

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,每个浓度3个复孔,对照组的浓度分别为0.1和1 $\mu\text{mol/L}$

以 t 检验计算统计学意义,与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

Results were expressed as $\bar{x} \pm s$ from triplicate determinations, concentration of control group are 0.1 and 1 $\mu\text{mol/L}$

Statistical significance was determined by Student's test. * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

图3 化合物I~V对UMR106细胞碱性磷酸酶活性的影响

Fig.3 Effects of compound I-V on UMR106 cell ALP activity

参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2001.
- [2] 安胜军. 补肾方药对绝经后妇女卵巢功能和骨密度的影响 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2000, 2: 55-59.
- [3] Wu H, Lien E J, Lien L L. 2003 Chemical and pharmacological investigations of *Epimedium* species; a survey [J]. *Prog Drug Res*, 2003, 6: 1-57.
- [4] 李芳芳, 宋士军, 李建平, 等. 淫羊藿对成骨细胞增殖分化的影响 [J]. 中国骨质疏松杂志, 1999, 5(2): 70.
- [5] 林新, 李文魁, 肖培根. 淫羊藿的研究新进展 [J]. 中国药杂志, 1997, 32(8): 449-452.
- [6] Sun P Y, Chen Y J, Shimizu N, et al. Studies on the constituents of *Epimedium koreanum* III [J]. *Chem Pharm Bull*, 1998, 46(2): 355-358.
- [7] 孙朋悦, 徐颖, 陈英杰. 朝鲜淫羊藿的化学成分 [J]. 药学报, 1998, 33(12): 919-922.
- [8] 孙朋悦, 徐颖, 陈英杰. 朝鲜淫羊藿的化学成分 I [J]. 中国药物化学杂志, 1998, 8(4): 281-284.
- [9] 郑训海, 孔令义. 朝鲜淫羊藿化学成分研究 [J]. 中草药, 2002, 33(17): 964-967.
- [10] 程岩, 王新彦, 王乃利. 朝鲜淫羊藿中的非黄酮类化合物 [J]. 中草药, 2007, 38(8): 1135-1138.
- [11] Zhou X L, He X J, Wang G H, et al. Steroidal Saponins from *Solanum nigrum* [J]. *J Nat Prod*, 2006, 69: 1158-1163.
- [12] Xu J F, Cao D H, Tan N H, et al. New lignan glycosides from *Cupressus duclouxiana* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2005, 8(1-2): 181-185.
- [13] Tih G M, Bodo B R, Nyasse B, et al. Isolation and identification of (-)-olivil and (+)-cycloolivil from *Tereopermum kunthianum* [J]. *Planta Med*, 1985, 1(6): 464.
- [14] Ida Y, Satoh Y, Ohtsuka M, et al. Phenolic constituents of *Phellodendron amurense* bark [J]. *Phytochemistry*, 1994, 35(1): 209-215.
- [15] Miyamura M, Nohara T, Tomimatsu T, et al. Seven aromatic compounds from bark of *Cinnamomum cassia* [J]. *Phytochemistry*, 1983, 22(1): 215-218.
- [16] Fumik A, Tatsuo Y. Lignan glycosides from *Parsonsiala evigata* [J]. *Phytochemistry*, 1989, 28(6): 1737-1741.

复方五仁醇胶囊血清药化学研究(II)

丁安伟¹, 奚志华², 罗琳³, 居文政⁴

(1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210029; 2. 南通大学附属南通第三医院, 江苏 南通 226006;

3. 南通大学, 江苏 南通 226006; 4. 南京中医药大学附属医院, 江苏 南京 210029)

摘要:目的 对复方五仁醇胶囊含药血清中的药源性成分作进一步鉴定,并测定主要成分的量。方法 HPLC-DAD和UPLC-MS/MS检测相结合进行成分鉴定,HPLC-UV法测定主要木脂素类的量。结果 HPLC-DAD检测鉴定出含药血清中8个制剂原形成分中的7个,分别为五味子醇甲、戈米辛J、五味子醇乙、去氧五味子素、戈米辛N、五味子乙素和五味子丙素,5个代谢产物的紫外光谱图具有联苯环辛烯类木脂素的吸收特征;UPLC-MS/MS检测结果显示出含

收稿日期:2007-11-03

基金项目:江苏省中医药局中医药科学技术研究专项课题(H05173);江苏省高校研究生科技创新计划项目(140);江苏省南通市社会发展科技计划项目(S40006)

作者简介:丁安伟(1950-),男,江苏南京人,教授,博士生导师,主要从事中药炮制与复方研究工作。

Tel:(025)85811523 E-mail:awding105@163.com

药血清中除存在五味子醇甲等7个木脂素类成分外,还含有五味子酯甲;含药血清中五味子醇甲、五味子醇乙、去氧五味子素、五味子乙素的质量浓度分别为 $(8.145\ 3\pm 1.020\ 2)$ 、 $(6.604\ 5\pm 1.341\ 4)$ 、 $(0.560\ 1\pm 0.137\ 5)$ 、 $(5.933\ 0\pm 0.966\ 6)\ \mu\text{g/mL}$ 。结论 复方五仁醇胶囊含药血清中的药源性成分主要有木脂素及其代谢产物。

关键词:复方五仁醇胶囊;血清药化学;木脂素

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)09-1285-04

Serum pharmacochemistry of Compound Wurechun Capsula (Ⅱ)

DING An-wei¹, DOU Zhi-hua², LUO Lin³, JU Wen-zheng⁴

(1. Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China; 2. Nantong Third Affiliated Hospital, Nantong University, Nantong 226006, China; 3. Nantong University, Nantong 226006, China; 4. Affiliated Hospital, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

Abstract: Objective To identify the drug-induced constituents in rat serum containing drug of Compound Wurechun Capsula and determine the content of these constituents. **Methods** Identification of the drug-induced constituents in serum has been carried out by combinative method of HPLC-DAD and UPLC-MS/MS. The content of four lignans in serum has been detected by HPLC-UV. **Results** Seven of eight original form compounds in serum have been identified as schisandrin, gomisins J, schisandrol B, deoxyschizandrin, gomisins N, schisandrin B, and schisandrin C. The UV spectrogram of five metabolites showed the absorption character of dibenzocyclooctadiene lignans. Eight lignans were identified by UPLC-MS/MS, besides schisantherin, there are seven lignan-like ones detected by HPLC-DAD. The content of schisandrin, schisandrol B, deoxyschizandrin, and schisandrin B in serum was $(8.145\ 3\pm 1.020\ 2)$, $(6.604\ 5\pm 1.341\ 4)$, $(0.560\ 1\pm 0.137\ 5)$, and $(5.933\ 0\pm 0.966\ 6)\ \mu\text{g/mL}$, respectively. **Conclusion** Lignans and their metabolites are composed of the main drug-induced constituents in rat serum.

Key words: Compound Wurechun Capsula; serum pharmacochemistry; lignans

中药血清药化学是以传统药物化学方法为基础,综合应用多种现代技术,分析鉴定口服中药后血清中有效成分,研究其药效相关性,确定中药药效物质基础的方法^[1]。与中药中的化学成分相比,因经过胃肠道的处理、筛选和滤过,成分的种类和数目已大大减少,这样不仅大大简化了中药复杂体系,而且对血清中所含化学成分进行进一步分析、鉴定,把得到的成分与原中药再次进行药效学比较,就有可能揭示产生复方药效的成分^[2,3],甚至可以成为创制新药的基础^[4]。因而,如何通过口服给药后血清中成分分析,确定中药及复方的体内直接作用物质,将成为快速、准确地研究中药药效物质基础的有效的途径^[1]。

复方五仁醇胶囊是一种经过长期临床实践总结而研制的治疗慢性肝炎的制剂^[5],由五味子、三七、柴胡、叶下珠4味中药组成,临床疗效确切^[6]。先期的研究发现,大鼠灌胃给药该制剂后血清中产生药源性成分13个,其中8个为制剂原形成分,5个为代谢产物,通过对照品比对初步认定8个原形成分中包括五味子醇甲、去氧五味子素、五味子乙素^[7]。本实验的主要目的是进一步鉴定含药血清中药源性成分,并测定主

要成分的量,为下一步用体外化合物模拟血清中的比例与含药血清进行药效比较奠定基础。

1 实验材料

1.1 仪器:Waters Alliance 高效液相色谱系统,包括2695分离单元、2996二极管阵列检测器、Empower 色谱工作站(美国Waters公司);Waters液相色谱-质谱联用仪(Ultra performance LC, Quattro Premier 质谱仪,Masslynx 4.0软件,美国Waters公司);LIBROR AEL-40SM 电子分析天平(日本岛津)。

1.2 试剂:甲醇(色谱纯,江苏汉邦科技有限公司),乙腈(色谱纯,德国Merk公司),纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)。

1.3 对照品与药品:五味子醇甲、五味子乙素购自江西南昌中药固体制剂制造技术国家工程研究中心,五味子醇乙购自天津一方科技有限公司,五味子酯甲、去氧五味子素购自中国药品生物制品检定所,复方五仁醇胶囊由南通大学附属南通第三医院提供。

1.4 动物:SD大鼠,SPF级,体质量 $(248.4\pm 16.3)\text{g}$,雌雄各半。南通大学实验动物中心提供,许可证号SYKX(苏)2002-0022。

2 实验方法

2.1 溶液的制备

2.1.1 供试品溶液的制备:按文献方法^[7]制备含药血清、空白血清及其供试品溶液、制剂供试品溶液。

2.1.2 对照品溶液的制备:精密称取以上5种对照品,甲醇溶解,配成0.08~0.2 mg/mL的混合溶液,供HPLC-DAD检测用;另外精密称取5种对照品,甲醇溶解并稀释至35 μ g/mL的混合溶液,供UPLC-MS/MS检测用;精密称取五味子醇甲、五味子醇乙、去氧五味子素、五味子乙素适量,加入空白血清,按含药血清供试品溶液制备方法处理,配成30.75~135.0 μ g/mL的混合溶液,供含药血清中木脂素类成分测定用。

2.2 含药血清药源性成分的HPLC-DAD检测

2.2.1 色谱条件:色谱柱、流动相、流速、柱温均同文献报道^[7],190~400 nm扫描检测。

2.2.2 检测方法:分别吸取各供试品溶液及对照品溶液各10 μ L,注入液相色谱仪,DAD检测,运行70 min,提取主要吸收峰的光谱图,通过对照品和供试品光谱图比较,结合文献资料,对含药血清中的色谱峰进行成分鉴定或推测。

2.3 含药血清中木脂素类成分UPLC-MS/MS检测

2.3.1 检测条件:超高效液相色谱条件为Acquity UPLC BEHC₁₈色谱柱(50 mm×2.1 mm,1.7 μ m);A(乙腈)-B(H₂O,0.1%甲酸)梯度洗脱(0~15 min,5%~95% A);体积流量0.5 mL/min;分流后进入质谱;柱温40 $^{\circ}$ C。质谱条件:ES⁺;毛细管电压:3.0 kV;锥孔电压:40 V;离子源温度:120 $^{\circ}$ C;氮气流量:400 L/h;质量扫描范围为300~1 200 m/z 。

2.3.2 检测方法:以上条件下分别吸取对照品溶液、含药血清及空白血清供试品溶液各2 μ L,注入液相色谱-质谱联用仪进行分析,运行15 min,记录总离子流色谱图,通过提取离子流色谱图及相应保留时间离子峰的质谱图比对分析,进行成分鉴定。

2.4 含药血清中4种木脂素类成分的测定

2.4.1 色谱条件:色谱柱、流动相、体积流量、柱温均同2.2.1,检测波长217 nm。

2.4.2 测定方法:以上条件下吸取不同体积对照品溶液进样测定,以峰面积对进样量建立回归方程,供试品进样20 μ L,外标法计算含药血清中五味子醇甲、五味子醇乙、去氧五味子素及五味子乙素的量。

3 结果与讨论

3.1 含药血清药源性成分的HPLC-DAD检测:波长203 nm时检测到前期研究^[8]标定的制剂指纹图

谱26个共有峰(图1-A),与空白血清比较(图1-D),大鼠灌胃复方五仁醇胶囊后血清中产生13个药源性成分(图1-B),其中包括制剂图谱的6、7、9、17、21、23、24、26号峰,经比对,两者保留时间及紫外光谱图一致,提示这8个成分为制剂原形成分,其余5个成分(图1-B中M1~M5)为体内产生的新成分,与文献报道^[9]比对发现,其紫外光谱图均具有联苯环辛二烯类木脂素的吸收特征,提示这5个成分为五味子类木脂素的代谢产物。前期研究结果^[10]及相关对照品比对(图1-C)表明,6、7、9、21、23、24、26号峰分别为五味子醇甲、戈米辛J、五味子醇乙、去氧五味子素、戈米辛N、五味子乙素和五味子丙素,该结论得到以下UPLC-MS/MS检测的进一步验证。

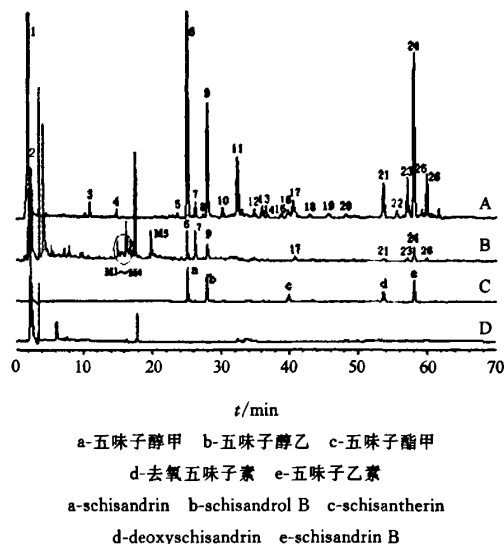


图1 复方五仁醇胶囊(A)、含药血清(B)、对照品(C)及空白血清(D)HPLC色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatogram of Compound Wurenchun Capsula (A), serum containing drug (B), reference substances (C), and blank serum (D)

3.2 含药血清中木脂素类成分的UPLC-MS/MS检测:总离子流色谱图显示,对照品5种木脂素类成分的保留时间均小于5 min,空白血清对此类成分的检出基本没有干扰。对照品总离子流色谱图中保留时间1.79、2.11、3.01、3.76、4.12的色谱峰分别为五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲、去氧五味子素和五味子乙素,流出顺序与前面HPLC检测结果及文献报道吻合。

通过对供试品提取离子流色谱图及各色谱峰对应的质谱图分析,结合HPLC检测结果和文献报道,鉴定出含药血清所含的8种木脂素类成分:五味子醇甲、戈米辛J、五味子醇乙、五味子酯甲、去氧五味

子素、戈米辛N、五味子乙素和五味子丙素,其中五味子醇甲等7个成分验证了HPLC-DAD检测结果。由于方法的灵敏度等原因,五味子酯甲没有被HPLC-DAD检测出来。分析结果见表1。

表1 UPLC-MS/MS 分析结果

Table 1 Results of UPLC-MS/MS analysis

保留时间/min	准分子离子峰	相对分子质量	化合物
1.82	433 [M+H] ⁺	432	五味子醇甲
2.02	389 [M+H] ⁺	388	戈米辛J
2.12	417 [M+H] ⁺	416	五味子醇乙
3.04	559 [M+Na] ⁺	536	五味子酯甲
3.78	417 [M+H] ⁺	416	去氧五味子素
4.04	401 [M+H] ⁺	400	戈米辛N
4.12	401 [M+H] ⁺	400	五味子乙素
4.36	385 [M+H] ⁺	384	五味子丙素

3.3 含药血清中4种木脂素类成分的测定:以峰面积对进样量求得回归方程,五味子醇甲: $Y=492\ 127X+143\ 005$, $r=0.999\ 7$, 线性范围为0.153 6~0.768 0 μg ; 五味子醇乙: $Y=3\ 978\ 969X+125\ 625$, $r=0.999\ 6$, 线性范围为0.162 0~0.810 0 μg ; 去氧五味子素: $Y=7\ 698\ 902X-33\ 501$, $r=0.999\ 8$, 线性范围为0.036 9~0.184 5 μg ; 五味子乙素: $Y=3\ 261\ 879X-74\ 154$, $r=0.999\ 6$, 线性范

围为0.119 4~0.597 0 μg 。对5批含药血清进行了测定,结果五味子醇甲、五味子醇乙、去氧五味子素、五味子乙素4种成分的平均质量浓度分别为:(8.145 3 $\pm$ 1.020 2)、(6.604 5 $\pm$ 1.341 4)、(0.560 1 $\pm$ 0.137 5)、(5.933 0 $\pm$ 0.966 6) $\mu\text{g/mL}$ 。

参考文献:

- [1] 王喜军. 中药及中药复方的血清药物化学研究 [J]. 世界科学技术—中药现代化, 2002, 4(2): 1-4.
- [2] 周俊. 中药复方—天然组化化学库与多靶作用机理 [J]. 中国中西医结合杂志, 1998, 18(2): 67.
- [3] 赵建荣, 李晓玫. 中药复方物质基础研究的现状与进展 [J]. 中草药, 2003, 34(11): 963-966.
- [4] 邢东明, 潘卫松, 炎彬, 等. 从创新中药角度认识中药血清药化学 [J]. 中国中西医结合杂志, 2002, 22(6): 466-467.
- [5] 寒志华, 施忠, 李伟红, 等. 复方五仁醇胶囊的研制 [J]. 时珍国医国药, 2005, 16(10): 953-957.
- [6] 达坤林, 王陆军, 张兵, 等. 复方五仁醇胶囊治疗慢性乙型肝炎78例临床疗效观察 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(5): 798.
- [7] 寒志华, 丁安伟, 王陆军, 等. 复方五仁醇胶囊血清药化学研究 [J]. 中草药, 2006, 37(8): 1137-1140.
- [8] 寒志华, 丁安伟, 王陆军, 等. 复方五仁醇胶囊HPLC指纹图谱研究 [J]. 山东中医药大学学报, 2006, 30(5): 384-387.
- [9] 王彦涵. 五味子科系统学与五味子药物资源 [D]. 上海: 复旦大学, 2003.
- [10] 寒志华, 丁安伟, 王陆军, 等. 复方五仁醇胶囊主要成分的定性定量分析 [J]. 江苏中医药, 2008, 40(2): 65-67.

萱草根化学成分的分离与结构鉴定(Ⅱ)

杨中铎¹, 李涛¹, 彭程²

(1. 兰州理工大学生命科学与工程学院, 甘肃 兰州 730050; 2. 西北民族大学化工学院, 甘肃 兰州 730030)

摘要:目的 研究萱草 *Hemerocallis fulva* 根的化学成分。方法 用色谱方法进行分离纯化萱草根的氯仿和正丁醇提取物, 根据化合物的理化性质和光谱数据进行结构鉴定。结果 从萱草根的氯仿和正丁醇提取物中分离鉴定了10个化合物: 蒽萘噻(terresoxazine, I)、11-氧代- β -乳香酸(II)、何伯烷-6 α , 22-二醇(III)、海可皂苷元(IV)、谷甾-4-烯-3 β -醇(V)、谷甾-4-烯-3-酮(VI)、 ω -阿魏酰氧酸(ω -feruloyloxy acid, VII)、3,4-二羟基反式肉桂酸(VIII)、对甲基反式肉桂酸(IX)、香草酸(X)。结论 化合物I~N、VII为首次从该属植物中分得。

关键词: 百合科; 萱草属; 萱草根; 黄花菜

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)09-1288-03

Isolation and identification of chemical constituents in *Hemerocallis fulva* (Ⅱ)

YANG Zhong-duo¹, LI Tao¹, PENG Cheng²

(1. College of Life Science and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China;

2. Institute of Chemical Engineering, Northwest University for Nationalities, Lanzhou 730030, China)

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents in the roots of *Hemerocallis fulva*. **Methods**

收稿日期: 2007-12-28

基金项目: 兰州理工大学科研发展基金资助项目(SB08200605)

作者简介: 杨中铎(1976—), 男, 甘肃省临洮人, 副教授, 副主任药师, 博士, 现兰州理工大学生命科学与工程学院工作, 主要从事天然产物化学成分、有效成分提取分离, 天然酶抑制剂先导化合物的发现研究, 在该领域发表论著11篇, 其中SCI收录6篇, 申请国家发明专利2项。 Tel: (0931)2976387 E-mail: yangzhongduo@126.com

复方五仁醇胶囊血清药化学研究(II)

作者：[丁安伟](#)，[窦志华](#)，[罗琳](#)，[居文政](#)，[DING An-wei](#)，[DOU Zhi-hua](#)，[LUO Lin](#)，[JU Wen-zheng](#)

作者单位：[丁安伟, DING An-wei\(南京中医药大学, 江苏, 南京, 210029\)](#)，[窦志华, DOU Zhi-hua\(南通大学附属南通第三医院, 江苏, 南通, 226006\)](#)，[罗琳, LUO Lin\(南通大学, 江苏, 南通, 226006\)](#)，[居文政, JU Wen-zheng\(南京中医药大学附属医院, 江苏, 南京, 210029\)](#)

刊名：[中草药](#) **ISTIC** **PKU**

英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)

年，卷(期)：2008, 39 (9)

被引用次数：1次

参考文献(10条)

1. [王喜军](#) [中药及中药复方的血清药物化学研究](#)[期刊论文]-[世界科学技术-中医药现代化](#) 2002 (02)
2. [周俊](#) [中药复方-天然组化化学库与多靶作用机理](#)[期刊论文]-[中国中西医结合杂志](#) 1998 (02)
3. [赵建荣](#), [李晓玫](#) [中药复方物质基础研究的现状与进展](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2003 (11)
4. [邢东明](#), [潘卫松](#), [炎彬](#) [从创新中药角度认识中药血清药化学](#)[期刊论文]-[中国中西医结合杂志](#) 2002 (06)
5. [窦志华](#), [施忠](#), [李伟红](#) [复方五仁醇胶囊的研制](#)[期刊论文]-[时珍国医国药](#) 2005 (10)
6. [达坤林](#), [王陆军](#), [张兵](#) [复方五仁醇胶囊治疗慢性乙型肝炎78例临床疗效观察](#)[期刊论文]-[时珍国医国药](#) 2006 (05)
7. [窦志华](#), [丁安伟](#), [王陆军](#) [复方五仁醇胶囊血清药化学研究](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2006 (08)
8. [窦志华](#), [丁安伟](#), [王陆军](#) [复方五仁醇胶囊HPLC指纹图谱研究](#)[期刊论文]-[山东中医药大学学报](#) 2006 (05)
9. [王彦涵](#) [五味子科系统学与五味子药物资源](#)[学位论文] 2003
10. [窦志华](#), [丁安伟](#), [王陆军](#) [复方五仁醇胶囊主要成分的定性定量分析](#)[期刊论文]-[江苏中医药](#) 2008 (02)

本文读者也读过(5条)

1. [窦志华](#), [丁安伟](#), [王陆军](#), [罗琳](#), [张兵](#), [施忠](#), [DOU Zhi-hua](#), [DING An-wei](#), [WANG Lu-jun](#), [LUO Lin](#), [ZHANG Bing](#), [SHI Zhong](#) [复方五仁醇胶囊含药血清指纹图谱研究](#)[期刊论文]-[中国药学杂志](#)2007, 42 (12)
2. [张西平](#), [张宾](#), [孟磊](#), [刘鑫](#), [赵坤珠](#), [陈军](#), [高彩霞](#) [血清药化学在中药现代化研究中的应用探讨](#)[期刊论文]-[河南中医](#)2002, 22 (4)
3. [王玉华](#), [容蓉](#), [魏英勤](#), [袁久荣](#) [中药方剂四物汤有效部位的血清药化学研究](#)[会议论文]-2006
4. [邢东明](#), [潘卫松](#), [炎彬](#), [向兰](#), [陆群](#), [杜力军](#) [从创新中药角度认识血清药化学](#)[期刊论文]-[中国中西医结合杂志](#) 2002, 22 (6)
5. [窦志华](#), [丁安伟](#), [王陆军](#), [罗琳](#), [张兵](#), [施忠](#), [DOU Zhi-hua](#), [DING An-wei](#), [WANG Lu-jun](#), [LUO Lin](#), [ZHANG Bing](#), [SHI Zhong](#) [复方五仁醇胶囊血清药化学研究](#)[期刊论文]-[中草药](#)2006, 37 (8)

引证文献(1条)

1. [魏元锋](#), [张宁](#), [冯怡](#), [林晓](#) [中药血清药物化学在中药药效物质基础研究中的应用](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2009 (9)

本文链接：http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200809002.aspx