

2.3.1 标准曲线的制定: 吸取藁本内酯对照品约 5, 10, 15, 20, 25 μ L 于 1 mL 容量瓶, 分别加入内标物邻苯二甲酸二乙酯 15 μ L, 精密称定, 加乙醇稀释至刻度, 摇匀。分取 1 μ L 进样, 以藁本内酯峰面积 $\times$ 内标浓度/内标物峰面积为横坐标, 以藁本内酯对照品的浓度 (mg/mL) 为纵坐标, 其标准曲线为 $Y=0.8300X+0.7893$, $r=0.9999$

2.3.2 校正因子的测定: 取藁本内酯对照品 15 μ L 于 1 mL 容量瓶, 精密称定, 加入内标物邻苯二甲酸二乙酯 15 μ L, 精密称定, 加乙醇稀释至刻度, 摇匀。取 1 μ L 进样, 计算校正因子, 结果为 0.88, $RSD=1.62\%$ ($n=3$)。

2.3.3 当归挥发油中藁本内酯含量的测定: 取当归油样品 30 μ L 于 1 mL 容量瓶中, 精密称定, 加入内标物邻苯二甲酸二乙酯 15 μ L, 精密称定, 加乙醇稀释至刻度, 摇匀。取 1 μ L 进样, 计算。结果见表 3

表 3 当归挥发油中藁本内酯含量 (%)

提取方法	藁本内酯的含量
水蒸气蒸馏	57.61
超临界 CO ₂ 萃取	59.43

3 讨论

3.1 通过比较, 用超临界 CO₂ 流体萃取法所得的

当归挥发油与水蒸气蒸馏法所得的当归挥发油组分及其主要组分 (Z) 藁本内酯的含量基本一致, 因而两种方法所得当归油的物质基础是一致的。本文超临界 CO₂ 流体萃取法所得的当归挥发油的成分及相对百分含量与相关报道有较大差异^[3], 可能是由于药材产地、药材提取条件、提取物的后处理等不同引起。

3.2 超临界 CO₂ 流体萃取所得当归油的收率比水蒸气蒸馏法所得当归油的收率提高近 2 倍, 其主要原因可能为当归油主要组分藁本内酯的异构化所致。藁本内酯为一热不稳定易氧化物质^[4]。水蒸气蒸馏法提取过程温度高, 为一开放系统, 其过程易造成对热不稳定及易氧化成分的破坏。超临界 CO₂ 流体萃取过程温度低, 系统密闭, 可避免对热不稳定及易氧化成分的破坏。因而超临界 CO₂ 流体萃取法为提取当归挥发油理想的方法。

参考文献:

- [1] 陶静仪, 阮于平, 陈耀祖. 当归成分藁本内酯平喘作用的研究 [J]. 药学学报, 1984, 19(8): 561-565.
- [2] WS₃-B-3191-98, 妇痛宁滴丸 [S].
- [3] 李菁, 葛发欢, 黄晓芬, 等. 超临界 CO₂ 萃取当归挥发油的研究 [J]. 中药材, 1996, 19(4): 187-189.
- [4] 李桂生, 马成俊, 李香玉, 等. 藁本内酯的稳定性研究及异构化产物的 GC-MS 分析 [J]. 中草药, 2000, 31(6): 405-407.

补阳还五汤中异黄酮和紫檀烷类化合物的分离和结构鉴定

吴军, 屠鹏飞, 赵玉英*

(北京医科大学药学院天然药物化学研究室, 北京 100083)

摘要: 目的 研究补阳还五汤的抗血栓有效部位及其活性成分。方法 用多种色谱和光谱方法对补阳还五汤水煎液乙酸乙酯萃取部位的化学成分进行分离和结构鉴定。结果 分离鉴定了 4 个异黄酮化合物和 1 个紫檀烷类化合物, 分别为芒柄花素 (I)、毛蕊异黄酮 (II)、芒柄花素-7-O- β -D-葡萄糖吡喃糖苷 (III)、毛蕊异黄酮-7-O- β -D-葡萄糖吡喃糖苷 (IV) 及 (6aR, 11aR) 9, 10-二甲氧基紫檀烷-3-O- β -D-葡萄糖吡喃糖苷 (V)。结论 以上化合物均为首次从补阳还五汤中分离得到。

关键词: 补阳还五汤; 异黄酮; 紫檀烷

中图分类号: R284.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2001)07-0583-03

Isolation and identification of four isoflavones and one pterocarpin from

BUYANGHUANWUTANG

WU Jun, TU Peng-fei, ZHAO Yu-ying

(Department of Natural Chemistry, College of Pharmacy, Beijing University of Medical Sciences, Beijing 100083, China)

Abstract **Object** To study the antithrombotic portion and bioactive fraction of BUYANGHUANWU-

* 收稿日期: 2000-06-27

基金项目: 本课题为国家“九·五”攀登项目“补阳还五汤治疗缺血性脑中风作用机理研究”的部分工作。

作者简介: 吴军 (1968-), 男, 安徽歙县人, 北京大学药学院在读药学博士生。1991年毕业于安徽中医学院中医系, 获医学学士学位; 1998年于中科院南海海洋所获海洋生物学硕士学位。研究方向: 天然药物活性成分研究。
Tel (010) 62091702 Fax: (010) 62092750

TANG (BHT), a decoction of astragalus in combination with peony and several other ingredients. **Methods** The EtOAc portion of BHT extract was repeatedly separated by chromatography and identified by means of spectral analysis. **Results** One pterocarpan, (6aR, 11aR) 9, 10-dimethoxypterocarpan-3-O β -D-glucopyranoside (V) and four isoflavones, formononetin (I), calycosin (II), formononetin-7-O β -D-glucopyranoside (III), and calycosin-7-O β -D-glucopyranoside (IV) were identified. **Conclusion** All five compounds were isolated for the first time from BHT.

Key words BUYANGHUANWUTANG (BHT); isoflavone; pterocarpan

补阳还五汤为清代名医王清任《医林改错》中的名方。此方剂由黄芪、当归、赤芍、地龙、川芎、桃仁、红花组成,具有补气、活血、通络的功效。主治中风后半身不遂、口眼歪斜诸证。现代临床主要用于治疗缺血性脑血管病。为阐明其活性成分,我们对补阳还五汤水煎液的化学成分进行了系统的研究,从其乙酸乙酯萃取部位分离得到的4个异黄酮化合物和1个紫檀烷类化合物,分别为芒柄花素(formononetin, I)、毛蕊异黄酮(calycosin, II)、芒柄花素-7-O β -D-葡萄糖吡喃糖苷(formononetin-7-O β -D-glucopyranoside, III)、毛蕊异黄酮-7-O β -D-葡萄糖吡喃糖苷(calycosin-7-O β -D-glucopyranoside, IV)及(6aR, 11aR) 9, 10-二甲氧基紫檀烷-3-O β -D-葡萄糖吡喃糖苷[(6aR, 11aR) 9, 10-dimethoxypterocarpan-3-O β -D-glucopyranoside, V]

1 仪器和材料

XT4型显微溶点仪(未校正), Perkin-Elmer 983型红外分光光度仪, AEI MS-50质谱仪, AL-300核磁共振仪。Sephadex LH-20葡聚糖凝胶为Pharmacia公司产品,薄层层析及柱层析硅胶为青岛海洋化工厂产品。补阳还五汤中各单味药均选用地道药材,黄芪为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的干燥根,购于山西省浑源县医药公司;当归为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels. 的干燥根,购于甘肃省岷县医药公司;赤芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根,购于内蒙古自治区多伦医药公司;地龙为巨蚓科动物参环毛蚓 *Pheretima aspergillum* (E. Perrier) 的干燥体,购于广东省药材公司;川芎为伞形科植物川芎 *Ligusticum duanxiong* Hort. 的干燥根茎,购于成都荷花池药材市场;桃仁为蔷薇科植物桃 *Prunus persica* (L.) Batsch 的干燥成熟种子,购于安国药材市场;红花为菊科植物 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花,购于新疆药材公司。以上药材均由北京医科大学药学院生药教研室蔡少青教授鉴定

和提供,生药标本保存在该教研室。

2 提取和分离

补阳还五汤各单味药材按原方配伍共47.5 kg,粉碎后分别用8, 6, 6倍量水提取3次,共得干膏7 kg。取其中1 kg悬浮于水中,然后依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取。其乙酸乙酯萃取部位浓缩、干燥得干膏25 g。采用硅胶柱色谱进行分离。以CHCl₃-CH₃OH(100:1~1:1)梯度洗脱,继而进一步用硅胶柱层析和Sephadex LH-20凝胶过滤纯化,得到化合物I(30 mg), II(50 mg), III(50 mg), IV(60 mg), V(100 mg)。

3 结构鉴定

化合物I:白色针状结晶(甲醇), mp 257℃~258℃,易溶于甲醇。分子式C₁₆H₂O₄ EI-MS m/z(%): 268(M⁺, 100), 253(18), 225(8), 132(84), 117(18), 89(19), 32(16) ¹H NMR(DMSO-d₆) δ 3.77(3H, s, OMe), 6.87(1H, s, H-8), 6.94(1H, d, J=8.7 Hz, H-6), 6.99(2H, d, J=8.1 Hz, H-3', H-5'), 7.51(2H, d, J=8.1 Hz, H-2', H-6'), 7.98(1H, d, J=8.7 Hz, H-5), 8.34(1H, s, H-2), 10.82(1H, s, C-OH) ¹³C NMR数据及其归属见表1。对照文献^[1]化合物I鉴定为芒柄花素。

化合物II:白色针状结晶(甲醇), mp 230℃~232℃,易溶于甲醇。分子式C₁₆H₂O₅ EI-MS m/z(%): 284(M⁺, 100), 269(27), 241(30), 213(30), 137(25), 133(16), 112(28) ¹H NMR(DMSO-d₆) δ 3.78(3H, s, OMe), 6.85(1H, d, J=1.8 Hz, H-8), 6.90(1H, dd, J=8.7, 1.8 Hz, H-6), 6.94(2H, brs, H-5', H-6'), 7.03(1H, brs, H-2'), 7.97(1H, d, J=8.7 Hz, H-5), 8.28(1H, s, H-2), 9.02(1H, s, C'-OH), 10.79(1H, s, C7-OH) ¹³C NMR数据及其归属见表1。对照文献^[1]化合物II鉴定为毛蕊异黄酮。

化合物III:白色针状结晶(甲醇), mp 217℃~219℃(分解),易溶于甲醇。分子式C₂₂H₂O₉ P-FAB-MS m/z: 431(M⁺+1), 269(M⁺+1-glucose unit) ¹H NMR(DMSO-d₆) δ 3.15~3.70

(6H), 3.78(3H, s, OMe), 5.05(1H, J= 7.2 Hz, anomeric), 7.00(2H, d, J= 8.4 Hz, H-3', H-5'), 7.15(1H, dd, J= 8.8, 2.2 Hz, H-6), 7.24(1H, d, J= 2.2 Hz, H-8), 7.54(2H, d, J= 8.4 Hz, H-2', H-6'), 8.06(1H, d, J= 8.8 Hz, H-5), 8.42(1H, s, H-2). ¹³C NMR数据及其归属见表 1 波谱数据与文献^[3]的芒柄花素-7-O-β-D-葡萄糖吡喃糖苷基本一致

化合物IV: 白色针状结晶(甲醇), mp 221℃~222℃(分解), 易溶于甲醇 分子式 C₂₂H₂₀O₁₀ P-FAB-MS m/z: 447 (M⁺ + 1), 285 (M⁺ + 1- glucose unit) ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 3.17~ 3.73 (6H), 3.78(3H, s, OMe), 5.11(1H, d, J= 7.2 Hz, anomeric), 6.96(2H, brs, H-5', H-6'), 7.05(1H, s, H-2'), 7.14(1H, dd, J= 8.7, 2.1 Hz, H-6), 7.23(1H, d, J= 2.1 Hz, H-8), 8.05(1H, d, J= 8.7 Hz, H-5), 8.39(1H, s, H-2) 9.04(1H, s, C3'-OH) ¹³C NMR数据及其归属见表 1 对照文献^[1]化合物IV鉴定为毛蕊异黄酮-7-O-β-D-葡萄糖吡喃糖苷。

化合物V: 白色针状结晶(甲醇), mp 205℃~208℃(分解), 易溶于甲醇 分子式 C₂₃H₂₆O₁₀ P-FAB-MS m/z: 463 (M⁺ + 1), 301 (M⁺ + 1- glucose unit) ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 3.00~ 3.70 (6H), 3.41(1H, m, H-6), 3.68(1H, m, H-6a), 3.69(3H, s, OMe), 3.72(3H, s, OMe), 4.28(1H, d, J= 6.3 Hz, H-6), 4.84(1H, d, J= 7.21 Hz, anomeric), 5.63(1H, d, J= 6.9 Hz, H-11a), 6.52(1H, d, J= 8.4 Hz, H-8), 6.54(1H, d, J= 2.1 Hz, H-4), 6.72(1H, dd, J= 8.4, 2.1 Hz, H-2), 7.01(1H, d, J= 8.4 Hz, H-7), 7.42(1H, d, J= 8.4 Hz, H-1), ¹³C NMR(DMSO-d₆) δ 131.99(C-1), 110.46(C-2), 158.52(C-3), 103.98(C-4), 156.15(C-4a), 65.73(C-6), 39.95(C-6a), 121.57(C-6b), 118.74(C-7), 105.10(C-

8), 152.70(C-9), 133.36(C-10), 150.99(C-11), 78.19(C-11a), 114.03(C-11b), 100.28(C-1'), 73.16(C-2'), 76.51(C-3'), 69.65(C-4'), 77.04(C-5'), 60.65(C-6'), 59.87(OMe), 56.07(OMe) 对照文献^[2]化合物V鉴定为(6aR, 11aR) 9, 10-二甲氧基紫檀烷-3-O-β-D-葡萄糖苷。

表 1 化合物I ~ IV的¹³C NMR(DMSO-d₆)波谱数据 δ

C位	I	II	III	IV
C ₂	153.21	153.05	153.65	153.56
C ₃	123.16	123.34	123.35	123.55
C ₄	174.63	174.56	174.64	174.61
C ₅	127.33	127.30	126.94	126.95
C ₆	115.21	115.13	115.62	116.38
C ₇	162.58	162.51	161.43	161.40
C ₈	102.15	102.09	103.38	103.37
C ₉	157.46	157.36	157.03	156.97
C ₁₀	116.62	116.63	118.43	118.46
C _{1'}	124.23	124.67	123.99	124.42
C _{2'}	130.10	116.42	130.07	115.59
C _{3'}	113.60	146.01	113.62	146.03
C _{4'}	158.96	147.48	159.01	147.56
C _{5'}	113.60	111.94	113.62	111.92
C _{6'}	130.10	119.68	130.07	119.70
C ₄ -OMe	55.16	55.65	55.16	55.65
C _{1'}			99.94	99.97
C _{2'}			73.10	73.11
C _{3'}			76.46	76.46
C _{4'}			69.60	69.61
C _{5'}			77.19	77.20
C _{6'}			60.62	60.62

致谢: 核磁共振波谱测定由校医药分析中心乔良老师完成; 质谱测定由中科院化学所质谱室完成。

参考文献:

- [1] 宋纯清, 郑志仁, 刘 涤, 等. 膜荚黄芪中的异黄酮化合物 [J]. 植物学报, 1997, 39(8): 764-768.
- [2] 宋纯清, 郑志仁, 刘 涤, 等. 膜荚黄芪中的紫檀烷和异黄酮化合物 [J]. 植物学报, 1997, 39(12): 1169-1171.
- [3] Gui B, Nakamura M, Kinjo J, *et al.* Chemical constituents of *Astragali semen* [J]. Chem Pharm Bull, 1993, 41(1): 178-182.

广泛征购天然纯品化合物

DELTA(忒尔塔)天然有机化合物信息中心是一家专业从事天然纯品化合物的研究、开发、生产、销售、收购于一体的专门机构, 有着较强的技术实力和先进的技术水平, 有着广泛的世界渠道、经济实力和良好的信誉。为国内的科研院所、制药企业和世界各地的制药企业、研究机构提供天然来源的化学样品标准品和对照品, 以及植物提取物。

目前, 中心有 1 000 多种天然纯品化合物于世界各地, 是国内最大的天然纯品化合物交流中心。为进一步促进中国中药现代化事业的发展, 我中心决定成立 DELTA 天然有机化合物化学样品库, 广泛征购生物碱类、黄酮类、皂苷类、醌类、蒽类、木脂素类、内酯、香豆精、异香豆精、有机酸、色原酮类等天然纯品化合物, 每种化合物购买量在 50 mg~ 10 g, 请提供化合物的中英文名称、现货数量和价格, 另外我中心有大量的标准品对照品订单, 欢迎来函或通过电子邮件索取, 希望您能将可供化合物名单寄给我们, 谢谢!

地址: 安徽省宣州市环城北路 15 号 邮政编码: (Postcode): 242000 电子信箱: xcdelta@mail.ahwhpitt.net.cn

(Addr): 15, North Road Round City, Xuan Cheng Anhui, P. R. China

电话: 0086-563-2719448, 3010221 传真: 0086-563-3010221 移动电话: 013905630448 联系人: 刘建寨