

# 人参四逆汤抗休克作用的有效组成分分析

徐雅娟<sup>1\*</sup>, 宋凤瑞<sup>2</sup>, 赵洪峰<sup>1</sup>, 王 勇<sup>2</sup>, 司云珊<sup>1</sup>, 徐东铭<sup>1</sup>

(1. 吉林省中医中药研究院, 吉林 长春 130021; 2. 中国科学院长春应用化学研究所, 吉林 长春 130021)

**摘要:** 目的 分析人参四逆汤抗失血性休克作用的提取组分 S-1和 S-7的组成成分。方法 结合硅胶色谱柱分离, 利用 ESI/MS<sup>n</sup> MALDI-TOF/MS等技术分析鉴定 S-1和 S-7的化学成分。结果 从人参四逆汤水煎液的抗休克作用的有效组分 S-7中分析和鉴定了人参皂苷 -Ra<sub>1</sub>, -Ra<sub>2</sub>, -Rb<sub>1</sub>, -Rb<sub>2</sub>, -Rb<sub>3</sub>, -Rc, -Rd, -Re, -Rg<sub>1</sub>, -Rg<sub>2</sub>, -Rg<sub>3</sub>, -Rf 等 12种人参皂苷; 从有效组分 S-1中检出下列二萜生物碱成分: 苯甲酰次乌头碱油酸酯 (14-benzoylhypaconine-8-linoleate, HAL), 苯甲酰去氧乌头碱油酸酯 (14-benzoyldeoxyaconine-8-oleate, HAO), 苯甲酰次乌头碱棕榈酸酯 (14-benzoylhypaconine-8-palmitate, HAP), 苯甲酰乌头碱 (benzoylmesaconitine, BM), 苯甲酰乌头碱 (benzoylaconitine, BA), 苯甲酰次乌头碱 (benzoylhypaconitine, BH)。结论 首次分析鉴定了人参四逆汤水煎液抗失血性休克作用的提取组分的化学成分。

**关键词:** 人参四逆汤; 抗休克; 人参皂苷

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)05-0392-03

## Studies on antishock effect of active constituents in GINSENG SINI TANG<sup>3</sup>

XU Ya-juan<sup>1</sup>, SONG Feng-tui<sup>2</sup>, ZHAO Hong-feng<sup>1</sup>, WANG Yong<sup>2</sup>, SI Yun-shan<sup>1</sup>, XU Dong-ming<sup>1</sup>

(1. Jilin Academy of TCM, Changchun Jilin 130021, China; 2. Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Changchun Jilin 130021, China)

**Abstract Object** To study the chemical constituents of the extracts S-1 and S-7 in GINSENG SINI TANG, which has the effect of antihemorrhagic shock. **Methods** The constituents of S-1 and S-7 were isolated and purified by silica gel column chromatographic methods and analyzed by ESI/MS<sup>n</sup>, MALDI-TOF/MS. **Results** The 12 compounds were identified as ginsenosides -Ra<sub>1</sub>, -Ra<sub>2</sub>, -Rb<sub>1</sub>, -Rb<sub>2</sub>, -Rb<sub>3</sub>, -Rc, -Rd, -Re, -Rg<sub>1</sub>, -Rg<sub>2</sub>, -Rg<sub>3</sub>, -Rf from constituent S-7 in GINSENG SINI TANG. The six compounds of diterpenoid alkaloid were identified as 14-benzoylhypaconine-8-linoleate (HAL), 14-benzoyldeoxyaconine-8-oleate (HAO), 14-benzoylhypaconine-8-palmitate (HAP), benzoylmesaconitine (BM), benzoylaconitine (BA), benzoylhypaconitine (BH) from constituent S-1 in GINSENG SINI TANG. **Conclusion** All these compounds were obtained from GINSENG SINI TANG and identified for the first time.

**Key words** GINSENG SINI TANG; antishock; ginsenoside

\* GINSENG SINI TANG is Chinese herbal decoction with the function of recuperating depleted yang and rescuing the patient from collapse.

我们研究了人参四逆汤药效的物质基础, 曾报道人参四逆汤中甘草和干姜对附子双酯型生物碱水解的影响等论文<sup>[1]</sup>。我们又发现人参四逆汤的提取组分 S-1和 S-7能使失血性休克动物血压缓慢回升, 延长动物存活时间, 给药后动物存活时间达 6h 以上, 达到长期存活, 与盐水组比有明显差异, 人参四逆汤的提取组分 S-1和 S-7具有明显的抗失血性休克的作用。本实验结合硅胶色谱柱分离, 利用 ESI/MS<sup>n</sup> MALDI-TOF/MS等技术分析鉴定人参

四逆汤的提取组分 S-7和 S-1的化学成分的结果

### 1 试验部分

1.1 仪器与材料: LCQ电喷雾质谱仪(美国 Finnigan MAT公司), LDI-1700型激光解析飞行时间质谱仪(美国), 柱层析和薄层层析用硅胶 G(青岛海洋化工厂), 试剂均为分析纯。

红参 *Panax ginseng* C. A. Mey., 甘草 *Glycyrrhiza ulalensis* Fisch., 干姜 *Zingiber officinale* Rosc. 均购自长春市药材公司, 附子 *Aconitum*

\* 收稿日期: 2001-08-06  
基金项目: 国家攀登计划预选课题资助项目  
\* 通讯作者 Tel (0431) 5952241-5628

*carmichaeli* Debx. 购自四川省江油药材加工厂,经长春中医学院邓明鲁教授鉴定,均符合 2000年版《中华人民共和国药典》规定。

## 1.2 实验方法和结果

1.2.1 人参四逆汤水煎剂的制备: 根据人参四逆汤配方比例附子 干姜 甘草 红参 (10: 4.5: 6: 3), 分别取适量药材,加 10 倍量水浸泡 0.5 h,煎煮保持微沸 1 h,过滤,收集滤液,滤渣加 8 倍量水,煎煮保持微沸 1 h,过滤,收集滤液;滤渣加 6 倍量水,煎煮保持微沸 1 h,过滤,合并 3 次滤液,浓缩,得浓缩液 (1 g/mL)

1.2.2 抗休克作用有效组织 S-1 和 S-7 的提取和分离: 人参四逆汤水煎剂浓缩液用 65% 乙醇沉淀,滤过,回收乙醇,依次用乙醚和乙酸乙酯萃取,水层  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  调 pH= 10,分别依次用氯仿和乙酸乙酯萃取,水层盐酸调 pH= 6,用水饱和正丁醇萃取,各萃取液回收溶剂,得 S-1~ S-7 提取物。经药理实验 S-1 号和 S-7 号提取物具有明显的抗失血型休克作用。

1.2.3 S-1 号提取物的 ESI/MS<sup>n</sup>、MALDI-TOF/MS 分析: 人参四逆汤组方中的附子含有大量的生物碱,目前已分离鉴定出多种二萜生物碱和双酯型二萜生物碱,中国科学院长春应用化学所<sup>[2,3]</sup>利用质谱新技术 (MALDI-TOF/MS 和 ESI-MS/MS) 具有的分离、定性及灵敏等方面的优势,进行了附子提取物中生物碱组成、相对含量的分析和鉴定的研究,积累了附子二萜类生物碱鉴定的数据,建立快速、灵敏、可靠的分析方法,为人参四逆汤生物碱组分的分析鉴定,提供了基础。

在附子二萜生物碱和脂肪酸酯型二萜生物碱分析方法研究<sup>[1,2]</sup>的基础上,对人参四逆汤抗休克作用的有效组分 S-1 进行了 ESI/MS<sup>n</sup>、MALDI-TOF/MS 分析,根据 ESI/MS<sup>n</sup> 分析和多级串联技术 (MS<sup>n</sup>, n < 10) 提供的分子结构信息,分析结果如下: 有效组分 S-1 主要有下列二萜生物碱成分组成: 苯甲酰次乌头碱油酸酯 (14-benzoylhypaconine-8-linoleate, HAL)、苯甲酰去氧乌头碱油酸酯 (14-benzoyldeoxyaconine-8-oleate, HAO)、苯甲酰次乌头碱棕榈酸酯 (14-benzoylhypaconine-8-palmitate, HAP)、苯甲酰中乌头碱 (benzoylmesaconitine, BM)、苯甲酰乌头碱 (benzoylaconitine, BA)、苯甲酰次乌头碱 (benzoylhypaconitine, BH)。

1.2.4 抗休克作用的有效组分 S-7 的 ESI-MS<sup>n</sup> 和 LC/MS 质谱分析: S-7 具有明显的抗休克作用,直接利用 ESI-MS<sup>n</sup> 和 LC/MS 分析有一定的困难,经

硅胶干柱分离,分得 13-a~ h 等组分。采用 ESI-MS<sup>n</sup> 和 LC/MS 质谱分析技术,利用 ESI 可同时测定多个化合物的相对分子质量,并通过多级串联功能选择目标离子,进行多级碰撞,获得结构信息一次定性多个化合物。各组分含有成分的分析 and 鉴定的依据和结果如下:

13-a 由一级谱图可知,该组分中含有 Rb<sub>2</sub>, Rb<sub>3</sub>, Rc, 以及 Rd 和 Re。由 m/z 1 077 离子的二级质谱可知,1 077 离子即 [Rb<sub>2</sub>(Rb<sub>3</sub>, Rc) - H]<sup>+</sup> 分别失去 1 个葡萄糖, 2 个葡萄糖,生成 [Rb<sub>2</sub>(Rb<sub>3</sub>, Rc) - glc]<sup>+</sup> (m/z 945) 和 [Rb<sub>2</sub>(Rb<sub>3</sub>, Rc) - glc - glc]<sup>+</sup> (m/z 783), 由 m/z 945 离子的三级质谱可知,945 离子可失去 1 个葡萄糖或 2 个葡萄糖生成 783 和 621 两个离子,据此我们可推断 13-a 中含有 Rb<sub>2</sub>, Rb<sub>3</sub>, Rc。由 945 离子的二级质谱可知: 945 可产生 783, 621 两个碎片离子,分别是失去 1 个葡萄糖, 2 个葡萄糖得到的离子,据此可推断该离子是 Rd, Re 所产生的。同样方法可测定下列各组分的成分。分析结果表明 13-a 可检出: 人参皂苷 Rd (MW = 946), Re (MW = 946), Rb<sub>2</sub> (MW = 1 078), Rb<sub>3</sub> (MW = 1 078), Rc (MW = 1 078)。

13-b 该组分中未测定到人参皂苷成分,主要是多种寡糖。

13-c 由 m/z 1 077 离子的二级质谱可知,1 077 离子即 [Rb<sub>2</sub>(Rb<sub>3</sub>, Rc) - H]<sup>+</sup> 分别失去 1 个葡萄糖, 2 个葡萄糖,生成 [Rb<sub>2</sub>(Rb<sub>3</sub>, Rc) - glc]<sup>+</sup> (m/z 945) 和 [Rb<sub>2</sub>(Rb<sub>3</sub>, Rc) - glc - glc]<sup>+</sup> (m/z 783), 由 m/z 945 离子的三级质谱可知,945 离子可失去 1 个葡萄糖或 2 个葡萄糖生成 783 和 621 两个离子,据此我们可推断 13-c 中含有 Rb<sub>2</sub>, Rb<sub>3</sub>, Rc。由 945 离子 [Rd (Re) - H]<sup>+</sup> 的二级质谱可知: 945 可产生 783, 621 两个碎片离子,分别是失去 1 个葡萄糖, 2 个葡萄糖得到的离子,据此可推断该离子是 Rd, Re 所产生的。

分析结果表明 13-c 含有: 人参皂苷 Rd (MW = 946), Re (MW = 946), Rb<sub>2</sub> (MW = 1 078), Rb<sub>3</sub> (MW = 1 078), Rc (MW = 1 078), Rg<sub>2</sub> (MW = 784), Rf (MW = 800), Rg<sub>1</sub> (MW = 800), Rg<sub>3</sub> (MW = 800)。

13-d 对 13-d 我们进行了液质联机表征,结果发现,相对分子质量相同的两个 m/z 945 离子有不同的保留时间,表明是两种不同的物质,分别为 Re [m/z 799 离子是 945 离子失去 1 个鼠李糖 rha 而产生的] 和 Rd [m/z 783 离子是 945 离子失去 1 个葡萄糖 glc 而产生的]。m/z 1 077 表明 Rb<sub>3</sub>, Rc, Rb<sub>2</sub> 的

存在,但由于三者结构极其相似,流动相选取的局限性使得三种物质没有分开。 $m/z$  799离子及其进一步碎裂产生的失去 2个葡萄糖的离子  $m/z$  476 [ $R_f$  ( $R_{g^1}$ ,  $R_{g^3}$ ) -  $glc$  -  $glc$ ] 表明  $R_f$ ,  $R_{g^1}$ ,  $R_{g^3}$  的存在。

分析结果表明 13-d 含有人参皂苷  $R_d$  (MW = 946),  $R_e$  (MW = 946),  $R_{b_2}$  (MW = 1 078),  $R_{b_3}$  (MW = 1 078),  $R_c$  (MW = 1 078),  $R_{g^2}$  (MW = 784),  $R_{g^1}$  (MW = 800),  $R_{g^2}$  (MW = 784),  $R_{g^3}$  (MW = 800),  $R_f$  (MW = 800)。

13-e 由质谱结果可知,该组分中含有  $R_d$ ,  $R_e$ ,  $R_{b_3}$ ,  $R_{b_3}$ ,  $R_e$ ,  $R_{g^3}$ ,  $R_{a_1}$ ,  $R_{a_3}$ ,  $R_{b_1}$ ,  $m/z$  1 200 的二级质谱表明该离子可失去一个木糖产生 [ $R_{a_1}$  ( $R_a$ ) -  $xy$ ]。根据一、二级质谱结果及文献结果可知,该组分中含有  $R_{a_1}$ ,  $R_{a_2}$ 。其他离子的分析同前。分析结果表明 13-e 含有人参皂苷  $R_d$  (MW = 946),  $R_e$  (MW = 946),  $R_{b_2}$  (MW = 1 078),  $R_{b_3}$  (MW = 1 078),  $R_{b_1}$  (MW = 1 108),  $R_c$  (MW = 1 078),  $R_{a_1}$  (MW = 1 210),  $R_{a_2}$  (MW = 1 210),  $R_{g^2}$  (MW = 784)。

13-f 分析结果表明含有人参皂苷  $R_d$  (MW = 946),  $R_e$  (MW = 946),  $R_{b_2}$  (MW = 1 078),  $R_{b_3}$  (MW = 1 078),  $R_c$  (MW = 1 078),  $R_{g^2}$  (MW = 784),  $R_{a_1}$  (MW = 1 210),  $R_{a_2}$  (MW = 1 210),  $R_{b_1}$  (MW = 1 108)。离子的分析同前。

13-g 含有人参皂苷  $R_d$  (MW = 946),  $R_e$  (MW = 946),  $R_{b_2}$  (MW = 1 078),  $R_{b_3}$  (MW = 1 078),  $R_c$  (MW = 1 078),  $R_{a_2}$  (MW = 1 210),  $R_{b_1}$  (MW = 1 108),  $R_{g^2}$  (MW = 784),  $R_{a_1}$  (MW = 1 210)。离子的分析同前。

13-h 含有人参皂苷  $R_d$  (MW = 946),  $R_e$  (MW = 946),  $R_{b_2}$  (MW = 1 078),  $R_{b_3}$  (MW = 1 078),  $R_c$  (MW = 1 078)。离子的分析同前。

综上所述表明:人参四逆汤的抗休克作用的有效组分 S-7 主要有人参皂苷  $-R_{b_1}$ ,  $-R_{b_2}$ ,  $-R_{b_3}$ ,  $-R_c$ ,  $-R_d$ ,  $-R_e$ ,  $-R_{g^1}$ ,  $-R_{g^2}$ ,  $-R_{g^3}$ ,  $-R_f$ ,  $-R_{a_1}$ ,  $-R_{a_2}$  组成。

## 2 讨论

2.1 利用 ESI/MS<sup>n</sup>、MALDI-TOF/MS 等技术,从人参四逆汤煎液的抗休克作用的有效组分 S-7 中分析和鉴定了人参皂苷  $R_{a_1}$ ,  $R_{a_2}$ ,  $R_{b_1}$ ,  $R_{b_2}$ ,  $R_{b_3}$ ,  $R_c$ ,  $R_d$ ,  $R_e$ ,  $R_{g^1}$ ,  $R_{g^2}$ ,  $R_{g^3}$ ,  $R_f$  等 12 种人参皂苷。

2.2 利用 ESI/MS<sup>n</sup>、MALDI-TOF/MS 等技术,从人参四逆汤水煎液的抗休克作用的有效组分 S-1 中检出下列二萜生物碱成分: 苯甲酰次乌头碱油酸酯、苯甲酰次乌头碱油酸酯、苯甲酰次乌头碱棕榈酸酯、苯甲酰中乌头碱、苯甲酰乌头碱、苯甲酰次乌头碱。

2.3 利用 ESI/MS<sup>n</sup>、MALDI-TOF/MS 等技术,分析鉴定人参四逆汤水煎液提取组分的组成成分,方法简便、快捷、灵敏、准确。

## 参考文献:

- [1] 吕琳, 司云珊, 徐东铭, 等. 四逆汤中各药味对附子生物碱的影响 [J]. 中国中药杂志, 2000, 31(增刊): 79-80.
- [2] Sun W X, Song F G, Cui M, *et al.* Simultaneous determination of lipo-alkaloids extracted from *Aconitum carmichaeli* using electrospray Ionization Mass Spectrometry and Multiple Tandem Mass Spectrometry [J]. *Planta Medica*, 1999, 65: 432-435.
- [3] Sun W X, Liu X Y, Liu Z Q, *et al.* A study of aconitum alkaloids from aconite roots in *Aconitum carmichaeli* Delx using Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry [J]. *Rapid Communication Mass Spectrometry*, 1998, 12: 821-825.

# 矮大黄化学成分研究

康 晖<sup>1,2</sup>, 向 兰<sup>1</sup>, 范国强<sup>3</sup>, 李青山<sup>1,2\*</sup>, 王学臻<sup>4</sup>, 段豫萍<sup>3</sup>, 秦 晨<sup>3</sup>, 郑俊华<sup>1</sup>, 果德安<sup>1</sup>

(1. 北京大学药学院, 北京 100083; 2. 山西医科大学药学院, 山西 太原 030001; 3. 北京市中药科学研究所, 北京 100011; 4. 山东省沂南县人民医院, 山东 沂南 276300)

**摘要:** 目的 对矮大黄根及根茎的化学成分进行研究。方法 采用常压、减压硅胶柱层析、ODS反相硅胶柱层析、Sephadex LH-20凝胶柱层析进行分离,通过理化和波谱分析方法鉴定化合物结构。结果 从其石油醚、氯仿部分及正丁醇部分分离得到 14 个化合物,鉴定了其中 9 个化合物,分别为: 大黄酚 (chrysophanol, I)、大黄素甲醚 (physcion, II)、大黄素 (emodin, III)、正二十六烷酸 (*n*-hexacosmic acid, IV)、谷甾醇 (sitosterol, V)、谷甾醇葡萄糖苷 (sitosterol-3-O- $\beta$ -glucoside, VI)、葡萄糖 (glucose, VII)、大黄素-龙胆二糖苷 (emodin-gentiobioside, VIII) 和大黄酚-8-

\* 收稿日期: 2001-06-27

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39470849); 北京市科技新星项目 (952871500)

作者简介: 康 晖, 山西医科大学药学院药化专业 99 级在读硕士研究生, 与北京大学药学院生药学生物技术室联合培养研究生, 主要研究方向为天然产物化学成分及其活性研究。

\* 通讯作者