

[2] 蓝树彬. 齿叶泥花草化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 1996, 21(1): 38-39.

[3] 国家医药管理局中草药情报中心站编. 植物药有效成分手册 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986.

手掌参的化学成分研究

李 帅¹, 王 栋¹, 匡海学¹, 冈田嘉仁², 奥山²

(1. 黑龙江中医药大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150040 2. 日本国明治药科大学)

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2001)01-0018-01

中药手掌参系兰科植物手掌参 *Gymnadenia conopsea* R. Br. 的块茎, 为少常用中药和常用蒙藏药。分布于东北、华北、西北等地^[1]。中医临床用于补肾益精、生津止渴、消痞和理气止痛。关于该药化学成分的研究, 有报道其地上部分成分及块茎中营养成分的研究^[2,3], 但尚未见块茎中次生成分的研究报告。为了寻找该药的有效成分, 我们对其块茎进行了化学成分提取分离和结构鉴定。

将手掌参块茎用 95% 乙醇回流提取, 回收乙醇后加水悬浮, 以乙醚、正丁醇依次萃取, 分别得乙醚和正丁醇萃取物。乙醚萃取物经硅胶柱层析, 分得 3 个化合物, 经结构鉴定分别为十八烷 (I)、丁香酚 (II) 和 β -谷甾醇 (III); 正丁醇萃取物经硅胶柱层析, 配合硅胶制备薄层, 分得 4 个化合物, 经结构鉴定分别为 5-羟甲基糠醛 (IV)、正丁基-吡喃果糖苷 (V)、薯蓣皂苷 (VI) 和果糖 (VII)。

1 仪器与材料

手掌参药材购于黑龙江中药联营公司, 经黑龙江中医药大学中药鉴定教研室王喜军教授鉴定为兰科植物手掌参 *G. conopsea* R. Br. 的块茎。薄层层析及柱层析硅胶为青岛海洋化工厂产; 试剂均为分析纯。熔点测定用 X-4 型显微熔点测定仪 (温度计未校正); 紫外光谱仪用岛津 UV-190 型; 红外光谱仪用岛津 IR-408 型, KBr 压片或液膜法; 核磁共振仪用 Bruker AM-270GA JF; TMS 为内标; 质谱仪用 JMS-DX30 型。

2 提取和分离

手掌参药材 4 kg 以 95% 乙醇回流提取 4 次, 过滤, 合并滤液, 回收乙醇, 得浸膏。加水稀释, 水层分别用乙醚和正丁醇萃取, 乙醚层回收溶剂, 蒸干, 得干膏 58 g。正丁醇层减压回收溶剂, 蒸干, 得干膏 87

g。乙醚萃取物上硅胶柱, 以石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱, 分得化合物 I ~ III。正丁醇萃取物经硅胶柱层析, 氯仿-甲醇梯度洗脱, 配合硅胶制备薄层, 分得化合物 IV ~ VII。

3 鉴定

化合物 I: 白色蜡状固体, mp 45.0 °C ~ 46.5 °C; EI-MS (m/z): 284 [M^+], 270, 256, 227, 185, 143, 115, 97, 43 IR (KBr) cm^{-1} : 3 440, 2 900, 2 850, 1 705 $^1H NMR$ ($CDCl_3$) δ 0.95 (3H, t, J = 7 Hz, H-18), 1.26 (28H, s, 14 个 CH_2), 1.63 (2H, m, H-3), 2.34 (2H, J = 8 Hz, H-18) $^{13}C NMR$ ($CDCl_3$) δ 14.4 (C-18), 22.7 (C-17), 24.7 (C-16), 28.0 ~ 31.0 (C-4 ~ C-15), 31.9 (C-3), 34.1 (C-2), 180.1 (C-1)。鉴定为十八烷酸。

化合物 II: 黄色液体, 有芳香气味 EI-MS (m/z): 164 [M^+], 2 UV $\lambda_{max}^{O/H}$ nm 236, 280 IR (液膜) cm^{-1} : 3 400 (OH), 2 900, 2 850, 2 760 (CH_2 , CH_2 , CH), 1 620 (C=C), 1 590 (苯环)。经与文献^[4] EI-MS, 1H 和 $^{13}C NMR$ 数据对照, 鉴定为丁香酚。

化合物 III: 白色结晶, mp 139 °C ~ 140 °C, IR, $^1H NMR$, $^{13}C NMR$ 和 MS 谱经与文献^[5]对照, 鉴定为 β -谷甾醇。

化合物 IV: 黄色液体, Molisch 反应阳性, 经与文献^[6]的 EI-MS, 1H 和 $^{13}C NMR$ 数据对照鉴定为 5-羟甲基糠醛。

化合物 V: 白色针晶, mp 153.5 °C ~ 154.5 °C; FAB-MS (m/z): 236 [M^+] EI-MS (m/z): 205 ($M - CH_2OH$), 163, 149, 133, 127, 113, 103 Molisch 反应阳性。按文献^[7]方法进行酸水解薄层层析, 以标准果糖对照, 样品中具果糖斑点。 $^1H NMR$ (CD_3OD) δ

(下转第 38 页)

② 收稿日期: 2000-01-10

作者简介: 李 帅, 男, 27 岁, 黑龙江中医药大学药学院, 讲师, 药物化学专业硕士, 北京中医药大学中药专业博士研究生, 日本明治药科大学天然药物学教研室访问学者。主要从事中药及复方有效成分和中药质量标准方面的研究。 Tel (0451) 2107847

2.4 收率与结果见表 1, 2

表 1 加酶与未加酶提取葛根总黄酮的收率

加酶法	葛根总黄酮收率(%)	未加酶法	葛根总黄酮收率(%)
1	8.40	1	7.73
2	8.82	2	8.03
3	8.85	3	7.84
4	8.92	4	7.06
5	8.41	5	7.76

表 2 2种不同工 艺提取结果比较

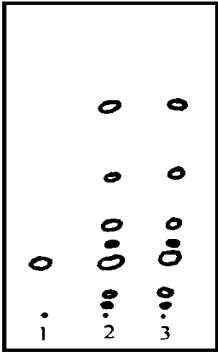
	加酶法		未加酶法		t 值	P 值
	$\bar{x}_1$	S_1	$\bar{x}_2$	S_2		
提取率	8.68	0.2537	7.684	0.3679	4.98	< 0.01

$$t_{0.01}(8)=3.3554$$

2.5 薄层层析: 将加酶、未加酶得到的提取物与葛根素对照品分别点于同一硅胶 G板上,以氯仿-甲醇-水(7: 2.5: 0.5)为展开剂,展开,展距 10 cm,在 254 nm紫外灯下观察荧光。薄层色谱见图 2

3 讨论

3.1 用葛根提取总黄酮,我们进行了加酶与不加酶的对比实验,从用纤维素酶提取葛根总黄酮的实验中,在纤维素酶的作用下,葛根总黄酮的收率提高了



1-葛根素 2加酶 提取物
3未加酶提取物

图 2 葛根 TCL图

参考文献:

[1] 李小鹰,王培仁,邵建华. 静脉注射葛根素对犬急性心肌梗塞范围的影响[J]. 山东医学院学报, 1984, 22(3): 9-17.
[2] 李小鹰,王培仁,邵建华. 葛根素对急性心肌梗塞患者梗塞范围的影响[J]. 中国心血管病杂志, 1985, 13(3): 175-178.
[3] 左春旭,丁杏苞,刘 翎. 葛根非黄酮成分[J]. 中草药, 1987, 18(11): 10.
[4] 马田田. 纤维素酶用于中药提取的初步研究[J]. 中草药, 1994, 25(3): 123.

13%;经 t 检验,两种提取方法的 $P < 0.01$

3.2 从薄层层析结果显示,加酶与不加酶提取出的成分一致,说明酶解没有破坏葛根的成分. 可以认为纤维素酶可以用于葛根总黄酮的提取

3.3 由于中药材存在着质地和成分等差别,因此把纤维素酶广泛应用于中药材的提取中,值得进一步深入研究

(上接第 18页)

0.95(3H, t, J= 7.2 Hz, H-1), 1.40(2H, m, H-2), 1.50(2H, m, H-3), 3.5(2H, m, H-4). ¹³CNMR (CD₃OD) δ 14.4(C-1), 20.5(C-2), 33.4(C-3), 61.7(C-4), 63.5(C-6'), 65.2(C-1'), 70.6(C-3'), 71.1(C-5'), 71.6(C-4'), 101.6(C-2') 综合解析该化合物为β-D-正丁基-果糖苷。

化合物VI: 白色针晶, mp 306.0℃~ 307.0℃; Liebermann-Burchard 反应绿色,示母核中有甾类; Molisch 反应阳性,示为苷类化合物 按文献^[7]方法进行酸水解薄层层析,以标准β-D-葡萄糖、α-L-鼠李糖对照,确定糖部分具有β-D-葡萄糖、α-L-鼠李糖 IR(KBr)

cm⁻¹: 3450(OH), 2940(CH₂-CH), 1630(C= C) ¹HNM R(CD₃OD) δ 0.78~ 1.32(18H, 6× CH₃), 1.50~ 2.20(24H, m), 3.27~ 4.20(17H, m), 4.40(1H, m, H-3), 4.50(1H, J= 7.5 Hz, glc H-1), 4.75(1H, rha H-1), 4.85(8H, s, 糖上 8个 OH), 5.20(1H, d, J= 1 Hz, rha H-1), 5.37(1H, brs) ¹³CNMR (CD₃OD) δ 苷元部分: 14.9(C-21), 16.8(C-18), 19.8(C-19), 22.0(C-11), 30.8(C-2), 32.2(C-15), 32.5(C-23), 32.8(C-7), 32.8(C-8), 38.1(C-10), 38.6(C-1), 39.6(C-4), 41.0(C-12), 41.5(C-13), 42.9(C-20), 51.8(C-9), 57.8(C-14), 63.8(C-17),

79.3(C-3), 82.2(C-16), 110.6(C-22), 122.7(C-6), 141.9(C-5); 糖部分: glc 62.0(C-6), 76.6(C-3), 78.1(C-5), 79.3(C-4), 80.0(C-2), 103.0(C-1); rha 18.0(C-6), 70.7(C-5), 72.4(C-3), 72.5(C-4), 74.1(C-2), 102.3(C-1); rha 17.9(C-6), 69.8(C-5), 72.2(C-2), 72.2(C-3), 73.8(C-4), 100.5(C-1). FAB-MS m/z 869(M+ H), 723(M- rha), 613, 569, 415, 397, 309, 139, 126, 119, 115 综合解析上述数据,并与文献^[8]对照,该化合物鉴定为薯蓣皂苷

化合物VII: 为果糖

参考文献:

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985.
[2] Schoensiegel, Ingomar, Egger, et al. Flavonol glycosides in the flowers of *Gymnadenia conopsea* [J]. Z Pflanzenphysiol, 1969, 6(4): 343-345.
[3] Dieter S, Ekkehard B, Victor W, et al. Cyanidin 3-oxalylglucoside in orchids [J]. Z Naturforsch, G Biosci, 1986, 41(7/8): 707-711.
[4] Friedrich V M, Martin A R S. Indirect ¹³C-¹H coupling in asymmetrically trisubstituted benzenes: A Carbon-13 Nuclear magnetic resonance study [J]. J C S Perkin, Trans II, 1976, (9): 979-980.
[5] Wright J L C, McInnes A G, Shimizu S, et al. Identification of C-24 alkylepimers of marine sterols by ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. CAN J CHEM, 1978, 56(14): 1898-1903.
[6] Milton T W H. Carbon-13 chemical shifts in some substituted furans and thiophenes [J]. Aust J Chem, 1976, 29(1): 107-113.
[7] 赵萍萍,李宝明,何丽一. 苷中结合糖测定方法的研究[J]. 药学报, 1987, 22(1): 70-74.
[8] Agrawal P K, Jain D C, Gupta R K, et al. Carbon-13 NMR spectroscopy of steroidal sapogenins and steroidal saponins [J]. Phytochemistry, 1985, 24(11): 2479-2496.