

抑肝散神经保护物质基础

刘佳, 柳文媛, 冯锋*

(中国药科大学, 南京 210009)

[摘要] 目的: 研究中药复方抑肝散活性部位的化学物质基础, 为阐明其药理作用机制提供理论依据。方法: 应用各种色谱和光谱方法, 对抑肝散活性部位的化学成分进行分离和鉴定。结果: 从抑肝散活性部位中分离得到15个化合物, 分别鉴定为卡达宾(1), 钩藤碱(2), 甘草苷(3), 甘草素(4), 异甘草苷(5), 异甘草素(6), saikochromoside A(7), 汉黄芩苷(8), 芒柄花苷(9), tetrahydroxymethoxychalcone(10), 槲皮素(11), 山奈酚(12), 洋川芎内酯 I(13), 洋川芎内酯 H(14) 和阿魏酸(15)。结论: 以上化合物均为首次从抑肝散活性部位中分离得到。

[关键词] 抑肝散; 神经保护; 活性部位; 化学成分

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)23-0098-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014230098

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20141027.1531.012.html>

[网络出版时间] 2014-10-27 15:31

Neuroprotective Material Base of Yigan San

LIU Jia, LIU Wen-yuan, FENG Feng*

(China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the material base of Yigan San, a Chinese herbal formula for

[收稿日期] 20140217(018)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81274064, 81373956)

[第一作者] 刘佳, 硕士在读, 从事天然药物化学研究, Tel: 15805685345, E-mail: liujia944@hotmail.com

[通讯作者] * 冯锋, 教授, 博士生导师, 从事天然药物活性成分提取分离、结构修饰及体内分析研究, Tel: 025-86185180, E-mail: fengfeng@cpu.edu.cn

- [10] Morita N, Shimizu M, Arisawa N, et al. Isolation of amentoflavone and two new glycosides from the leaves of *Nandina domestica* Thunb [J]. Chem Pharm Bull, 1974, 22(11):2750.
- [11] 刘建群, 张锐, 舒积成. 三氧化二砷与南天竹子配伍的药物组合物及其制备和用途: 中国 201010600746.8 [P/OL]. 2011-04-11 [2013-02-01]. <http://zhuanli.infoeach.com/goods-497152.html>.
- [12] 舒积成, 刘建群, 彭财英, 等. 南天竹种子中木脂素类成分研究[J]. 中国现代应用药学杂志, 2013, 30(2):115.
- [13] 贾陆, 郭海波, 敬林林, 等. 地桃花化学成分研究 II. 酚酸类等化学成分[J]. 中国医药工业杂志, 2009, 40(10):746.
- [14] 郭伶俐, 吴春华, 葛丹丹, 等. 芒果叶化学成分研究 II [J]. 热带亚热带植物学报, 2012, 20(6):591.
- [15] 李荣, 王乃利. 猫眼草中酚酸类及木脂素类化学成分的研究[J]. 内蒙古中医药, 2012, 11(1):87.
- [16] 朱华旭, 唐于平, 龚祝南, 等. 假麦包叶化学成分研究[J]. 中草药, 2008, 39(11):1613.
- [17] 肖扬, 王立波, 金刚, 等. 无梗五加果酚酸类化学成分的研究[J]. 中国药物化学杂志, 2012, 12(3):223.
- [18] 刘东, 鞠建华, 杨峻山. 狭叶崖爬藤化学成分的研究[J]. 中草药, 2003, 34(1):4.
- [19] 石心红, 杜晓犁, 孔令义. 准噶尔大戟根化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(18):1503.
- [20] 王国才, 梁洁平, 王英, 等. 白饭树的化学成分[J]. 中国天然药物, 2008, 6(4):251.

[责任编辑 邹晓翠]

Alzheimer's disease, and to provide theoretical foundation for the explanation of pharmacological mechanism.

Method: The chemical constituents were isolated and identified by various chromatographic and spectral methods.

Result: Fifteen compounds were isolated and identified as cadambine (**1**), rhynchophylline (**2**), liquiritin (**3**), liquiritigenin (**4**), isoliquiritin (**5**), isoliquiritigenin (**6**), saikochromoside A (**7**), wogonin-7-*O*-glucuronide (**8**), ononin (**9**), tetrahydroxymethoxychalcone (**10**), quercetin (**11**), kaempferol (**12**), senkyunolide I (**13**), senkyunolide H (**14**), and ferulic acid (**15**), respectively. **Conclusion:** All these compounds were isolated from the active fraction of Yigan San for the first time.

[**Key words**] Yigan San; neuroprotective effect; active fraction; chemical constituents

抑肝散出自于明代薛凯所著《保婴撮要》,由钩藤、当归、川芎、苍术、茯苓、柴胡、甘草(3:3:3:4:4:2:1.5)等7味药组成,主治小儿肝火上炎、发热、惊悸搐溺、颞齿等,对成人肝火上炎也有显著疗效。

19世纪中叶,日本浅田宗伯所著的《勿误药室方函口诀》中,记载将抑肝散应用于认知症方面的治疗^[1]。近年来的研究表明,抑肝散在认知症的行为和心理学症状(behavioral and psychological symptoms of dementia, BPSD)方面具有显著的治疗效果,使其成为中日学者研究的热点^[2]。Shinno等^[3-4]报道,抑肝散可以改善路易小体疾病或阿尔茨海默病患者 BPSD 中的精神症状和睡眠问题。Mizukami等^[5]发现,抑肝散对路易小体疾病或阿尔茨海默病患者的幻觉、妄想、焦虑、抑郁等有明显的抑制作用。此外还有一些使用抑肝散控制额颞叶痴呆和伴有痴呆症状的帕金森病患者 BPSD 症状的研究报道^[6-7]。由于认知症发病机制的复杂性,单靶向药物并不能有效的改善或控制患者的症状,而中药复方抑肝散具有多成分、多靶点、多环节、多途径的特点,在治疗这种慢性疾病时显示出较西药更优越的疗效。

本课题组在前期研究中发现^[8-9],将抑肝散提取物经 D101 型大孔树脂柱色谱分离并使用不同配比的水-乙醇洗脱后,40%乙醇洗脱部位可以显著抑制谷氨酸诱导的 PC12 神经细胞的凋亡,初步筛选出 40%乙醇洗脱部位为有效部位。本文旨在研究抑肝散活性部位的物质基础,为阐明其作用机制及复方配伍意义提供理论依据,有利于其进一步的开发与应用。

1 材料

Avance-300, Avance-500 型核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司), ESI-MS Angilent 1100 Series(美国 Angilent 公司), 岛津 LC-10ATvp 半制备型 HPLC(日本 Shimadzu 公司), 快速制备色谱仪(瑞典 Biotage 公司)。

薄层色谱硅胶和柱色谱硅胶(青岛海洋化工厂), D101 型大孔吸附树脂(国药集团化学试剂有限公司), Sephadex LH-20, MCI, ODS 和色谱柱(10 mm × 250 mm, 5 μm)(日本三菱化工有限公司)。

提取分离用试剂均为分析纯,制备 HPLC 用试剂均为色谱纯。

抑肝散方中各味药材均购自南京先声再康药店,并经中国药科大学冯锋教授鉴定钩藤为 *Uncaria rhynchophylla* 的干燥带钩茎枝,当归为 *Angelica sinensis* 的干燥根,川芎为 *Ligusticum chuanxiong* 的干燥根茎,柴胡为 *Bupleurum chinese* 的干燥根,苍术为 *Atractylodes chinensis* 的干燥根茎,茯苓为 *Poria cocos* 的干燥菌核,甘草为 *Glycyrrhiza uralensis* 的干燥根茎。

2 提取和分离

按照抑肝散处方比例称取药材共 28.9 kg 混合,先后采用 10 倍量的 95%, 70% 乙醇,水各煎煮回流提取 1 次,合并提取液,减压回收得稠浸膏 1.8 kg,用 D101 大孔吸附树脂进行分离,乙醇-水系统洗脱,分成 6 个部分(Fr. A ~ F)。Fr. C(100 g)为 40%乙醇洗脱部位,经 MCI 柱色谱分离,得到 Fr. C1 ~ 9 共 9 个部分。Fr. C3(12.88 g)和 Fr. C4(28.00 g)放置过程中析晶,得到化合物 **3**(3 810 mg), Fr. C3 抽滤后剩余样品经硅胶柱色谱分离,石油醚-乙酸乙酯(1:2 ~ 0:1)梯度洗脱,得 44 个组分(Fr. C3-1 ~ Fr. C3-44),各组分经过 Sephadex LH-20 柱色谱纯化,得到化合物 **1**(15 mg), **4**(24 mg), **5**(1 255 mg), **6**(16 mg), **7**(8 mg), **10**(6 mg), **11**(5 mg), **12**(6 mg), **15**(50 mg)。Fr. C4 抽滤后剩余样品经硅胶柱色谱分离,石油醚-乙酸乙酯(5:1 ~ 0:1)梯度洗脱,得 23 个组分(Fr. C4-1 ~ Fr. C4-23)。Fr. C4-1 经半制备 HPLC 分离,得到化合物 **13**(14 mg), **14**(4 mg)。Fr. C4-2 ~ Fr. C4-23 经反复 ODS 和 Sephadex LH-20 柱色谱纯化,得到化合物

2(10 mg), 8(9 mg), 9(8 mg)。

3 结构鉴定

化合物1 白色无定形粉末 (MeOH), ESI-MS m/z 545.4 $[M + H]^+$, 383.3 $[M + H - 162]^+$ 。¹H-NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.00 (1H, s, H-1), 7.55 (1H, s, H-17), 7.46 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-9), 7.32 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-12), 7.09 (1H, dt, $J = 7.6, 1$ Hz, H-11), 6.98 (1H, dt, $J = 7.6, 1$ Hz, H-10), 5.75 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-21), 5.15 (1H, d, $J = 5.1$ Hz, 2'-OH), 5.01 (1H, d, $J = 4.9$ Hz, 4'-OH), 4.96 (1H, d, $J = 5.3$ Hz, 3'-OH), 4.77 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-19), 4.66 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 4.08 (1H, dd, $J = 7.8, 4.4$ Hz, 6'-OH), 3.66 (1H, m, H-6'a), 3.58 (3H, s, OCH₃), 3.44 (1H, m, H-6'b), 3.42 (1H, m, H-18a), 3.24 (1H, m, H-5'), 3.13 (1H, m, H-15), 3.09 (2H, m, H-2', H-4'), 3.08 (2H, m, H-5a, H-3'), 2.87 (1H, dd, $J = 10.4, 7.2$ Hz, H-18b), 2.70 (2H, m, H-6), 2.62 (1H, m, H-5b), 2.02 (1H, t, $J = 12.5$ Hz, H-14a), 1.76 (1H, dd, $J = 5.9, 12.5$ Hz, H-14b), 1.71 (1H, m, H-20); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 166.42 (C-22), 152.31 (C-17), 136.25 (C-13), 133.05 (C-2), 125.10 (C-8), 121.49 (C-11), 118.56 (C-10), 118.49 (C-9), 111.35 (C-12), 109.63 (C-16), 109.17 (C-7), 100.17 (C-1'), 96.29 (C-21), 90.37 (C-3), 76.92 (C-5'), 76.52 (C-3'), 73.22 (C-2'), 72.13 (C-19), 70.16 (C-4'), 61.52 (C-6'), 57.86 (C-18), 51.68 (C-5), 50.97 (OCH₃), 41.68 (C-14), 24.80 (C-15), 21.43 (C-6)。与文献[10]对照, 鉴定化合物1为卡达宾 (cadambine)。

化合物2 白色结晶 (MeOH), ESI-MS m/z 385.2 $[M + H]^+$ 。¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 7.85 (1H, s, H-17), 7.24 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-9), 7.18 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-11), 7.07 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-10), 6.86 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-12), 3.81 (3H, s, OCH₃), 3.75 (3H, s, COOH₃), 3.48 (1H, br dd, $J = 10.3, 2.2$ Hz, H-21a), 3.42 (1H, m, H-5a), 2.54 (1H, m, H-6a), 2.43 (1H, m, H-5b), 2.33 (1H, m, H-15), 2.28 (1H, br dd, $J = 8.3, 2.2$, H-20), 2.27 (1H, m, H-3), 2.04 (1H, m, H-6b), 2.01 (1H, m, H-14a), 1.68 (1H, t, $J = 10.3$ Hz, H-21b), 1.37

(1H, m, H-19a), 1.23 (1H, m, H-14b), 0.97 (1H, m, H-19b), 0.82 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, H-18); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 181.60 (C-2), 167.14 (C-22), 159.77 (C-17), 139.47 (C-13), 133.94 (C-8), 127.84 (C-11), 123.21 (C-9), 122.48 (C-10), 115.43 (C-16), 109.32 (C-12), 75.34 (C-3), 61.62 (17-OCH₃), 58.22 (C-21), 55.04 (C-5, C-7), 51.39 (22-OCH₃), 42.32 (C-20), 37.85 (C-15), 34.82 (C-6), 29.70 (C-14), 24.18 (C-19), 11.39 (C-18)。与文献[11]对照, 鉴定化合物2为钩藤碱 (rhynchophylline)。

化合物3 白色晶体 (MeOH), ESI-MS m/z 418.9 $[M + H]^+$, 257.0 $[M + H - 162]^+$ 。¹H-NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.57 (1H, s, 7-OH), 7.65 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-5), 7.45 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2', H-6'), 7.07 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3', H-5'), 6.51 (1H, dd, $J = 8.7, 2.2$ Hz, H-6), 6.35 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 5.53 (1H, dd, $J = 12.5, 2.4$ Hz, H-2), 5.30 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, 2''-OH), 5.06 (1H, d, $J = 4.3$ Hz, 3''-OH), 5.00 (1H, d, $J = 5.1$ Hz, 4''-OH), 4.88 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1''), 4.54 (1H, t, $J = 5.8$ Hz, 6''-OH), δ 3.78 ~ 3.00 (5H, m, 糖上质子及 trans H-3), 2.68 (1H, dd, $J = 17.1, 2.4$ Hz, cis H-3)。与文献[12]对照, 鉴定化合物3为甘草苷 (liquiritin)。

化合物4 白色针状结晶 (MeOH), ESI-MS m/z 254.9 $[M - H]^-$ 。¹H-NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.59 (1H, s, 7-OH), 9.59 (1H, s, 4'-OH), 7.64 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-5), 7.32 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2', H-6'), 6.79 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', H-5'), 6.50 (1H, dd, $J = 8.7, 2.1$ Hz, H-6), 6.33 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 5.43 (1H, dd, $J = 12.9, 2.7$ Hz, H-2), 3.11 (1H, dd, $J = 16.8, 12.9$ Hz, trans H-3), 2.62 (1H, dd, $J = 16.8, 2.7$ Hz, cis H-3)。与文献[13]对照, 鉴定化合物4为甘草素 (liquiritigenin)。

化合物5 亮黄色针状结晶 (MeOH), ESI-MS m/z 419.2 $[M + H]^+$, 257.2 $[M + H - 162]^+$ 。¹H-NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 13.48 (1H, s, 2'-OH), 10.68 (s, 1H, 4'-OH), 8.19 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-6'), 7.87 (1H, d, $J = 15.4$ Hz, H- β), 7.86 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2, H-6), 7.77 (1H, d, $J = 15.4$ Hz, H- α), 7.10 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3, H-5), 6.41 (1H, dd, $J = 8.9, 2.3$ Hz, H-

5'), 6.29 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-3'), 4.98 (1H, d, $J = 7.1$ Hz, H-1''), 3.76 ~ 3.12 (6H, m, 糖上质子)。与文献[14]对照,鉴定化合物**5**为异甘草苷(isoliquiritin)。

化合物**6** 亮黄色针晶(MeOH),ESI-MS m/z 255.0 $[M - H]^-$ 。¹H-NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ :13.60 (1H, s, 2'-OH), 10.70 (1H, s, 4-OH), 10.15 (1H, s, 4'-OH), 8.16 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-6'), 7.78 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H- β), 7.75 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2, H-6), 7.73 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H- α), 6.84 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3, H-5), 6.40 (1H, dd, $J = 8.9, 2.3$ Hz, H-5'), 6.28 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-3')。与文献[15]对照,鉴定化合物**6**为异甘草素(isoliquiritigenin)。

化合物**7** 白色针状结晶(MeOH),溶于甲醇, Molish 反应阳性。ESI-MS m/z 385.2 $[M + H]^+$, 223.1 $[M + H - 162]^+$ 。¹H-NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ :12.76 (s, 5-OH), 6.62 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 6.57 (1H, s, H-3), 6.40 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6), 5.35 (1H, d, $J = 4.9$ Hz, 2'-OH), 5.03 (1H, d, $J = 4.9$ Hz, 3'-OH), 4.96 (1H, d, $J = 5.1$ Hz, 4'-OH), 4.74 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, H-11a), 4.61 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, H-11b), 4.54 (1H, t, $J = 5.9$ Hz, 6'-OH), 4.31 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 3.85 (3H, s, OCH₃), 3.67 (1H, m, H-6a'), 3.44 (1H, m, H-6b'), 3.17 (1H, m, H-3'), 3.13 (1H, m, H-5'), 3.08 (1H, m, H-4'), 3.06 (1H, m, H-2');¹³C-NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ :182.24 (C-4), 167.50 (C-2), 165.73 (C-7), 161.79 (C-5), 157.54 (C-9), 107.64 (C-3), 104.94 (C-10), 102.91 (C-1'), 98.51 (C-6), 93.13 (C-8), 77.53 (C-5'), 77.00 (C-3'), 73.83 (C-2'), 70.47 (C-4'), 65.77 (C-11), 61.56 (C-6'), 56.61 (OCH₃)。与文献[16]对照,鉴定化合物**7**为saikochromoside A。

化合物**8** 淡黄色针状结晶(MeOH),ESI-MS m/z 461.1 $[M + H]^+$, 285.1 $[M + H - 176]^+$ 。¹H-NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ :12.55 (1H, s, 5-OH), 8.10 (2H, dd, $J = 7.2, 1.8$ Hz, H-2', H-6'), 7.63 (3H, m, H-3', H-4', H-5'), 7.08 (1H, s, H-3), 6.71 (1H, s, H-6), 3.95 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-1''), 3.89 (s, 3H, OCH₃);¹³C-NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ :182.85 (C-4), 170.95 (C-6''), 164.02 (C-2), 156.57 (C-5), 156.45 (C-7),

149.66 (C-9), 132.74 (C-4'), 131.21 (C-1'), 129.75 (C-3', C-5'), 129.55 (C-8), 126.88 (C-2', C-6'), 105.79 (C-3), 105.72 (C-10), 100.19 (C-1''), 99.18 (C-6), 76.43 (C-5''), 75.52 (C-3''), 73.41 (C-2''), 71.84 (C-4''), 61.86 (OCH₃)。与文献[17]对照,鉴定化合物**8**为汉黄芩苷(wogonin-7-O-glucuronide)。

化合物**9** 白色针状结晶(MeOH),ESI-MS m/z 431.1 $[M + H]^+$, 269.1 $[M + H - 162]^+$ 。¹H-NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ :8.44 (1H, s, H-2), 8.06 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-5), 7.54 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2', H-6'), 7.25 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 7.15 (1H, dd, $J = 8.9, 2.2$ Hz, H-6), 7.00 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3', H-5'), 5.45 (1H, d, $J = 3.7$ Hz, OH), 5.16 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, OH), 5.11 (1H, d, $J = 6.9$ Hz, H-1''), 5.09 (1H, d, $J = 5.1$ Hz, OH), 4.62 (1H, t, $J = 5.3$ Hz, OH), 3.79 (3H, s, OCH₃), 3.75 ~ 3.12 (6H, m, 糖上质子);¹³C-NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ :175.13 (C-4), 161.92 (C-7), 159.50 (C-4'), 157.18 (C-9), 154.12 (C-2), 130.55 (C-2', C-6'), 127.42 (C-5), 124.48 (C-1'), 123.84 (C-3), 118.40 (C-10), 116.10 (C-6), 114.10 (C-3', C-5'), 103.89 (C-8), 100.47 (C-1''), 77.68 (C-5''), 76.95 (C-3''), 73.60 (C-2''), 70.10 (C-4''), 61.11 (C-6''), 55.62 (OCH₃)。与文献[12]对照,鉴定化合物**9**为芒柄花苷(ononin)。

化合物**10** 黄色针状结晶(MeOH),ESI-MS m/z 301.0 $[M - H]^-$ 。¹H-NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ :9.85 (2H, s, OH), 9.38 (1H, s, OH), 8.75 (1H, s, OH), 7.80 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H- β), 7.61 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H- α), 7.54 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz, H-2'), 7.47 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6'), 7.29 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-6), 6.84 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.63 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5), 3.77 (3H, s, OCH₃);¹³C-NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ :187.78 (C=O), 150.99 (C-4'), 149.94 (C-4), 149.00 (C-2), 145.84 (C-3'), 138.77 (C-3), 138.42 (C- β), 130.44 (C-1'), 122.11 (C-6'), 119.98 (C-1), 119.62 (C- α), 119.02 (C-6), 115.69 (C-2'), 115.55 (C-5'), 112.11 (C-5), 61.17 (OCH₃)。与文献[18]对照,鉴定化合物**10**为tetrahydroxymethoxychalcone。

化合物**11** 黄色粉末(MeOH),易溶于甲醇。

盐酸镁粉反应阳性, TLC 薄层色谱检测氨熏变黄。¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.49 (1H, s, 5-OH), 9.37 (2H, br s, 3'-OH, 4'-OH), 7.66 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 7.53 (1H, dd, *J* = 8.5, 2.0 Hz, H-6'), 6.88 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-5'), 6.40 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.18 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6)。与文献[19]对照, 鉴定化合物 **11** 为槲皮素 (quercetin)。

化合物 **12** 黄色粉末 (MeOH), 易溶于甲醇。盐酸镁粉反应阳性, TLC 薄层色谱检测氨熏变黄。¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.52 (1H, s, 5-OH), 10.80 (1H, s, 7-OH), 10.12 (1H, s, 3-OH), 9.42 (1H, s, 4'-OH), 8.04 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2', H-6'), 6.92 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3', H-5'), 6.44 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.18 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6)。与文献[19]对照, 鉴定化合物 **12** 为山奈酚 (kaempferol)。

化合物 **13** 淡黄色油状物 (CHCl₃), ESI-MS *m/z* 207.1 [M - OH]⁺。¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 5.25 (1H, t, *J* = 7.9 Hz, H-1), 4.46 (1H, br d, *J* = 4.68 Hz, H-7), 3.94 (1H, br s, H-6), 2.50 (2H, m, H-4), 2.32 (2H, m, H-9), 2.04 (1H, m, H-5a), 1.87 (1H, m, H-5b), 1.47 (2H, m, H-10), 0.93 (3H, t, *J* = 7.36 Hz, H-11); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 169.30 (C-1), 153.35 (C-3), 148.09 (C-3a), 125.80 (C-7a), 114.14 (C-8), 71.45 (C-6), 67.10 (C-7), 28.05 (C-9), 26.24 (C-5), 22.23 (C-10), 18.83 (C-4), 13.75 (C-11)。与文献[20]对照, 鉴定化合物 **13** 为洋川芎内酯 I (senkyunolide I)。

化合物 **14** 淡黄色油状物 (CHCl₃), ESI-MS *m/z* 207.1 [M - OH]⁺。¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 5.33 (1H, t, *J* = 7.9 Hz, H-1), 4.63 (1H, br s, H-7), 4.09 (1H, br s, H-6), 2.66 (2H, m, H-4), 2.40 (2H, m, H-9), 2.16 (1H, m, H-5a), 1.84 (1H, m, H-5b), 1.52 (2H, m, H-10), 0.97 (3H, t, 7.36, H-11); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 169.29 (C-1), 153.20 (C-3), 148.23 (C-3a), 125.29 (C-7a), 114.44 (C-8), 67.15 (C-6), 63.59 (C-7), 28.09 (C-9), 25.72 (C-5), 22.26 (C-10), 18.25 (C-4), 13.76 (C-11)。与文献[20]对照, 鉴定化合物 **14** 为洋川芎内酯 H (senkyunolide H)。

化合物 **15** 无色针晶 (MeOH), ESI-MS *m/z*

192.8 [M - H]⁻。¹H-NMR (300 MHz, Acetone-*d*₆) δ: 7.61 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-3), 7.34 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-5), 7.15 (1H, dd, *J* = 8.2, 2.0 Hz, H-9), 6.88 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-8), 6.38 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-2), 3.94 (3H, s, OCH₃)。与文献[21]对照, 鉴定化合物 **15** 为阿魏酸 (ferulic acid)。

4 结果与讨论

通过查阅文献可知, 上述化合物均系从抑肝散中首次分离鉴定, 并可推测 15 个化合物的药材来源。来源于钩藤的有化合物 **1, 2**; 来源于甘草的有化合物 **3 ~ 6, 9, 10**; 来源于川芎的有化合物 **13, 14**; 来源于柴胡的有化合物 **7**; 来源于当归的有化合物 **15**; 来源于苍术的有化合物 **8**; 而槲皮素、山奈酚和阿魏酸则有报道存在于多种药材中。分离得到的化合物以黄酮类为主, 其中甘草苷在活性部位中的含量最高, 而黄酮类化合物可通过抗氧化和清除自由基作用抑制脑部神经细胞的老化^[22]。另据文献报道^[23-25], 钩藤碱、甘草苷和阿魏酸在体内外模型中均表现出显著的中枢神经系统保护作用, 因此本研究结果提示上述化合物可能是该中药复方的部分药效物质。通过进一步研究上述 15 个化合物的药理活性及其相互作用, 将有助于进一步阐释抑肝散治疗认知症的作用机制。

[参考文献]

- [1] 柴山周乃, 杜武勋, 朱明丹, 等. 日本汉方医学对认知症的认识及抑肝散对其治疗的研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2009, 11(9):39.
- [2] 解双陆, 柳文媛. 抑肝散对神经系统疾病作用的研究进展[J]. 今日药学, 2013, 23(3):18.
- [3] Shinno H, Inami Y, Inagaki T, et al. Effect of Yi-gan san on psychiatric symptoms and sleep structure at patients with behavioral and psychological symptoms of dementia[J]. Prog Neuro Biol Psychiatry, 2008, 32(3):881.
- [4] Shinno H, Utani E, Okazaki S, et al. Successful treatment with yi-gan san for psychosis and sleep disturbance in a patient with dementia with lewy bodies [J]. Prog Neuro Biol Psychiatry, 2007, 31(7):1543.
- [5] Mizukami K, Asada T, Kinoshita T, et al. A randomized cross-over study of a traditional Japanese medicine (Kampo), yokukansan, in the treatment of the behavioural and psychological symptoms of dementia [J]. Int J Neuro, 2009, 12(2):191.
- [6] Kimura T, Hayashida H, Furukawa H, et al. Five

- cases of frontotemporal dementia with behavioral symptoms improved by yokukansan [J]. *Psychogeriatrics*, 2009, 9(1):38.
- [7] Kawanabe T, Yoritaka A, Shimura H, et al. Successful treatment with yokukansan for behavioral and psychological symptoms of *Parkinsonian dementia* [J]. *Prog Neuro Biol Psychiatry*, 2010, 34(2):284.
- [8] Chen H, Gai Y N, Wu C Y, et al. Chemical profile of the active fraction of Yi-Gan San by HPLC-DAD-Q-TOF-MS and neuroprotective effect against glutamate-induced cytotoxicity [J]. *Chin J Nat Med*, 2013, 11(6):35.
- [9] Chen H, Gai Y N, Wu C Y, et al. Analysis of the traditional medicine Yigan San by the fragmentation patterns of cadambine indole alkaloids using HPLC coupled with high-resolution MS [J]. *J Sep Sci*, 2013, 36(3):3723.
- [10] Wu X D, Wang L, He J, et al. Two new indole alkaloids from *Emmenopterys henryi* [J]. *Helv Chim Acta*, 2013, 96(12):2207.
- [11] 辛文波, 顾平, 俞桂新, 等. 毛钩藤叶生物碱成分的研究 [J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(17):2124.
- [12] 袁延强, 王祖林, 刘秀河, 等. 高速逆流色谱分离制备甘草中的甘草昔和芒柄花昔 [J]. *天然产物研究与开发*, 2011, 23:1148.
- [13] Zheng W, Tan X Q, Guo L J, et al. Chemical constituents from *Monochasma savatieri* [J]. *Chin J Nat Med*, 2012, 10(2):102.
- [14] 王英华, 白虹, 窦德强, 等. 栽培甘草中黄酮类成分的研究 [J]. *西北药学杂志*, 2004, 19(6):252.
- [15] 李炜, 唐于平, 高浩学, 等. 麦门冬合金钱苇茎汤效应部位的化学成分 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16(18):78.
- [16] Liang H, Zhao Y, Zhang R, et al. A new chromone glycoside from *Bupleurum chinense* [J]. *Chin Chem Lett*, 1998, 9(1):69.
- [17] 王红燕. 黄芩抗焦虑活性成分研究 [D]. 沈阳:沈阳药科大学, 2002.
- [18] Tsutomu H, Miuki T, Hideyuki I, et al. Phenolic constituents of liquorice. VII. A new chalcone with a potent radical scavenging activity and accompanying phenolics from liquorice [J]. *Chem Pharm Bull*, 1997, 45(9):1485.
- [19] Zhang S, Tao Z M, Zhang Y, et al. Chemical constituents from the stems and leaves of *Elaeocarpus glabripetalus* [J]. *Chin J Nat Med*, 2010, 8(1):21.
- [20] Takashi N, Takao K, Kazuaki N, et al. Two phthalides from *Ligusticum chuangxiang* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(2):639.
- [21] 谢帆, 张勉, 张朝凤, 等. 川楝子的化学成分研究 [J]. *中国药学杂志*, 2008, 43(14):1066.
- [22] 刘莉华, 宛晓春, 李大祥. 黄酮类化合物抗氧化活性构效关系的研究进展(综述) [J]. *安徽农业大学学报*, 2002, 29(3):265.
- [23] Kang T H, Yukihisa M, Hiromitsu T, et al. Protective effect of rhynchophylline and isorhynchophylline on *in vitro* ischemia-induced neuronal damage in the hippocampus: putative neurotransmitter receptors involved in their action [J]. *Life Sci*, 2004, 76(3):331.
- [24] 杨云. 甘草昔抗阿尔茨海默病作用及机制研究 [D]. 北京:中国人民解放军军事医学科学院, 2008.
- [25] 金英, 闫恩志, 范莹, 等. 阿魏酸钠对抗 $A\beta_{25-35}$ 致大鼠学习记忆障碍与 IL-1 β 和 p38MAPK 表达的相关性探讨 [J]. *中国药理学通报*, 2006, 22(5):602.

[责任编辑 邹晓翠]