

桂枝茯苓胶囊化学成分研究(II)

朱克近^{1,2}, 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正丁醇萃取部位化学成分进行研究。**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鉴定化合物结构。**结果** 共得到9个单体化合物, 分别鉴定为5-羟甲基-糠醛(1)、芍药苷(2)、磺酸钠芍药苷(3)、芍药内酯苷(4)、1,2,3,4,6-*O*-五没食子酰葡萄糖(5)、野樱苷(6)、蔗糖(7)、麦芽糖(8)、去苯甲酰基芍药苷(9)。**结论** 化合物1~9均为首次从该复方中得到。

关键词: 桂枝茯苓胶囊; 5-羟甲基-糠醛; 芍药苷; 芍药内酯苷; 野樱苷

中图分类号: R284.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2011)06-1087-03

Chemical constituents of Guizhi Fuling Capsula (II)

ZHU Ke-jin^{1,2}, 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

Key words: Guizhi Fuling Capsula; 5-hydroxymethyl-furfural; paeoniflorin; albiflorin; prunasin

桂枝茯苓胶囊是东汉张仲景的经典名方桂枝茯苓丸的现代剂型, 由桂枝、茯苓、牡丹皮、赤芍、桃仁5味中药组成, 诸药相伍, 共奏活血化瘀、祛痰利水、消症化积之功。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]。复方作为一个有机整体, 并不是各单味药的简单加和, 采用植物化学方法对全方化学进行系统的提取、分离、纯化, 并进行结构鉴定, 可全面分析复方的化学成分, 比较药物配伍中是否有新物质产生。为了阐明经典方剂治疗疾病的物质基础, 探索中药复方化学的研究方法, 本课题组对桂枝茯苓胶囊进行了系统的化学成分研究, 前期研究已从中分离得到15个化合物^[2]。本实验对该方进行了进一步研究, 从该方的正丁醇萃取部分分离得到10个化合物, 即5-羟甲基-糠醛(5-hydroxymethyl-furfural, 1)、芍药苷(paeoniflorin, 2)、磺酸钠芍药苷(sodium paeoniflorin sulfonate, 3)、芍药内酯苷(albiflorin, 4)、1,2,3,4,6-*O*-五没食子酰葡萄糖(1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl-beta-*D*-glucopyranose,

5)、野樱苷(prunasin, 6)、蔗糖(sucrose, 7)、麦芽糖(maltose, 8)、去苯甲酰基芍药苷(desbenzoyl-paeoniflorin, 9)。

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 (北京创新通恒科技有限公司), 中压制备色谱仪 (BUCHI), 硅胶 (80~100, 200~300 目)、薄层硅胶板 (100 mm×50 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), D-101 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 (江苏康缘药业股份有限公司)。

2 提取和分离

桂枝茯苓胶囊内容物 (4.0 kg), 用 50% 乙醇回流提取 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, 合并各萃取液, 蒸干备用。取氯仿萃取部分 120.0 g, 用硅胶粗处理, 氯仿-甲醇梯度洗脱, 分为 6 段 (Fr.1~6)。

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: 朱克近, 男, 硕士, 主要从事新药在美国的试验研究工作。Tel: (0518)85522009 E-mail: wzzh-nj@tom.com

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

Fr.1 上硅胶柱色谱(以氯仿-甲醇梯度洗脱)分离得到化合物 **1** (5 mg); Fr.2 上 ODS-A 柱(以甲醇-水梯度洗脱)分离得到化合物 **2** (1 300 mg)、**3** (15 mg)、**4** (300 mg); Fr.4 段上硅胶柱色谱(以氯仿-甲醇梯度洗脱)分离得到化合物 **6** (14 mg), 再用 ODS-A 柱分离(甲醇-水)得到化合物 **5** (20 mg); Fr.5 经反复柱色谱分离得到化合物 **7** (1 200 mg), **8** (290 mg); Fr.6 经高效液相制备色谱仪(甲醇-水)分离得化合物 **9** (15 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 浅黄色油状物。¹H-NMR (500 MHz, DMSO) δ : 9.52 (1H, s, H-1, CHO), 7.20 (1H, d, J = 3.5, H-3), 6.49 (1H, d, J = 3.5 Hz, H-4), 4.67 (2H, s, H-6), 3.67 (1H, s, OH); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO) δ : 177.8 (C-1, CHO), 160.9 (C-5), 152.2 (C-2), 123.1 (C-3), 110.0 (C-4), 57.4 (C-6)。与文献数据对照基本一致^[3], 故鉴定为 5-羟甲基-糠醛。

化合物 **2**: 白色粉末(甲醇)。ESI-MS m/z : 503 [M+Na]⁺。¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ : 1.33 (3H, s, CH₃-10), 1.92, 2.45 (each 1H, d, J = 10.8 Hz, H-6), 2.55 (1H, m, H-5), 2.16, 1.77 (each 1H, d, J = 12.5 Hz, H-3), 4.71 (2H, s, H-8), 5.33 (1H, s, H-9), 4.49 (1H, m, H-1'), 7.58 (each 1H, t, J = 7.3 Hz, H-4''), 7.45 (each 2H, t, J = 7.3 Hz, H-3'', 5''), 8.01 (each 2H, m, H-2'', 6''); ¹³C-NMR (75 MHz, CD₃OD) δ : 89.8 (C-1), 87.7 (C-2), 45.0 (C-3), 106.8 (C-4), 44.4 (C-5), 23.9 (C-6), 72.7 (C-7), 62.2 (C-8), 102.8 (C-9), 20.1 (C-10), 100.7 (C-1'), 75.5 (C-2'), 78.4 (C-3'), 72.2 (C-4'), 78.5 (C-5'), 63.4 (C-6'), 131.7 (C-1''), 131.1 (2'', 6''), 130.1 (3'', 5''), 134.9 (C-4''), 168.4 (C-7'')。与文献数据基本一致^[4], 故鉴定为芍药苷。

化合物 **3**: 白色粉末(甲醇)。ESI-MS m/z : 589 [M+Na]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 2.13 (1H, d, J = 13.0 Hz, H-3a), 2.42 (1H, d, J = 13.0 Hz, H-3 β), 3.24 (1H, d, J = 6.6 Hz, H-5), 1.98 (1H, d, J = 11.1 Hz, H-7a), 2.59 (1H, dd, J = 11.1, 6.9 Hz, H-7 β), 4.77 (1H, d, J = 12.1 Hz, H-8a), 4.82 (1H, d, J = 12.1 Hz, H-8 β), 5.57 (1H, s, H-9), 1.40 (3H, s, H-10), 4.62 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-1') 3.62 (1H, d, J = 11.8 Hz, H-6'), 8.06 (2H, d, J = 7.2 Hz, H-2'', 6''), 7.48 (2H, t, J = 7.2 Hz, H-3'', 5''), 7.61 (1H, t, J = 7.2 Hz, H-4''); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 89.6.0 (C-1), 89.1 (C-2), 40.3 (C-3), 96.0 (C-4), 43.6 (C-5), 72.1 (C-6),

24.5 (C-7), 61.9 (C-8), 105.9 (C-9), 20.2 (C-10), 100.5 (C-1'), 75.3 (C-2'), 78.5 (C-3'), 72.1 (C-4'), 78.6 (C-5'), 63.2 (C-6'), 131.2 (C-1''), 131.0 (C-2'', 6''), 130.1 (C-3'', 5''), 134.8 (C-4''), 168.4 (C-7'')。与文献数据一致^[4], 故鉴定为磺酸钠芍药苷。

化合物 **4**: 白色粉末(甲醇)。ESI-MS m/z : 479 [M-H]⁻。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 1.98 (1H, d, J = 15.5 Hz, H-3 α), 2.40 (1H, dd, J = 15.5, 7.0 Hz, H-3 β), 4.79 (1H, s, H-4), 2.91 (1H, t, J = 6.5 Hz, H-5), 2.02 (1H, d, J = 11.0 Hz, H-7 α), 2.78 (1H, d, J = 11.0 Hz, H-7 β), 4.68 (1H, d, J = 12.0 Hz, H-8), 1.51 (3H, s, H-10), 4.52 (1H, d, J = 7.0 Hz, H-1'), 3.18-3.26 (4H, m, H-2', 3', 4', 5'), 3.60 (1H, dd, J = 11.8, 6.3 Hz, H-6' α), 3.84 (1H, t, J = 11.8 Hz, H-6' β), 8.06 (2H, m, H-2'', 6''), 7.48 (2H, m, H-3'', 5''), 7.61 (1H, m, H-4''); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 93.9 (C-1), 87.4 (C-2), 42.2 (C-3), 68.9 (C-4), 42.1 (C-5), 57.3 (C-6), 28.9 (C-7), 62.5 (C-8), 178.4 (C-9), 21.0 (C-10), 100.6 (C-1'), 75.3 (C-2'), 78.5 (C-3'), 72.1 (C-4'), 78.6 (C-5'), 62.5 (C-6'), 131.7 (C-1''), 131.0 (C-2''), 130.1 (C-3''), 134.8 (C-4''), 130.1 (C-5''), 131.0 (C-6''), 168.4 (C-7'')。与文献数据对比^[5]鉴定为芍药内酯苷。

化合物 **5**: 白色粉末(甲醇)。¹H-NMR (500 MHz, CD₃COCD₃) δ : 4.52 (2H, m, H-6), 4.61 (1H, m, H-5), 5.61 (1H, dd, J = 8.0, 9.0 Hz, H-2), 5.66 (1H, t, J = 9.0 Hz, H-4), 6.03 (1H, t, J = 9.0 Hz, H-3), 6.35 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-1), 6.98, 7.02, 7.06, 7.12, 7.16 (each 2H, s, galloyl-H)。与文献数据基本一致^[6], 故鉴定为 1, 2, 3, 4, 6-*O*-五没食子酰葡萄糖^[5]。

化合物 **6**: 白色粉末。¹H-NMR (300 MHz, D₂O) δ : 7.57~7.66 (5H, m, Ar), 5.94 (1H, s, H-2), 4.59 (1H, d, J = 7.0 Hz, H-1'), 3.38~3.97 (糖上质子); ¹³C-NMR (75 MHz, D₂O) δ : 133.5 (C-3), 129.7 (C-6), 129.2 (C-5, 7), 127.5 (C-4, 8), 118.3 (C-1), 101.2 (C-1'), 77.3 (C-5'), 76.1 (C-3'), 73.2 (C-2'), 69.1 (C-4'), 66.5 (C-2), 61.1 (C-6')。与文献数据基本一致^[7], 故鉴定为野樱苷。

化合物 **7**: 无色方晶(吡啶)。¹H-NMR (300 MHz, C₅D₅N) δ : 6.15 (1H, d, J = 3.8 Hz, H-1), 5.00 (1H, m, H-2), 4.93 (1H, m, H-3), 4.43 (1H, m, H-3'); ¹³C-NMR (75 MHz, C₅D₅N) δ : 93.4 (C-1), 75.5 (C-2), 79.8 (C-3), 71.7 (C-4), 74.9 (C-5), 62.8 (C-6), 105.8 (C-1'),

73.4 (C-2'), 84.3 (C-3'), 75.0 (C-4'), 62.3 (C-5'), 64.8 (C-6')。与文献对照^[8]鉴定为蔗糖。

化合物 8: 白色粉末 (吡啶)。¹H-NMR (300 MHz, C₅D₅N) δ : 5.84 (1H, d, J = 3.5 Hz, H-1') 5.36 (1H, br s, H-1); 4.03~4.81 (10 H, m, 糖环上质子信号); ¹³C-NMR (75 MHz, C₅D₅N) δ : 99.0 (C-1), 73.7 (C-2), 74.6 (C-3), 72.6 (C-4), 72.1 (C-5), 63.1 (C-6), 94.2 (C-1'), 75.4 (C-2'), 78.5 (C-3'), 78.8 (C-4'), 76.9 (C-5'), 63.3 (C-6')。与文献数据基本一致^[9], 故鉴定为麦芽糖。

化合物 9: 白色粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 375 [M-H]⁻。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 1.34 (1H, s, CH₃-10), 1.80, 2.16 (each H, d, J = 12.5 Hz, H-3), 2.41 (1H, m, H-5), 1.86, 2.40 (each 1H, d, J = 10.0 Hz, H-7), 3.91, 4.00 (each 1H, d, J = 12.4 Hz, H-8), 5.25 (1H, s, H-9), 4.60 (1H, d, J = 7.7 Hz, H-1'), 3.65, 3.85 (each 1H, d, J = 11.7 Hz, H-6'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 88.7 (C-1), 85.8 (C-2), 44.6 (C-3), 105.8 (C-4), 43.8 (C-5), 23.4 (C-6), 71.7 (C-7), 60.8 (C-8), 101.6 (C-9), 19.7 (C-10), 100.2 (C-1'), 74.9 (C-2'), 78.4 (C-3'), 71.6 (C-4'), 78.2 (C-5'), 62.7 (C-6'), 121.3 (C-1''), 113.3 (C-2''), 148.1 (C-3''), 153.0 (C-4''), 115.9 (C-5''), 124.5 (C-6''), 166.5 (C-7''), 55.5 (OCH₃)。与文献数据基本一致^[10], 故鉴定为去苯甲酰基芍药苷。

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] 王振中, 李 成, 李家春, 等. 桂枝茯苓胶囊化学成分研究(I) [J]. 中草药, 2011, 42(5): 856-858.
- [3] 尚振苹, 赵庆春, 谭菁菁. 骨碎补的化学成分 [J]. 实用药物与临床, 2001, 13(4): 262-264.
- [4] 谭菁菁, 赵庆春, 杨 琳, 等. 白芍化学成分研究 [J]. 中草药, 2010, 41(8): 1245-1248.
- [5] Kazou Y, Miyuki K, Osamu T. Carbon-13 NMR spectral assignments of paeoniflorin homologues with the AID of spin2lattice relaxation time [J]. *Tetrahedron Lett*, 1976, 44: 3965-3968.
- [6] Takako Y, Chen C P, Takashi T, *et al*. A study on the nitric oxide production-suppressing activity of *Sanguisorbae Radix* components [J]. *Boil Pharm Bull*, 2000, 23(6): 717-722.
- [7] 刘 莹, 李喜凤, 刘艾林, 等. 细皱香薷叶的化学成分研究 [J]. 中草药, 2009, 40(9): 1356-1359.
- [8] 赵海誉, 范妙璇, 石晋丽. 北葶苈子化学成分研究 [J]. 中草药, 2010, 41(1): 14-18.
- [9] 张冬松, 黄顺旺, 高慧媛, 等. 板栗种仁化学成分的分 离与鉴定 [J]. 沈阳药科大学学报, 2008, 25(6): 454-456.
- [10] Stavri M, Mathew K T, Bucar F, *et al*. Pangelin, an antimycobacterial coumarin from *Ducrosia anethifolia* [J]. *Planta Med*, 2003, 69(10): 956-959.

《中草药》杂志最新佳绩

《中国科技期刊引证报告》2010 年 11 月 26 日发布:《中草药》杂志 2009 年总被引频次 5 631, 名列我国科技期刊第 16 名, 中医中药类期刊第 1 名; 影响因子 0.627, 基金论文比 0.620, 他引率 0.890, 权威因子 2 202.980; 连续 6 年 (2005—2010 年) 荣获“百种中国杰出学术期刊”称号。

《中草药》杂志 2009 年 12 月荣获“新中国 60 年有影响力的期刊”, 执行主编陈常青研究员荣获“新中国 60 年有影响力的期刊人”。

《中草药》杂志荣获第二届中国出版政府奖, 中国出版政府奖是国家新闻出版行业的最高奖, 第二届中国出版政府奖首次设立期刊奖,《中草药》等 10 种科技期刊获此殊荣。2011 年 3 月 18 日于北京举行了盛大的颁奖典礼。