

美丽芍药中酚酸类成分的研究

梁文娟¹, 郝建宇¹, 尹迪¹, 孙春吉¹, 王洪玲^{2*}

(1. 云南农业大学食品科学技术学院, 云南 昆明 650201; 2. 江西中医药大学中药资源与民族药研究中心, 江西 南昌 330004)

摘要: **目的** 研究美丽芍药 *Paeonia mairei* Levl. 中的酚酸类成分。**方法** 美丽芍药 70% 乙醇提取物采用 D101、硅胶、Sephadex LH-20、HPLC 进行分离纯化, 根据理化性质及波谱数据鉴定所得化合物的结构。**结果** 从中分离得到 9 个化合物, 分别鉴定为反式对羟基肉桂酸 (**1**)、反式肉桂酸 (**2**)、阿魏酸 (**3**)、咖啡酸 (**4**)、原儿茶酸 (**5**)、香草醛 (**6**)、儿茶素 (**7**)、表儿茶素 (**8**)、没食子酸 (**9**)。**结论** 化合物 **1~8** 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 美丽芍药; 酚酸类; 分离鉴定

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2020)06-1512-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.06.023

Phenolic constituents from *Paeonia mairei*

LIANG Wen-juan¹, XI Jian-yu¹, YIN Di¹, SUN Chun-ji¹, WANG Hong-ling^{2*}

(1. College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 2. Research Center for the Resourcing of Traditional Chinese Medicine and Minority Medicine, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

ABSTRACT: **AIM** To study the phenolic constituents from *Paeonia mairei* Levl.. **METHODS** The 70% ethanol extract from *P. mairei* was isolated and purified by D101, silica, Sephadex LH-20 and HPLC, then the structures of obtained compounds were identified by physicochemical properties and spectral data. **RESULTS** Nine compounds were isolated and identified as phenolic constituents. They were deduced to be *E-p*-hydroxy-cinnamic acid (**1**), *trans*-cinnamic acid (**2**), ferulic acid (**3**), caffeic acid (**4**), protocatechuic acid (**5**), vanillin (**6**), catechin (**7**), epicatechin (**8**), gallic acid (**9**). **CONCLUSION** Compounds **1~8** are isolated from this plant for the first time.

KEY WORDS: *Paeonia mairei* Levl.; phenolic; isolation and identification

芍药科世界上仅一属^[1-2], 芍药属植物大多可供药用, 其中的常用药材白芍、赤芍和牡丹皮等收录于历代本草和历版《中国药典》; 对芍药属植物的化学成分研究主要集中在芍药苷及其同系物等单萜苷类物质, 对其药理活性的研究主要围绕中枢神经和心血管系统保护、抗炎保肝、抗肿瘤和止痛等作用^[3-5]。为丰富对芍药属植物化学成分和药用资源的认识, 本研究对采自云南巧家的美丽芍药的根进行化学成分研究。美丽芍药 *Paeonia mairei* Levl.

为芍药科芍药属多年生草本植物, 分布于云南东北部、贵州西部、四川中南部、甘肃和陕西南部, 模式标本采自云南巧家; 美丽芍药的根可药用, 具有行瘀活血、止痛之效^[6], 在云南当地有一定的用药基础。目前关于美丽芍药的化学成分和药理活性研究较少^[7-8]。迄今为止, 已知成分主要包括生物碱、萜、甾体、蒽醌类的 19 个化合物^[7-8]。本实验对美丽芍药干燥根的 70% 乙醇部位进行化学成分研究, 共分离鉴定出 9 个酚酸类化合物, 其中化合物 **1~8** 为首次从该植物中分离得到。

收稿日期: 2019-09-10

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (31600279); 云南省应用基础研究计划面上项目 (2017FB029)

作者简介: 梁文娟 (1985—), 女, 博士, 讲师, 从事天然产物化学成分和活性研究。Tel: (0871) 65227843, E-mail: liangwenjuan2007@163.com

* 通信作者: 王洪玲 (1983—), 博士, 讲师, 从事中药及民族药药效物质基础研究。Tel: (0791) 87119067, E-mail: century-maomao2008@163.com

1 材料

岛津 LC-MS-IT-TOF 质谱仪 (日本岛津公司); Waters AutoSpec Premier P776 离子阱飞行时间质谱仪、高效液相色谱 (美国 Waters 公司); 核磁共振仪 Bruker DRX-500 (德国布鲁克公司); 薄层色谱硅胶、柱层析硅胶 (200~300 目, 烟台江友硅胶开发有限公司); 柱层析葡聚糖凝胶 LH-20 (美国 Pharmacia 公司); Milli-Q Advantage A10 超纯水系统 (美国 Millipore 公司)。分析纯甲醇、乙醇、二氯甲烷、丙酮 (天津化学试剂有限公司); 显色剂为自制 H_2SO_4 (10%) 乙醇溶液。

样品于 2016 年 9 月采自云南巧家, 由中国科学院昆明植物研究所张书东副研究员鉴定为美丽芍药 *Paeonia mairei* Levl., 标本存放于云南农业大学食品学院 (20160926)。

2 提取与分离

美丽芍药干燥根 3.5 kg, 经粉碎后用 70% 乙醇, 回流提取 3 次, 每次 1 h, 提取液经减压浓缩至小体积, 将浓缩液过 D101 大孔树脂, 分别用水、30% 乙醇、50% 乙醇、70% 乙醇洗脱得水部位 (Fr. 1: 210 g)、30% 乙醇部位 (Fr. 2: 72 g)、50% 乙醇部位 (Fr. 3: 32 g)、70% 乙醇部位 (Fr. 4: 23 g)。Fr. 4 经硅胶柱色谱, 以二氯甲烷-丙酮梯度洗脱, 得 5 个部分 Fr. 4-1 ~ Fr. 4-5。Fr. 4-2 经 Sephadex LH-20 (甲醇) 洗脱, 再经反复硅胶柱层析和 HPLC 等方法分离纯化得化合物 **1** (5 mg)、**2** (4 mg)、**3** (6 mg)、**9** (5 mg)。Fr. 4-3 经反复硅胶柱色谱和 Sephadex LH-20 凝胶柱层析, 得化合物 **5** (4 mg)、**7** (4 mg)、**8** (5 mg)。Fr. 4-5 通过硅胶柱层析, 经甲醇-二氯甲烷体系梯度洗脱 (10 : 90、20 : 80、30 : 70、50 : 50、100 : 0), 再经 Sephadex LH-20 多次纯化, 得化合物 **4** (6 mg)、**6** (5 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色无定型粉末, $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$, ESI-MS m/z : 165.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500 MHz) δ : 7.59 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-2), 7.44 (2H, dd, $J=8.6, 1.9$ Hz, H-5, 9), 6.80 (2H, dd, $J=8.6, 1.9$ Hz, H-6, 8), 6.27 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-3); $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 125 MHz) δ : 171.0 (s, C-1), 115.6 (d, C-2), 146.6 (d, C-3), 127.2 (s, C-4), 131.1 (d, C-5, 9), 116.8 (d, C-6, 8), 161.2 (s, C-7)。以上数据与文献 [9] 基本一致, 故鉴定为反式对羟基肉桂酸。

化合物 **2**: 白色无定型粉末, $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_2$, ESI-MS m/z : 149.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500 MHz) δ : 7.67 (1H, d, $J=16.0$ Hz, H-3), 7.59 (2H, m, H-5, 9), 7.39 (3H, m, H-6, 7, 8), 6.47 (1H, d, $J=16.0$ Hz, H-2); $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 125 MHz) δ : 171.0 (s, C-1), 119.4 (d, C-2), 146.3 (d, C-3), 135.8 (s, C-4), 130.0 (d, C-5, 9), 129.2 (d, C-6, 8), 131.4 (d, C-7)。以上数据与文献 [10] 基本一致, 故鉴定为反式肉桂酸。

化合物 **3**: 白色无定型粉末, $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$, ESI-MS m/z : 195.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500 MHz) δ : 7.59 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-3), 7.17 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-5), 7.05 (1H, dd, $J=8.2, 2.0$ Hz, H-9), 6.80 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-8), 6.30 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-2), 3.88 (3H, s, $-\text{OCH}_3$); $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 125 MHz) δ : 171.0 (s, C-1), 115.9 (d, C-2), 146.9 (d, C-3), 127.8 (s, C-4), 111.7 (d, C-5), 150.5 (s, C-6), 149.4 (s, C-7), 116.4 (d, C-8), 124.0 (d, C-9), 56.4 (s, $-\text{OCH}_3$)。以上数据与文献 [11] 基本一致, 故鉴定为阿魏酸。

化合物 **4**: 白色无定型粉末, $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$, ESI-MS m/z : 203.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500 MHz) δ : 7.52 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-3), 7.02 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-5), 6.92 (1H, dd, $J=8.2, 2.1$ Hz, H-9), 6.76 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-8), 6.21 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-2); $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 125 MHz) δ : 171.0 (s, C-1), 115.5 (d, C-2), 147.0 (d, C-3), 127.8 (s, C-4), 115.1 (d, C-5), 149.5 (s, C-6), 146.8 (s, C-7), 116.5 (d, C-8), 122.8 (d, C-9)。以上数据与文献 [12] 基本一致, 故鉴定为咖啡酸。

化合物 **5**: 白色无定型粉末, $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$, ESI-MS m/z : 177.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500 MHz) δ : 7.42 (2H, overlapped, H-3, H-7), 6.78 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 125 MHz) δ : 170.2 (s, C-1), 123.1 (s, C-2), 117.7 (d, C-3), 146.1 (s, C-4), 151.5 (s, C-5), 115.7 (d, C-6), 123.9 (d, C-7)。以上数据与文献 [11] 基本一致, 故鉴定为原儿茶酸。

化合物 **6**: 白色无定型粉末, $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$, ESI-MS m/z : 153.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500 MHz) δ : 9.74 (1H, s, H-1), 7.42 (2H, over-

lapped, H-3, H-7), 6.93 (1H, d, $J=7.9$ Hz, H-6), 3.91 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ : 192.9 (d, C-1), 130.7 (s, C-2), 111.3 (d, C-3), 149.7 (s, C-4), 154.7 (s, C-5), 116.3 (d, C-6), 127.9 (d, C-7), 56.3 (s, -OCH₃)。以上数据与文献 [13] 基本一致, 故鉴定为香草醛。

化合物 7: 黄色无定型粉末, C₁₅ H₁₄ O₆, ESI-MS m/z : 413.2 [M+Na]⁺。 ¹H-NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ : 6.85 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2'), 6.76 (2H, overlapped, H-5', 6'), 5.97 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-8), 5.87 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-6), 4.58 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-2), 4.00 (1H, m, H-3), 2.85 (1H, m, H-4a), 2.53 (1H, m, H-4b); ¹³C-NMR CD₃OD, 125 MHz) δ : 82.7 (d, C-2), 68.8 (d, C-3), 28.5 (t, C-4), 157.6 (s, C-5), 96.3 (d, C-6), 157.9 (s, C-7), 95.5 (d, C-8), 156.9 (s, C-9), 100.8 (s, C-10), 132.2 (s, C-1'), 115.2 (d, C-2'), 146.2 (s, C-3'), 146.3 (s, C-4'), 116.1 (d, C-5'), 120.0 (d, C-6')。以上数据与文献 [14] 基本一致, 故鉴定为儿茶素。

化合物 8: 黄色无定型粉末, C₁₅ H₁₄ O₆, ESI-MS m/z : 389.1 [M-H]⁻。 ¹H-NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ : 6.96 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2'), 6.79 (2H, overlapped, H-5', 6'), 5.93 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-8), 5.90 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-6), 4.81 (1H, s, H-2), 4.16 (1H, m, H-3), 2.86 (1H, m, H-4a), 2.73 (1H, m, H-4b); ¹³C-NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ : 79.9 (d, C-2), 67.5 (d, C-3), 29.3 (t, C-4), 157.7 (s, C-5), 96.4 (d, C-6), 158.0 (s, C-7), 95.9 (d, C-8), 157.4 (s, C-9), 100.0 (s, C-10), 132.3 (s, C-1'), 115.3 (d, C-2'), 145.8 (s, C-3'), 145.9 (s, C-4'), 115.9 (d, C-5'), 119.4 (d, C-6')。以上数据与文献 [14] 基本一致, 故鉴定为表儿茶素。

化合物 9: 白色无定型粉末, C₇H₆O₅, ESI-MS m/z : 193.2 [M+Na]⁺。 ¹H-NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ : 7.05 (2H, s, H-3, H-7); ¹³C-NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ : 170.4 (s, C-1), 121.9 (s, C-2), 110.3 (d, C-3, 7), 146.4 (d, C-4, 6), 139.6 (d, C-5)。以上数据与文献 [7] 基本一致, 故鉴定为没食子酸。

4 讨论

本研究从美丽茛药根 70% 乙醇部分离鉴定出 9

个化合物, 主要涉及小分子酚酸类成分, 其中化合物 1~8 为首次从该植物中分离得到。以上酚酸类成分都有不同程度活性研究报道, 其中 Zeni 等^[15]发现阿魏酸具有抗抑郁作用, 其逆转 CUMS 诱导的抑郁行为可能与影响 5-羟色胺能神经系统有关。尹雪等^[16]发现原儿茶酸对 1-甲基-4-苯基-1, 2, 3, 6-四氢吡啶诱导的帕金森病模型小鼠有保护作用, 通过提高帕金森病模型小鼠中脑和纹状体内多巴胺 D2 受体和酪氨酸羟化酶表达, 降低诱导型一氧化氮合酶的表达发挥作用。肉桂酸作为桂枝茯苓丸的主要起效物质, 具有活血化瘀、消炎止痛、镇静等作用^[17]。前期药理学研究指出咖啡酸具有抗氧化、抗炎、镇痛、免疫调节等药理作用, 提示其在防治氧化应激和炎症反应中可能的应用前景^[18]。基于此, 为了丰富对美丽茛药植物资源的认识, 有必要对分离得到的单体化合物进行更深入的活性筛选, 为该植物药用资源的开发利用提供数据支撑。

参考文献:

[1] 潘开玉. 茛药科分布格局及其形成的分析[J]. 植物分类学报, 1995, 33(4): 340-349.

[2] 于 津, 肖培根. 茛药科化学和系统学的初步研究[J]. 植物分类学报, 1987, 25(3): 172-179.

[3] 金英善, 陈曼丽, 陶 俊. 茛药化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2013, 27(4): 745-750.

[4] 李 鲜, 黎胜红, 普建新, 等. 川赤茛的化学成分研究[J]. 云南植物研究, 2007, 29(2): 259-262.

[5] 汤明杰, 叶永山, 张 旗, 等. 牡丹皮的化学成分及药理作用研究进展 [C] // 中华中医药学会中药化学分会第八届学术年会论文集. 北京: 中华中医药学会, 2013: 160-167.

[6] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1979, 27: 50.

[7] 石 钰, 马养民, 康永祥, 等. 美丽茛药化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(23): 104-106.

[8] 梁文娟, 王洪玲, 贯玉宽, 等. 美丽茛药化学成分的研究[J]. 中成药, 2019, 41(12): 2937-2940.

[9] 肖美添, 叶 静, 洪本博, 等. 白苞蒿化学成分研究[J]. 中国药学杂志, 2011, 46(6): 414-417.

[10] 李小军, 黄玮超, 李 芝, 等. 吴茱萸五加叶化学成分研究[J]. 中草药, 2014, 45(19): 2748-2751.

[11] 靳 鑫, 时圣明, 张东方, 等. 穿心莲化学成分的研究(II) [J]. 中草药, 2014, 45(2): 164-169.

[12] 褚纯隽, 李显伦, 夏 龙, 等. 乌饭树叶的抗补体活性成分研究[J]. 中草药, 2014, 45(4): 458-465.

[13] 李海波, 于 洋, 王振中, 等. 热毒宁注射液抗病毒活性成分研究(I) [J]. 中草药, 2014, 45(12): 1682-1688.

[14] 杨敏杰, 骆世洪, 黎胜红. 新樟茎的化学成分研究[J]. 中草药, 2015, 46(6): 791-797.

[15]

Zeni A L B, Zomkowski A D E, Maraschin M, *et al.* Ferulic acid exerts antidepressant-like effect in the tail suspension test in mice: evidence for the involvement of the serotonergic system [J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 679(s1-3): 68-74.

[16]

尹 雪, 苏新云, 王秀华, 等. 原儿茶酸对帕金森病模型小鼠中脑和纹状体 D2DR、iNOS 和 TH 表达的影响[J]. 中草药, 2015, 46(6): 866-870.

[17]

吴素香, 石森林, 葛卫红, 等. 桂枝茯苓丸有效成分与物质组的溶出相关性[J]. 中成药, 2016, 38(11): 2360-2365.

[18]

杨九凌, 祝晓玲, 李成文, 等. 咖啡酸及其衍生物咖啡酸苯乙酯药理作用研究进展[J]. 中国药学杂志, 2013, 48(8): 577-582.

HPLC 法同时测定茶芎苯酞类有效部位中 5 种成分

钟应淮^{1,2}, 张国松^{2,3}, 奉建芳^{1,2}, 程 劭², 夏明艳², 刘 梦^{1,2}, 李东勲^{2,3}, 刘雪梅^{1*}
(1. 广西中医药大学药学院, 广西南宁 530200; 2. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西南昌 330006; 3. 江西中医药大学, 江西南昌 330006)

摘要: **目的** 建立 HPLC 法同时测定茶芎 *Lgusticum sinense* Oliv. cv. Chaxiong. 苯酞类有效部位中洋川芎内酯 A、正丁基苯酞、新蛇床内酯、*Z*-藁本内酯、丁烯基苯酞的含有量。**方法** 茶芎苯酞类有效部位样品甲醇提取物的分析采用 AkzoNobel Kromasil® 100-5-C₁₈ 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相水-乙腈, 梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃; 洋川芎内酯 A、*Z*-藁本内酯检测波长 280 nm, 正丁基苯酞、新蛇床内酯、丁烯基苯酞检测波长 230 nm。**结果** 洋川芎内酯 A、正丁基苯酞、新蛇床内酯、*Z*-藁本内酯、丁烯基苯酞分别在 18.08~289.34 μg/mL (*r*=0.999 9)、1.02~16.40 μg/mL (*r*=0.999 9)、8.32~133.11 μg/mL (*r*=0.999 8)、21.71~347.36 μg/mL (*r*=0.999 9)、1.14~18.22 μg/mL (*r*=0.999 6) 范围内线性关系良好, 平均加样回收率分别为 99.03%、98.25%、97.78%、99.35%、97.95%, RSD 分别为 0.33%、1.07%、0.33%、0.59%、1.01%。**结论** 该方法稳定可靠, 可用于茶芎苯酞类有效部位的质量控制。

关键词: 茶芎; 有效部位; 洋川芎内酯 A; 正丁基苯酞; 新蛇床内酯; *Z*-藁本内酯; 丁烯基苯酞; HPLC

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2020)06-1515-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.06.024

Simultaneous determination of five constituents in phthalide target areas of *Lgusticum sinense* by HPLC

ZHONG Ying-huai^{1,2}, ZHANG Guo-song^{2,3}, FENG Jian-fang^{1,2}, CHENG Meng², XIA Ming-yan², LIU Meng^{1,2}, LI Dong-xun^{2,3}, LIU Xue-mei^{1*}
(1. College of Pharmacy, Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530200, China; 2. National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine, Nanchang 330006, China; 3. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish an HPLC method for the simultaneous content determination of senkyunolide A, *N*-butylphthalide, new osthol lactone, *Z*-ligustilide and butenyl phthalide in phthalide target areas of *Lgusticum sinense* Oliv. cv. Chaxiong. **METHODS** The analysis of methanol extract of pathalide target areas of Chaxiong was performed on a 30 ℃ thermostatic Kromasil 100-5-C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of water-acetonitrile flowing at 1.0 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wave-

收稿日期: 2019-05-08
基金项目: 江西省重点研发计划项目 (20171ACH80003); 江西省主要学科学术和技术带头人资助项目 (20182BCB22023); 江西省中药学一流学科专项科研基金项目 (JXSYLXK-ZHYA0051)
作者简介: 钟应淮, 男, 硕士生, 研究方向为药物新制剂与新剂型。Tel: 15578963306, E-mail: yh_0218@yeah.net
* 通信作者: 刘雪梅, 女, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为制药新技术与剂型设计, 民族药、优势中成药新药开发。Tel: (0771) 3137585, E-mail: lenarecome@aliyun.com