

• 药剂 •

当归芍药散治防老年期痴呆的物质基础 与作用机理研究 IV ——有效部位化学成分研究

顾 维, 朱丹妮, 严永清

(中国药科大学中药复方研究室, 江苏 南京 210038)

摘要: 目的: 对当归芍药散精简方(FBD)的有效部位进行化学成分的研究。方法: 用 GC-MS 对 FBD 挥发油部位进行研究, 同时以硅胶柱层析法对 FBD 挥发油部位化学成分进行分离, 石油醚-乙酸乙酯洗脱。结果: FBD 挥发油部位通过 GC-MS 共分离出 32 个色谱峰, 鉴定了其中 25 个成分, 占所出峰的 92%; 硅胶柱层析共获得 4 个化合物, 鉴定了其中 3 个, 分别为白术内酯 III (Atractylenolide III)、茯苓酸(pachymic acid)和阿魏酸(Ferulic acid)。结论: FBD 挥发油部位可能是其抗老年期痴呆的有效部位。

关键词: 当归芍药散; GC-MS; 白术内酯 III; 茯苓酸; 阿魏酸

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1005-9903(2004)02-0001-03

Studies on Chemical Constituents of Danggui Shaoyao San and Its Mechanism in Preventing and Treatment of Senile Dementia VI ——Active Chemical Components

GU Wei, ZHU Dan-ni, YAN Yong-qing

(Department of Chinese Prescription, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038, China)

Abstract: Object: To study active chemical constituents of Danggui Shaoyao San. Methods: Compounds in the fraction of volatile oil were studied by GC-MS and isolated by silica gel chromatography. Results: Thirty-two peaks were separated and twenty-four of them were identified by GC-MS; four compounds were obtained and three of them were identified as atractylenolide III, pachymic acid and ferulic acid. Conclusion: The volatile oil may be the active fraction in preventing and treatment of senile dementia.

Key words: Danggui Shaoyao San; GC-MS; Atractylenolide III; Pachymic acid; Ferulic acid

当归芍药散(Danggui Shaoyao San, DSS)源于汉·张仲景《金匮要略》,由当归、白芍、川芎、茯苓、白术、泽泻 6 味药组成,具有泄肝补血,健脾利湿功效,主治“妇人怀妊,腹中痛”,“妇人腹中诸疾痛”。近年来国内外用 DSS 防治老年期痴呆(senile dementia, SD)取得良好效果。本研究室将 DSS 按功效分为活血补血药组(当归、川芎等与芍药, danggui, chuanxiong and shaoyao, DCS)和健脾利湿药组(茯苓、白术与泽泻, fuling, baizhu and zexie, FBZ)。并应用东莨菪碱诱发小鼠记忆障碍模拟 VD(血管性痴呆),实验表明单用

DCS 与 FBZ 作用未见显著差异,而二者合并后作用明显增强,表现出显著的协同增效效应,即存在协同性。同时,对反复缺血再灌注致小鼠记忆障碍模拟 VD 损伤,实验表明,避暗潜伏期缩短,错误次数增多,单用 DCS 作用不明确,而 FBZ 对防治 VD 作用具有选择性;当二者合并后作用未见增强,无协同性。进一步研究表明 FBD 为 DSS 防治 VD 的精简方,并用亚硝酸钠、东莨菪碱、乙醇与脑反复缺血再灌注诱发小鼠或大鼠记忆障碍进行研究,实验表明 FBD 与 DSS 均有防治作用,且 FBD 作用优于 DSS^[1,2]。

为研究 FBD 防治 VD 的有效部位和有效化学成分,将 FBD 分为 4 个化学部位——多糖、挥发油、正丁醇部位和水部位,以东莨菪碱及反复缺血再灌注诱发小鼠记忆障碍为药效学指标,进行了抗痴呆活

收稿日期: 2003-06-16

基金项目: 国家新药基金资助项目(96-901-05-38); 国家自然科学基金资助项目(30271604)

性筛选。筛选工作显示,单一有效部位作用不显著,多糖+挥发油部位组合效果最好,且其作用优于 FBD 全方^[3]。

本论文对挥发油部位的化学成分研究。首先进行了 FBD 挥发油的 GC-MS 分析,并在性状、得率、化学组成方面与 FBD 水蒸气蒸馏物、FBD 石油醚提取物进行了比较;其次对 FBD 挥发油部位的化学成分进行分离鉴定。

1 实验材料

1.1 仪器 气相色谱与质谱联用仪(美国惠普公司),解析方式采用 HP5970 工作站(NBS 标准谱库自动检索);HA221-40-11 型超临界流体萃取装置(南通市华安超临界萃取有限公司);Bruker 核磁共振仪(500Hz),Angilent LC-MSD-Trap-SL01100 质谱仪。

1.2 药品与试剂 白茯苓、炒白术、当归均购自南京市药材公司。经本中药复方研究室余伯阳教授鉴定,其原植物分别为 *Poria cocos* (schw) Wolf、*Atractylodes macrocephala* Koidz.、*Angelica sinensis* (oliv.) Diels., 均符合 2000 年版药典规定。

所用试剂均为分析纯。

2 方法和结果

2.1 FBD 挥发油提取 FBD 各药材粉碎成粗粉,用

水蒸气蒸馏法、石油醚回流法和 CO₂ 超临界萃取法分别提取。水蒸气蒸馏法:取 FBD 药材粗粉 200g,于挥发油提取器中提取 6h,得到淡黄色挥发油 0.22ml,得率为 0.11%。石油醚回流法:取 FBD 药材粗粉 200g,加入石油醚(60~90℃)2000ml 于圆底烧瓶中回流 3 次,每次各 1h。回收石油醚,得油状物 1.84ml,得率为 0.92%。CO₂ 超临界萃取法^[4-6]:取 FBD 药材粗粉 500g 于超临界萃取装置中,萃取釜压力为 25Mp、温度 40℃,解析釜 I 压力为 8Mp、温度 45℃,解析釜 II 压力为 5Mp、温度 45℃,萃取 1h 后加入夹带剂乙醇(95%)150ml,再萃取 1h,共得萃取物 10.85ml,得率为 2.17%。3 种方法得到的提取物均用无水硫酸钠脱水。FBD 提取物性状、得率见表 1。

表 1 FBD 提取物性状、得率比较

FBD 样品	得率(%)	性状
水蒸气蒸馏提取物	0.22	淡黄色澄清油状物
石油醚回流提取物	0.92	深黄色油状物(有固形物析出)
CO ₂ 超临界萃取物	2.17	黄色油状物(有固形物析出)

2.2 FBD CO₂ 超临界提取物的 GC-MS 分析 色谱条件:色谱柱:Ultra 2(crosslinked)30mm×0.25mm×0.25m;载气 He;进样温度 260℃;柱温:初温 80℃,保留 2min,升温速率 5℃/min,终温 250℃,保持 30min。

表 2 当归芍药散精简方(FBD)CO₂ 超临界提取物的 GC-MS 化学成分分析

峰号	成分	分子式	保留时间 (min)	百分含 量(%)
1	Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4, 11, 11-trimethyl-8-methylene	C ₁₅ H ₂₄	19.795	0.5480
2	Camphene	C ₁₀ H ₁₆	19.997	3.5124
3	Naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethenyl)-, [4aR-(4a, 7, a, 8a, b)]	C ₁₅ H ₂₄	21.506	1.2668
4	Cyclohexene, 6-ethenyl-6-methyl-1-(1-methylethyl)-3-(1-methylethylidene)-, (S)	C ₁₅ H ₂₆	22.739	3.9938
5	1H-3a, 7-methanoazulene, octahydro-1, 4, 9, 9-tetramethyl	C ₁₅ H ₂₆	22.863	0.6203
6	Germacrene	C ₁₅ H ₂₄	23.319	0.8868
7	1H-Cycloprop[ε]azulene, decahydro-1, 1, 7-trimethyl-4-methylene-, [1aR-(1α, 4α, 7α, 7β, 7α)]-;	C ₁₅ H ₂₆	23.397	0.4875
8	5-benzofuranacetic acid, 6-ethenyl-4, 5, 6, 7-tetrahydro-3, 6-dimethyl-, a-, -methylene-, methyl ester	C ₁₆ H ₂₀ O ₃	25.577	24.9778
9	2(1H)-naphthalenone, 4a, 5, 6, 7, 8, 8a-hexahydro-4a-methyl	C ₁₀ H ₉ NO	25.702	0.8477
10	1, 2, 4, 5, 6, 8-dimetheno-5-indacene-5, 7-dione, decacydro	C ₁₄ H ₁₂ O ₂	26.827	11.6747
11	5, 6-decadien-3-yne, 5, 7-diethyl-1H-3a, 7-methanoazulene,	C ₁₄ H ₂₂	28.233	1.9056
12	1, 2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methoxyethyl) ester	C ₁₅ H ₂₆	31.200	2.8837
13	1H-3a, 7-methanoazulene, octahydro-1, 4, 9, 9-tetramethyl	C ₁₅ H ₂₆	31.200	2.8837
14	1H-indene, 1-ethylideneoctahydro-7a-methyl-, cis	C ₁₂ H ₂₀	31.676	1.6190
15	Cyclobuta[1.2.3.4]dicyclooctene, 1, 2, 5, 6, 6a, 6b, 7, 8, 11, 12, 12a, 12b-dodecahydro	C ₁₆ H ₂₄	31.803	0.9313
16	Exadecanoic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	32.092	4.8017
17	1, 2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methoxyethyl) ester	C ₁₄ H ₁₈ O ₆	32.833	0.6300
18	Dodecanoic acid, ethyl ester	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	33.115	3.9847
19	Isoxazole, 3, 4-dimethyl-5-(2, 4, 6-trimethylphenyl)	C ₁₄ H ₁₇ NO	33.695	1.0869
20	3-Cyclopentene-1-acetaldehyde, 2, 2, 3-trimethyl	C ₁₀ H ₁₆ O	33.911	4.3414
21	Bicyclo[2.2.0]hexa-2, 5-diene, 1, 2, 3, 4, 5, 6-hexamethyl	C ₁₂ H ₁₈	34.450	1.8522
22	Cyclohexane, 1, 2-diethenyl-4-(1-methylethylidene)-, cis	C ₁₃ H ₂₀	35.525	11.6147
23	2(1H)-naphthalenone, 4a, 5, 6, 7, 8, 8a-hexahydro-4a-methyl-, trans	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	35.629	2.9763
24	9, 12-Octadecadienoic acid(Z, Z)	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	36.102	2.1453
25	Cis-11, 14-Eicosadienoic acid methyl ester	C ₂₁ H ₃₈ O ₂	36.204	1.4769
	总计			92.1733

柱头压 6.0psi, 分流比 100: 1。质谱条件: 电离方式 EI: 离子能量 70 ev, 接口温度 240 °C。结果见表 2。

2.3 FBD 挥发油部位化学成分分离鉴定 取 FBD CO₂ 超临界萃取物 60ml 上硅胶柱, 以石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱, 在石油醚-乙酸乙酯 10: 2 得到化合物 A (80mg), 石油醚-乙酸乙酯 2: 1 得到化合物 B (25mg) C (5mg), 石油醚-乙酸乙酯 1: 1 得到化合物 D (20mg)。

化合物 A: 无色针晶, mp 166~ 168 °C, FD-MS m/z: 248。¹H-NMR: δ1.03 (3H, s, H₃-14), δ1.25 (1H, td, H-1 α), δ1.58 (1H, t, H-9α), δ1.64 (1H, m, H-1β), δ1.67 (1H, m, H-2α), δ1.81 (3H, s, H₃-13), δ1.85 (1H, td, H-5α), δ1.96 (1H, m, H-2β), δ2.27 (1H, d, H-9β), δ2.35 (1H, d, H-3β), δ2.44 (1H, td, H-6β), δ2.62 (1H, dd, H-6α), δ3.34 (1H, H-3α), δ4.60 (1H, s, H-15α), δ4.86 (1H, s, H-15β)。¹H-NMR 数据与文献^[7]对照相吻合, 鉴定晶 A 为白术内酯 III [Atractylenolide III], 分子式为 C₁₅H₂₀O₃。

化合物 B: 白色晶体, Liebermann-Burchard 反应呈阳性, mp 295~ 297 °C, FD-MS m/z: 528.4 [M]⁺, 495, 453, 435。¹H-NMR (Pyridine-d₅): δ0.70 (3H, s, H₃-28), δ0.71 (3H, s, H₃-29), δ0.75 (3H, s, H₃-19), δ0.79 (2* 3H, d, H₃-26, H₃-27), δ0.91 (3H, s, H₃-18), δ1.28 (3H, s, H₃-30), δ1.8 (3H, s, 乙酰基-H), δ2.32 (1H, m, H-25), δ2.74 (1H, dd, H-17), δ4.47 (1H, dd, H-16), δ4.63 (1H, dd, H-3), δ4.76 (1H, s, H-31); ¹³C-NMR 35.14 (C-1), 25.47 (C-2), 81.66 (C-3), 36.37 (C-4), 51.75 (C-5), 18.74 (C-6), 26.38 (C-7), 136.4 (C-8, C-9), 35.12 (C-10), 20.19 (C-11), 28.98 (C-12), 49.77 (C-13), 47.27 (C-13), 47.27 (C-14), 44.64 (C-15), 77.66 (C-16), 58.3 (C-17), 17.74 (C-18), 19.37 (C-19), 49.6 (C-20), 179.66 (C-21), 30.66 (C-22), 32.58 (C-23), 157.14 (C-24), 34.21 (C-25), 22.07 (C-26), 21.92 (C-27), 28.98 (C-28), 17.7 (C-29), 25.47 (C-30), 108.01 (C-31), 21.92 (Me CO), 17.53 (Me CO)。¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据与文献^[8]对照相吻合, 鉴定晶 B 为 3-乙酰基-16-羟基羊毛甾烷-8, (9), 24(31)-二烯

-21-酸, 俗称为茯苓酸 (Phchymic acid), 分子式为 C₃₃H₅₂O₅。

化合物 C: 白色晶体, Liebermann-Burchard 反应呈阳性。因量少还未进行鉴定。

化合物 D: 白色针晶, mp 174~ 175 °C, FD-MS m/z: 194.2。¹H-NMR: δ2.20 (3H, s, H₃-10), δ6.34 (1H, d, H-7), δ6.87 (1H, d, H-8), δ7.13 (1H, d, H-5), δ7.30 (1H, d, H-1), δ7.60 (1H, d, H-2); ¹³C-NMR: 126.4 (C-1), 110.3 (C-2), 148.87 (C-3), 147.6 (C-4), 114.9 (C-5), 126.4 (C-6), 144.78 (C-7), 122.6 (C-8), 167.14 (C-9), 55.23 (C-10)。¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据与阿魏酸对照品^[9]相吻合, 鉴定晶 D 为阿魏酸 (Ferulic acid), 分子式为 C₁₀H₁₀O₄。

参考文献:

- [1] 林志宏, 朱丹妮, 严永清, 等. 当归芍药散治防老年期痴呆的物质基础与作用机理研究 I ——组方作用协同性与选择性研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2002, 8(1): 16-19.
- [2] 林志宏, 朱丹妮, 严永清, 等. 当归芍药散治防老年期痴呆的物质基础与作用机理研究 II ——抗脑老化组方功效相似性研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2002, 8(2): 18.
- [3] 李桂生, 马成俊, 刘志峰, 等. 超临界 CO₂ 萃取法与水蒸气蒸馏法提取当归挥发油的比较[J]. 中草药, 2001, 32(7): 581-583.
- [4] 张强, 李章万. 白术挥发油成分的分析[J]. 华西药理学杂志, 1997, 12(2): 119-120.
- [5] 谭晓梅, 陈龙飞. 超临界 CO₂ 萃取法与水蒸气蒸馏法提取的北五味子挥发油成分分析[J]. 中药材, 2002, 25(11): 796-797.
- [6] 王燕生, 张人骏, 李国光, 等. 白术成分的研究 ——陕产白术脂溶性部位[J]. 陕西中医药, 1980, 9(4): 47-51.
- [7] 黄宝山, 孙建枢, 陈仲良. 白术内酯 IV 的分离鉴定[J]. 植物学报, 1992, 34(8): 614-617.
- [8] 李典鹏, 梁小燕, 陈海珊, 等. 云南茯苓皮的化学成分研究[J]. 广西植物, 1998, 18(3): 267-270.
- [9] 马清均, 王淑玲. 常用中药现代研究与临床[M]. 天津: 天津科技翻译出版公司, 1995. 622.