

四妙勇安汤乙醇提取物中化学成分的分离研究

王新为, 张建烽, 蒋建勤

(中国药科大学 天然药物化学教研室, 江苏 南京 210038)

四妙勇安汤为解毒活血的代表方剂, 原载于鲍相璈所著《验方新编》, 以金银花、玄参、当归及生甘草组方, 具有清热解毒、活血止痛之效。现代临床主要应用于血栓闭塞性脉管炎、血栓性静脉炎(脱疽症)的治疗, 疗效颇佳。并且随着其化学成分和药理研究的日趋深入, 其临床应用也日益广泛。汤剂药效的物质基础是其所含的化学成分, 但是由于汤剂化学成分复杂性和不稳定性, 对其复方化学成分的研究几乎是一片空白。本研究运用天然药物化学的分离精制及波谱鉴定方法, 对四妙勇安汤的化学成分进行了分离和鉴定, 为四妙勇安汤的深入研究打下了物质基础。

材料与仪器

金银花、玄参、当归及生甘草购自南京市药材公司, 品种经王小明药剂师鉴定为金银花 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾、玄参 *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. 的干燥根、当归 *Angelicae sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根及生甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fish. 的干燥根。

实验用硅胶、硅胶 H、薄层色谱用硅胶 G、G₂₅₄ 均由青岛海洋化工厂生产; 高效薄层预制板为烟台市化学工业研究所烟台化工科技开发实验室生产; 聚酰胺为上海化学试剂公司生产。

熔点测定使用 XT4 双目镜视显微熔点仪测定; 红外光谱用 Nicolet Impact 410 型红外光谱仪测定 (KBr 压片); 核磁共振用 Bruker ACF-300 和 Bruker DR-500 型核磁共振仪测定, CDCl₃、DMSO 为溶剂, TMS 为内标; ESI-MS 质谱用 LC/MSD Trap 1100 型质谱仪测定, EI-MS 质谱用 VG ZAB-HS 型质谱仪测定。

2 汤剂的制备及化合物的分离精制

采用《验方新编》记载的配方, 金银花、玄参、当归及生甘草(用量分别为 2、2、1、0.67 kg), 用 4 倍量体积的 70% 乙醇溶液加热提取 3 次, 3 h/次。滤过, 合并。滤液回收乙醇得浸膏 2 kg。浸膏溶解于 3 000

mL 蒸馏水中, 用聚酰胺(30 目)进行柱色谱分离, 水-乙醇系统洗脱得水部分、50% 乙醇部分和 90% 乙醇部分。

各部分上减活硅胶柱(加水 10%), 以氯仿-甲醇系统反复梯度洗脱, TLC 检查, 相近色点合并, 得化合物 I ~ XI。

3 结构鉴定

化合物 I: 白色粉末, mp 205~208 °C。HCl-Mg 反应红色。将其与甘草苷的 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据对照, 两者化学位移基本一致^[1], 故将化合物 I 定为甘草苷。

化合物 II: 白色粉末, mp 202~204 °C。HCl-Mg 反应红色。将其与甘草素的 ¹H-NMR 数据^[2]对照, 两者化学位移基本一致, 故将化合物 II 定为甘草素。

化合物 III: 黄色针晶, mp 316~318 °C。HCl-Mg 反应红色, 喷 AlCl₃ 试剂后, 在紫外灯下, 呈黄绿色荧光。将其与槲皮素的 ¹H-NMR^[2]和 ¹³C-NMR^[3]数据对照, 两者化学位移基本一致, 故将化合物 III 定为槲皮素。

化合物 IV: 黄色粉末, mp 270~273 °C。HCl-Mg 反应红色, 喷 AlCl₃ 试剂后, 在紫外灯下, 呈黄绿色荧光。IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 446 (OH), 1 649 (CO), 1 610, 1 498, 1 448 (Ar)。¹H-NMR (DMSO-D₆) δ : 6.94 (1H, s, H-3), 6.23 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-6), 6.52 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 8.05~8.07 (2H, m, H₂-2', 6'), 7.56~7.63 (3H, m, H₃-3', 4', 5'); ¹³C-NMR (DMSO-D₆) δ : 163.28 (C-2), 105.30 (C-3), 181.92 (C-4), 157.56 (C-5), 99.12 (C-6), 164.52 (C-7), 94.20 (C-8), 161.57 (C-9), 104.08 (C-10), 130.84 (C-1'), 126.47 (C-2', 6'), 129.19 (C-3', 5'), 132.03 (C-4')。将其与白杨素的 ¹H-NMR^[4]和 ¹³C-NMR^[3]数据对照, 两者化学位移基本一致, 故将化合物 IV 定为白杨素。

化合物 V: 黄色粉末, mp 250 °C~253 °C。HCl-Mg 反应红色。IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 413 (OH), 1 660

(CO), 1 600, 1 496, 1 448(Ar)。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 6.44(1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6), 6.80(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 7.41(1H, d, $J=2.6$ Hz, H-2'), 6.90(1H, d, $J=8.3$ Hz, H-5'), 7.44(1H, dd, $J=8.3, 2.2$ Hz, H-6'), 5.07(1H, d, $J=7.5$ Hz, H-1''), 3.30~3.70 [(2''-6'')-H₆]: $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- D_6) δ : 164.59(C-2), 103.29(C-3), 181.96(C-4), 161.57(C-5), 99.68(C-6), 163.07(C-7), 94.86(C-8), 157.47(C-9), 105.46(C-10), 121.52(C-1'), 113.29(C-2'), 145.89(C-3'), 150.04(C-4'), 116.09(C-5'), 119.25(C-6'), 100.11(C-1''), 73.26(C-2''), 77.29(C-3''), 69.75(C-4''), 76.54(C-5''), 60.79(C-6'')。将其与木犀草素-7-O- α -D-葡萄糖苷的 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据^[5]对照, 两者化学位移相近, 但本化合物葡萄糖端基H的偶合常数为7.5 Hz与文献 α -D-葡萄糖加以区别, 故将化合物V定为木犀草素-7-O- β -D-葡萄糖苷。

化合物VI: 白色粉末, mp 210~212℃。将其与芒柄花苷的 $^1\text{H-NMR}$ ^[1,6]和谱^[1,6]数据对照, 两者化学位移基本一致, 故将化合物VI定为芒柄花苷。

化合物VII: 白色粉末, mp 330~332℃。喷浓硫酸-香草醛试剂呈紫红色。将其与甘草次酸的 $^1\text{H-NMR}$ ^[7]和 $^{13}\text{C-NMR}$ ^[8]数据对照, 两者化学位移基本一致, 故将化合物VII定为甘草次酸。

化合物VIII: 白色粉末, mp 207~209℃。将其与绿原酸的 $^1\text{H-NMR}$ ^[9]数据对照, 两者化学位移基本一致, 故将化合物VIII定为绿原酸。

化合物IX: 无色针晶, mp 170~172℃, 在UV 365 nm下呈蓝色荧光。将其与阿魏酸的 $^1\text{H-NMR}$ 数据^[9]对照, 两者化学位移基本一致, 故将化合物IX定为阿魏酸。

化合物X: 无色晶体, mp 133~134℃。在UV 365 nm下呈蓝色荧光。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3 413(OH),

1 654(CO), 1 602, 1 517, 1 469(Ar)。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 6.46(1H, d, $J=15.9$ Hz, H-2), 7.79(1H, d, $J=15.9$ Hz, H-3), 7.54~7.56(2H, m, H₂-2', 6'), 7.39~7.42(3H, m, H₃-3', 4', 5')。故将化合物X定为肉桂酸。

化合物XI: 无色针晶, mp 140~142℃。与 β -谷甾醇对照品TLC对照, R_f值及显色行为一致, 且混合斑点为一个点; 将其与 β -谷甾醇对照品混合后测熔点, 混合熔点不下降; IR图谱与 β -谷甾醇标准图谱对照基本一致, 故将化合物XI定为 β -谷甾醇。

化合物XII: 白色粉末, mp 280~281℃。与胡萝卜苷对照品TLC对照, R_f值及显色行为一致, 且混合斑点为一个点; 将其与胡萝卜苷对照品混合后测熔点, 混合熔点不下降; IR图谱与胡萝卜苷标准图谱对照基本一致, 故将化合物XII定为胡萝卜苷。

References:

- [1] Nakanishi T, Inada A, Kambayashi K, et al. Flavonoid glucosides of the roots of *Glycyrrhiza uralensis* [J]. *Phytochemistry*, 1985, 24(2): 339-341.
- [2] Jia S S, Liu D, Zheng X P, et al. Two new isoprenyl flavonoids from the leaves of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1993, 28(1): 28-31.
- [3] Information Center of Chinese Herbal Medicine, State Pharmaceutical Administration of China. *Handbook of Active Constituents in Phytomedicine* (植物药有效成分手册) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1986.
- [4] Liu M L, Li M L. Studies on the flavonoids of *Likiang Skullcap* (*Scutellaria likiangensis*) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1988, 19(2): 2-4.
- [5] Gao Y M, Wang M Z, Wang J P, et al. Studies on the chemical constituents of Japanese honeysuckle (*Lonicera Japonica*) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1995, 26(11): 568-569.
- [6] Yang S L, Liu Y. Chemical constituents of *Glycyrrhiza in Flata Bat* [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1988, 30(2): 176-182.
- [7] Sadtler Standard NMR Spectra [S]. 33618M, 1970.
- [8] Sadtler Standard Carbon-13NMR Spectra [S]. 7095C, 1970.
- [9] Ling Y, Zhang Y L, Cai S, et al. Studies on chemical constituents of *Taraxacum sinicum* Kitag [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1998, 23, (4): 232-233.

美国 ALPHA 实验室认可
美中国际合作中国企业

葡萄籽提取物

(原花青素 $\geq 95\%$)

专业生产厂家

电话: 0086-022-25293102; 25295475

传真: 0086-022-25293103

网址: <http://www.jf-natural.com>

Tianjin Jianfeng Natural Product R & D Co., Ltd

天津尖峰天然产物公司

天津经济技术开发区第十二大街