

1.3 挥发油成分分析: 狭叶海桐根挥发油的分析在 HP6890/HP5973 GC/MS (美国惠普公司) 气相色谱/质谱联用仪上进行。气相色谱条件: 色谱柱为 HP-55% Phenyl Methyl Siloxane 弹性石英毛细管柱 (30 m × 320 μm × 0.25 μm); 升温程序为: 60 (1 min)  $\xrightarrow{4 \text{ } ^\circ\text{C}/\text{min}}$  220  $\xrightarrow{8 \text{ } ^\circ\text{C}/\text{min}}$  280, 然后保持至完成分析; 气化室温度为 250, 载气为高纯 He (99.999%)。柱前压为 51.98 kPa; 载气流量为 2.0 mL/min; 进样量为 1 μL (用乙醚将狭叶海桐根部挥发油稀释)。分流比为 40:1。质谱条件是: 离子源 EI 源; 离子源温度 230; 四级杆温度 150; 电子能量: 70 eV; 发射电流 34.6 μA; 倍增器电压 1706 V; 接口温度 280; 溶剂延迟 3 min; 质量范围: 10~550 amu ( $m/z$ )。

## 2 结果与讨论

用水蒸气蒸馏法提取狭叶海桐根挥发油, 得率为 0.09%。采用 GC/MS 法对狭叶海桐根部挥发油化学成分进行分析, 通过 HPM SD 化学工作站检索 Nist 98 标准质谱图库和 WILEY 质谱图库, 并结合有关文献人工图谱解析鉴定, 峰面积相对含量分析是通过 HPM SD 化学工作站数据处理系统, 按峰面积归一化法进行。从中共鉴定出 24 种成分(表 1), 已鉴定成分的总量约占全油的 90.08%。从分析结果可以看出, 狭叶海桐根挥发油化学成分含脂肪酸类化合物最高, 其总量为 70.57%。其中的含量最高的是软脂酸 (17.75%), 其他依次为亚油酸

16.31%, 十四烷酸 9.64%, 油酸 8.67%, 还含有 Falcariol (Z)-(-)-1, 9-heptadecadiene-4, 6-diyne-3-ol (含量为 21.5%), 醛类化合物及少量的萜类。通过对狭叶海桐有效成分的分析鉴定及含量的测定, 对开发和综合利用狭叶海桐等方面提供了科学依据。

表 1 狭叶海桐根挥发油成分分析

Table 1 Chemical constituents in essential oil of *P. glabratum* var. *neriifolium*

序号	化合物	体积分 数/%	序号	化合物	体积分 数/%
1	E-辛烯-2-醛	0.36	22	十二(烷)酸	14.82
2	n-十一烷	1.44	23	十四醛	5.00
3	n-壬醛	0.28	24	十三(烷)酸	0.67
6	2,4-壬儿烯醛	0.15	26	肉豆蔻酸	9.64
9	十三烷	0.18	27	乙酸月桂酸	0.34
10	n-十一醛	0.32	28	新植二烯	1.12
11	2,4-癸二烯醛	1.72	29	十五(烷)酸	0.59
14	十二醛	7.47	31	软脂酸	17.75
16	马兜铃烯	0.67	32	十七(烷)酸	0.19
17	白茴油萜	0.49	34	亚油酸	16.31
18	十一(烷)酸	0.52	35	油酸	8.67
20	十四碳烯	0.31	36	硬脂酸	1.12

## References:

[1] Editorial Board of China Herbal, State Administration of Traditional Chinese Medicine, China. *China Herbal* (中华本草) [M]. Vol 1. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1999.

[2] Editorial Office of National Chinese Herbal Medicine Collection. *Collection of National Chinese Herbal Medicine* (全国中草药汇编) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1996.

# 纤花耳草化学成分的分离与鉴定

袁青梅<sup>1</sup>, 杨红卫<sup>3</sup>, 赵静峰<sup>2</sup>, 郑保忠<sup>1</sup>, 李 良<sup>2\*</sup>

(1. 云南大学 材料科学与工程系, 云南 昆明 650091; 2. 云南大学药学院, 云南 昆明 650091; 3. 昆明陆军学院, 云南 昆明 650207)

茜草科耳草属 *Hedyotis* Linn. 植物总共有 420 种, 我国有 60 多种(包括变种及变型), 我国云南、广西、福建、浙江、台湾等地均有生长, 其中有 20 多种药用, 主要用于治疗肝炎、肾炎、痢疾、腹泻、毒蛇咬伤和癌肿等症<sup>[1]</sup>。但对该属植物化学成分的研究仍不很充分, 特别是云南产耳草属植物化学成分的研究还没有报道, 而且云南具有较好的资源优势, 大约

有 30% 的种集中分布于云南, 药用植物中部分很有地方药用特色<sup>[2]</sup>。云南产纤花耳草(又名虾子草)在民间使用比较混乱, 主要用于治疗肿瘤, 清热解毒, 散瘀消肿等<sup>[2]</sup>。本文报道从石屏产的纤花耳草 *H. tenelliflora* Bl. 全草中, 分离到的 8 个化合物: 车叶草酸 (asperulosidic acid, I)、5, 7, 4-三羟基黄酮醇-3-O-葡萄糖苷 (5, 7, 4-trihydroxy-flavonol-3-O-

\* 收稿日期: 2003-11-21  
基金项目: 云南省教委基金资助项目; 云南省中青年学术和技术带头人培养经费资助

glycoside, II)、 $\beta$ 胡萝卜素 ( $\beta$ sitosterol glycoside, III)、15-丙基-三十二烷烃 (15-propyl-dotriacontane, IV)、麦角甾醇 (ergosterol, V)、正三十二碳酸 (dotriacontanoic acid, VI)、豆甾醇 (stigmasterol, VII)、熊果酸 (ursolic acid, VIII)。所有化合物均为首次从该植物中分得, 其中化合物 I ~ V 为首次从该属植物中得到。

### 1 仪器与试剂

熔点由 XRC-1 显微熔点测定仪测定。旋光在 SEPA-300 仪器上测定。红外光谱由 IR-408 (岛津) 仪测定。 $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  在 Bruker AM-400 仪上测定, 二维核磁在 DRX-500 仪上测定。质谱在 VG Auto Spec 300 仪上测定。薄层色谱硅胶板为青岛海洋化工厂的 GF 254 高效板。柱色谱硅胶为青岛海洋化工厂 100~200 目硅胶。大孔树脂 D-101 为天津试剂二厂产品。其余试剂溶剂为分析纯或化学纯。纤花耳草 *H. tenelliflora* Bl. 采自云南省石屏县, 由云南大学生物系鉴定。

### 2 提取与分离

纤花耳草全草粉末 5.3 kg, 95% 乙醇渗漉, 浓缩, 得粗提浸膏。将粗提物分散于水中, 除掉水不溶物。先用乙醚萃取得乙醚提取物 (A) 30 g, 再用醋酸乙酯萃取得醋酸乙酯提取物 (B) 11 g, 最后用正丁醇萃取得正丁醇提取物 (C) 190 g。将上述 3 个部分分别用大孔树脂处理, 并进行反复硅胶柱色谱分离, 以石油醚-醋酸乙酯、石油醚-乙醚、乙醚-丙酮、氯仿-甲醇等溶剂体系进行梯度洗脱。从 A 中得到化合物 IV~VII; 从 B 中得到化合物 III、VIII; 从 C 中得到化合物 I、II。

### 3 鉴定

化合物 I: 白色粉末,  $[\alpha]_D^{25} + 22$  (c, 0.056, MeOH)。茴香醛-硫酸试剂显蓝色。酸水解薄层检视, 所含糖为葡萄糖。ES<sup>+</sup>MS  $m/z$  (%): 455 (M + Na<sup>+</sup>, 100), ES<sup>-</sup>MS  $m/z$  (%): 431 (M<sup>-</sup>, 100), 467 (M + Cl<sup>-</sup>, 45), 确定相对分子质量为 432, 结合  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  (DEPT) 得出分子式为  $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_{12}$ , 在  $^1\text{H-NMR}$  中,  $\delta$  7.65 (d,  $J = 1.3$  Hz) 和  $\delta$  6.01 (d,  $J = 1.3$  Hz) 可能为双键质子峰。 $^{13}\text{C-NMR}$  (DEPT) 谱中有 2 个季碳为  $\delta$  145.9、108.2, 有 2 个较低场 CH 为  $\delta$  155.4、131.9, 2 个较高场 CH 为  $\delta$  46.2、42.4, 2 个羰基峰为  $\delta$  170.6、172.5,  $\delta$  20.8 处有一个 Ac 上的 CH<sub>3</sub> 的峰, 从以上波谱数据初步推断为环烯醚萜类化合物, 特别是  $^1\text{H-NMR}$  中  $\delta$  7.65 和  $^{13}\text{C-NMR}$  中  $\delta$  155.4 是典型的

环烯醚萜类 3 位上的波谱数据, 查相关文献发现其与车叶草酸的  $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$  数据一致 (表 1)<sup>[3]</sup>, 因此推断为车叶草酸。

表 1 化合物 I 的  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  光谱数据

Table 1  $^1\text{H-NMR}$  and  $^{13}\text{C-NMR}$  spectral data of compound I

$\delta_c$	$\delta_H$		$\delta_c$	$\delta_H$
1 101.2	5.05 (d, 9.0 Hz)	11	170.6	
3 155.4	7.65 (d, 1.3 Hz)	Ac(C=O)	172.5	
4 10.2		Ac(Me)	20.8	2.08 (s)
5 42.4	3.01 (br, t)	Glu-1	100.5	4.71 (d, 7.9 Hz)
6 77.8	4.81 (m)	Glu-3	78.5	75.6
7 131.9	6.01 (d, 1.3 Hz)	Glu-2	74.9	3.17- 3.28 (m)
8 145.9		Glu-4	71.5	
9 46.2	2.66 (t, 8.2 Hz)	Glu-5	75.3	
10 63.8	4.92 (d, 15.5 Hz)	Glu-6	63.0	3.71 (dd, 1.9, 12.4 Hz)
	4.78 (d, 16.4 Hz)			3.52 (dd, 5.7, 12.4 Hz)

化合物 II: 黄色粉末, mp 306~308, EIMS,  $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$  数据与 5, 7, 4-三羟基黄酮醇-3-O-葡萄糖苷的文献值<sup>[4]</sup>一致。

化合物 III: 白色粉末 (MeOH), mp 302~305, 鉴定为  $\beta$ 胡萝卜素, 且 mp 及 Rf 值与对照品对照一致。

化合物 IV: 白色油状物, 分子式  $\text{C}_{33}\text{H}_{72}$ , IR  $\frac{\text{KB}^{\text{r}}}{\text{minax}}$   $\text{cm}^{-1}$  中 2923.6~2845.2 为甲基、亚甲基、次甲基的  $\nu_{\text{C-H}}$  吸收, 1463.0 为甲基、亚甲基的  $\delta_{\text{C-H}}$  吸收, 1377.4 为甲基的  $\delta_{\text{C-H}}$  吸收, 722.1 为  $-(\text{CH}_2)_n-$  的  $\nu_{\text{C-H}}$  吸收, 由此可看出该化合物为一长链烷烃。EIMS 中主要峰都相差 14 amu, 即相差一个次甲基, 得到一系列奇数质量偶数电子的离子:  $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}^+$  和一系列在裂解过程中形成的双键或 3 脂环的偶数质量奇数电子的离子:  $\text{C}_n\text{H}_{2n}^+$ 。57 (基数), 492 (M<sup>+</sup>, 1%), 谱中 294 和 253 丰度增加, 294 为 295 的重排峰。 $^{13}\text{C-NMR}$  (DEPT CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  14.30 (2CH<sub>3</sub>), 19.89 (1CH<sub>3</sub>), 22.84 (2CH<sub>2</sub>), 24.76 (1CH<sub>2</sub>), 29.71 (nCH<sub>2</sub>), 32.25 (2CH<sub>2</sub>), 33.73 (1CH), 37.42 (1CH<sub>2</sub>)。由以上信息推断为 15-丙基-三十二烷烃。

化合物 V: 白色针状晶体, mp 154~156, 根据光谱数据确定为麦角甾醇, 且 mp 及 Rf 值与对照品对照一致。

化合物 VI: 白色颗粒晶体, mp 82~84, 分子式  $\text{C}_{32}\text{H}_{64}\text{O}_{20}$ 。以上理化与 IR、 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$  光谱数据与三十二碳酸文献对照一致<sup>[5]</sup>。

化合物 VII: 白色针状晶体, mp 168~170, 根据 IR、EIMS、 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$  光谱数据鉴定为豆甾醇, 且 Rf 值与对照品对照一致。

(下转第 985 页)

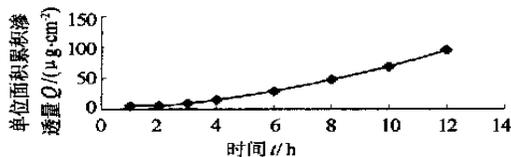


图 2 4% 聚山梨酯-80 对全缘千里光碱的渗透作用

Fig. 2 Effect of 4% Tween-80 on permeation of integerrin in

0.998 1,  $J_s = 11.85 \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ ,  $P = 7.49 \times 10^{-3} \text{ cm/h}$ , ER = 0.63.

与单纯过饱和溶液比较, 4% 聚山梨酯-80 对 NT 的渗透表现出阻碍作用, 使  $P$  减小。

3.3.3 8% 丙二醇的影响<sup>[3]</sup>: 以 8% 丙二醇与上述试验同质量浓度的过饱和溶液为释放液 ( $n = 3$ ), 以 pH 6.8 PBS 为接收液, 进行渗透试验, 并于不同时间点取样进行 HPLC 测定。结果见图 3。

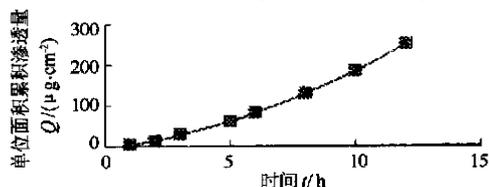


图 3 8% 丙二醇对全缘千里光碱的渗透作用

Fig. 3 Effect of 8% propylene glycol on permeation of integerrin in

渗透动力学方程:  $Q = -110.62 + 29.78t$ ,  $r = 0.998 7$ ,  $J_s = 29.78 \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ ,  $P = 1.738 \times 10^{-2} \text{ cm/h}$ , ER = 1.5。从上述数据可得出 8% 丙二醇对 NT 的渗透表现为促进作用, 能使渗透系数增加。

#### 4 讨论

4.1 经测得全缘千里光碱在水中的溶解度为  $(1.497 2 \pm 0.082 0) \text{ mg/mL}$ , 表明作为一种脂溶性药物, 它仍具有一定的水溶性, 这种性质有利于对皮肤角质层的渗透。其适中的油水分配系数 6.39 也有利于皮肤给药<sup>[4]</sup>。

4.2 不同促进剂对药物的促透作用的考察是制备皮肤给药的剂型的处方前工作。本研究考察了 2%、5%、8% 氮酮对全缘千里光碱经皮肤渗透的促进作用, 发现不同体积分数的氮酮对它均有促透作用, 其 ER 分别为 2.8、2.2、3.3, 氮酮对全缘千里光碱促透作用与体积分数的关系有待进一步研究。

聚山梨酯-80 (Tween-80) 常被用来作为难溶性药物的增溶剂, 本研究考察了 4% 聚山梨酯-80 对全缘千里光碱过饱和溶液的渗透系数是其原来的 0.63 倍, 表明 4% 聚山梨酯-80 对它的渗透起阻碍作用。主要原因可能是聚山梨酯-80 作为非离子型无刺激性的表面活性剂, 是一种张力活性剂, 它可通过增加药物在赋形剂中的溶解度, 从而降低角质层/赋形剂的分配系数和渗透系数<sup>[5]</sup>。丙二醇常作为难溶性药物的溶剂, 同时又是应用较广泛的渗透促进剂。实验证明, 8% 丙二醇对全缘千里光碱的增透比为 1.5。

4.3 通过对全缘千里光碱体外透皮特性的研究, 证实了它对皮肤具一定的渗透性, 表明全缘千里光碱适合制备成透皮给药的新制剂, 并可据此实验优化其透皮给药新制剂的处方。

#### References:

- [1] Yu C F. Study on bioactivity and pharmaceutical effect of pyrrolizidine alkaloids [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 1989, 24(10): 585-587.
- [2] Zhen J M. *New Dosage Form of Transdermal Drug Delivery System* (经皮给药新剂型) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1997.
- [3] Luo M S, Gao T H. *Complete Collection of Pharmaceutical Excipients* (药剂辅料大全) [M]. Chengdu: Sichuan Science and Technology Publishing House, 1995.
- [4] Liang P W. *Percutaneous Drug Delivery System* (经皮给药新剂型) [M]. Beijing: China Medical-Pharmaceutical Science and Technology Publishing House, 1996.
- [5] Zhong J F. *Application of Surfactants to Pharmaceutical Science* (表面活性剂在药理学中的应用) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1999.

(上接第 982 页)

化合物 VIII: 白色粉末 (MeOH), mp 286~291, 根据 IR、EIMS、<sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR 数据确定为熊果酸。

#### References:

- [1] Editorial Office of National Chinese Herbal Medicine Collection. *Collection of National Chinese Herbal Medicine* (全国中草药汇编) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1975.
- [2] Delectis Florae Republicae Popularis Sinicae, Agendae Academiae Sinicae Edita. *Flora Republicae Popularis Sinicae*

(中国植物志) [M]. Tomus 71. Beijing: Science Press, 1999.

- [3] Peng J N, Feng X Z, Li C Y, et al. Chemical investigation of genus *Hedyotis* II. Isolation and identification of iridoids from *Hedyotis chrysotricha* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1997, 32(12): 908-913.
- [4] Yu D Q, Yang J S. *Handbook of Analytical Chemistry Book* (分析化学手册, 第七分册) [M]. 2nd ed. Beijing: Chemical Industry Press, 1999.
- [5] Heller S R, Milne G W A. *EPA/NIH Mass Spectral Database* [M]. Washington: Government Printing Office, 1978.