(1H,d,*J* = 1.9 Hz,H-8),6.44(1H,d,*J* = 1.9 Hz,H-6),5.54(1H,s,H-1‴),5.38(1H,s,H-1‴),4.22～3.28(8H,m,H-2″～5″,2‴～5‴),1.25(3H,d,*J* = 6.1 Hz,H-6‴),0.92(3H,d,*J* = 5.5 Hz,H-6″)。^{13}C-NMR(CD_3OD) δ:158.0(C-2),136.5(C-3),179.7(C-4),162.9(C-5),99.8(C-6),163.5(C-7),95.6(C-8),161.8(C-9),107.5(C-10),122.4(C-1′),132.0(C-2′,6′),116.6(C-3′,5′),159.8(C-4′),103.5(C-1‴),100.5(C-1″),73.6～71.3(C-2″～5″,2‴～5‴),180.6(C-6‴),17.7(C-6″)。以上光谱数据均与文献报道[10]一致,故鉴定化合物 **11** 为山柰酚-3,7-*O*-α-*L*-二鼠李糖苷。

化合物 12:黄色粉末(甲醇),TLC 喷 $AlCl_3$-乙醇液,紫外(365 nm)下显黄色荧光,盐酸-镁粉反应阳性,Molish 反应阳性,提示该化合物为黄酮苷类化合物。mp 180～181 ℃,分子式为 $C_{21}H_{20}O_{11}$。^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ:12.62(1H,s,5-OH),10.81(1H,brs,7-OH),10.15(1H,brs,4′-OH),8.05(2H,dd,*J* = 2.9,9.6 Hz,H-2′,6′),6.88(2H,dd,*J* = 2.9,9.6 Hz,H-3′,5′),6.42(1H,d,*J* = 2.1 Hz,H-8),6.20(1H,d,*J* = 2.1 Hz,H-6),5.45(1H,d,*J* = 7.5 Hz,H-1‴糖端基质子,示苷键为β构型)。^{13}C-NMR(DMSO-d_6) δ:177.4(C-4),164.1(C-7),161.2(C-5),159.8(C-4′),156.3(C-9),156.2(C-2),133.1(C-3),130.8(C-2′,6′),120.8(C-1′),115.0(C-3′,5′),103.9(C-10),100.8(C-1‴),98.6(C-6),93.6(C-8),77.5(C-5‴),76.4(C-3‴),74.1(C-2‴),69.9(C-4‴),60.6(C-6‴)。综合各光谱数据及与文献对比鉴定为山柰酚-3-*O*-β-*D*-葡萄糖苷[11]。

参考文献:

[1] 龙运光. 侗族常用药物图鉴 [M]. 贵阳:贵州科技出版社,2007.

[2] 魏友霞,陈 立,王军宪. 狭叶米口袋化学成分研究 [J]. 中药材,2007,30(8):954-956.

[3] 唐 丽,李国玉,杨炳友,等. 广枣化学成分的研究 [J]. 中草药,2009,40(4):541-543.

[4] 秦 波,鲁润华,汪汉卿,等. 地涌金莲化学成分的研究 [J]. 天然产物研究与开发,2000,12(2):41.

[5] 刘有强,孔令义. 闹羊花中黄酮类成分研究 [J]. 中草药,2009,40(2):199-201.

[6] Markham K R, Ternal B, Stanley R, *et al*. Carbon-13 NMR studies of flavonoids Ⅲ [J]. *Tetrahedron*, 1978, 34: 1389.

[7] 龚运淮. 天然产物核磁共振碳谱分析 [M]. 昆明:云南科技出版社,1986.

[8] 柳建军,刘锡葵. 黄连木食用部位化学成分研究 [J]. 中草药,2009,40(2):186-189.

[9] 刘 洋,邓玉林,张经华,等. 白蕊草中黄酮类化合物的研究 [J]. 中药材,2009,32(4):518-519.

[10] 魏 峰,阎文枚. 山野豌豆黄酮类化学成分的研究 [J]. 药学学报,1997,32(10):765-768.

[11] 陈 君,许小方,柴光云. 灰毡毛忍冬花蕾的化学成分 [J]. 中国天然药物,2006,4(5):347-351.

连翘水提物化学成分研究

栾 兰[1,2],王钢力[2],林瑞超[2]

(1. 北京中医药大学中药学院,北京 100029; 2. 中国药品生物制品检定所,北京 100050)

摘 要:**目的** 分离鉴定连翘 *Forsythia suspensa* 水提物中的化学成分。**方法** 采用薄层色谱、硅胶柱色谱、凝胶柱色谱和制备高效液相色谱进行分离纯化,通过理化方法和^{1}H-NMR、^{13}C-NMR等谱学技术进行结构鉴定。**结果** 分离得到 9 个化合物,鉴定为β-谷甾醇(β-sitosterol,**1**)、齐墩果酸(oleanolic acid,**2**)、丁二酸(succinic acid,**3**)、正三十二烷(*n*-dotriacontane,**4**)、对羟基苯甲醛(4-hydroxybenzaldehyde,**5**)、槲皮素(quercetin,**6**)、连翘苷(phillyrin,**7**)、连翘醇(rengyol,**8**)、连翘酯苷 A(forsythoside A,**9**)。**结论** 化合物 **4**、**5** 为首次从该属植物中分得。

关键词:连翘;连翘苷;连翘酯苷 A

中图分类号:R284.1 **文献标识码**:A **文章编号**:0253-2670(2010)06-0883-02

连翘为木犀科连翘属植物连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl 的干燥果实,具有清热解毒、消肿散结之功效,主治温热、丹毒、斑疹、疮疡肿毒、瘰疬等症[1]。本实验以连翘水提取物为原料,通过

①**收稿日期**:2009-12-30

作者简介:栾 兰(1978—),女,辽宁大连人,在读博士研究生,研究方向为中药化学成分与质量控制研究。Tel:(010)67095387 13426061652 E-mail:luan9896@126.com

*通讯作者 林瑞超 Tel:(010)67095307 Fax:(010)67023650

柱色谱等手段,对其化学成分进行了初步研究。分离得到 9 个化合物,鉴定为 β-谷甾醇(β-sitosterol,**1**)、齐墩果酸(oleanolic acid,**2**)、丁二酸(succinic acid,**3**)、正三十二烷(*n*-dotriacontane,**4**)、对羟基苯甲醛(4-hydroxybenzaldehyde,**5**)、槲皮素(quercetin,**6**)、连翘苷(phillyrin,**7**)、连翘醇(rengyol,**8**)、连翘酯苷 A(forsythoside A,**9**)。其中化合物 **4**、**5** 为首次从该属植物中分得。

1 仪器与材料

INOVA —500 和 INOVA —400 型核磁共振仪(Varian 公司)。Waters LC-MS QZ2000 型质谱仪(Waters 公司)和 Autospec-UltimaETOF 型质谱仪。高效液相制备色谱(Waters 公司),Pharmadex LH-20(安发玛西亚生物技术上海有限公司)。薄层色谱硅胶(烟台市化学工业研究所)和柱色谱硅胶(青岛海洋化工厂)。连翘水提取物由哈药集团中药二厂提供。

2 提取与分离

连翘水提取物 266 g,加入 10 倍量水分散,经不同体积的氯仿、醋酸乙酯、正丁醇萃取 3 次,得醋酸乙酯部位(约 72 g)、正丁醇部位(约 196 g)。醋酸乙酯部位以硅胶柱色谱,二氯甲烷-甲醇系统梯度洗脱,得化合物 **1**(3.2 mg)、**3**(30.0 mg)、**5**(10.2 mg)、**8**(20.0 mg);部分流份再分别以凝胶柱色谱分离,甲醇-水系统梯度洗脱,得化合物 **6**(9.8 mg);正丁醇部分以硅胶柱色谱,二氯甲烷-甲醇系统梯度洗脱,得化合物 **2**(2.3 mg)、**4**(8.7 mg)、**7**(40 mg)、**8**(100 mg),部分流份再经高效液相制备色谱,甲醇-水系统梯度洗脱,得化合物 **9**(4.3 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**:白色针晶(二氯甲烷-甲醇),mp 138～140 ℃,Liebermann-Burchard 反应阳性,推测为甾体类物质,EI 给出分子离子峰 *m/z* 414[M]$^+$,TLC 检测,与 β-谷甾醇有相同的 Rf 值,且混合后其熔点不下降,故确定该化合物为 β-谷甾醇。

化合物 **2**:白色簇晶(二氯甲烷-甲醇),Liebermann-Burchard 反应阳性,^{1}H-NMR、^{13}C-NMR 谱显示,该化合物可能属于三萜类化合物,结构中含有 7 个 CH_3,薄层色谱与齐墩果酸对照品一致,其光谱数据与文献报道[2]基本一致,故确定该化合物为齐墩果酸。

化合物 **3**:白色片状结晶(甲醇),从 ^{1}H-NMR 上看 δ 2.51 为 2H 的单峰,在溶剂甲醇峰处有羟基信号,结合 ^{13}C-NMR 中 δ 176.2 羰基峰,推测化合物可能为丁二酸,薄层色谱与对照品一致,确定该化合物为丁二酸。

化合物 **4**:白色固体(二氯甲烷)。EI-MS *m/z*:450,437,423,408,394,127,113,99,85,71,57 显示出长链烷烃的典型质谱图;^{1}H-NMR(500 MHz,$CDCl_3$) δ: 0.88 (6H, t, *J* = 6.5 Hz, 2CH_3), 1.25 (30 ×CH_2);与文献对照[3]基本一致,故确定该化合物为正三十二烷。

化合物 **5**:淡黄色固体(甲醇)。^{1}H-NMR(500 MHz,CD_3OD)在 δ 9.71(1H,s)处提示该化合物含有一个醛基氢,δ 6.85 (2H, dd, *J* = 8.4 Hz), 7.71 (2H, dd, *J* = 8.4 Hz),在 ^{1}H-NMR 中没有其他的氢信号,结合 ^{13}C-NMR 提示该化合物为对位或邻位取代苯结构,将光谱数据与对羟基苯甲醛的文献数据[4]对比,完全一致,故确定该化合物为对羟基苯甲醛。

化合物 **6**:黄色粉末(甲醇-水)。^{1}H-NMR(400 MHz,DMSO)在 δ 12.48(1H,s)的氢信号为黄酮类化合物典型的 5 位羟基信号;δ 10.75(1H,s),9.56(1H,s),9.34(1H,s)和 9.28(1H,s)的 4 个单峰为另外 4 个羟基信号;δ 7.66 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 7.52(1H, dd, *J* = 2.0, 8.4 Hz)与 6.8(1H, d, *J* = 8.4 Hz)的 3 个氢原子彼此偶合信号,应为黄酮母核 B 环上 ABX 偶合的 3 个氢;δ 6.40 (1H, d, *J* = 2.0 Hz)与 6.18(1H, d, *J* = 2.0 Hz)的两氢应为 A 环上的两个间位偶合氢。^{13}C-NMR (400 MHz, DMSO)谱给出 15 个碳信号,δ 146.8 (C-2), 135.7 (C-3), 175.8 (C-4), 160.7 (C-5), 98.1 (C-6), 163.8 (C-7), 93.3 (C-8), 156.1 (C-9), 103.0 (C-10), 121.9 (C-1′), 115.6 (C-2′), 145.0 (C-3′), 147.7 (C-4′), 115.0 (C-5′), 120.0 (C-6′)。上述数据与文献报道的数据[5]对照相一致,故确认该化合物为槲皮素。

化合物 **7**:白色粉末(二氯甲烷-甲醇)。^{1}H-NMR(500 MHz,DMSO)在 δ 6.8～7.0 处有芳氢信号,结合 ^{13}C-NMR,提示化合物中含有苯环。^{13}C-NMR 中,δ 60.7, 70.3, 73.2, 76.8, 77.0, 100.1 提示该化合物含有葡萄糖;δ 55.6, 55.4 结合 ^{1}H-NMR 可知为 3 个 OCH_3 信号;δ 68.9, 69.6, 81.2, 86.6 为 4 个连氧碳信号;δ 109.4～148.9 为 12 个芳碳信号,且其中 4 个与氧相连,经与文献对照[1],数据与连翘苷完全一致,故确定该化合物为连翘苷。

化合物 **8**:白色片状结晶(二氯甲烷-甲醇)。^{1}H-NMR (400 MHz, CD_3OD) δ: 1.31～1.68、

(下转第 917 页)

2.1.6 精密度试验:于不同时间精密吸取葛根素对照品液 10μL 进样,测定峰面积,计算,结果 RSD 为 0.81%。精密吸取葛根素对照品溶液 10 μL 注入液相色谱仪,测定峰面积,连续测定 5 d,结果 RSD 为 0.51%。

2.1.7 稳定性试验:取本品样品,照溶出度测定项下方法制备供试品溶液,分别于 0、1、2、4、6 h,取样 10 μL 注入液相色谱仪,分别记录峰面积,结果表明:供试品溶液在 6 h 内稳定,RSD 为 2.23%。

2.1.8 回收率试验:取本品阴性 6 片,分别加入不同量的葛根素对照品,以脱气的蒸馏水 500 mL 为溶剂,照溶出测定项下的方法,测定,计算回收率,结果平均回收率为 98.8%,RSD 为 2.14%。

2.2 溶出度的测定

2.2.1 样品中葛根素测定[5]:取本品 10 片,精密称定,研细,取 0.05 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 30%乙醇 50 mL,密塞,称定质量,超声处理 30 min,取出,放冷,再称定质量,用 30%乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液,取供试品溶液 10 μL 进样测定,并以此量作为 100%溶出时的参考值。

2.2.2 溶出曲线的制备:取本品 6 片,以脱气的蒸馏水 500 mL 为溶出介质,温度控制在 37 ℃±0.5 ℃,转速 100 r/min,供试品进入释放池瞬间开始记时,分别在 3、5、10、20、30、40、50、60 min 时取样 2 mL(同时补充等体积相同温度的溶出介质),立即滤过,续滤液高速离心后,取上清液进样,测定葛根素的质量浓度,计算相对累积溶出率。以取样时间为横坐标,葛根素累积溶出率为纵坐标作图得愈风宁心分散片出曲线,见图 1。结果显示,愈风宁心分散片在 50 min 时溶出接近 90%,具有良好的溶出度。

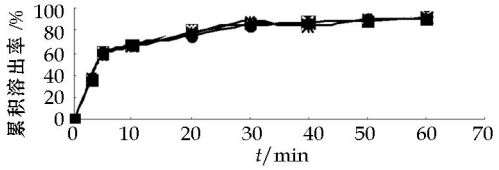

图 1 葛根素溶出曲线图

Fig. 1 Stripping curve of puerarin

3 讨论

愈风宁心分散片由葛根单味药制成,葛根中所含有效成分为葛根异黄酮,其中以葛根素为代表,因而将葛根素作为指标,对愈风宁心分散片的溶出度进行检查。

愈风宁心片剂改为分散片后,在 50 min 时溶出接近 90%。市售愈风宁心片 45 min 时溶出率未到 50%[6],可见葛根素的溶出速度明显提高。所以将愈风宁心片改制成分散片后可提高其溶出度,提高生物利用度。

参考文献:

[1] 刘 娜,张贵君,金哲雄,等. 葛根解表药效组分分析[J]. 现代药物与临床,2009,24(5):294-296.

[2] 金昔陆,朱秀垦. 葛根素在大鼠、家兔、犬中的动物动力学[J]. 中国药理学报,1992,13(5):284.

[3] 崔福德. 药剂学[M]. 北京:人民卫生出版社,2007.

[4] 吴素香,姜宁华. 葛根芩连分散片的制备和葛根素的体外溶出度考察[J]. 中国医院药学杂志,2007,27(5):640.

[5] 邱智东,董金香,王 凯. 康心滴丸中葛根素的 HPLC 测定[J]. 中草药,2005,36(10):1505.

[6] 程 静,钱一鑫. 愈风宁心分散片的制备及体外溶出度的研究[J]. 山地农业生物学报,2009,28(1):93.

(上接第 884 页)

3.44～3.70 为脂肪氢信号;^{13}C-NMR 中 δ 70.8,59.2 为连氧碳信号,与文献对照[1],其数据与连翘醇的数据完全一致,故确定该化合物为连翘醇。

化合物 **9**:白色粉末(甲醇-水)。^{1}H-NMR(400 MHz,CD_3OD)在 δ 4.30(1H,d,J = 7.6 Hz)为葡萄糖的端基氢,且为β构型,结合^{13}C-NMR,该化合物含有葡萄糖和鼠李糖,其中葡萄糖的 C-6 化学位移向低场位移约 7,可知鼠李糖连在此位置上;δ 7.56(1H,d,J = 16 Hz),6.25(1H,d,J = 15.9 Hz)为环外双键氢。^{13}C-NMR 中,δ 114.7～149.7 含有 14 个双键碳,结合^{1}H-NMR 可知该化合物可能含有两个苯环;δ 36.6,72.3 提示含有-CH_2-CH_2-O-结构。^{13}C-NMR(400 MHz,CD_3OD)δ:131.4(C-1),117.1(C-2),146.1(C-3),144.7(C-4),116.3(C-5),121.3(C-6),36.7(C-7),127.7(C-1′),115.2(C-2′),146.8(C-3′),149.7(C-4′),116.3(C-5′),123.1(C-6′),147.7(C-7′),114.7(C-8′)。结合文献,推测该化合物可能为连翘酯苷 A,其数据与文献对照[1],基本一致,故确定该化合物为连翘酯苷 A。

参考文献:

[1] 刘 悦. 连翘水提物的化学成分[D]. 沈阳:沈阳药科大学,2003.

[2] 高 辉,马小军,温学森. 巴西人参的化学成分研究[J]. 中草药,2009,40(4):522-525.

[3] 张前军,杨小生,朱海燕,等. 假木豆脂溶性成分研究[J]. 贵州大学学报:自然科学版,2006,23(3):270-271.

[4] 李药兰,戴 杰,黄伟欢,等. 黄花倒水莲化学成分及其抗病毒活性[J]. 中草药,2009,40(3):345-348.

[5] 刘有强,孔令义. 闹羊花中的黄酮类成分研究[J]. 中草药,2009,40(2):199-201.