

复方三子养亲汤中酚酸类成分

段礼新¹, 余正江¹, 冯宝民², 裴月湖¹, 华会明¹, 王永奇²

(1. 沈阳药科大学 中药学院, 辽宁 沈阳 110016; 2. 大连大学 生物工程学院, 辽宁 大连 116622)

摘要: 目的 研究三子养亲汤镇咳平喘有效组分的化学成分。方法 复方三子养亲汤用质量分数为 95% 的乙醇溶液回流提取, 提取物用适量水混悬, 分别用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取。乙酸乙酯部位利用多种色谱方法进行分离纯化, 通过理化性质和波谱数据进行结构鉴定。结果 从三子养亲汤乙酸乙酯部位中分离并鉴定了 7 个化合物, 分别为迷迭香酸甲酯(1)、oxindole-3-acetic acid(2)、对羟基苯乙酸(3)、反式芥子酸(4)、3,4-二羟基苯甲酸(5)、邻羟基苯甲酸(6)、丁二酸(7)。结论 7 个化合物均首次从三子养亲汤中分离得到, 其中 2-7 为首次从各味药中分离得到。

关键词: 三子养亲汤; 镇咳平喘; 化学成分

中图分类号: R 281 **文献标志码:** A

三子养亲汤源自明代《韩氏医通》, 原方由白芥子(*Sinapis alba* L.) 的成熟果实、紫苏子(*Perilla frutescens* L.) 的种子、莱菔子(*Raphanus sativus* L.) 的种子组成(质量比为 1:1:1)。临床上主要用于顽固性咳嗽、老年人咳喘证、慢性支气管炎等^[1], 是首选的温化寒痰剂。前期作者对三子养亲汤进行了药效学研究, 结果表明三子养亲汤石油醚、醇提取物有明显的镇咳、平喘作用, 而水提物具有明显的祛痰作用^[2]。石油醚提取物经气相色谱法分析, 发现以脂肪酸为主^[3]。为了进一步对乙醇提取物中镇咳、平喘有效成分进行研究, 作者采用多种色谱方法分离, 并通过理化性质及波谱数据鉴定了 7 个酚酸类化合物, 分别为迷迭香酸甲酯(1)、oxindole-3-acetic acid(2)、对羟基苯乙酸(3)、反式芥子酸(4)、3,4-二羟基苯甲酸(5)、邻羟基苯甲酸(6)、丁二酸(7), 7 个化合物均首次从三子养亲汤中分离得到, 其中 2-7 为首次从各味药中分离得到。

1 仪器与材料

Jeol Jnmr AL300 型核磁共振仪(日本 Jeol 公司), Bruker ARX-500 型核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司), Jeol Jms 700 型质谱仪测定(日本 Jeol 公司), HPLC 仪输液泵(Waters 515 型, 检测器为 Waters 2487 型, 美国 Waters 公司)。

收稿日期: 2007-01-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 90209041)

作者简介: 段礼新(1980-), 男(汉族), 湖北武汉人, 博士研究生, E-mail: nlizn@163.com; 王永奇(1944-), 男(汉族), 吉林德惠人, 教授, 主要从事天然产物研究, E-mail: dalianwyq@163.com。

薄层色谱用硅胶(10~40 μm)及柱色谱用硅胶(71~50 mm, 青岛海洋化工厂), 色谱纯试剂均(天津康科德试剂厂), 其余试剂均为分析纯。

2 提取与分离

三子养亲汤原料(各味药质量比为 1:1:1)共 75 kg, 混和破碎处理后, 用 60~90 ℃ 的石油醚脱脂 3 次, 后用质量分数为 95% 的乙醇溶液回流提取 3 次, 每次 2 h, 过滤后减压回收乙醇, 得乙醇提取物。乙醇提取物用适量水混悬, 依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取。取乙酸乙酯萃取部分 230 g 经硅胶柱色谱, 以氯仿-甲醇梯度洗脱, 继而用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 和 HPLC 等方法, 分离得到化合物 1(8 mg)、2(4 mg)、3(5 mg)、4(20 mg)、5(6 mg)、6(5 mg)、7(5 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 黄色粉末(CH₃OH), mp 198~200 ℃, 三氯化铁显墨绿色, 显示有酚羟基存在。ESI-MS: *m/z* 771[2M+Na]⁺、397[M+Na]⁺、373.0[M-1]⁺。¹H-NMR(DMSO-*d*₆, 300 MHz)在低场有 2 组 AMX 信号 δ: 7.09(1H, brs, H-2)、6.75(1H, d, *J*=7.8 Hz, H-5)、7.10(1H, d, *J*=7.8 Hz, H-6)和 6.66(1H, brs, H-2')、6.49(1H, d, *J*=7.1 Hz, H-5')、6.64(1H, d, *J*=

7.1 Hz, H-6'), 显示含有 2 组 1, 3, 4-三取代苯环结构; δ : 7.47 (1H, d, J = 15.8 Hz, H-7)、6.25 (1H, d, J = 15.8 Hz, H-8) 是一反式双键上烯氢信号, 并且与吸电子基团相连; δ 5.10 (1H, dd, J = 5.7, 6.9 Hz, H-8') 为同时与氧和羰基相连的叔碳氢信号, δ 2.95 (2H, m, H-7') 是一亚甲基信号, 亚甲基的两氢自身之间发生耦合并且与相邻手性碳上的氢耦合, 两氢化学位移值接近, 故表现为多重峰。此外还有一酯甲氧基信号 δ 3.64 (3H, s, OCH₃)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 75 MHz) 共显示 19 个碳信号, 2 个酯羰基信号 δ : 166.1 (C-9)、170.1 (C-9'), 2 组苯环碳信号 δ : 124.9 (C-1)、112.5 (C-2)、146.2 (C-3)、149.8 (C-4)、116.1 (C-5)、121.7 (C-6) 和 126.6 (C-1'), 115.3 (C-2'), 144.5 (C-3'), 45.3 (C-4'), 117.0 (C-5'), 120.1 (C-6'); 1 组与羰基相连双键信号 δ : 146.7 (C-7)、115.7 (C-8), 亚甲基信号 δ 36.3 (C-7'), 叔碳信号 δ 72.9 (C-8'), 甲氧基信号 δ 52.1 (OCH₃)。 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据与文献[4]对照一致, 故鉴定为迷迭香酸甲酯 (结构式见图 1)。

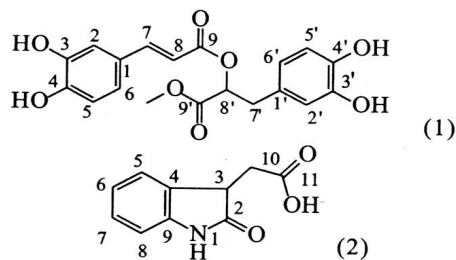


Fig 1 Structures of compound 1 and 2

化合物 2: 无色针状结晶 (丙酮), 溴酚兰显黄色, 示结构中含有羧基。EFMS: 分子离子峰为 m/z 191 [M^+], 显示分子中含有奇数个氮原子, $146 [\text{M} - \text{COOH}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (Acetone- d_6 , 300 MHz) 在低场有 4 个相互耦合的氢信号 δ : 7.36 (1H, brd, J = 7.5 Hz, H-5)、6.99 (1H, ddd, J = 8.4, 7.4, 1.2 Hz, H-6)、7.22 (1H, ddd, J = 7.5, 8.4, 1.2 Hz, H-7)、6.97 (1H, brd, J = 8.4 Hz, H-8), 显示一邻二取代苯环结构; 一组相互耦合的叔碳和仲碳信号 δ : 4.02 (1H, dd, J = 3.6, 6.3 Hz, H-3)、2.81 (1H, dd, J = 12.6, 3.6 Hz, H-10 a)、2.76 (1H, d, J = 12.6, 6.3 Hz, H-10 b), 吡啶环上酰胺氢信号 δ 9.23 (1H, s, H-1)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (Acetone- d_6 , 75 MHz) 共给出 10 个碳信号, 其中 δ 169.1 为羧基碳信号; 6 个苯环芳香碳信号 δ : 121.6 (C-3a)、129.9 (C-4)、123.1 (C-5)、

129.3 (C-6)、116.2 (C-7)、139.2 (C-7a); 33.5 (CH₂) 和 42.8 (C-3) 分别是直接相连的叔碳和仲碳信号, 此外还剩余一个酰胺羰基碳信号 δ 173.5 (C-2), 综合氢谱碳谱数据, 推断母核结构为吡啶乙酸, 且 2 位氧化成羰基。其 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据与文献[5]对照基本一致, 故鉴定为 oxindole-3-acetic acid。

化合物 3: 无色针状结晶 (甲醇), mp151~153 °C, 三氯化铁显黄色, 示含有酚羟基。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz) 中显示 δ : 7.05 (2H, d, J = 8.1 Hz, H-2, 6)、6.67 (2H, d, J = 8.1 Hz, H-3, 5), 为典型对二取代苯环结构; δ : 6.84 (1H, s, OH)、9.24 (1H, s, COOH) 分别为羟基和羧基氢信号 δ : 7.05 (2H, d, J = 8.1 Hz, H-2, 6)、6.67 (2H, d, J = 8.1 Hz, H-3, 5), 为典型对二取代苯环结构; 3.23 (2H, s, CH₂)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 75 MHz) 共 8 个碳信号 δ : 126.8 (C-1)、130.1 $\times$ 2 (C-2, 6)、115.1 $\times$ 2 (C-3, 5)、156.0 (C-4)、173.0 (COOH)、41.6 (CH₂)。其 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据与文献[6]对照一致, 故鉴定为对羟基苯基乙酸。

化合物 4: 无色针状结晶 (甲醇), mp180~182 °C, 溴酚兰显黄色, 显示有羧基存在。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 500 MHz) 中含有反式烯氢信号 δ : 7.48 (1H, d, J = 16.0 Hz)、6.41 (1H, d, J = 16.0 Hz); δ 8.90 (1H, s) 是酚羟基信号, δ 6.98 (2H, s) 为对称取代的 1, 3, 4, 5-四取代苯环信号, δ 3.80 (6 H, s) 为磁等同的两甲氧基信号; $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 167.7、147.9 $\times$ 2、144.6、137.9、124.5、116.0、106.0 $\times$ 2、56.0。其 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据与文献[7]中反式芥子酸对照基本一致, 故鉴定为反式芥子酸。

化合物 5: 无色针状结晶 (甲醇), mp192~194 °C, 三氯化铁显黄色, 示含有酚羟基。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 7.34 (1H, brs, H-2)、7.29 (1H, brd, J = 8.1 Hz, H-6)、6.78 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-5), 其 $^1\text{H-NMR}$ 数据与文献[8]对照基本一致, 与标准品共薄层 R_f 值一致, 故鉴定为 3, 4-二羟基苯甲酸。

化合物 6: 无色针状结晶 (甲醇), mp 113~115 °C, 三氯化铁显墨绿色, 示分子中含有酚羟基。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 6.95 (2H, m)、7.56 (1H, m)、7.95 (1H, m)、10.40 (1H, s), 其 $^1\text{H-NMR}$ 数据与文献[9]对照基本一致, 与标准品

共薄层 R_f 值一致, 故鉴定为邻羟基苯甲酸。

化合物 7: 无色针状结晶(丙酮), mp185~187℃, 溴甲酚绿显黄色, 示分子中含有羧基。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO, 300 MHz) δ : 2.42 (2H, s)、12.18(1H, s), 其 $^1\text{H-NMR}$ 数据与文献[10]对照基本一致, 与标准品共薄层 R_f 值一致, 故鉴定为丁二酸。

参考文献:

[1] 潘洪平. 三子养亲汤的研究进展[J]. 中成药, 1995, 17(10): 42- 43.

[2] 梁文波, 赵红, 张学梅, 等. 三子养亲汤镇咳、平喘、祛痰作用的药理研究[J]. 中药药理与临床, 2003, 19 (2): 11- 12.

[3] 冯宝民, 史丽颖, 吴海歌, 等. 三子养亲汤及其味药脂肪酸成分的分析[J]. 中草药, 2003, 34 (增刊): 110- 112.

[4] 郑晓珂, 李钦, 冯卫生. 冬凌草中酚酸类物质的研究 [J]. 中国药学杂志, 2004, 5(39): 335- 336.

[5] JAUN B, MARTINONI B, MARAZZ F, et al. Structure elucidation of secalosides A and B by NMR spectroscopy[J]. J Nat Prod, 1997, 4(60): 361- 365.

[6] AMARBNDRA P, Prabir K, Mukhopadhyay. Carbon- 13 NMR spectra of some benzene derivatives [J]. J India Chem Soc, 1983, 3: 265- 268.

[7] SUN K, LI X, WANG J H, et al. A novel sulphur glycoside from the seeds of *Descurainia sophia* L[J]. Asian Nat Prod Res, 2005, 7: 853.

[8] 康文艺, 张百让, 许启泰, 等. 帽蕊木化学成分研究 [J]. 中药材, 2006, 6: 557- 560.

[9] 常小龙, 李军, 吴立军, 等. 白花银背藤化学成分的研究[J], 中草药, 2006, 37(2): 178- 181.

[10] 官艳丽, 曹沛, 郁开北, 等. 北五味子化学成分的研究 [J]. 中草药, 2006, 37(2): 185- 187.

Chemical constituents in the fraction of calming cough and asthma of Sanziyangqintang

DUAN Li xin¹, YU Zheng jiang¹, FENG Bao min², PEI Yue hu¹, HUA Huo ming¹, WANG Yong qi²

(1. School of Traditional Chinese Matertia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 2. College of Bioengineering, Dalian University, Dalian 116622, China)

Abstract: Objective To study the chemical constituents in the fraction of calming cough and asthma of Sanziyangqintang (traditional Chinese medicines). **Methods** The Chinese compound prescription of Sanziyangqintang were extracted by 95% EtOH under reflux, and then the residue were suspended in water and extracted successively by petroleum ether, EtOAc and *n*-BuOH respectively. Chemical constituents of the EtOAc extracts were isolated by various chromatographic methods and identified by physiochemical and spectral analysis. **Results** Seven compounds were isolated from this fraction of Sanziyangqintang and identified as *n*-butyl 3, 4-dihydroxy phenyl lactate(**1**), oxindole-3-acetic acid(**2**), *p*-hydroxybenzoic acid(**3**), *trans*-sinapic acid(**4**), 3, 4-dihydroxy benzoic acid(**5**), *o*-hydroxybenzoic acid(**6**), succinic acid (**7**). **Conclusions** All the compounds are firstly isolated from Sanziyangqintang; **2- 7** are obtained from its composing plants for the first time.

Key words: Sanziyangqintang (traditional Chinese medicines); calming cough asthma; chemical constituents