

地榆中皂苷类化合物分离、鉴定及其含量测定

曹爱民¹, 张东方¹, 沙明¹, 刘桂芳¹, 吴琳^{2*}

(1. 辽宁中医学院 中药系, 辽宁 沈阳 110032; 2. 大连美罗制药厂, 辽宁 大连 116025)

地榆为我国常用中药, 始载于《神农本草经》, 列为中品。“味苦, 微寒, 主妇人乳痃痛, 七伤, 带下病, 除恶肉, 止汗, 疗金疮”。具有凉血止血, 解毒敛疮之功效, 常用于治疗便血, 痔血, 血痢, 崩漏, 水火烫伤, 痈肿疮毒等。本文对地榆进行了提取分离工作, 在氯仿层、乙酸乙酯层先后分离得到5个单体化合物(I~V), 经理化和光谱鉴定, 化合物I为地榆苷II即 3β -O-阿拉伯糖基-19 α -羟基-乌索-12-烯-28-羧酸, 化合物II为 β -胡萝卜苷(β -daucosterol), 化合物III为 3β -O-阿拉伯糖基-乌索-12, 19-二烯-28- β -D-葡萄糖基酯, 化合物IV为地榆苷I即 3β -O-阿拉伯糖基-19 α -羟基-乌索-12-烯-28- β -D-葡萄糖基酯, 化合物V为没食子酸(gallic acid)。我们以地榆苷I为指标性成分用薄层扫描法对地榆进行了含量测定, 并做了方法学考察, 实验结果表明: 其回收率、精密性、稳定性等参数均良好, 可作为地榆药材的定量方法。

1 指标成分的分离

1.1 材料、仪器及试剂: 药材: 地榆采自千山, 经辽宁中医学院植物教研室王冰教授鉴定为地榆属地榆 *Sanguisorba officinalis* L.。仪器: 旋转蒸发器(上海申生科技有限公司), UV-265FW 紫外分光光度计, Bruker AM-500 核磁共振仪, MS 质谱谱仪。试剂: 柱色谱硅胶, 薄层色谱硅胶(均为青岛海洋化工厂, 化学纯), 吡啶为光谱纯, 其他各种试剂均为分析纯。

1.2 提取与分离: 取地榆根, 切片, 阴干, 粉碎, 过20目筛, 称取4.5 kg, 用95%乙醇浸泡24 h时, 用20倍量乙醇渗漉, 回收乙醇, 浓缩, 得浸膏1200 g, 质量体积比为1.23。用水混悬, 分别用氯仿、乙酸乙酯萃取, 分别得到浸膏82, 193 g。将乙酸乙酯部分用硅胶拌匀, 上硅胶柱, 以氯仿-甲醇梯度洗脱, 收集各流份, 以薄层色谱检定, 合并相同组份, 反复用甲醇、乙酸乙酯重结晶分别得到结晶I~V。

1.3 结构鉴定: 化合物I为白色粉末, Liebermann-Barchard 反应为紫红色, Molish 反应阳性, UV 在

202 nm 有末端吸收 FAB-MS (m/z): 622.4 ($M + NH_3$)⁺, 586.9, 454.9, 437.2, 391.3, 191.2, 用5% H₂SO₄ 水解后, 用PC层析检出阿拉伯糖。¹³CNMR (pyridine-D₅, δ): 107.54(G-1'), 72.74(G-2'), 74.67(G-3'), 69.55(G-4'), 63.75(G-5'), 表明该化合物中含有阿拉伯糖基。除此之外, 还有30个碳信号, 结合理化性质及光谱数据, 分子式为C₃₅H₅₆O₈, 计算不饱和度为8。根据¹³CNMR数据和化合物IV比较, 该化合物为化合物IV的次生苷, 综上, 化合物I为 3β -O-阿拉伯糖基-19 α -羟基-乌索-12-烯-28-羧酸。

化合物II为白色粉末, Liebermann-Barchard 反应为紫红色, Molish 反应阳性, 与胡萝卜苷对照品共薄层, R_f值相同, 酸水解, 所得的苷元R_f值与 β -谷甾醇的R_f值相同, 水解母液用PC能检出葡萄糖, 故确定化合物II为 β -胡萝卜苷。

化合物III为白色粉末, Liebermann-Barchard 反应为紫红色, Molish 反应阳性, UV 光谱在223 nm 有吸收, 说明该化合物也无共轭体系存在, 但此化合物IV有红移。FAB-MS (m/z): 766 ($M^+ + NH_3$), 587, 437, 243, 200.4, 经水解, 母液中可检出葡萄糖和阿拉伯糖。¹³CNMR (pyridine D₅, δ): 107.57(G-1'), 72.73(G-2'), 74.70(G-3'), 69.60(G-4'), 66.80(G-5'), 表明该化合物中含有阿拉伯糖基;¹³CNMR (pyridine D₅, δ): 95.89(G-1''), 74.11(G-2''), 79.30(G-3''), 71.29(G-4''), 78.97(G-5''), 62.40(G-6''), 表明该糖为 β -D-葡萄糖。除糖信号外, 还有30个碳信号, 结合MS谱数据, 推测分子式为C₄₁H₆₄O₁₂, 计算不饱和度为10。根据¹³CNMR数据和化合物IV比较, 二者非常相近, 二者主要差异是化合物III多2个烯碳信号134.83, 137.81, 结合化合物IV有19位羟基存在, 只能在19, 20位脱水形成双键, 根据理化反应及光谱数据, 分析该化合物为 3β -O-阿拉伯糖基-乌苏-12, 19-二烯-28-O-葡萄糖基酯。

化合物IV为无色针晶, Liebermann-Barchard 反

* 收稿日期: 2002-08-11

基金项目: 辽宁省教委资助课题(9807211071)

作者简介: 曹爱民, 女, 高级实验师, 现在辽宁中医学院中药系测试中心工作, 主要研究方向为中药质量评价研究。 Tel: (024) 86241606

应为红色, Molish 反应阳性, UV 有 202 nm 有末端吸收, 没有明显的紫外吸收, 可以推测该化合物无共轭体系, FAB-MS (m/z): 784.4 ($M + NH_3$)⁺, 604.8, 454.9, 437.0。用酸水解, 母液通过 PC 检出葡萄糖和阿拉伯糖。¹³CNMR (pyridine-D₅, δ)。107.35(G-1'), 72.97(G-2'), 74.67(G-3'), 69.56(G-4'), 66.77(G-5'), 表明该化合物中含有阿拉伯糖基¹³CNMR (pyridine-D₅, δ): 95.86(G-1''), 74.19(G-2''), 79.16(G-3''), 71.23(G-4''), 78.96(G-5''), 62.60(G-6''), 表明该糖为 β -D-葡萄糖, 可以看出该化合物为双糖苷, 一为 6 碳糖, 一为 5 碳糖。除此之外,

还有 30 个碳信号, 结合前文 Liebermann 反应阳性, 可推测该化合物为三萜皂苷类化合物, 结合质谱, 推测该化合物分子式为 C₄₁H₆₆O₁₃, 为三萜双糖苷。不饱和度为 9, 根据 C 谱数据, 推测该化合物为五环三萜双糖皂苷, 且苷元中有两个烯碳原子 (134.84, 138.77), 比较碳谱数据, 与报道中的地榆苷 I 非常相近^[1], 故确定该化合物为地榆苷 I, 即 3 β -O-阿拉伯糖基-19 α -羟基乌索-12-二烯-28- β -D-葡萄糖基酯。¹³CNMR 光谱数据见表 1。

化合物 V 为无色针晶, UV, ¹HNMR, ¹³CNMR 数据与文献对照^[2], 确定该化合物为没食子酸。

表 1 化合物 I, III, IV 的¹³CNMR 信号归属

Table 1 Signal ownership of compounds I, III, IV

碳号	IV	I	III	碳号	IV	I	III
1	39.64	39.59	39.60	23	28.33	28.27	28.32
2	26.77	28.27	26.80	24	15.73	15.56	16.33
3	88.87	88.81	88.71	25	16.98	16.93	17.05
4	40.62	40.39	39.80	26	17.48	17.22	18.18
5	56.01	55.91	56.10	27	24.67	24.73	23.90
6	18.77	16.68	18.94	28	177.10	180.68	174.74
7	33.57	33.56	34.65	29	26.19	26.70	26.70
8	40.62	40.40	39.50	30	16.79	16.81	16.81
9	47.82	47.75	47.38	Ara			
10	37.07	37.04	36.94	1'	107.57	107.54	107.55
11	24.14	24.73	22.16	2'	72.73	72.74	72.97
12	128.51	128.06	134.84	3'	74.70	74.67	74.67
13	139.54	139.97	138.77	4'	69.60	69.55	69.56
14	42.20	42.40	44.97	5'	66.80	66.75	66.77
15	29.32	29.35	29.11	Glc			
16	26.19	26.98	26.80	1''	95.89		95.86
17	48.71	48.33	48.32	2''	74.11		74.19
18	54.50	54.64	56.10	3''	79.30		79.16
19	72.73	72.73	137.81	4''	71.29		71.23
20	42.16	42.14	134.83	5''	78.97		78.96
21	27.13	27.19	36.87	6''	62.40		62.34
22	37.81	38.54	39.80				

2 含量测定

2.1 仪器与试剂: CS-930 薄层扫描仪(日本岛津), 上海必能信超声波清洗机; 无水甲醇、氯仿、乙酸乙酯均为分析纯。

2.2 色谱条件: 薄层板: 硅胶 G; 展开剂: 氯仿-乙酸乙酯-甲醇-水(15:40:22:10 下层)展开, 展距 9 cm; 显色剂: 10% 硫酸-无水乙醇, 105 °C 下烘至斑点清晰。

测定条件: $\lambda_s = 525 \text{ nm}$ $\lambda_R = 680 \text{ nm}$ $S_x = 3$ [X] = 14 反射式锯齿扫描。

2.3 线性范围考察: 对照品溶液的制备, 精密称取地榆苷 I 5.75 mg, 于 5 mL 的量瓶中, 用甲醇溶解, 并加甲醇至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。分别精密吸取对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10 μL , 点与同一硅胶 G 薄层板上, 按前述色谱条件, 展开, 显色定位, 测定以对照品

点样量为纵坐标, 以吸收度积分为横坐标, 绘制标准曲线, 经线性回归, 回归方程为: $Y = 6.22 \times 10^{-8} X - 1.97 \times 10^{-3}$, $r = 0.9969$ 。对照品地榆苷 I 点样量在 2.34~ 11.70 μg 线性关系良好。

2.4 同板精密度考察: 取地榆供试品溶液各 5 μL 点样 5 次于同一薄层板上, 以色谱条件项下处理, 用薄层扫描仪扫描, 计算峰面积积分值的 RSD 值, 为 0.847%。

2.5 稳定性试验考察: 取本品细粉 0.5 g, 精密称定, 置 50 mL 具塞锥形瓶中, 加无水甲醇 10 mL, 置超声波震荡器中提取 30 min, 放冷, 滤过, 滤液置 10 mL 量瓶中, 残渣用无水甲醇洗涤, 洗液并入同一量瓶中, 加无水甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为供试液, 精密吸取供试液, 按 0, 1, 2, 3, 4 h 时间间隔, 分别定样、展开、测定峰面积, 计算 RSD 值为 0.397%。

2.6 重现性考察试验:取 3 份同一产地样品,分别按正文[含量测定]项下方法操作,测定结果平均含量为 1.26%, RSD= 2.1%。

2.7 样品制备方法及数据:采用前文含量测定方法制备供试品溶液,对 29 批地榆药材饮片加以测定,含量测定结果见表 2。

3 结果与讨论

《中华人民共和国药典》中对地榆总鞣质含量进行了控制,但对单一的化学成分却没做要求,我们用薄层扫描法对地榆皂苷类化合物进行了定量研究。曾用 HPLC 法对地榆药材进行含量测定,但由于该类化合物的紫外吸收为末端吸收,稳定性较差,所以选择了薄层扫描法,结果表明,该方法各种参数稳定,具有可行性。

References:

- [1] Qin W G. Study on chemical composition of traditional Chinese drug [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1991, 22(11): 483-484.
- [2] Chen D C. *Manual of Chemical Control of Traditional Chi-*

表 2 含量测定结果

Table 2 Results of content determination

品种 来源		地榆苷 I / %	品种 来源		地榆苷 I / %
地榆	千山	0.68	长叶	南昌	1.49
	哈尔滨人民	1.42	地榆	上海	2.88
	辽源	1.33		杭州丽水	1.97
	沈阳天益堂	1.41		本溪	1.11
	哈尔滨	1.42		河南	—
	沈阳	1.05		南京	—
	北京中医药	1.68	粉花	凌源	0.86
	沈阳宁山药房	1.69	地榆	朝阳	0.79
翻白	北京同仁堂	1.39		沈阳友谊药房	2.04
叶	北京百草药业	1.76		秦皇岛	0.81
	沈阳人民药房	2.85		延吉	2.45
	北京金松鹤	2.97		延吉和龙	0.38
白花	上海雷允上	1.53		锦州	0.87
地榆	广州	2.54		承德	0.88
	陕西	1.37	均值		1.54

注:“—”表示无此斑点 Note:“—” indicates no such spot
nese Drug (中药化学对照品工作手册) [M]. Beijing: Chinese Medicinal Science and Technology Publishing House, 2000.

瑞香狼毒中的双黄酮类化合物

刘欣¹, 叶文才¹, 车镇涛², 赵守训^{1*}

(1. 中国药科大学天然药物化学教研室, 江苏南京 210009; 2. 香港中文大学中医学院, 香港)

瑞香狼毒 *Stellera chamaejasme* L. 又名断肠草, 为瑞香科狼毒属植物。广泛分布于我国西北、华北等地。该植物的根部应用历史悠久, 为中药“狼毒”的正品。始载《神农本草经》, 列为下品。其性味苦、平, 有大毒, 具逐水祛痰、破积杀虫之功效^[1]。谓“治咳逆上气, 破积聚, 饮食寒热水气, 恶疮鼠瘻疽蚀, 鬼精蛊毒, 杀飞鸟走兽”。有报道证实具有抗肿瘤作用, 以及抗菌、抗结核的作用^[2,3]。近年来国内外对其化学成分的研究报道较多, 该植物主要含有双黄酮、木脂素、香豆素、二萜等成分, 其中狼毒属特有的 G-3/3'' 双二氢黄酮和瑞香烷型二萜具有较强的抗肿瘤作用^[4-7]。为了寻找瑞香狼毒的抗肿瘤有效成分, 我们对产于我国青海省的瑞香狼毒药材进行了系统的分离工作。

从瑞香狼毒的根中分离得到多个双黄酮类化合物, 经理化和光谱分析方法分别鉴定为芫花素乙

(wiktrol B, I)、二氢瑞香素乙(dihydrodaphnodorin B, II)、瑞香素乙(daphnodorin B, III)、新狼毒素甲(neochamaejasmin A, IV)、异狼毒素(isochamaejasmin, V)、新狼毒素乙(neochamaejasmin B, VI)。化合物 I ~ II 曾从同科的莨菪属、瑞香属植物中分离得到, 从狼毒属植物中发现其存在, 具有化学分类学意义。化合物 II 和 III 为首次从该属植物中分得。

1 仪器与材料

NMR 用 JEOL JNM-EX 400 测定; 柱层析使用 ODS(10~ 40 μm, Merck), Sephadex LH-20, D101 大孔吸附树脂(天津农药厂)和硅胶(200~ 300 目); 薄层色谱用硅胶 60 F₂₅₄和 RP-18 F₂₅₄(Merck); 化学试剂均为分析纯。

所用瑞香狼毒 *S. chamaejasme* L. 药材根采自青海省, 经青海省药检所中药室宗玉英主任药师鉴定, 模式标本存放在中国药科大学标本馆。

* 收稿日期: 2002-08-26

作者简介: 刘欣, 男, 2002 年于中国药科大学天然药化专业毕业, 获博士学位, 现在中国科学院上海有机化学研究所进行博士后研究。

* 通讯作者