

一个葡萄糖的端基氢。6.2(1H, s), 6.7(1H, s)为 A 环上的氢信号; 7.5(1H, d, $J = 2.2, 8.5$ Hz), 7.4(1H, d, $J = 2.2$ Hz), 6.8(1H, d, $J = 8.5$ Hz)为 B 环上的氢,说明 B 为邻位取代。以上数据与文献 [4] 波谱数据比较,确定为 6-O-glucosyl vitexin。

化合物 3 黄色粉末(甲醇), mp 155~157 °C, $[\alpha]_D^{21} = -21.2$ (c 0.06 MeOH), 盐酸-镁粉反应呈阳性,三氯化铝反应呈阳性, Molish 试剂检验呈阳性,表明该化合物为黄酮苷类。其光谱数据和物理常数与文献 [5] 7-methoxy-2''-O-(2-methylbutyryl) isoswertsin 相符。

化合物 4 黄色粉末(甲醇), mp 277~279 °C, $[\alpha]_D^{21} = -182.7$ (c 0.05 MeOH), 盐酸-镁粉反应呈阳性,三氯化铝反应呈阳性, Molish 试剂检验呈阳性,表明该化合物为黄酮苷类。其光谱数据和物理常数与 2''-O-(3,4-dimethoxybenzoyl) vitexin 相符 [5]。

化合物 5 黄色粉末(甲醇), mp 202~204 °C, $[\alpha]_D^{21} = -72.2$ (c 0.06 MeOH), 盐酸-镁粉反应呈阳性,三氯化铝反应呈阳性, Molish 试剂检验呈阳性,表明该化合物为黄酮苷类。其光谱数据和物理常数与 2''-O-(3,4-dimethoxybenzoyl) orientin 相符 [5]。

化合物 6 黄色粉末(甲醇), mp 179~181 °C, 盐酸-镁粉反应呈阳性,三氯化铝反应呈阳性, Molish 试剂检验呈阳性,表明该化合物为黄酮苷类。其光谱数据和物理常数与 2''-O-(2-methoxybenzoyl) vitexin 相符 [5]。

化合物 7 黄色粉末(甲醇), mp 179~181 °C, 盐酸-镁粉反应呈阳性,三氯化铝反应呈阳性, Molish 试剂检验呈阳性,表明该化合物为黄酮苷类。其光谱数据和物理常数与 2''-O-(2-methoxybenzoyl) orientin 相符 [5]。

[参考文献]

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上册. 上海: 上海科学技术出版社, 1997: 1319
- [2] 吴新安, 赵毅民. 金莲花化学成分研究 [J]. 中草药, 2005, 36(3): 344
- [3] 桑顺林, 夏增华. 中药王不留行中黄酮碳苷成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2000, 25(4): 221
- [4] Akiyama K, Matsuo H, Hayashi H. Isolation and identification of a phosphate deficiency-induced C-glycosyl flavonoid that stimulates arbuscular mycorrhizal formation in melon roots [J]. Molecular plant-microbe interactions, 2002, 15(4): 334.
- [5] Zou JH, Yang JS, Zhou L. Acylated flavone C-glycosides from *Trollius ledebouri* [J]. J Nat Prod, 2004, 67: 664.

[责任编辑 戴 畅]

桂枝汤对体温整合调节作用的活性成分研究

周 硕¹, 霍海如², 郭建友², 梁 鸿^{*}, 蔡少青¹, 赵玉英¹

(1. 北京大学药学院天然药物学系, 北京 100083

2. 中国中医科学院中药研究所唐氏中药研究中心, 北京 100700)

桂枝汤是张仲景《伤寒杂病论》中的群方之魁, 主要作用为解肌发表、调和营卫 [1]。本方由桂枝、芍药、生姜、炙甘草和大枣 5 味中药组成, 虽为解表之剂, 亦属助阳滋阴之方。经对桂枝汤不同提取部位进行体温调节作用研究, 确定了对体温具有双向

调节作用的部位 A。为了研究复方作用的物质基础, 对部位 A 化学成分进行了研究, 分离鉴定了 9 个化合物: 香草醛 (1), 4-羟基-3-甲氧基桂皮醛 (2), 桂皮醇乙酸酯 (3), 香豆素 (4), 桂皮醛 (5), 反式桂皮醇 (6), 反式桂皮酸 (7), 邻甲氧基桂皮醛 (8), 邻甲氧基桂皮醇 (9)。对分离得到的部分化学成分进行了体温调节活性研究, 确定了化合物 5~9 是通过影响下丘脑 PGE₂ 的含量产生对体温的调节的作用, 化合物 5, 6, 8 和 9 对环氧酶 2 (COX-2) 有抑制作用,

[收稿日期] 2006-11-20

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目 (90209006)

[通讯作者] * 梁鸿, Tel (010) 82801592, E-mail mmchem@bjmu.edu.cn

其中化合物 5 作用最强。

1 仪器和材料

VXR 300 型核磁共振波谱仪, TMS 为内标。Sephadex LH-20 购自北京欧亚新技术公司, 薄层色谱及柱色谱用硅胶均为青岛海洋化工厂产品。

桂枝汤中各单味药均选用道地药材, 桂枝为樟科植物桂枝 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥嫩枝; 芍药为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall 的干燥根; 甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch 的干燥根及根茎, 蜜制; 生姜为姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rose 的新鲜根茎; 大枣为鼠李科植物枣 *Ziziphus jujuba* Mill 的干燥果实。以上药材均由北京大学药学院天然药物学系蔡少青教授鉴定, 标本保存于北京大学药学院天然药物学系标本馆内。

2 提取分离

桂枝汤全方药材共 47 kg 按《伤寒论》原方 10:10:7:10:10 配比混合, 提取方法为第 1 次加水 7~8 倍量煎煮 30 min 趁热过滤, 第 2 次加水 5~6 倍量煎煮 30 min 趁热过滤, 合并滤液, 经氯仿萃取, 回收氯仿得桂枝汤有效部位 A (98.0 g), 后用石油醚-含水甲醇萃取, 得到固态油脂 36.0 g 石油醚部分 27.2 g 甲醇部分 19.8 g 石油醚部分经硅胶柱 (200~300 目) 色谱分离, 氯仿-丙酮 (100:1~95:5) 梯度洗脱, 分成 9 个部分 (C1~C9)。经薄层色谱检视后, 合并 C1~C4 C7~C9。其中 C1~C4 部分有结晶析出, 经丙酮、无水乙醇反复重结晶, 得化合物 4 (30 mg)。C5 部分经硅胶薄层色谱分离, 展开剂为石油醚-丙酮 (8:2), 主要色带分别经 Sephadex LH-20 柱色谱 (80% 甲醇, 100% 甲醇洗脱) 纯化, 得化合物 3 (10 mg) 和 9 (7 mg)。C6 部分经硅胶柱 (200~300 目) 分离, 石油醚-醋酸乙酯 (6:4) 洗脱, 共得到 21 流分, 取 9~12 流分, 经硅胶薄层色谱分离, 展开剂为石油醚-丙酮 (8:2), 主要色带分别经 Sephadex LH-20 柱色谱 (80% 甲醇, 100% 甲醇) 纯化, 得化合物 6 (12 mg), 8 (15 mg) 和 5 (15 mg)。C7~C9 部分经硅胶薄层色谱分离, 展开剂为氯仿-醋酸乙酯 (8:2), 主要色带分别经硅胶柱 (200~300 目) 色谱分离, 石油醚-醋酸乙酯 (6:4) 洗脱, Sephadex LH-20 柱色谱 (80% 甲醇, 100% 甲醇) 纯化, 得化合物 7 (12 mg) 和 1 (15 mg)。甲醇部分经硅胶柱色谱 (200~300 目) 分离, 氯仿-甲醇 (95:5) 洗脱,

检视合并相同流分后得到 A1~A3, A2+A3 经 Sephadex LH-20 柱分离, 甲醇洗脱, 分为 A2-1, A2-2 和 A2-3。其中 A2-1 又经 Sephadex LH-20 柱色谱分离, 氯仿-甲醇 (1:1) 洗脱, 共得到 56 流分, 流分 21~27 经 Sephadex LH-20 柱色谱 (30% 甲醇, 80% 甲醇, 甲醇) 纯化, 得化合物 2 (7 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1 无色针状结晶 (丙酮)。¹H-NMR (300 MHz CD₃COCD₃) δ 9.82 (1H, s, CHO), 8.65 (1H, s, OH), 7.44 (1H, d, J=2.0 Hz H-2), 7.00 (1H, d, J=8.0 Hz H-5), 7.45 (1H, dd, J=8.0, 2.0 Hz H-6), 3.92 (3H, s, OCH₃)。 ¹³C-NMR (75 MHz CD₃COCD₃) δ 191.0 (CHO), 130.7 (C-1), 148.9 (C-3), 153.5 (C-4), 115.9 (C-5), 127.0 (C-6), 56.3 (OCH₃)。以上数据与文献 [2] 报道数据一致, 经 TLC 检查, 其 R_f 值与香草醛对照品一致, 确定为香草醛。

化合物 2 黄色粉末 (丙酮)。¹H-NMR (300 MHz CD₃COCD₃) δ 9.56 (1H, d, J=7.8 Hz H-1), 6.63 (1H, dd, J=15.9, 7.8 Hz H-2), 7.57 (1H, d, J=15.6 Hz H-3), 7.21 (1H, br s, H-2'), 7.15 (1H, d, J=8.4 Hz H-6'), 6.84 (1H, d, J=8.1 Hz H-5'), 3.89 (3H, s, OCH₃)。 ¹³C-NMR (CD₃COCD₃, 75 MHz) δ 196.1 (C=O), 127.4 (C-2), 149.4 (C-3), 126.5 (C-1'), 111.9 (C-2'), 156.3 (C-3'), 152.1 (C-4'), 116.6 (C-5'), 125.1 (C-6'), 56.3 (OCH₃)。以上数据与文献 [3] 报道一致, 故鉴定为 4-羟基-3-甲氧基桂皮醛。

化合物 3 黄色油状液体 (丙酮)。¹H-NMR (300 MHz CD₃COCD₃) δ 7.20~7.42 (5H, m), 6.66 (1H, d, J=15.9 Hz H-α), 6.35 (1H, dt, J=15.9, 6.0 Hz H-β), 4.70 (2H, dd, J=6.0, 1.2 Hz H-γ), 2.08 (3H, s, CH₃)。 ¹³C-NMR (75 MHz CD₃COCD₃) δ 137.4 (C-1), 128.7 (C-2, C-6), 129.4 (C-3, C-5), 127.3 (C-4), 134.1 (C-α), 124.6 (C-β), 65.2 (C-γ), 20.8 (CH₃), 170.4 (C=O)。以上数据与文献 [4] 报道一致, 故鉴定为桂皮醇乙酸酯。

化合物 4 白色针晶 (丙酮)。¹H-NMR (300 MHz CD₃COCD₃) δ 6.42 (1H, d, J=9.9 Hz H-3), 7.99 (1H, d, J=9.9 Hz H-4), 7.36 (1H, d, J=8.5 Hz H-5), 7.62 (1H, dt, J=8.0, 1.5 Hz H-6), 7.69 (1H, dd, J=8.0, 1.8 Hz H-7), 7.34 (1H, d, J=8.5 Hz H-8)。 ¹³C-NMR (75 MHz CD₃COCD₃) δ 160.5

(C-2), 117.3 (C-3), 144.5 (C-4), 129.2 (C-5), 125.2 (C-6), 132.6 (C-7), 117.2 (C-8), 155.0 (C-9), 119.9 (C-10)。以上数据与文献 [5] 报道一致, 故确定为香豆素。

化合物 5 黄色结晶 (丙酮)。¹H-NMR (300 MHz CD₃COCD₃) δ 9.74 (1H, d, J = 7.8 Hz CHO), 7.70 (1H, d, J = 15.9 Hz CH = CH-CHO), 6.79 (1H, dd, J = 15.9, 7.8 Hz CH = CH-CHO), 7.47 ~ 7.76 (5H, m, C₆H₅)。以上数据与文献 [6] 报道一致, 确定为桂皮醛。

化合物 6 无色结晶 (氯仿)。¹H-NMR (300 MHz CDCl₃) δ 4.32 (2H, d, J = 6.0 Hz H-1), 6.36 (1H, dt, J = 15.9, 6.0 Hz H-2), 6.61 (1H, d, J = 15.9 Hz H-3), 7.21 ~ 7.40 (5H, m, H-2' ~ H-6')。¹³C-NMR (75 MHz CDCl₃) δ 63.6 (C-1), 126.4 (C-2), 131.0 (C-3), 136.6 (C-1'), 127.6 (C-2', 6'), 128.5 (C-3', 5'), 128.4 (C-4')。以上数据与文献 [7] 报道一致, 确定为反式桂皮醇。

化合物 7 黄色粉末 (氯仿)。¹H-NMR (300 MHz CDCl₃) δ 6.47 (1H, d, J = 15.9 Hz H-2), 7.82 (1H, d, J = 15.9 Hz H-3), 7.40 ~ 7.58 (5H, m, H-2' ~ H-6'); ¹³C-NMR (75 MHz CDCl₃) δ 172.5 (COOH), 117.3 (C-2), 147.1 (C-3), 134.0 (C-1'), 130.8 (C-2', 6'), 129.0 (C-3', 5'), 128.4 (C-4')。以上数据与文献 [8] 报道一致, 确定为反式桂皮酸。

化合物 8 黄色结晶 (丙酮)。¹H-NMR (300 MHz CD₃COCD₃) δ 9.70 (1H, d, J = 7.8 Hz CHO), 7.70 (1H, d, J = 7.8 Hz H-3), 7.47 (1H, t, J = 7.8 Hz H-4), 7.12 (1H, d, J = 8.4 Hz H-5), 7.03 (1H, t, J = 8.4 Hz H-6), 7.89 (1H, d, J = 16.2 Hz H-7), 6.81 (1H, dd, J = 16.2, 7.8 Hz H-8), 3.95 (3H, s, OCH₃)。以上数据与文献 [9] 报道一致, 确定为邻甲氧基桂皮醛。

化合物 9 无色晶体 (丙酮)。¹H-NMR (300 MHz CD₃COCD₃) δ 6.38 (1H, dt, J = 16.0, 5.4 Hz H-α), 6.92 (1H, d, J = 16.0 Hz H-β), 6.94 (1H, d, J = 8.0 Hz H-3'), 7.20 (1H, dt, J = 8.5, 1.6 Hz H-4'), 6.90 (1H, t, J = 8.0 Hz H-5'), 7.46 (1H, dd, J = 7.6, 1.6 Hz H-6'), 4.25 (2H, t, J = 5.4 Hz CH₂-OH), 4.02 (1H, t, CH₂-OH), 3.81 (3H, s, OCH₃)。以上数据与文献 [10] 报道一致, 确定为邻甲氧基桂

皮醇。

4 对下丘脑前列腺素 E₂ (PGE₂) 含量的影响及环氧酶 (COX) 的作用

内源性致热因子 (如 IL-1) 可能作用于血脑屏障和血管终板器, 产生和释放特定的生物活性物质 PGE₂ 等进入大脑中枢, 引起发热。通过研究发现, 化合物 5~9 随着浓度增加显著下调升高的 PGE₂, 从而使机体异常升高的体温恢复正常, 并呈现一定的剂量依赖关系, 其中化合物 11 活性最强; COX 是催化花生四烯酸生成前列腺素类物质的限速酶, 有两种异构体: COX-1 属于结构酶, COX-2 为诱导酶, 可被多种刺激因子 (如 IL-1) 诱导产生。研究结果显示, 化合物 5 6 8 9 随浓度增加可降低 COX-1, COX-2 活性, 最终使 PGE₂ 的合成减少, 且呈现一定的剂量依赖关系, 其中化合物 5 作用最强。

[参考文献]

- [1] 陈红, 周爱香, 郭淑英, 等. 桂枝汤方中药对体温双向调节的作用研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 1999, 5(1): 12
- [2] Junko I, Chang FR, Wang H K, et al. Anti-ADS agents 48. Anti-HIV activity of monic acid derivatives and the new mellicerone-related triterpenoid isolated from *Brazilian propolis* [J]. J Nat Prod 2001; 64: 1278
- [3] Mitsou M, Masayoshi H. Antimutagenic activity of phenylpropanoids from *Clove* [J]. J Agric Food Chem, 2003, 51(22): 6413.
- [4] Zhang W J, Anthony R, Haigh M, Margaret C, Hsu. Palladium-catalyzed coupling of alkynes with alcohols and carboxylic acids [J]. Tetrahedron Lett 2002, 43: 6575
- [5] 莫顺燕, 杨永春, 石建功. 桑黄化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2003, 28(4): 399
- [6] Nejjar A, Pinel C, Djakovitch L. Heck arylation of α, β-unsaturated aldehydes [J]. Adv Synth Catal 2003, 345(5): 612
- [7] Nudelman N S, Schulz H G, Garcia G V. Reaction of phenyllithium with *E*-cinnamaldehyde: survey of several variables and their influence on the mechanism of reaction and in organic synthesis [J]. J Phys Org Chem, 1998, 11(10): 722
- [8] 黄雪峰, 李凡, 陈良才, 等. 土荆芥化学成分的研究 [J]. 中国天然药物, 2003, 1(1): 24
- [9] Thomas A F. Two new sesquiterpenoid ketones from cassia oil [J]. Helv Chim Acta 1980, 63(6): 1615.
- [10] Pan H L, Cole C A, Fletcher T L. A facile, rapid preparation of a series of cinnamyl alcohols from 3-phenylpropenes using selenium dioxide [J]. Synthesis 1980, 10: 813

[责任编辑 戴畅]