

麦门冬合千金苇茎汤效应部位的化学成分

李炜, 唐于平*, 高浩学, 张旭*, 丁安伟, 段金廛
(南京中医药大学江苏省方剂研究重点实验室, 南京 210046)

[摘要] 目的: 研究麦门冬合千金苇茎汤效应部位的化学成分。方法: 采用有机溶剂提取, 反复硅胶柱色谱和重结晶法进行分离纯化, 根据化合物的理化性质和波谱数据鉴定其结构。结果: 从麦门冬合千金苇茎汤乙酸乙酯部位分离得到 12 个化合物, 分别鉴定为: 芒柄花素 (formononetin, 1)、甘草素 (liquiritigenin, 2)、异甘草素 (isoliquiritigenin, 3)、20(R)-人参皂苷 Rg₃ [20(R)-ginsenoside Rg₃, 4]、丁二酸 (succinic acid, 5)、异香草酸 (isovanillic acid, 6)、尿 (uracil, 7)、琥珀酸酐 (succinic anhydride, 8)、甘露醇 (D-mannitol, 9)、对羟基苯甲酸 (p-hydroxybenzoic acid, 10)、β谷甾醇 (βsitosterol, 11)、豆甾醇 (stigmasterol, 12)。结论: 所得成分大部分来源于甘草、人参、半夏、苇茎; 根据文献报道分析, 其中化合物 1~4 可能是该合方治疗肺癌的效应物质基础。

[关键词] 麦门冬汤; 千金苇茎汤; 合方; 化学成分
[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010) 18-0078-04

Chemical Constituents of Maimendong plus Qianjin Weijing Decoction

LI Wei, TANG Yu-ping*, GAO Hao-xue, ZHANG Xu*, DING An-wei, DUAN Jin-ao
(Jiangsu Key Laboratory for Traditional Chinese Medicine Formulae Research, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

[Abstract] **Objective:** To study the chemical constituents of Maimendong plus Qianjin Weijing decoction. **Method:** The constituents were isolated by column chromatography and their structures were elucidated by physico-chemical properties and spectroscopic analysis. **Result:** Twelve compounds were isolated and identified as formononetin (1), liquiritigenin (2), isoliquiritigenin (3), 20(R)-ginsenoside Rg₃ (4), succinic acid (5), isovanillic acid (6), uracil (7), succinic anhydride (8), D-mannitol (9), p-hydroxybenzoic acid (10), βsitosterol (11), stigmasterol (12). **Conclusion:** Most of the constituents were come from Radix Glycyrrhiza, Radix Ginseng, Rhizoma Pinelliae and Rhizoma Phragmites, and compounds 1-4 may be responsible for lung cancer therapeutic action of the formula on the basis of literature reports.
[Key words] Chinese herbal formula; Maimendong-Qianjin Weijing decoction; chemical constituents

麦门冬合千金苇茎汤是当代国医大师周仲瑛先生治疗肺癌的临床经验方, 由麦门冬汤和千金苇茎

汤两个经典方剂组合化裁而成。麦门冬汤始载于张仲景《金匱要略·肺痿肺癰咳嗽上气病脉证治》, “火逆上气, 咽喉不利, 止逆上气者, 麦门冬汤主之”。麦门冬汤被后世医家皆谓之治肺痿主方; 千金苇茎汤出自于孙思邈《千金要方·肺癰第七》, 清肺化痰, 逐瘀排脓, 主治肺癰。经临床研究发现两方合并应用于肺癌的治疗, 其疗效非常显著。本课题组前期研究已通过对肺癌 NCI-H460 细胞和正常人胚肺成纤维细胞 HFL-I 生长增殖的影响, 初步筛选出乙酸乙酯萃取部位为有效部位^[1]。本文采用硅胶柱色谱等方法, 对该

[收稿日期] 20100818(001)
[基金项目] 国家“十一·五”科技支撑计划(2006BAI11B08-01); 国家教育部“新世纪优秀人才支持计划”(NCET-09-0163); 江苏高等学校优秀科技创新团队支持计划(2009 年度)
[通讯作者] * 唐于平, Tel: 025-85811916, E-mail: yupingtang@njutcm.edu.cn; * 张旭, Tel: 025-86798200, E-mail: zhangxutcm@gmail.com

效应部位进行化学成分的分离与结构鉴定,以阐明该合方用于治疗肺癌的效应物质基础。

1 材料

Bruker Avance AV500/300 型核磁共振仪 (TMS 为内标); Waters Q-Tof Synapt 质谱仪; WRS-1B 型数字熔点测定仪 (温度未校正); 薄层层析及柱色谱硅胶均为青岛海洋化工厂生产; 试剂均为分析纯。

药材均于 2006 年 9 月购于安徽铜陵中药饮片有限公司, 麦门冬为百合科植物麦冬 *Ophiopogon japonicus* 的干燥块根 (产地四川); 法半夏为天南星科植物半夏 *Pinellia ternata* 的块茎石灰制品 (产地贵州); 生晒参为五加科植物人参 *Panax ginseng* 的干燥根 (产地吉林); 甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* 的根及根茎 (产地内蒙古), 苇茎为禾本科植物芦苇 *Phragmites australis* 的嫩茎 (产地安徽), 薏苡仁为禾本科植物薏苡 *Coix lacryma-jobi* var. *mayuen* 的干燥种仁 (产地贵州), 冬瓜子为葫芦科植物冬瓜 *Benincasa hispida* 的种子 (产地安徽), 桃仁为蔷薇科植物桃 *Prunus persica* 的干燥成熟种子 (产地山东), 以上药材经南京中医药大学中药鉴定教研室乐巍博士鉴定。

2 提取与分离

按照麦门冬合千金苇茎汤的处方组成称取规定量的药材^[1], 共 21.6 kg。将称取药材加 10 倍量水加热回流提取 2 次, 每次 2 h, 合并提取液, 减压浓缩成稠膏。将水提浓缩液加入 95% 乙醇醇沉, 使含醇量达到 80%, 静置过夜。将上清液减压浓缩后依次用环己烷、乙酸乙酯、正丁醇萃取, 分别合并各萃取液并经减压浓缩, 得环己烷部位 (183 g), 乙酸乙酯部位 (131 g) 和正丁醇部位 (662 g)。将乙酸乙酯部位 120 g 以硅胶柱分离, 用石油醚-乙酸乙酯-甲醇梯度洗脱, 按份收集, 通过薄层色谱检测, 合并相同的流分。再分别通过硅胶柱色谱反复分离、纯化以及重结晶等, 得到化合物 1 (45 mg), 2 (1.3 mg), 3 (1.2 g), 4 (26 mg), 5 (15 mg), 6 (25 mg), 7 (10 mg), 8 (59 mg), 9 (55 mg), 10 (15 mg), 11 (2.5 g), 12 (15 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1 白色针晶 (石油醚-乙酸乙酯), mp 258 ~259, ESI-MS (+) m/z 269 [M + H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.35 (1H, s, H-2), 7.98 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-5), 7.51 (2H, d,

J = 8.8 Hz, H-2', 6'), 6.98 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.94 (1H, dd, J = 2.2, 8.8 Hz, H-6), 6.85 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-8), 3.80 (3H, s, 4'-OCH₃)。根据以上数据与文献[2]对照, 确定该化合物为芒柄花素 (formononetin)。

化合物 2 白色针晶 (乙酸乙酯), mp 207 ~208, ESI-MS (+) m/z 257 [M + H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 0.52 (1H, s, 7-OH), 9.52 (1H, s, 4'-OH), 7.64 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-5), 7.32 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2', 6'), 6.79 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3', 5'), 6.50 (1H, dd, J = 2.1, 8.8 Hz, H-6), 6.33 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-8), 5.44 (1H, dd, J = 12.8, 3.0 Hz, H-2), 3.10 (1H, dd, J = 16.8, 12.8 Hz, H-3 trans), 2.63 (1H, dd, J = 16.8, 3.0 Hz, H-3 cis)。根据以上数据与文献[3]对照, 确定该化合物为甘草素 (liquiritigenin)。

化合物 3 黄色针晶, mp 197 ~198, ESI-MS (+) m/z 257 [M + H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.56 (1H, s, 2'-OH), 10.01 (1H, s, 4-OH), 9.56 (1H, s, 4'-OH), 7.84 (1H, d, J = 8.8 Hz, 6'-H), 7.80 (1H, d, J = 15.8 Hz, β -H), 7.56 (2H, d, J = 8.2 Hz, H-2, 6), 7.46 (1H, d, J = 15.8 Hz, α -H), 6.95 (2H, d, J = 8.2 Hz, H-3, 5), 6.45 (1H, dd, J = 8.8, 2.0 Hz, H-5'), 6.41 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-3'); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 191.72 (C=O), 166.44 (C-2), 164.61 (C-4), 159.96 (C-4), 144.44 (C- β), 131.81 (C-6), 130.38 (C-2, 6), 125.94 (C-1), 116.60 (C- α), 116.12 (C-3, 5), 113.59 (C-1), 108.27 (C-5), 103.17 (C-3)。根据以上数据与文献[4]对照, 确定该化合物为异甘草素 (isoliquiritigenin)。

化合物 4 白色粉末, mp 315 ~316, ESI-MS (+) m/z : 785 [M + H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, Py-*d*₅) δ 0.77 (1H, m, 1 α -H), 1.52 (1H, m, 1 β -H), 2.16 (1H, dd, J = 13.8, 4.0 Hz, 2 α -H), 1.83 (1H, dd, J = 11.8, 4.0 Hz, 2 β -H), 3.30 (1H, dd, J = 11.8, 4.0 Hz, 3-H), 0.71 (1H, m, 5-H), 1.50 (1H, m, 6 α -H), 1.39 (1H, m, 6 β -H), 1.27 (1H, m, 7 α -H), 1.49 (1H, m, 7 β -H), 1.41 (1H, m, 9-H), 1.99 (1H, m, 11 α -H), 1.52 (1H, m,

11 β -H), 3.91 (1H, m, 12-H), 2.01 (1H, m, 13-H), 1.07 (1H, m, 15 α -H), 1.56 (1H, m, 15 β -H), 1.97 (1H, m, 16 α -H), 1.36 (1H, m, 16 β -H), 2.05 (1H, dd, $J = 10.8, 7.0$ Hz, 17-H), 1.03 (3H, s, 18-H), 0.82 (3H, s, 19-H), 1.43 (3H, s, 21-H), 1.71-1.75 (2H, m, 22-H), 2.55 (1H, m, 23 α -H), 2.49 (1H, m, 23 β -H), 5.23 (1H, t, $J = 7.4$, 24-H), 1.72 (3H, s, 26-H), 1.66 (3H, s, 27-H), 1.32 (3H, s, 28-H), 1.12 (3H, s, 29-H), 0.98 (3H, s, 30-H), 4.92 (1H, d, $J = 7.6$, 1'-H), 5.37 (1H, d, $J = 7.8$, 1''-H), 3.89 ~4.55 (m, other sugar protons)。根据以上数据与文献[5]对照,确定该化合物为 20(R)-人参皂苷 Rg₃(20(R)-ginsenoside Rg₃)。

化合物 5 白色针晶, mp 184 ~185 , ESI-MS (-) m/z 119 [M-H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.10 (2H, s, -COOH), 2.42 (4H, s, -CH₂-)。薄层色谱与对照品丁二酸比较 R_f 值一致,故确定该化合物为丁二酸(succinic acid)。

化合物 6 白色针晶, mp 209 ~210 , ESI-MS (-) m/z 167 [M-H]⁺, ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.72 (1H, dd, $J = 8.3, 1.5$ Hz, H-6), 7.60 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-2), 6.97 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5), 6.06 (1H, s, -OH), 3.96 (3H, s, -OCH₃)。根据以上数据与文献[6]对照,确定该化合物为异香草酸(isovanillic acid)。

化合物 7 白色粉末, mp > 300 , ESI-MS (+) m/z 113 [M+H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.97 (1H, brs, OH), 10.77 (1H, brs, OH), 7.38 (1H, dd, $J = 7.5, 5.8$ Hz, 6-H), 5.44 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, 5-H)。根据以上数据与文献[7]对照,确定该化合物为尿嘧啶(uracil)。

化合物 8 白色针晶, mp 118 ~119 , ESI-MS (+) m/z 101 [M+H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2.53 (s)。¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 29.11 (CH₂), 173.43 (C=O)。根据以上数据与文献[8]对照,确定该化合物为琥珀酸酐(succinic anhydride)。

化合物 9 白色针晶, mp 166 ~167 , ESI-MS (+) m/z 183 [M+H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.54 ~4.44 (8H, m); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) 71.42 (C-2, 5), 69.80 (C-2, 5),

63.94 (C-1, 6)。根据以上数据与文献[9]对照,确定该化合物为甘露醇(D-mannitol)。

化合物 10 白色针晶, mp 217 ~219 , 溴酚蓝显黄色。ESI-MS (-) m/z 137 [M-H]⁺, ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 7.88 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2, 6), 6.85 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3, 5)。根据以上数据与文献[10]对照,确定该化合物为对羟基苯甲酸(*p*-hydroxybenzoic acid)。

化合物 11 无色针晶, mp 136 ~137 , ESI-MS (+) m/z 415 [M+H]⁺。硫酸乙醇显紫红色。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 0.68 (3H, s, 18-H), 0.82 (3H, t, $J = 6.0$ Hz, 29-H), 0.84 (6H, d, $J = 6.6$ Hz, 26-H and 27-H), 0.90 (3H, d, $J = 9.5$ Hz, 21-H), 0.99 (3H, s, 19-H), 0.7 ~2.3 (38H, m), 3.51 (1H, m, 3-H), 5.35 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, 6-H)。根据其理化分析和光谱分析,并与标准品对照,确定该化合物为 β -谷甾醇(β -sitosterol)。

化合物 12 白色针晶, mp 166 ~167 。 ESI-MS (+) m/z 413 [M+H]⁺。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 0.69 (3H, s, 18-H), 0.82 (6H, t, $J = 6.4$ Hz, 26-H and 27-H), 0.84 ((3H, d, $J = 6.1$ Hz, 29-H), 0.88 (3H, d, $J = 9.0$ Hz, 21-H), 0.99 (3H, s, 19-H), 0.7 ~2.3 (34H, m), 3.53 (1H, m, 3-H), 4.95 ~5.20 (2H, m, 22-H and 23-H), 5.35 (1H, d, $J = 5.3$ Hz, 6-H)。¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 12.08 (C-29), 12.26 (C-18), 19.01 (C-19), 19.42 (C-26 and C-27), 21.12 (C-11), 21.24 (C-21), 24.39 (C-15), 25.42 (C-28), 28.93 (C-16), 31.71 (C-2), 31.91 (C-25), 31.95 (C-8), 36.55 (C-10), 37.30 (C-1), 39.73 (C-4), 39.84 (C-12), 40.45 (C-20), 42.25 (C-13), 42.37 (C-7), 50.23 (C-9), 51.23 (C-24), 50.03 (C-17), 56.96 (C-14), 71.84 (C-3), 121.77 (C-6), 129.30 (C-23), 138.36 (C-22), 140.86 (C-5)。根据其理化分析和光谱分析,并与标准品对照,确定该化合物为豆甾醇(stigmasterol)。

3 结果

方药效应物质基础研究是中药复方配伍研究、中医药现代化研究的核心内容与关键环节^[15]。我们从麦门冬合金匍茎汤的效应部位(乙酸乙酯部位)中分离得到了 12 个单体化合物,通过追踪这些

化合物的来源药材(表 1),发现大部分成分来源于甘草、人参、半夏、芩茎;同时化合物 6,8 和 9 在该合方的组成药味中以前均未报道,是否是各药味组合在一起煎煮新产生的成分,我们将进一步通过各药味与合方的化学物质比较分析给以证实。文献报道化合物 1~4 对一些肿瘤细胞生长具有一定的抑制作用^[16-18],可能是该合方的效应物质。根据以上结果与分析,本研究将为阐明麦门冬合千金芩茎汤治疗肺癌的化学本质奠定基础。

表 1 麦门冬合千金芩茎汤中化学成分归属

No.	中文名	英文名	来源	文献
1	芒柄花素	formononetin	甘草	[2]
2	甘草素	liquiritigenin	甘草	[3]
3	异甘草素	isoliquiritigenin	甘草	[4]
4	20(R)-人参皂苷 Rg ₃	20(R)-ginsenoside Rg ₃	人参	[5]
5	丁二酸	succinic acid	半夏	[11]
6	异香草酸	isovanillic acid	-	-
7	尿	uracil	半夏	[12]
8	琥珀酸酐	succinic anhydride	-	-
9	甘露醇	D-mannitol	-	-
10	对羟基苯甲酸	p-hydroxybenzoic acid	芩茎	[10]
11	β-谷甾醇	β-sitosterol	甘草	[2]
			芩茎	[10]
			半夏	[11]
			麦冬	[13]
12	豆甾醇	stigmasterol	人参	[14]
			芩茎	[10]
			麦冬	[13]

[参考文献]

[1] 郑璐玉,熊飞,詹臻,等.麦门冬汤合千金芩茎汤提取部位对非小细胞肺癌 H460 细胞毒作用的研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(3):60.

[2] 白虹,窦德强,裴玉萍,等.栽培甘草的化学成分研究[J].中草药,2007,36(5):652.

[3] 孙精伟,赵明波,梁鸿,等.保元汤中黄酮类成分的分离和结构鉴定[J].中草药,2010,41(5):696.

[4] 李伟东,阚毓铭.刺果甘草化学成分的研究[J].南京中医药大学学报,2000,16(4):223.

[5] 滕荣伟,李海舟,王德祖,等.三个原人参二醇型单糖链配糖体的 NMR 信号全指定[J].波谱学杂志,2000,17(6):461.

[6] 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):1067.

[7] 黄建设,李庆欣,吴军,等.粗吻海龙化学成分的研究[J].中草药,2004,35(5):485.

[8] 周洪雷,张义虎,魏璐雪,等.干姜的化学成分研究[J].中医药学报,2001,29(4):33.

[9] 孙佳明,杨峻山,张辉.破骨风的化学成分研究[J].中国中药杂志,2008,33(17):2128.

[10] 高浩学,丁安伟,唐于平,等.芩茎的化学成分[J].中国天然药物,2009,7(3):196.

[11] 杨虹,俞桂新,王峥涛,等.半夏的化学成分研究[J].中国药学杂志,2007,42(2):99.

[12] 吕爱娟,张志澄,张科卫,等.RP-HPLC 法同时测定半夏中 5 种核苷含量的研究[J].药物分析杂志,2007,27(7):1051.

[13] 余伯阳,徐国钧,平井康昭,等.湖北麦冬与短葶山麦冬的化学成分研究[J].中国药科大学学报,1988,16(3):209.

[14] 刘金平,吴广宣.东北刺人参根化学成分的研究[J].中国中药杂志,1992,17(9):546.

[15] 唐于平,段金廛,丁安伟,等.中医方剂物质基础现代研究的策略[J].世界科学技术——中医药现代化,2007,9(5):20.

[16] Chin Y W, Jung H A, Liu Y, et al. Anti-oxidant constituents of the roots and stolons of licorice (*Glycyrrhiza glabra*) [J]. J Agric Food Chem, 2007, 55 (12): 4691.

[17] Fang S C, Hsu C L, Lin H T, et al. Anticancer effects of flavonoid derivatives isolated from *Millettia reticulata* Benth in SK-Hep-1 human hepatocellular carcinoma cells [J]. J Agric Food Chem, 2010, 58 (2): 814.

[18] 陈明伟,倪磊,赵小革,等.人参皂苷 Rg₃ 对肿瘤血管生长调控因子蛋白表达抑制作用的研究[J].中国中药杂志,2005,30(5):357.

[责任编辑 邹晓翠]