

益智复方汤的化学成分研究 I

孙连娜^{1,2}, 李霞², 杨颖博^{2,4}, 王瑞冬^{1,2}, 张汉明¹, 陈万生^{2,3} (1. 中国人民解放军第二军医大学药学院, 上海 200433; 2. 第二军医大学现代中药研究中心, 上海 200433; 3. 第二军医大学长征医院药学部, 上海 200003; 4. 吉林农业大学中药材学院, 吉林 长春 130118)

摘要 目的:研究益智复方汤中的化学成分,为探讨其药效物质基础提供依据。**方法:**采用硅胶柱反复层析分离化合物,并通过理化数据和波谱数据确定其结构。**结果:**从益智复方汤的二氯甲烷萃取部分分得 7 个化合物,分别鉴定为大黄素(I)、大黄素甲醚(II)、大黄酚(III)、原人参二醇(IV)、原人参三醇(V)、 β -谷甾醇(VI)和胡萝卜苷(VII)。**结论:**以上化合物均为首次从益智复方汤中分得,其中化合物 I~III 来源于何首乌;化合物 IV、V 来源于红参。

关键词 益智复方汤;化学成分;结构鉴定

中图分类号:R284

文献标识码:A

文章编号:1006-0111(2008)04-0267-03

Studies on the chemical constituents of Yizhi composite decoction (I)

SUN Lian-na^{1,2}, LI Xia², YANG Ying-bo^{2,4}, WANG Rui-dong^{1,2}, ZHANG Han-ming¹, CHEN Wan-sheng^{2,3} (1. School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 3. Department of Pharmacy, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China; 4. College of Traditional Chinese Medicinal Material, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

ABSTRACT Objective: To study the chemical constituents of Yizhi composite 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, ¹H-NMR, ¹³C-NMR and other data. **Results:** Seven compounds were isolated and identified as emodin (I), physcion (II), chrysophanol (III), panaxadiol (IV), panaxatriol (V), β -sitosterol (VI) and daucosterol (VII). **Conclusion:** All of the compounds were isolated from Yizhi composite decoction for the first time.

KEY WORDS Yizhi composite decoction; chemical constituents

益智复方汤主要由何首乌、红参和淫羊藿等药材合煎而得,具有益肾助阳,补气安神,益智养精之功效,为一临床验方,药理实验表明其具有显著防治老年性痴呆(又称阿尔茨海默病, Alzheimer's disease, AD)的疗效^[1-3]。在进行益智复方防治 AD 药效学研究的同时,为阐明益智复方的药效物质基础,我们对其化学成分进行了较为系统的研究。本文报道从复方水煎剂二氯甲烷萃取部分获得的 7 个化合物,即大黄素(I)、大黄素甲醚(II)、大黄酚(III)、原人参二醇(IV)、原人参三醇(V)、 β -谷甾醇(VI)和胡萝卜苷(VII)的分离和结构鉴定。

1 仪器与材料

日本 Yanaco 显微熔点测定仪(温度计未校正);日立 275-50 红外分析仪(KBr 压片);Bruker-

Spectrospin AC-300P 型核磁共振仪及 Bruker AMX-500 型核磁共振仪;Varian MAT-212 型质谱仪。低压柱色谱硅胶 H 为青岛海洋化工厂出品;HPTLC 板为烟台市化工研究院产品;试剂均为分析纯。

何首乌购自广东德庆,晒干,粉碎,过 14 目筛;红参(80 支)购自吉林靖宇,切制成约 0.3 cm 厚的纵切片,阴干;淫羊藿购自四川成都,切制成约 10 cm 左右的长段;3 种药材经作者鉴定分别为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根;五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的栽培品经蒸制后的干燥根;小檗科植物巫山淫羊藿 *Epimedium wushanense* T. S. Ying 的干燥地上部分,符合 2005 年版《中国药典》(一部)标准,标本存放于第二军医大学药学院生药学教研室。

2 提取和分离

取何首乌粗粉,红参厚片,淫羊藿长段按比例混合(合计 21 kg),加水浸泡,待药材充分吸水后,水

作者简介:孙连娜(1973-),女,博士,副教授。Tel: (021)25074574。
通讯作者:陈万生。E-mail: chenwansheng@21cn.com

蒸气热提,提取3次,每次2h,煎煮液合并浓缩至适当体积后用二氯甲烷萃取,回收溶剂后得二氯甲烷部份。取二氯甲烷部份浸膏(106g)进行低压硅胶柱色谱分离,用石油醚-EtOAc(50:1~1:1)及CHCl₃-CH₃OH(20:1~3:1)梯度洗脱,经反复低压硅胶柱层析、重结晶纯化得化合物I(153mg),II(52mg),III(21mg),IV(46mg),V(24mg),VI(2.6g),VII(229mg)。

3 结构鉴定

化合物I 淡黄色针状结晶(EtOAc),mp:258~260℃,分子式为C₁₅H₁₀O₅。(-)ESI-MS m/z:271。¹H-NMR(DMSO-d₆,δ):2.34(3H,s,3-CH₃),7.00(1H,s,H-2),7.34(1H,s,H-4),7.03(1H,s,H-5),6.45(1H,s,H-7),11.97(1H,s,8-OH),11.89(1H,s,1-OH),11.37(1H,br s,6-OH)。¹³C-NMR(DMSO-d₆,δ):113.1(C-1a),161.3(C-1),123.9(C-2),148.1(C-3),120.3(C-4),132.6(C-4a),134.8(C-5a),108.7(C-5),165.5(C-6),107.8(C-7),164.4(C-8),108.4(C-8a),189.5(C-9),181.0(C-10);21.4(3-CH₃)。以上数据与文献^[4]报道的大黄素(emodin)数据一致。

化合物II 黄色针状结晶(EtOAc),mp:202~204℃,分子式为C₁₆H₁₂O₅。(-)ESI-MS m/z:285。¹H-NMR(DMSO-d₆,δ):2.43(3H,s,3-CH₃),3.94(3H,s,6-OCH₃),7.19(1H,s,H-2),7.54(1H,s,H-4),7.20(1H,d,J=2.5Hz,H-5),6.87(1H,d,J=2.5Hz,H-7),12.15(1H,s,8-OH),11.95(1H,s,1-OH)。¹³C-NMR(DMSO-d₆,δ):113.3(C-1a),161.3(C-1),124.0(C-2),148.4(C-3),120.4(C-4),132.8(C-4a),134.8(C-5a),107.5(C-5),166.0(C-6),106.5(C-7),164.2(C-8),109.8(C-8a),189.8(C-9),181.1(C-10);21.3(3-CH₃);56.2(6-OCH₃)。以上数据与文献^[4]报道的大黄素甲醚(physcion)数据一致。

化合物III 淡黄色针状结晶(EtOAc),mp:197~198℃;分子式为C₁₅H₁₀O₄。(-)ESI-MS m/z:255。R(KBr,cm⁻¹):3450(OH),1678(free C=O),1628(chelated C=O)。¹H-NMR(CDCl₃,δ):2.46(3H,s,3-CH₃);7.08(1H,br,H-2),7.27(1H,dd,J=1.1,8.3Hz,H-7),7.62(1H,br,H-4),7.66(1H,br,H-6),7.80(1H,dd,J=1.1,7.5Hz,H-5)。¹³C-NMR(CDCl₃,δ):113.6(C-1a),162.4(C-1),124.5(C-2),149.3(C-3),119.9(C-4),133.2(C-4a),133.6(C-5a),121.3(C-5),136.9(C-6),124.3(C-7),162.6(C-8),115.8(C-8a),192.4(C-9),181.8(C-10);22.2

(3-CH₃)。以上数据与文献^[4]报道的大黄酚(chrysophanol)数据一致。

化合物IV 白色结晶性粉末(CH₃OH),mp:208~211℃,分子式为C₃₀H₅₂O₃。(-)ESI-MS m/z:459[M-H]⁻。Liebermann-Burchard反应阳性,Molish反应阴性。¹H-NMR(C₅D₅N,δ):5.33(1H,t,J=7.0Hz,H-24),3.91(1H,m,H-12α),3.44(1H,m,H-3α),1.66(3H,s,26-CH₃),1.63(3H,s,27-CH₃),1.43(3H,s,21-CH₃),1.24(3H,s,28α-CH₃),1.06(3H,s,29β-CH₃),1.04(3H,s,18β-CH₃),0.95(3H,s,30α-CH₃),0.90(3H,s,19β-CH₃)。¹³C-NMR-DEPT(吡啶-d₆,δ):39.0(C-1),27.9(C-2),77.6(C-3),39.7(C-4),56.0(C-5),18.4(C-6),34.8(C-7),37.0(C-8),50.1(C-9),39.2(C-10),31.7(C-11),70.6(C-12),48.2(C-13),51.3(C-14),31.0(C-15),26.5(C-16),54.4(C-17),16.1(C-18),15.9(C-19),72.6(C-20),26.7(C-21),35.5(C-22),22.6(C-23),126.0(C-24),130.4(C-25),25.4(C-26),17.3(C-27),28.3(C-28),15.5(C-29),16.7(C-30)。以上数据与文献^[5]报道的20(S)-原人参二醇(panaxadiol)数据一致。

化合物V 白色结晶性粉末(CH₃OH),mp:240~244℃,分子式为C₃₀H₅₂O₄。ESI-MS m/z:476。Liebermann-Burchard反应阳性,Molish反应阴性。¹H-NMR(C₅D₅N,δ):5.35(1H,t,J=6.5Hz,H-24),3.52(1H,m,H-3α);3.67(1H,m,H-6β),4.17(1H,m,H-12α),1.99(3H,s,28α-CH₃),1.64(3H,s,26-CH₃),1.60(3H,s,27-CH₃),1.57(3H,s,30α-CH₃),1.33(3H,s,21-CH₃),1.15(3H,s,19β-CH₃),1.00(3H,s,18β-CH₃),0.85(3H,s,29β-CH₃)。¹³C-NMR-DEPT(C₅D₅N,δ):39.0(C-1),27.7(C-2),78.1(C-3),40.0(C-4),61.8(C-5),68.1(C-6),46.8(C-7),40.8(C-8),49.8(C-9),39.3(C-10),31.7(C-11),70.4(C-12),47.8(C-13),51.2(C-14),30.9(C-15),26.5(C-16),54.6(C-17),17.3(C-18),17.2(C-19),72.6(C-20),26.8(C-21),35.5(C-22),22.6(C-23),125.8(C-24),130.3(C-25),25.5(C-26),17.4(C-27),31.4(C-28),16.11(C-29),16.52(C-30)。以上数据与文献^[5]报道的20(S)-原人参三醇(panaxatriol)数据一致。

化合物VI 白色针状结晶(EtOAc),mp:140~142℃。分子式:(-)ESI-MS m/z:415。IR(KBr,cm⁻¹):3430,2950,1640,1380,950,795。在高效薄层层析板上与β-谷甾醇标准品对照,其R_f值及显色行为相同,混合测定熔点不下降,鉴定为β-谷甾醇(β-sitosterol)。(下转第281页)

3 药理实验

参考 Born 比色法^[8],测定对照物 MCI-154(由本教研室合成)和目标化合物对 ADP 诱导的新西兰大白兔血小板凝集的 IC₅₀。取新西兰大白兔心脏血,离心制备富含血小板血浆 (PRP) 和贫血小板血浆 (PPP)。接通聚集仪电源,使之预热 30 min,恒温在 37 ± 0.1 °C,取 2 只比色杯,1 只加入 PPP 200 μL,另 1 只加入 PRP 200 μL,置聚集仪中预热 5 min,分别向两杯中加入空白溶剂 DMSO 1 μL,用 PPP 杯调节透光率为 100%,用 PRP 杯调节透光率为 0。于装有 PRP 杯中加入配制好的不同浓度的 ADP 溶液,搅拌下观察 3 min 血小板的最大聚集程度,从而摸出诱导剂的阈剂量,将目标化合物配成不同浓度的 DMSO 溶液,加入含 200 μL PRP 的比色管中,同上条件观察血小板的最大聚集程度,计算血小板聚集的抑制百分率,并用回归法求出各目标化合物的 IC₅₀。体外抑制血小板聚集的活性数据见表 2。

表 2 目标化合物的体外抗血小板聚集活性

编号	IC ₅₀ (μmol/L)	编号	IC ₅₀ (μmol/L)
1	11.08	7	7.93
2	7.36	8	6.53
3	6.68	9	2.59
4	11.14	10	3.14
5	3.02	MCI-154	13.95
6	5.44		

4 结果与讨论

经初步的体外抗血小板凝集实验表明,所有目标化合物均对 ADP 引起的血小板聚集有不同程度

的抑制作用,其中化合物(5),(9)和(10)的 IC₅₀ 值分别为 3.02,2.59 和 3.14 μmol/L,抗血小板聚集活性明显比参照化合物强(参照化合物 MCI-154 的 IC₅₀ 为 13.95 μmol/L)。从上面的药理活性数据来看,R 基团引入取代杂环可以增强其血小板聚集的抑制作用,但由于目标化合物的数目有限,难以得出构效关系的结论,有待于进一步的研究。

参考文献:

- [1] 赵东明,刘超美. 6-取代乙酰氨基哌嗪苯基二氢吡嗪酮化合物的合成及其抑制血小板的作用[J]. 第二军医大学学报, 2003,24(5):510.
- [2] 覃 军,王祥志,刘毅敏,等. 6-(4-取代苯基)-5-甲基-4,5-二氢-3(2H)吡嗪酮类化合物的合成及其抑制血小板聚集的作用[J]. 化学研究与应用,2006, 18(9): 1088.
- [3] 王 腾,王礼琛,董 颖. 吡嗪酮类化合物的药用研究进展[J]. 药学进展,2006,30(6):246.
- [4] Yang GM, Liu LM, Xu J. Effects of MCI-154 on Vascular Reactivity and Its Mechanisms After Hemorrhagic Shock in Rats [J]. Journal of Cardiovascular,2006,47(6):751.
- [5] De Hert SG, Lorsomradee S, Cromheecke S, et al. The Effects of Levosimendan in Cardiac Surgery Patients with Poor Left Ventricular Function [J]. Anesthesia & Analgesia (Hagerstown, MD, United States),2007, 104(4):766.
- [6] Thyes M, Lehmann HD, Gries J, et al. 6-Aryl-4,5-dihydro-3(2H)-pyridazinones. A new class of compounds with platelet aggregation inhibiting and hypotensive activities [J]. J Med Chem,1983,26(6):800.
- [7] Thyes M, Lehmann HD, Gries J, et al. 6-Aryl-4,5-dihydro-3(2H)-pyridazinones. A new class of compounds with platelet aggregation inhibiting and hypotensive activities [J]. J Med Chem,1983,26(6):800.
- [8] Born GVR. Aggregation of bloodplatelets by adenosine diphosphate and its reversal[J]. Nature, 1962, 164(4832): 927.

收稿日期:2008-04-14

(上接第 268 页)

化合物Ⅶ白色粉末(EtOAc),mp:287~289 °C。分子式:C₃₅H₆₀O₆。FAB-MS m/z:577(M⁺+1);(-)ESI-MSm/z:;415。IR(KBr,cm⁻¹):3425,2955,1640,1075,1025。在高效薄层层析板上与胡萝卜苷标准品对照,其 R_f 值及显色行为相同,混合测定熔点不下降,鉴定为胡萝卜苷(daucosterol)。

参考文献:

- [1] 吴航宇,李 琳,徐江平,等. 益智复方对学习记忆障碍模型的影响及 β 淀粉样肽细胞毒性的保护作用[J]. 中药材, 2003,26(7):495.

- [2] Xu JP, Wu HY, Li L. Effects of compound Yi-Zhi on D-galactose-induced learning and memory deficits in mice[J]. Chin J Clin Pharmacol Ther,2003,8(1):31.
- [3] 吴航宇,徐江平,靳轶敏. 益智复方对东莨菪碱所致学习记忆障碍模型的影响[J]. 中华临床新医学,2003,3(3):193.
- [4] Yang XW, Gu ZHM, Ma CHM, et al. A New Indole Derivative Isolated from the Root of Tuber Fleecflower (*Polygonum multiflorum*) [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs,1998,29(1):5.
- [5] 王本祥. 人参研究进展 83-88[M]. 天津:天津科学技术出版社,1991:29.
- [6] 于 明,赵余庆. 人参果中一对构型异构体的分离与鉴定[J]. 中草药,2002,33(5):404.

收稿日期:2007-10-26