

天葵抗氧化活性部位的化学成分研究[△]

徐冉*, 胡楚娇, 王聪, 肖海涛, 汤磊[#](贵州医科大学药学院, 贵阳 551000)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)09-1229-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.09.21

摘要 目的: 研究天葵抗氧化活性部位的化学成分。方法: 采用反相硅胶柱色谱和 Sephadex LH-20 柱色谱分离纯化天葵抗氧化活性部位, 根据理化性质和波谱数据分析鉴定化合物结构。结果: 从天葵抗氧化活性部位中分离得到9个化合物, 分别为木兰碱(1)、格列风内酯(2)、红景天苷(3)、阿魏酸(4)、染料木素(5)、2,4-二羟基苯甲酸(6)、绿原酸(7)、咖啡酸(8)、4-羟基香豆酸(9)。结论: 该研究首次证实了天葵的抗氧化活性部位的部分活性物质基础。

关键词 天葵; 化学成分; 抗氧化

Study on the Chemical Constituents in Antioxidant Activity Part of *Semiaquilegia adoxoides*

XU Ran, HU Chujiao, WANG Cong, XIAO Haitao, TANG Lei (School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 551000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the chemical constituents in antioxidant activity part of *Semiaquilegia adoxoides*. METHODS: The antioxidant activity part of *S. adoxoides* were isolated and purified by chromatography on silicagel and Sephadex LH-20 column, and compound structures were identified physicochemical properties and spectral data analysis. RESULTS: Nine compounds were isolated from the antioxidant activity part of *S. adoxoides*, namely magnoflorine (1), griffonilide (2), salidroside (3), ferulic acid (4), genistein (5), 2,4-dihydroxybenzoic acid (6), chlorogenic acid (7), caffeic acid (8) and *p*-coumaric acid (9). CONCLUSIONS: The study confirms the active material basis in antioxidant activity part of *S. adoxoides* for the first time.

KEYWORDS *Semiaquilegia adoxoides*; Chemical constituents; Antioxidant

天葵 *Semiaquilegia adoxoides* (DC.) Makino 属毛茛科天葵植物, 其根入药称为天葵子, 为2015年版《中国药典》(一部) 记载的中药品种, 味甘、苦, 性寒, 有小毒; 具有清热解毒、消肿散结之功效; 用于瘰疬、臃肿、疔疮、跌打损伤、毒蛇咬伤等症的治疗^[1]。该种植物分布于我国长江流域亚热带地区, 主产于江苏、湖南、湖北省, 此外贵州、安徽、云南、广西、江西、浙江等地亦产^[1]。在前期研究中, 笔者对天葵提取物治疗白内障的作用进行了相关的药理学研究, 结果发现天葵提取物具有明显的抗氧化作用^[2-3]。为全面考察天葵的有效成分, 本研究对天葵抗氧化活性部位进行化学成分的分离鉴定, 为明确天葵抗氧化活性成分及拓展其药用价值提供理论依据。

1 材料

1.1 仪器

R-502B 型旋转蒸发仪(上海申生科技有限公司); SHZ-D(III) 型循环水式真空泵(河南巩义英峪予华仪器厂); DK-98-IIA 型电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器

有限公司); LT2001E 型电子分析天平(常熟市天量仪器有限公司); ZF-Z 型三用紫外检测仪(上海市安亭电子仪器厂); X-4 型显微熔点仪(北京泰克仪器有限公司)。

1.2 试剂

D101 型大孔树脂(天津市光复精心化工研究所); 柱层析硅胶(200~300 目, 烟台市江友硅胶开发有限公司); GF254 型薄层层析硅胶板(烟台市芝罘黄务硅胶开发试验厂); 反相 Rp-18 薄层层析板、柱层析用硅胶(德国 Merck 公司); 小孔吸附树脂(MCI, 日本三菱化学株式会社); Sephadex LH-20 色谱用硅胶(美国 AB 公司); 试验所用试剂均为分析纯, 水为重蒸水。

1.3 药材

天葵药材购于贵州省贵阳市, 由贵州医科大学药学院生药学教研室龙庆德副教授鉴定为真品。

2 方法与结果

取天葵药材 20 kg, 粉碎后用甲醇回流提取 4 次, 每次 3 h, 抽滤, 减压浓缩, 得甲醇提取物。依次用乙酸乙酯、正丁醇萃取, 回收溶剂得正丁醇萃取物(浸膏 965.3 g)。正丁醇浸膏(500 g)加水溶解, 经大孔树脂(D101), 以水-甲醇(100:0→0:100, V/V)梯度洗脱, 得 S1、S2、S3、S4、S5、S6 部分。S1(478 g)经硅胶柱(200~300 目)色谱分离, 以氯仿-甲醇(10:1→1:1, V/V)梯度洗脱, 经薄层色谱鉴别富集浓缩, 得到 A~H 部分; B 部分经甲醇重

结晶分离得到化合物2;E部分经过MCI色谱柱,以水-甲醇(100:0→0:100, *V/V*)梯度洗脱,从其中70%甲醇部位经硅胶柱纯化得到化合物1和3;S4和S5部分合并后(21.5 g)经硅胶柱色谱分离,以氯仿-甲醇(100:0→0:100, *V/V*)梯度洗脱,得到a~e部分;a部分经正相硅胶柱,以石油醚-丙酮(10:0→0:10, *V/V*)梯度洗脱,再经Sephadex LH-20凝胶柱,以甲醇-水(1:1, *V/V*)等度洗脱,得到化合物4、5;b部分经反相硅胶柱,以氯仿-甲醇(100:0→0:100, *V/V*)梯度洗脱,得到化合物6、7、8、9。

3 结构鉴定

化合物1:黄色粉末,易溶于水;mp 248~249 °C。ESI-MS *m/z* 342.2[M]⁺; ¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ: 6.78(1H, d, *J*=8 Hz, H-9), 6.67(1H, d, *J*=8 Hz, H-8), 6.64(1H, s, H-3), 4.02(1H, d, *J*=12.8 Hz, H-15), 3.32(3H, s, N-CH₃), 3.07(3H, s, N-CH₃)。 ¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz) δ: 152.1(C-2), 151.0(C-10), 147.3(C-1), 147.0(C-11), 126.3(C-7a), 122.5(C-12), 122.1(C-3a), 121.3(C-14), 118.7(C-8), 118.3(C-13), 111.1(C-9), 110.1(C-3), 70.7(C-15), 62.2(C-5), 56.3(-OCH₃), 54.0(N-CH₃), 56.0(-OCH₃), 43.6(N-CH₃), 31.6(C-7), 24.6(C-4)。与文献[4]对照,其波谱数据完全一致,可确定该化合物为木兰碱(Magnoflorine)。

化合物2:白色方晶,溶于甲醇;mp 178~179 °C。ESI-MS *m/z* 168[M]⁺; ¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ: 6.62(1H, dd, *J*=1.2, 10.0 Hz, H-2), 5.99(1H, dd, *J*=2.4, 10 Hz, H-4), 6.26(1H, dd, *J*=2, 10 Hz, H-5), 5.89(1H, s, H-3), 4.90(1H, d, *J*=10 Hz, H-7a)。 ¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz) δ: 175.9(C-2), 164.8(C-3a), 127.0(C-2), 144.3(C-5), 102.7(C-4), 112.6(C-3), 85.2(C-7a), 80.0(C-7), 73.5(C-6)。与文献[4]对照,其波谱数据完全一致,可确定该化合物为格列风内酯(Griffonilide)。

化合物3:白色针晶,溶于甲醇;mp 160 °C。ESI-MS *m/z* 300[M]⁺; ¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ: 7.02(2H, d, *J*=8.4 Hz, H-4, 8), 6.70(2H, d, *J*=8.4 Hz, H-5, 7), 4.26(1H, d, *J*=7.6 Hz, H-1')。 ¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz) δ: 157.7(C-6), 131.6(C-3), 131.9(C-4, 8), 115.2(C-5, 7), 104.2(C-1'), 78.8(C-3'), 77.6(C-5'), 72.4(C-2'), 71.0(C-4'), 70.5(C-1), 62.2(C-6'), 35.4(C-2)。与文献[5]对照,其波谱数据完全一致,可确定该化合物为红景天苷(Salidroside)。

化合物4:无色针状晶体;mp 174 °C。ESI-MS *m/z*: 194[M]⁺; ¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ: 7.17(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-2), 6.81(1H, d, *J*=8.0 Hz, H-5), 7.05(1H, dd, *J*=8.0, 2.0 Hz, H-6), 7.59(1H, d, *J*=16.0 Hz, H-7), 6.31(1H, d, *J*=16.0 Hz, H-8), 3.89(3H, s, -OCH₃)。 ¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz) δ: 127.8(C-1), 116.5(C-2), 150.5(C-3), 149.3(C-4), 116.0(C-5), 123.9(C-6), 146.8(C-7), 111.7(C-8), 171.0(C-9), 56.4

(-OCH₃)。与文献[6]对照,其波谱数据完全一致,可确定该化合物为阿魏酸(Ferulic acid)。

化合物5:黄色粉末;mp 297~298 °C。ESI-MS *m/z* 270[M]⁺; ¹H-NMR (DMSO-*d*₆) δ: 12.97(C₅-OH), 10.91(C₇-OH), 9.61(C₄-OH), 8.33(1H, s, H-2), 7.38(2H, d, H-2', 6'), 6.82(2H, d, H-3', 5'), 6.39(1H, s, H-8), 6.23(1H, s, H-6)。 ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆) δ: 93.6(C-8), 98.8(C-6), 104.3(C-10), 114.9(C-3', 5'), 121.1(C-3), 122.2(C-1), 130.1(C-2', 6'), 153.9(C-2), 157.3(C-9), 157.5(C-4), 161.9(C-5), 164.2(C-7), 180.1(C-4)。与文献[7]对照,其波谱数据完全一致,可确定该化合物为染料木素(Genistein)。

化合物6:白色针晶,溶于甲醇;mp 225~227 °C。ESI-MS *m/z* 154[M]⁺; ¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ: 7.74(1H, d, *J*=8.7 Hz), 6.40(1H, dd, *J*=2.4, 8.7 Hz), 6.33(1H, d, *J*=2.4 Hz)。与文献[7]对照,其氢谱数据完全一致,可确定该化合物为2,4-二羟基苯甲酸(2,4-Dihydroxybenzoic acid)。

化合物7:白色粉末,溶于甲醇;mp 208~209 °C;ESI-MS *m/z* 353[M-H]⁺; ¹H-NMR (DMSO-*d*, 400 MHz) δ: 7.42(1H, d, *J*=15.6 Hz, H-7'), 7.03(1H, d, *J*=1.8 Hz, H-2'), 6.98(1H, dd, *J*=8.4, 1.8 Hz, H-6'), 6.76(1H, d, *J*=8.4 Hz, H-5'), 6.14(1H, d, *J*=15.6 Hz, H-8'), 5.07(1H, dd, *J*=4.2, 7.2 Hz, H-3), 4.90(1H, d, *J*=4.2 Hz, H-5), 3.56(1H, d, *J*=4.2 Hz, H-4), 1.99-2.03(2H, m, H-2a, 6a), 1.76, 1.96(2H, m, H-2b, 6b)。 ¹³C-NMR (DMSO-*d*, 100 MHz) δ: 174.9(C-7), 165.7(C-9'), 148.3(C-4'), 145.5(C-3'), 144.9(C-7'), 125.6(C-1'), 121.3(C-6'), 115.7(C-5'), 114.7(C-2'), 114.3(C-8), 73.5(C-1), 70.8(C-4), 70.4(C-3), 68.1(C-5), 37.2(C-2), 36.3(C-6)。与文献[8]对照,其波谱数据完全一致,可确定该化合物为绿原酸(Chlorogenic acid)。

化合物8:黄色粉末,溶于甲醇;mp 223~225 °C。ESI-MS *m/z* 179[M-H]⁺; ¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ: 7.55(1H, d, *J*=15.6 Hz, H-7), 7.05(1H, d, *J*=1.8 Hz, H-2), 6.95(1H, dd, *J*=8.4, 1.8 Hz, H-6), 6.80(1H, d, *J*=8.4 Hz, H-5), 6.23(1H, d, *J*=15.6 Hz, H-8)。 ¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz) δ: 171.0(C-9), 149.4(C-4), 147.0(C-7), 146.8(C-3), 127.8(C-1), 123.8(C-6), 116.5(C-5), 115.5(C-8), 115.1(C-2)。与文献[9]对照,其波谱数据完全一致,可确定该化合物为咖啡酸(Caffeic acid)。

化合物9:白色无定形粉末;mp 214~215 °C。ESI-MS *m/z* 164[M-H]⁺; ¹H-NMR (DMSO-*d*, 400 MHz) δ: 7.65(2H, d, *J*=5.4 Hz), 6.50(2H, d, *J*=5.8 Hz), 7.67(1H, d, *J*=16.1 Hz), 6.30(1H, d, *J*=15.7 Hz)。 ¹³C-NMR (DMSO-*d*, 100 MHz) δ: 168.5(C-9), 158.6(C-4), 140.5(C-7), 132.5(C-2, 6), 126.2(C-1), 118.4(C-8), 115.1

精源胶囊的质量标准研究^Δ

段丽^{1*}, 张永萍^{1#}, 徐剑¹, 连薇薇¹, 闻家政², 钟敬根²(1. 贵阳中医学院药学院, 贵阳 550025; 2. 贵州泰尔医药研究所, 贵阳 550002)

中图分类号 R283.6; R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)09-1231-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.09.22

摘要 目的: 建立精源胶囊的质量标准。方法: 采用薄层色谱法(TLC)对制剂中的淫羊藿、太子参和何首乌进行定性鉴别。采用高效液相色谱法测定制剂中淫羊藿苷的含量; 色谱柱为 Odsyll C₁₈, 流动相为乙腈-水(28:72, V/V), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 270 nm, 柱温为 30 ℃, 进样量为 10 μL; 采用苯酚-硫酸法测定制剂中多糖的含量。结果: 淫羊藿、太子参和何首乌 TLC 图斑点清晰, 分离度好, 阴性对照无干扰。淫羊藿苷检测质量浓度线性范围为 0.027~0.135 mg/mL($r=0.999\ 9$); 精密性、稳定性、重复性试验的 RSD<2.0%; 加样回收率为 97.87%~101.94% (RSD=1.47%, $n=9$)。葡萄糖检测质量浓度线性范围为 0.056~0.121 mg/mL($r=0.999\ 5$); 精密性、稳定性、重复性试验的 RSD<2.0%; 加样回收率为 99.37%~100.38% (RSD=0.36%, $n=6$)。结论: 本研究所建标准可用于精源胶囊的质量控制。

关键词 精源胶囊; 质量标准; 薄层色谱法; 淫羊藿苷; 多糖; 高效液相色谱法

Study on Quality Standard of Jingyuan Capsules

DUAN Li¹, ZHANG Yongping¹, XU Jian¹, ZUO Weiwei¹, WEI Jiazheng², ZHONG Jinggen²(1. College of Pharmacy, Guiyang College of TCM, Guiyang 550025, China; 2. Guizhou Taier Medical Institute, Guiyang 550002, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard of Jingyuan capsule. METHODS: TLC was used for qualitative iden-

(C-3, 5)。与文献[10]对照, 其波谱数据完全一致, 可确定该化合物为 4-羟基香豆酸(*p*-Coumaric acid)。

4 结论

在前期研究中, 本课题组确定了天葵改善白内障模型动物状态的抗氧化有效部位。本研究首次对天葵抗氧化有效部位的化学成分进行分离鉴定, 共分离得到 9 个化合物, 并鉴定为木兰碱(1)、格列风内酯(2)、红景天苷(3)、阿魏酸(4)、染料木素(5)、2, 4-二羟基苯甲酸(6)、绿原酸(7)、咖啡酸(8)、4-羟基香豆酸(9)。证实了天葵的抗氧化活性部位的部分活性物质基础, 研究结果可为进一步深入开展天葵药效活性评价提供参考。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2015 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 59.
- [2] 汤磊. 一种天葵提取物及其制备方法和应用: 中国, 2009 10312563. 3[P]. 2010-07-14.
- [3] 徐冉, 肖海涛, 王建塔, 等. 天葵化学成分及其药理作用研

Δ 基金项目: 国家工程技术研究中心组建项目(No. 2014FM125Q09); 贵州省中药现代化科技产业研究开发专项项目(No. 黔科合中药字[2013]5009); 贵州省普通高等学校工程研究中心建设项目(No. 黔教合 KY 字[2014]22 号); 贵州省高层次创新型人才培养项目(No. 黔科合人才[2015]4030 号)

* 硕士研究生。研究方向: 中药、民族药新制剂与新剂型。E-mail: 2528022966@qq.com

通信作者: 教授, 硕士生导师。研究方向: 中药、民族药新制剂与新剂型。电话: 0851-5652056。E-mail: zgygpg@126.com

究进展[J]. 中国天然产物研究与开发, 2014, 26(7): 1154-1159.

- [4] Zuliani T, Denis V, Noblesse E, et al. Hydrogen peroxide-induced cell death in normal human keratinocytes is differentiation dependent[J]. *Free Radic Biol Med*, 2005, 38(3): 307-316
- [5] Han QB, Jiang B, Ding G, et al. Constituents from the roots of *Semiaquilegia adoxoides*[J]. *Fitoterapia*, 2001, 72(20): 86-92.
- [6] Niu F, Xie GB. Chemical constituents from roots of *Semiaquilegia adoxoides*[J]. *J Chin Pharm Sci*, 2006, 15(4): 251-254.
- [7] 王业玲, 李占林, 华会明. 天葵子化学成分研究[C]// 第九届全国中药和天然药物学术研讨会大会报告及论文集. 南昌, 2007.
- [8] Cui CB, Yasuhiro T, Tohru K. constituents of a fern, *Davallia mariesii* Moore. I. Isolation and structures of davallialactone and a new flavanone glucuronide[J]. *Chem Pharm Bull*, 1990, 38(12): 3218-3225.
- [9] 冯薇, 刘敏彦, 李琛. 淡豆豉化学成分及其体外促成骨细胞增殖活性研究[J]. 中国药学杂志, 2016, 51(3): 203-206.
- [10] 谭兴起, 郭良君, 郑巍, 等. 白枪杆的化学成分研究: I [J]. 中国药房, 2013, 24(42): 4081-4083.

(收稿日期: 2016-04-22 修回日期: 2016-11-22)

(编辑: 张 静)