## 百合知母汤的化学成分研究(

方前波1,2,秦昆明1,潘扬1,李伟东1,陈志鹏1,蔡宝昌1\* (1. 南京中医药大学药学院 江苏省中药炮制重点实验室,江苏 南京 210029; 2. 安徽中医药高等专科学校,安徽 芜湖 241000)

摘 要:目的 研究百合知母汤水煎液中的化学成分,为探讨其药效物质基础提供依据。 方法 采用硅胶柱反复 色谱分离化合物 并通过理化数据和波谱数据确定其结构。结果 从百合知母汤水煎液的二氯甲烷和醋酸乙酯萃 取部分共分得 9 个化合物,分别鉴定为棕榈酸(hexadecanoic acid,1)、5-羟甲基糠醛(5-hydroxymethyl-2-furaldehyde, 2)、豆甾醇(stigmasterol, 3)、对羟基苯甲醛(prhydroxybenzaldehyde, 4)、对羟基桂皮酸(prhydroxycinnamic acid.5)、2.3.4-三羟基-4-甲氧基二苯甲酮(2.3.4-trihydroxy-4-methoxybenzophenone.6)、知母皂苷 A ponin A ,7)、芒果苷(mangiferin,8)、-胡萝卜苷(-daucosterol,9)。结论 以上化合物均为首次从百合知母汤中 分得 .其中化合物 6 为首次公开报道的天然产物 :化合物 5 首次在组成百合知母汤的单味药百合和知母中发现 .可 能为百合知母汤水煎液新产生的化学成分。

关键词:百合知母汤;2,3,4-三羟基-4-甲氧基二苯甲酮;天然产物

中图分类号:R284.1 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2010)04-0517-04

## Chemical constituents of Baihe Zhimu Decoction (

FANG Qian-bo<sup>1,2</sup>, QIN Kun-ming<sup>1</sup>, PAN Yang<sup>1</sup>, LI Wei-dong<sup>1</sup>, CHEN Zhi-peng<sup>1</sup>, CAI Bao-chang<sup>1</sup> (1. Jiangsu Key Laboratory of Chinese Medicine Processing, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China; 2. Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Wuhu 241000, China)

Abstract: Objective To study the chemical constituents of Baihe Zhimu Decoction. Methods Silica gel column chromatography was used to isolate and purify the compounds, and the structures were identified on the basis of IR, MS, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, and other data. **Results** Nine compounds were isolated and identified as hexadecanoic acid (1), 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde (2), stigmasterol (3), p-hydroxybenzaldehyde (4), p-hydroxycinnamic acid (5), 2, 3, 4-trihydroxy-4-methoxybenzophenone (6), timosa-(7), mangiferin (8), and -daucosterol (9). Conclusion These compounds are isolated from Baihe Zhimu Decoction for the first time. Compound 6 is firstly reported as a new natural product.

**Key words:** Baihe Zhimu Decoction; 2, 3, 4-trihydroxy-4-methoxybenzophenone; natural product

百合知母汤,方出自张仲景《金匮要略》,原方由 百合 7 枚、知母 3 两组成,主治百合病。百合病的临 床主症[1]为"常默然,欲卧不能卧,欲行不能行,饮食 或有美时,或有不用闻食臭时,如寒无寒,如热无热, 口苦,小便赤,.....如有神识之疾,而身形如和,其脉 微数 "。描述的主症与绝经综合征患者的常见症状 十分类似,如抑郁、烦躁不安、失眠、疲乏、烘热、易发 生泌尿系感染等。百合知母汤是目前临床治疗绝经 综合征的常用方剂。

百合知母汤在临床主要用于绝经综合征中以心

神不安症状为主的患者,以潮热、失眠、心悸、烦躁、 情绪抑郁、或焦虑、或多疑、或紧张、或易怒等表现为 主症。用本方为主治疗,获得显著疗效[2~4]。本课 题组研究发现百合知母汤能明显降低围绝经期肾阴 虚大鼠的下丘脑多巴胺(DA)的量和 DA/NE 比值, 同时对去甲肾上腺素(NE)和 5-羟色胺(5-HT)也有 调节作用,从而有效地调节围绝经期肾阴虚大鼠中 枢神经递质水平,从而达到缓解阴虚内热、烦躁不 安、失眠等症状的目的[5]。

在进行百合知母汤药效研究的同时,对其化学

收稿日期:2009-10-23

基金项目:国家自然科学基金重大研究计划项目(90709025) 作者简介:方前波,男,安徽巢湖人,副教授,在读博士研究生,主要从事中药及复方药效物质基础研究。

成分进行了系统研究。根据百合知母汤的临床用药方式,采用水提醇沉法制备样品,后依次用二氯甲烷、醋酸乙酯和水饱和正丁醇进行提取,结合各种色谱分离技术和光谱学方法研究其化学成分。本实验从二氯甲烷和醋酸乙酯提取部分获得9个化合物,分别鉴定为棕榈酸(1)、5-羟甲基糠醛(2)、豆甾醇(3)、对羟基苯甲醛(4)、对羟基桂皮酸(5)、2,3,4-三羟基-4-甲氧基二苯甲酮(6)、知母皂苷 A (7)、芒果苷(8)、-胡萝卜苷(9)。以上化合物均首次从百合知母汤中分得,其中化合物6为首次公开报道的天然产物;化合物5首次在组成百合知母汤的单味药百合和知母中发现,可能为百合知母汤水煎液新产生的化学成分。

### 1 仪器与材料

 $X \longrightarrow 4$  数字显示显微熔点测定仪(温度未校正); Mettler Toledo AE240 电子分析天平; Buchi R-205 薄膜蒸发仪;核磁共振 $^1$  H-NMR谱和 $^{13}$  C-NMR谱用 Bruker AV-300 或 AV-500 型核磁共振仪测定 (TMS 为内标)。柱色谱用硅胶(200~300 目)为化学纯(青岛海洋化工厂),硅胶 G 和硅胶 GF<sub>254</sub> 预制 薄层板(青岛海洋化工厂);液体试剂为分析纯(国药集团上海化学试剂有限公司)。

百合、知母药材于 2007 年 11 月分别购于浙江中医药大学附属中药饮片厂和河北省平山县锦绣堂医药药材有限公司,经南京中医药大学药学院陈建伟教授分别鉴定为百合科植物卷丹 Lilium lancifolium Thunb. 干燥鳞茎和百合科植物知母Anemarrhena asphodeloi des Bunge 的干燥根茎,凭证标本存于南京中医药大学江苏省中药炮制重点实验室。

#### 2 提取与分离

按处方比例将百合(6 kg)和知母饮片(4 kg)混合,加10倍量水室温浸泡0.5 h,加热至沸后保持微沸1.5 h,趁热滤过,收集滤液。滤渣再加8倍量水同法煎煮。合并2次煎煮滤液,减压浓缩得水煎剂(2 g/mL)。水煎剂经乙醇醇沉(最终体积分数为80%)2次,得醇沉和醇溶部分。醇溶部分减压浓缩除尽乙醇,热水溶解成混悬液,依次用二氯甲烷、醋酸乙酯和水饱和正丁醇萃取,减压浓缩得二氯甲烷部位、醋酸乙酯部位、水饱和正丁醇部位及水溶物。二氯甲烷部分和醋酸乙酯部分经反复硅胶柱色谱分离和制备液相分离,分别得到化合物1~9。

#### 3 结构鉴定

化合物 6: 黄色针晶(氯仿), mp 286~289

FeCl3 反应阳性,说明分子中含有酚羟基。ESFMS m/z:283 [M + Na]<sup>+</sup>,259 [M - 1]<sup>-</sup>,分子式为 C<sub>14</sub> H<sub>12</sub> O<sub>5</sub> 。IR max (cm<sup>-1</sup>):3 445示有羟基,1 640示 有羰基,1600、1510、1468示有苯环。UV nm:211、235。 <sup>1</sup> H-NMR (DMSO- $d_6$ ) 中, 7. 57 (2 H, d, J = 8.85 Hz), 6.87 (2 H, d, J = 8.55 Hz)两组信号提示分子中有一个对位二取代的苯环, 6. 62 (1 H, d, J = 8.85 Hz), 7. 00 (1 H, d, J =8.85 Hz),可能是苯环或双键上的氢, 3.85(3H, s) 是甲氧基氢的信号。在<sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) 中, 56.0 是甲氧基碳信号, 197.5 的出现说明分 子中有羰基,除此之外的12个碳信号恰是2个苯 环,其中有2组信号重合,提示一个苯环被对位取 代。结合<sup>1</sup> H-NMR和<sup>13</sup> C-NMR中数据可知,2个苯 环上的取代基有 3 个羟基、1 个甲氧基和 1 个共用 的羰基。从<sup>1</sup> H-<sup>1</sup> H COS Y谱显示 , 6. 62 (H-5) 与 7. 00(H-6)相关, 6. 87(H-3,5-H)与 7. 57(H-2,6)相关。在NOESY谱中,可见 3.85(-OCH<sub>3</sub>) 与 6.62(H-5)相关,提示甲氧基连接在 C-4 位上。 通过 HSQC 和 HMQC 试验,对该化合物的碳、氢数 据进行了信号归属,见表1、图1。鉴定为2,3,4-三 羟基-4-甲氧基二苯甲酮(2,3,4-trihydroxy-4-methoxybenzophenone),经检索,该化合物为新的天然 产物,有关数据是首次公开报道。

表 1 化合物 6 的<sup>1</sup> H NMR、<sup>13</sup> C NMR波谱数据 (500 MHz, DMSO d<sub>6</sub>)

Table 1 <sup>1</sup> H NMR and <sup>13</sup> C NMR Data of compound 6 (500 MHz,DMSO d<sub>6</sub>)

	,	
位置	С	Н
1	116. 3	
2	149. 8	
3	134. 3	
4	152. 3	
5	103. 3	6. 62 (d, $J = 8.85$ Hz)
6	123. 3	7. 00 (d, $J = 8.85$ Hz)
C = O	197. 5	
1	128. 7	
2	132. 1	7. 57 (d, $J = 8.85$ Hz)
3	115. 3	6. 87 (d, $J = 8$ . 85 Hz)
4	162. 1	
5	115. 3	6. 87 (d, $J = 8.85$ Hz)
6	132. 1	7. 57 (d, $J = 8.85$ Hz)
OCH <sub>3</sub>	56. 0	3. 85 (s)

化合物 1:白色蜡状结晶(石油醚),mp 53~54 ,易溶于氯仿、热石油醚,与溴麝香草酚蓝试液呈阳性反应,与葡萄糖-苯胺试液作用显深褐色。  $^{1}$  H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) : 2.34(2H,t,J=7.45 Hz, H-2),1.63(2H,m,H-3),1.26(26H,brs,H-4~

图 1 化合物 6 的 NOESY 和 HMBC 主要相关谱

Fig 1 Key NOESY and HMBC correlation of compound 6
15), 0. 88 (3 H, t, J = 7. 05 Hz, H-16)。 13 C-NMR (CDCl3) : 179. 4 (C-1), 33. 8 (C-2), 31. 8 (C-3), 29. 0 ~ 29. 6 (10 C, C-4 ~ 13), 24. 6 (C-14), 22. 6 (C-15), 14. 0 (C-16)。经与文献报道相对照 161, 确定化合物 1 为棕榈酸,即正十六烷酸。

化合物 2:黄色油状物,薄层以二苯胺显色呈现糠醛类反应阳性(蓝色)。 1H-NMR(CDCl<sub>3</sub>):7.22(1H,d,J=3.6 Hz,H-3),6.52(1H,d,J=3.6 Hz,H-4),9.56(1H,s,-CHO),4.70(2H,s,-OH),2.77(1H,brs,-CH<sub>2</sub>-)。 13 C-NMR(CDCl<sub>3</sub>):152.2(C-2),122.9(C-3),109.8(C-4),161.1(C-5),177.6(-CHO),57.29(-CH<sub>2</sub>-)。以上数据与文献报道一致[7],鉴定为 5-羟甲基糠醛。

化合物 3:白色针晶(石油醚-丙酮),mp 167~
169 ,Liebermann-Burchard 反应星阳性。
<sup>1</sup> H-NMR(CDCl<sub>3</sub>):5.36(1H,H-6),5.16(1H,dd,
J=15.2,8.8 Hz,H-22),5.04(1H,dd,J=15.2,
8.4 Hz,H-23),3.53(1H,m,H-3); <sup>13</sup> C-NMR
(CDCl<sub>3</sub>):36.3(C-1),31.1(C-2),71.8(C-3),42.3
(C-4),140.8(C-5),121.7(C-6),32.7(C-7),31.1
(C-8),49.0(C-9),36.3(C-10),21.8(C-11),40.8
(C-12),42.0(C-13),55.5(C-14),24.2(C-15),30.6
(C-16),55.4(C-17),10.7(C-18),19.8(C-19),41.0
(C-20),21.1(C-21),138.3(C-22),129.4(C-23),
49.9(C-24),31.1(C-25),21.8(C-26),18.7(C-27),
24.8(C-28),11.9(C-29),以上光谱数据与文献对照
一致<sup>[8]</sup>,确定该化合物为豆甾醇。

化合物 5: 黄色羽状结晶(氯仿), mp 189~ 193 。 H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) : 10.58 (1H, s, 4-OH), 6.80 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3,5), 7.44 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2,6), 7.59 (1H,d,J = 15.9 Hz, H-7),6.27 (1H,d,J = 15.9 Hz, H-8)。 13 C-NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ ) :115.3 (C-8),125.5 (C-1), 130.9 (C-2,6),115.7 (C-3,5),144.3 (C-7),159.8 (C-4),168.1 (C-9)。光谱数据与文献报道基本一致[10],鉴定化合物 5 为对羟基桂皮酸。

化合物 7: 白色无定形粉末, mp 252~254 Liebermann-Burchard 反应阳性 .与 Ehrlish 试剂显 红色。酸水解检出 心葡萄糖和 心半乳糖。苦杏仁 酶解检出 D-葡萄糖。¹H-NMR(C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) : 0.70  $(3H, s, 18-CH_3)$ , 0. 90  $(3H, s, 19-CH_3)$ , 0. 93  $(3H, s, 19-CH_3)$  $d_{3}J = 6.8 \text{ Hz}, 27\text{-CH}_{3}$ ), 1. 01 (3 H, s, 21-CH<sub>3</sub>), 4. 40 (1 H, d, J = 8.0 Hz, glc-H-4), 4. 25 (1 H, d, J =8. 0 Hz, gal-H-1)  $_{\circ}^{13}$  C-NMR (500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) : 30. 2 (C-1) ,26. 6 (C-2) ,75. 1 (C-3) ,30. 4 (C-4) ,36. 3 (C-5) ,26. 5 (C-6) ,26. 2 (C-7) ,35. 2 (C-8) ,40. 2 (C-9) ,35. 0(C-10) ,21. 0(C-11) ,40. 2(C-12) ,40. 8(C-13) ,56. 1 (C-14) ,31. 5 (C-15) ,80. 7 (C-16) ,62. 2 (C-17) ,16. 5 (C-18) ,23. 9 (C-19) ,41. 9 (C-20) ,14. 8 (C-21) ,109. 2 (C-22) ,25. 9 (C-23) ,25. 7 (C-24) ,26. 7 (C-25), 64. 6 (C-26), 16. 3 (C-27), 101. 1 (C-1), 79. 5 (C-2) ,76. 5 (C-3) ,70. 4 (C-4) ,75. 5 (C-5) , 60. 6(C-6),104. 2(C-1),75. 5(C-2),77. 3(C-3), 70. 4(C-4),77. 3(C-5),61. 4(C-6)。综合以上数 据分析并与文献报道对照[11],确定化合物 7 为萨尔 萨皂苷元-3-0-D-吡喃葡萄糖基(1 2)--D-吡喃 半乳糖苷(知母皂苷 A ,timo saponin A )。

化合物 8:黄色针晶,mp 260 ,FeCl3 反应呈污绿色,HCl-Mg 反应呈橙红色。 H-NMR (DM-SO-d<sub>6</sub>) : 3. 42 ~ 5. 10 (m), 4. 68 (1H, d, J = 11. 0 Hz), 6. 45 (1H, s), 6. 93 (1H, s), 7. 50 (1H, s), 10. 60 (3H, br), 13. 90 (1H, s)。 TONMR (500 MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) :161. 4(C-1),107. 5(C-2),163. 6(C-3),93. 4(C-4),156. 3(C-4a),102. 6(C-5),153. 8(C-6),143. 6(C-7),108. 2(C-8),111. 6(C-8a),179. 0(C-9),101. 2(C-9a),150. 8(C-10a),73. 2(C-1),70. 6(C-2),78. 7(C-3),70. 2(C-4),81. 5(C-5),61. 3(C-6)。综合以上数据分析并与文献报道对照[12],确定化合物 8 为芒果苷。

化合物 9:白色无定形粉末,mp 282~283 , Liebermann-Burchard 反应阳性,Molish 反应阳性, 5%硫酸-乙醇液显色为紫色。 <sup>1</sup> H-NMR(DMSO) : 0.65~0.99(6 ×CH<sub>3</sub>),4.92(1H,d,J=8.0 Hz, glu-H-1),5.34(1H,s,H-6)。 <sup>13</sup> C-NMR(DMSO) : 36. 9 (C-1) ,29. 41 (C-2) ,76. 90 (C-3) ,38. 6 (C-4) , 140. 0 (C-5) ,121. 4 (C-6) ,31. 7 (C-7) ,29. 40 (C-8) , 49. 7(C-9) ,36. 4(C-10) ,20. 7(C-11) ,28. 9(C-12) , 42. 0(C-13) ,56. 3(C-14) ,25. 6(C-15) ,38. 7(C-16) , 55. 6(C-17) ,11. 8(C-18) ,19. 8(C-19) ,35. 6(C-20) , 19. 1 (C-21) ,33. 5 (C-22) ,25. 6 (C-23) ,49. 7 (C-24) , 28. 9 (C-25) ,19. 2 (C-26) ,18. 7 (C-27) ,27. 7 (C-28) , 11. 9(C-29) ,100. 9(C-1) ,73. 6(C-2) ,77. 1(C-3) , 70.1(C-4),76.9(C-5),61.3(C-6)。与胡萝卜苷 对照品薄层色谱对照,Rf 值及显色行为均一致,且 与对照品的混合熔点不下降。1H-NMR、13C-NMR 数据与文献数据对照一致[13],鉴定化合物 9 为 -胡 萝卜苷。

#### 参考文献:

- [1] 张 机 金匮要略方论 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1963.
- [2] 郝 玲, 刘洪波. 百地愈更汤治疗妇女更年期综合征 82 例 [J]. 中医研究, 1999, 12(4):11.
- [3] 马 铮,张融碧.百合地黄汤合二仙汤治疗妇女更年期综合

征 38 例 [J]. 实用中医内科杂志, 2005, 19(6): 559.

- [4] 于 斌 百合清心调志汤治疗妇女更年期虚烦失眠证 32 例 [J]. 江苏中医药, 2004, 25(7): 31.
- [5] 张 颖,赵腾斐,高 钦,等.百合知母汤对围绝经期肾虚 证大鼠体征及下丘脑单胺类神经递质的影响 [J]. 南京中医 药大学学报, 2009, 25(3): 184-186.
- [6] 安士影,钱士辉,蒋建勤,等. 细柱五加叶的化学成分 [J]. 中草药, 2009, 40(10): 1528-1534.
- [7] 夏 云, 李志明,朱丹妮, 等. 生脉散复方化学动态学与药 效关系的研究 [J]. 中国中药杂志, 1998, 23(4): 230-231.
- [8] 冯 煦,姜 东,单 宇,等. 小麦麸皮的化学成分[J]. 中 草药, 2009, 40(1): 27-29.
- [9] 马继元, 王峥涛, 徐珞珊, 等. 抱茎苦荬菜 Ixeris sonchif olia Hance 的化学成分研究 [J]. 中国药科大学学报, 1998, 29(2): 94-96.
- [10] 陈 泉,吴立军,王 军,等.中药淡竹叶的化学成分研究 [J]. 沈阳药科大学学报, 2002, 19(1): 23-24.
- [11] 洪永福,张广明,陈连娜,等.西陵知母中甾体皂苷的分离 与鉴定 [J]. 药学学报,1999,34(7):518-521.
- [12] 边际,徐绥绪,黄松,等.知母化学成分的研究[J].沈 阳药科大学学报, 1996, 13(1): 34-40.
- [13] 林 绥,李援朝,郭玉瑜,等. 地稔的化学成分研究[J]. 中 草药, 2009, 40(8): 1192-1195.

# 玉簪花的抗肿瘤活性甾体皂苷成分研究

刘接卿1,2,王翠芳2,邱明华2,胡文祥1\*

(1. 首都师范大学 化学系,北京 100048; 2. 中国科学院昆明植物研究所 植物化学与西部植物资源持续利用 国家重点实验室,云南 昆明 650204)

摘 要:目的 为实现对药用植物的可持续利用,对玉簪 Hosta plantaginea 的花进行了甾体皂苷类成分及其体外 抗肿瘤作用的研究。方法 应用常规柱色谱(包括正相、反相和凝胶柱色谱)分离和波谱分析方法对玉簪花进行分 离和结构鉴定:以3种悬浮肿瘤细胞白血病肿瘤细胞株(HL-60、Jurkat、K562)和3种贴壁实体瘤细胞株(肝癌 Hep G2、乳腺癌 MCF7、胃癌 SGC7901)为研究对象,采用 MTT 法对化合物进行体外抗肿瘤活性筛选研究。结果 从玉簪花中分离鉴定了 10 个化合物 ,其中 3 个化合物为首次从该植物中分离得到 ,分别为吉托皂苷元 (1) 、吉托皂 苷元-3-*O*-D·葡萄糖(1-4)--D-半乳糖苷(**3**)、吉托皂苷元-3-O{-D-木糖(1-4)--D-葡萄糖(1-2)-[-D-木糖 (1 3)]·O·D葡萄糖(1 4)··D半乳糖苷}(10);7个已知化合物,分别是吉托皂苷元·3·O·D半乳糖苷(2)、吉 托皂苷元-3-O-L-鼠李糖(1 2)--D-半乳糖苷(4)、吉托皂苷元-3-O-D-葡萄糖(1 2)--D-葡萄糖(1 4)--D-半 乳糖苷(5)、吉托皂苷元-3-ひ‐ひ葡萄糖(1 4)-ひ[ -L-鼠李糖(1 2)]-‐ひ半乳糖苷(6)、替告皂苷元-3-ひ‐ひ葡 萄糖(1 4)-の[-L-鼠李糖(1 2)--か半乳糖苷(7)、吉托皂苷元-3-の{-D葡萄糖(1 2)-の[-D木糖(1 3)-O - D 葡萄糖(1 4)--D+乳糖苷}(8)、吉托皂苷元-3-O-D葡萄糖(1 2)-O[-L-鼠李糖(1 4)--D-木糖(1 3) ]- O-D 葡萄糖(1 4)--D 半乳糖苷(9)。体外抗肿瘤活性实验结果显示化合物 5,6,8~10 对肝癌 Hep C2、乳 腺癌 MCF7 和胃癌 S GC7901 肿瘤细胞毒活性较强。结论 玉簪花中的甾体化合物对不同肿瘤细胞具有细胞毒选 择性 ,有一定的抗癌活性 ,同时利用地上部分的花作为药用资源 ,可以实现对该药用植物的可持续利用。

关键词:玉簪花;甾体皂苷;抗肿瘤活性

中图分类号:R284.1 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2010)04-0520-07

**收稿日期**:2009-07-13 基金项目:北京市政府专项基金资助项目(009-0653071)

胡文祥 Tel:(010)68904756 E-mail:huwx66@163.com