 5)、2,5-二羟基-4-甲基苯乙酮(2,5-dihydroxy-4-methylacetophenone, 6)、齐墩果酸(oleanolic acid, 7)、茯苓酸(pachymic acid, 8)、花旗松素(taxifolin, 9)、苦杏仁苷(amygdalin, 10)、甘露醇(mannitol, 11)、3,3'-二甲氧基鞣花酸(3,3'-di-*O*-methyl ether ellagic acid, 12)、常春藤皂苷(hederagenin, 13)、没食子酸(gallic acid, 14)、胡萝卜苷(daucosterol, 15)。

1 仪器和材料

显微熔点仪 SGWX-4; 核磁共振仪 Bruker AM-500, DRX-500(内标 TMS); Finnigan Trace DSQ 四极杆质谱仪; 高效液相制备色谱仪(北京创

收稿日期: 2010-12-02

基金项目: 国家科技部重大新药创制项目“妇科血瘀证大品种—桂枝茯苓胶囊质量控制关键技术研究”(2009ZX09504-004)

作者简介: 王振中(1968—), 男, 黑龙江人, 研究员, 高级工程师, 博士, 研究方向为复方中药物质基础与作用机制研究。

Tel: (0518)85521956 E-mail: wzzh-nj@tom.com

*通讯作者 萧伟 Tel: (0518)85521956 Fax: (0518)85522017

新通恒科技有限公司); 中压制备色谱仪 (BUCHI); 硅胶 (80~100 目, 200~300 目)。薄层硅胶板 (50×100 mm) 均为青岛海洋化工厂生产; Sephadex LH-20 (Pharmacia 公司); YMC[®] gel ODS—A (75 μm, 日本); D101 大孔吸附树脂 (山东鲁抗医药股份有限公司生产)。

桂枝茯苓胶囊内容物, 江苏康缘药业股份有限公司提供。

2 提取和分离

桂枝茯苓胶囊内容物 4.0 kg, 用 50%乙醇加热回流提取 4 次, 提取液减压浓缩成浸膏, 制成水悬液, 依次用石油醚、氯仿、醋酸乙酯、正丁醇萃取, 各 4 次, 合并各部分萃取液, 蒸干备用。取氯仿萃取部分浸膏 130.0 g, 用硅胶粗处理, 石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱, 分为 7 段 (Fr.1~7), Fr.1 上硅胶柱色谱 (以石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱) 分离得到化合物 **1** (50 mg), Fr.2 上硅胶柱色谱 (以石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱) 分离得到化合物 **2** (1 003 mg), Fr.3 段反复上硅胶柱色谱, 经 Sephadex LH-20 (甲醇-氯仿) 纯化分离得化合物 **3** (1 500 mg)、**4** (50 mg)、**5** (10 mg)、**6** (5 mg)、**7** (95 mg); Fr.4 分离得到化合物 **8** (300 mg)、**9** (15 mg)、**10** (15 mg), Fr.5 分离得到化合物 **11** (20 mg)、**12** (10 mg)、**13** (15 mg), Fr.6 重结晶分离得到化合物 **14** (50 mg), Fr.7 分离得到化合物 **15** (150 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色片状结晶 (石油醚), ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.61 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, 6-H), 6.44 (1H, d, 2.5 Hz, 3-H), 6.40 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.5 Hz, 5-H), 3.84 (3H, s, CH₃O), 2.55 (3H, s, CH₃); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 113.8 (C-1), 165.1 (C-2), 100.7 (C-3), 166.0 (C-4), 107.4 (C-5), 132.2 (C-6), 202.4 (C = O), 26.0 (C-8), 55.5 (C-9), 与文献报道的数据^[3]基本一致, 故化合物 **1** 鉴定为丹皮酚。

化合物 **2**: 无色针晶 (氯仿), ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据与文献报道的数据^[4]基本一致, 故其结构鉴定为苯甲酸。

化合物 **3**: 白色针晶 (石油醚-丙酮), TLC 展开后紫外灯 (254 nm) 下无荧光, 硫酸-乙醇显紫红色, 与谷甾醇对照品在多种溶剂体系作 TLC 对照, R_f 值相同, 与谷甾醇对照品混合熔点不下降, 故确定为 β-谷甾醇。

化合物 **4**: 无色针晶 (氯仿), ¹H-NMR (300 MHz,

CDCl₃) δ: 7.80 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, 7-H), 7.55 (2H, m, 3, 5-H), 7.40 (3H, m, 2, 4, 6-H), 6.46 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, 8-H); ¹³C-NMR 数据与文献数据^[5]一致, 故化合物鉴定为反式桂皮酸。

化合物 **5**: 无色针晶 (丙酮), ¹H-NMR (500 MHz, C₅D₅N) δ: 4.88, 4.72 (each 1H, H-29), 1.75 (3H, s, CH₃-30), 1.15, 1.03, 1.01, 0.94, 0.78 (each 3H, CH₃×5); ¹³C-NMR (125 MHz, C₅D₅N) δ: 39.1 (C-1), 27.9 (C-2), 78.0 (C-3), 39.3 (C-4), 55.8 (C-5), 18.6 (C-6), 34.7 (C-7), 41.0 (C-8), 50.8 (C-9), 37.4 (C-10), 21.1 (C-11), 26.0 (C-12), 38.5 (C-13), 42.7 (C-14), 31.0 (C-15), 32.7 (C-16), 56.4 (C-17), 49.6 (C-18), 47.6 (C-19), 151.9 (C-20), 30.1 (C-21), 37.4 (C-22), 28.4 (C-23), 16.1 (C-24), 16.2 (C-25), 16.2 (C-26), 14.7 (C-27), 178.6 (C-28), 109.7 (C-29), 与文献报道数据^[6]一致, 故鉴定为白桦脂酸。

化合物 **6**: 淡黄色片晶 (甲醇), EI-MS *m/z*: 166 [M]⁺, ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 2.14 (3H, s, C₄-CH₃), 2.53 (3H, s, COCH₃), 6.71 (1H, s, H-3), 7.16 (1H, s, H-6), 11.46 (1H, s, 2-OH), 9.13 (1H, s, 5-OH); ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 117.7 (C-1), 147.6 (C-2), 118.9 (C-3), 135.5 (C-4), 154.1 (C-5), 114.3 (C-6), 203.3 (C-7), 27.2 (C-8), 16.5 (C-9), 故鉴定为 2, 5-二羟基-4-甲基苯乙酮^[7]。

化合物 **7**: 白色粉末 (甲醇), ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 与文献^[6]一致, 故鉴定为齐墩果酸。

化合物 **8**: 白色粉末 (吡啶), EI-MS *m/z*: 528 [M]⁺, ¹H-NMR (500 MHz, C₅D₅N) δ: 0.91 (3H, s, H-28), 0.92 (3H, s, H-29), 0.96 (3H, s, H-19), 0.99 (3H, d, *J* = 7 Hz, H-26), 1.00 (3H, d, *J* = 7 Hz, H-27), 1.11 (3H, s, H-18), 1.47 (3H, s, H-30), 2.29 (1H, m, H-25), 4.97, 4.84 (each 1H, s, H-31); ¹³C-NMR (125 MHz, C₅D₅N) δ: 35.3 (C-1), 24.4 (C-2), 80.6 (C-3), 38.0 (C-4), 50.7 (C-5), 21.1 (C-6), 26.7 (C-7), 135.8 (C-8), 134.4 (C-9), 37.15 (C-10), 20.9 (C-11), 29.6 (C-12), 48.7 (C-13), 46.2 (C-14), 43.6 (C-15), 76.6 (C-16), 57.3 (C-17), 17.7 (C-18), 19.2 (C-19), 48.6 (C-20), 178.7 (C-21), 31.5 (C-22), 33.2 (C-23), 156.1 (C-24), 34.1 (C-25), 22.0 (C-26), 21.8 (C-27), 28.1 (C-28), 16.7 (C-29), 25.3 (C-30), 107.0 (C-31), MeCO (21.1), MeCO (170.5), 与文献对照^[8], 鉴定为茯苓酸。

化合物 **9**: 黄色粉末 (甲醇), ¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ: 6.66 (1H, s, H-2'), 6.73 (2H, m, H-5', 6'),

5.89 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-8), 5.85 (1H, s, H-6), 4.95 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-3), 4.49 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-2); $^{13}\text{C-NMR}$ (300 MHz, CD_3OD) δ : 83.0 (C-2), 71.5 (C-3), 197.6 (C-4), 163.3 (C-5), 96.0 (C-6), 166.8 (C-7), 95.0 (C-8), 162.5 (C-9), 100.4 (C-10), 128.0 (C-1'), 115.3 (C-2'), 144.9 (C-3'), 145.7 (C-4'), 115.1 (C-5'), 119.3 (C-6'), 与文献数据^[9]基本一致, 故鉴定为花旗松素。

化合物 **10**: 白色粉末 (吡啶), ESI-MS m/z : 480 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 7.58 (2H, m, H-2, 6), 7.47 (3H, m, H-3, 4, 5), 5.99 (1H, s, H-7), 4.24 (1H, brs, H-1'), 4.48 (1H, m, H-1''), 4.02, 3.64 (each 1H, m, H-6'), 3.64, 3.44 (each 1H, m, H-6''); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CD_3OD) δ : 134.0 (C-1), 127.4 (C-2, 6), 129.1 (C-3, 5), 129.7 (C-4), 66.9 (C-7), 118.9 (C-8), 101.7 (C-1'), 73.2 (C-2'), 76.7 (C-3'), 70.2 (C-4'), 76.7 (C-5'), 68.6 (C-6'), 103.7 (C-1''), 73.7 (C-2''), 76.6 (C-3''), 70.0 (C-4''), 76.9 (C-5''), 61.2 (C-6'')。与文献对照^[10], 鉴定为苦杏仁苷。

化合物 **11**: 白色粉末 (甲醇), $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO) δ : 3.36-4.39 为多元醇质子信号; $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 71.4 (C-3, 4), 69.8 (C-2, 5), 64.0 (C-1, 6), 与文献数据^[11]基本一致, 故鉴定为甘露醇。

化合物 **12**: 黄白色粉末 (吡啶), EI-MS m/z : 330 $[\text{M}]^+$, $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 10.69 (2H, s, H-4, H-4'), 7.51 (2H, s, H-5, H-5'), 4.04 (6H, s, $2 \times \text{OCH}_3$); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 111.6 (C-1, 1'), 141.1 (C-2, 2'), 140.1 (C-3, 3'), 152.1 (C-4, 4'), 112.0 (C-6, 6'), 158.4 ($2 \times \text{C}=\text{O}$), 60.9 ($2 \times \text{OCH}_3$), 与文献数据^[12]基本一致, 故鉴定为 3,3'-二甲氧基鞣花酸。

化合物 **13**: 白色粉末 (甲醇), ESI-MS m/z : 471 $[\text{M}-\text{H}]^-$, $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 5.54 (1H, br s, H-12), 4.19 (1H, m, H-3), 4.17, 3.72 (each 1H, d, 10.5 Hz, H-23), 1.24 (3H, s, H-29), 1.06 (3H, s, H-27), 1.05 (3H, s, H-30), 1.00 (3H, s, H-26), 0.98 (3H, s, H-25), 0.93 (3H, s, H-24); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 38.8 (C-1), 27.6 (C-2), 73.5 (C-3), 42.8 (C-4), 48.7 (C-5), 18.6 (C-6), 33.2 (C-7), 39.8 (C-8), 48.1 (C-9), 37.2 (C-10), 23.7 (C-11), 122.6 (C-12), 144.8 (C-13), 42.0 (C-14), 28.3 (C-15), 23.8 (C-16), 46.4 (C-17), 42.2 (C-18), 46.6 (C-19), 30.9 (C-20), 34.24 (C-21), 33.0 (C-22), 68.1 (C-23), 13.0 (C-24), 15.9 (C-25), 17.5 (C-26), 26.1

(C-27), 180.1 (C-28), 33.2 (C-29), 23.7 (C-30)。与文献数据^[13]基本一致, 故鉴定为常春藤皂苷元。

化合物 **14**: 白色针晶 (甲醇), $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CD_3OCD_3) δ : 7.16 (2H, s, H-2, 6); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CD_3OCD_3) δ : 122.6 (C-1), 110.8 (C-2), 146.5 (C-3), 139.3 (C-4), 146.5 (C-5), 110.8 (C-6), 168.6 (C-7)。与文献对照^[14], 鉴定为没食子酸。

化合物 **15**: 白色粉末 (氯仿), TCL 的 R_f 值、显色行为均与胡萝卜苷对照品一致, 与对照品混合熔点不变。鉴定为胡萝卜苷。

参考文献

- [1] 林 芬. 桂枝茯苓丸在妇产科的临床应用进展 [J]. 实用医技杂志, 2007, 14(14): 1870.
- [2] 廖正根, 梁新丽, 平其能, 等. 桂枝茯苓双层缓释片处方设计和优化研究 [J]. 中草药, 2009, 40(4): 553-557.
- [3] Patra A, Ghosh G, Sengupta P K, et al. Carbon- ^{13}NMR spectral studies on chalcones and acetophenones [J]. *Magn Reson Chem*, 1987, 25: 734-742.
- [4] Nishikitanim, Kubota K, Wang D M, et al. (Z)-3-hexenyl and trans- linalool 3, 7-oxide β -primeverosides isolated as arom a precursors from leaves of a green tea cultivar [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1999, 63(9): 1631-1633.
- [5] 黄肖霄, 牛 超, 高品一, 等. 山楂叶的化学成分 [J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(8): 615-617.
- [6] Kamiya K, Yoshioka K, Saiki Y, et al. Triterpenoids and flavonoids from *Paeonia lactiflora* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 44(1): 141-144.
- [7] Wu S H, Wu D G, Chen Y W. Chemical constituents and bioactivities of plants from the genus *Paeonia* [J]. *Chem Biodiversity*, 2010(7): 90-103.
- [8] Tai T, Akahori A, Shingu T. A lanostane triterpenoid from *Poria cocos* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(7): 2548-2549.
- [9] 李伊庆, 易杨华. 土茯苓化学成分研究 [J]. 中草药, 1996, 27(2): 712-714.
- [10] Nahrstedt A, Sattar E A, El-zalabani S M H. Amygdalin acyl derivatives, cyanogenic glycosides from the seeds of *Merremia dissecta* [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29(4): 1179-1181.
- [11] Sadler Standard Carbon-13 NMR Spectra [S]. 1976.
- [12] 叶 冠, 范明松, 黄成钢. 桂林乌柏中的香豆素和鞣花酸类化合物 [J]. 中草药, 2006, 37(6): 821-823.
- [13] Kizu H, Tomimori T. Studies on the constituents of *Clematis* species V: on the saponins of the root of *Clematis chinensis* Osbeck. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1982, 30: 3340-3346.
- [14] 夏红晏, 仲 英, 孙敬勇, 等. 地榆炭的化学成分研究 [J]. 中草药, 2010, 41(7): 1048-1052.