

3 讨论

传统的多糖提取多采用煎煮的方法,较高的温度虽可保证提取充分,但反应条件剧烈容易造成多糖结构的破坏。为了进一步说明酶法提取的优势,本试验还分别比较了无酶组(除无酶添加外,同最佳提取工艺)、加酶组(最佳提取工艺)和热水组(沸水浴提取 1 h)药材中多糖的提取效果,各组样品中粗多糖的得率分别为:1.71%, 2.70%和 3.04%。因此,酶法提取多糖的效率与传统煎煮法相当,且操作安全、反应条件温和,利于活性成分的保存。本试验通过响应面法探索出广金钱草多糖的最佳提取工艺,可为工业生产提供参考,同时促进广金钱草的资源利用。

REFERENCES

- [1] FAN W C, MEI Q X, LAI H B. A research review of pharmacological function and clinical application of *Desmodium styracifolium* [J]. China Pharm(中国药房), 2010, 21(31): 2961-2963.
- [2] Ch. P (2010) Vol I (中国药典 2010 年版. 一部) [S]. 2010: 41.
- [3] CAO J, CHEN M L, YE Z B. Correlative study on quality of *Herba Desmodii Styracifolii* [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2010, 41(4): 643-647.
- [4] CHEN F L. Study on good agricultural practice of *Herba Desmodii Styracifolii* [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, 2006.
- [5] LI H Z, ZHUANG L M. A study of calcium oxalate monohydrate crystallization inhibition constituents of *Desmodium styracifolium* (Osbeck) Merr [J]. J Shenyang Coll Pharm(沈阳药学院学报), 1992, 9(3): 194-195, 234.
- [6] LIU X, CUI J, CHEN X. Present status of study on *Desmodium styracifolium* [J]. J Changchun Univ Tradit Chin Med(长春中医药大学学报), 2006, 22(4): 84-85.
- [7] LI Q, TIAN C F, LIU W X. Optimization of ultrasonic pretreatment followed by enzymatic hydrolysis for extraction technology of polysaccharides from *Arnebia euchroma* [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2012, 29(6): 498-503.
- [8] HUANG X X, LAI H F, LUO L C. Optimization of extraction technology for polysaccharide from *Lobelia chinensis* by ultrasonic-composite enzyme synergistic method [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2012, 18(5): 44-46.
- [9] LIN J Y, JI L H. Optimization of flavonoids from *Gingo biloba* using response surface analysis [J]. J Chin Inst Food Sci Technol(中国食品学报), 2013, 13(2): 83-90.
- [10] HUANG X B, LIN L J, ZHOU Y M. Optimization of ultrasonic extraction technology of flavonoids from Longan (*Dimocarpus longan*) seed by response surface methodology [J]. Acta Agric Jiangxi(江西农业学报), 2012, 24(4): 116-119, 123.
- [11] SUN P, PEI G L, SUN X F. Optimization of enzymatic extraction of polysaccharides from *Sterculia lychnophora* by central composite design [J]. Sci Technol Food Ind(食品工业科技), 2013, 34(2): 269-272.

收稿日期: 2013-09-28

益智仁水提物的化学成分研究(I)

常青鲜, 王宗权, 贾继明(石家庄以岭药业股份有限公司, 石家庄 050035)

摘要: 目的 研究益智仁(*Alpinia oxyphylla* Miq.)水提物中的化学成分。方法 采用溶剂法、Sephadex LH-20 柱色谱法等对益智仁的化学成分进行分离纯化, 运用波谱技术鉴定其结构。结果 从益智仁水提物中分离得到了 5 个化合物, 分别鉴定为原儿茶醛(1)、原儿茶酸(2)、对香豆酸(3)、(-)-表儿茶素(4)、(+)-儿茶素(5)。结论 化合物 1, 3 和 4 为首次从该属植物中分离得到, 化合物 5 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 益智仁; 水提物; 化学成分; 分离鉴定

中图分类号: R284.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)05-0549-03

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.05.008

Chemical Constituents from the Water Extract of *Alpinia Oxyphylla* Miq. (I)

CHANG Qingxian, WANG Zongquan, JIA Jiming(Shijiazhuang Yiling Pharmaceutical Co., Ltd, Shijiazhuang 050035, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the chemical constituents from the water extract of *Alpinia oxyphylla* Miq.. **METHODS** The chemical constituents were isolated by solvent and Sephadex LH-20 methods. The structures were identified on the basis of

作者简介: 常青鲜, 女, 助理工程师

Tel: 15232123326

E-mail: qingzhechang@sina.com

chemical methods and spectroscopic evidence. **RESULTS** Five compounds were identified as protocathechuic aldehyde(**1**), protocathechuic acid(**2**), p-coumaric acid(**3**), (-)-epicatechin(**4**), (+)-catechin(**5**). **CONCLUSION** Compounds **1**, **3** and **4** are obtained for the first time from this genus and compound **5** is obtained for the first time from this species.

KEY WORDS: *Alpinia oxyphylla* Miq.; water extracts; chemical constituent; isolation and identification

益智仁为姜科(Zingiberaceae)山姜属(*Alpinia Roxb.*)植物益智(*A. oxyphylla* Miq.)的干燥成熟果实,为中国四大南药之一,主产于海南和广东等地,为常用中药材。益智仁具有暖肾固精缩尿,温脾、止泻、摄唾等功效,临床多用于肾虚遗尿,小便频数,遗精白浊,脾寒泄泻,腹中冷痛,口多唾涎^[1]。现代药理研究表明,益智仁水提物具有神经保护与抗氧化作用^[2-4],另外益智仁还具有强心^[5]、钙拮抗^[6]、抗肿瘤^[7]和改善肾脏^[8]等作用。文献报道从益智仁中已分离出二芳基庚烷类、倍半萜类、黄酮类、甾体和有机酸等多种成分^[9-10]。但是对益智仁的水提物化学成分的研究未见报道,为了进一步阐明该药用植物神经保护和抗氧化作用的活性成分,为其开发利用提供理论依据,本研究对益智仁水提物的乙酸乙酯部位进行了化学成分的研究,从中分得 5 个化合物,并对其理化性质和波谱数据进行了分析,分别鉴定为原儿茶醛(**1**)、原儿茶酸(**2**)、对香豆酸(**3**)、(-)-表儿茶素(**4**)、(+)-儿茶素(**5**)。其中化合物 **1**, **3** 和 **4** 为首次从该属植物中分离得到,化合物 **5** 为首次从该植物中分离得到。

1 材料

UNITY INOVA600 超导核磁共振谱仪(美国 Varian 公司, TMS 内标); Triple TOF 5600 高分辨质谱仪(美国 AB Sciex 公司); YRT-3 熔点仪(天津大学精密仪器厂); LC-8A 制备型色谱仪、SPD-M10A 检测器、SIL-10A 自动进样器和 FRC-10A 自动留份收集器(日本岛津公司); 半制备色谱柱为 SunFire Prep C₁₈(10 mm×250 mm, 5 μm)(美国 Waters 公司); Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶(GE 公司); 乙腈为色谱纯,其余均为分析纯。

益智仁(安徽井泉集团中药饮片有限公司,批号: 20121119),产地为广东,经河北省中西医结合医药研究院资源室田清存主任中药师鉴定为 *A. oxyphylla* Miq. 的果实。

2 提取分离

干燥益智仁 1 kg,粉碎后用 10 倍量的水回流提取 2 次,每次 1.5 h,合并滤液,减压蒸馏的浸膏 121 g。将浸膏溶于蒸馏水中,分别用石油醚、

乙酸乙酯、正丁醇萃取,回收溶剂,得乙酸乙酯部位 43 g。用乙醇(20%~40%)对乙酸乙酯部位进行 Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶色谱分离,梯度洗脱,分得 6 个组分(F1~F6),F2~F6 再经制备 HPLC(流动相为乙腈-甲酸水梯度)纯化得化合物 **1**(5.2 mg)、**2**(24.4 mg)、**3**(8.0 mg)、**4**(9.1 mg)和 **5**(10.3 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 褐色粉末,分子式 C₇H₆O₃,精确分子量[M+H]: 139.038 97, TOF-MS *m/z*: 139.039 4[M+H]⁺。mp.154~155 °C。UV(CH₃OH) $\lambda_{\max}$ 231.0, 279.5, 310.5 nm。¹H-NMR(600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 9.69(1H, s, CHO), 7.26(1H, d, *J*=6.6 Hz, H-6), 7.23(1H, s, H-2), 6.91(1H, brs, H-5)。¹³C-NMR(150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 128.7(C-1), 114.3(C-2), 145.9(C-3), 152.3(C-4), 115.5(C-5), 124.5(C-6), 191.0(CHO)。以上的波谱数据与文献[11]报道的基本一致。故鉴定化合物 **1** 为原儿茶醛(protocatechuic aldehyde)。

化合物 **2**: 白色针状结晶(甲醇),分子式 C₇H₆O₄,精确分子量[M+H]: 155.033 89, TOF-MS *m/z*: 155.033 7[M+H]⁺。mp.203~205 °C。UV(CH₃OH) $\lambda_{\max}$ 231.0, 279.5, 310.5 nm。¹H-NMR(600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.34(1H, brs, H-6), 7.28(1H, d, *J*=7.2 Hz, H-2), 6.79(1H, brs, H-5)。¹³C-NMR(150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 121.7(C-1), 116.6(C-2), 144.9(C-3), 150.0(C-4), 115.1(C-5), 121.9(C-6), 167.4(COOH)。以上的波谱数据与文献报道的基本一致^[12]。故鉴定化合物 **2** 为原儿茶酸(protocatechuic acid)。

化合物 **3**: 棕色粉末,分子式 C₉H₈O₃,精确分子量[M+H]: 163.040 07, TOF-MS *m/z*: 163.038 4[M+H]⁺。mp.208~210 °C。UV(CH₃OH) $\lambda_{\max}$ 309.3 nm。¹H-NMR(600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.62(2H, d, *J*=8.4 Hz, H-2, H-6), 7.47(1H, d, *J*=16.2 Hz, H-7), 6.78(2H, d, *J*=8.4 Hz, H-3, H-5), 6.28(1H, d, *J*=16.2 Hz, H-8)。¹³C-NMR(150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 125.3(C-1), 130.0(C-2, 6), 115.7(C-3, 5), 159.5(C-4), 143.6(C-7), 115.7(C-8), 168.3(COOH)。以上的波谱数据与文献[13]报道的基本一致。故鉴

定化合物 **3** 为对香豆酸(p-coumaric acid)。

化合物 **4**: 棕色粉末, 分子式 $C_{15}H_{14}O_6$, 精确分子量[M+H]: 291.086 31, TOF-MS m/z : 291.086 5 [M+H]⁺。mp.170~172 °C。UV(CH₃OH) $\lambda_{\max}$ 278.3 nm。¹H-NMR(600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.88(1H, d, J =1.8 Hz, H-2'), 6.65(2H, m, H-5', H-6'), 5.89(1H, d, J =2.4 Hz, H-8), 5.71(1H, d, J =2.4 Hz, H-6), 4.73(1H, brs, H-2), 4.00(1H, brs, H-3), 2.67(1H, dd, J =4.2, 16.2 Hz, H-4 α), 2.47(1H, dd, J =3.0, 16.2 Hz, H-4 β)。 ¹³C-NMR(150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 78.5(C-2), 65.4(C-3), 28.7(C-4), 156.2(C-5), 94.5(C-6), 156.7(C-7), 95.5(C-8), 157.0(C-9), 98.9(C-10), 131.1(C-1'), 115.4(C-2'), 145.0(C-3'), 144.9(C-4'), 115.2(C-5'), 118.4(C-6')。以上的波谱数据与文献[14]报道的基本一致。故鉴定化合物 **4** 为(-)-表儿茶素((-)-epicatechin)。

化合物 **5**: 棕色粉末, 分子式 $C_{15}H_{14}O_6$, 精确分子量[M+H]: 291.086 31, TOF-MS m/z : 291.086 5[M+H]⁺。UV(CH₃OH) $\lambda_{\max}$ 278.3 nm。¹H-NMR(600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.72(1H, d, J =1.8 Hz, H-2'), 6.68(1H, d, J =7.8 Hz, H-5'), 6.59(1H, dd, J =1.8, 8.4 Hz, H-6'), 5.88(1H, d, J =2.4 Hz, H-8), 5.68(1H, d, J =2.4 Hz, H-6), 4.47(1H, J =7.8 Hz, H-2), 3.81(1H, m, H-3), 2.65(1H, dd, J =5.4, 16.2 Hz, H-4 α), 2.34(1H, dd, J =7.8, 16.2 Hz, H-4 β)。 ¹³C-NMR(150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 81.0(C-2), 66.3(C-3), 27.8(C-4), 155.3(C-5), 93.8(C-6), 156.4(C-7), 95.0(C-8), 156.1(C-9), 99.0(C-10), 130.5(C-1'), 115.0(C-2'), 144.8(C-3'), 144.8(C-4'), 118.1(C-5'), 114.5(C-6')。以上的波谱数据与文献[15]报道的基本一致。故鉴定化合物 **5** 为(+)-儿茶素((+)-catechin)。

4 讨论

前期的药理实验表明益智仁水提物具有神经保护与抗氧化作用, 本试验对其进行了乙酸乙酯和正丁醇萃取, 对乙酸乙酯萃取部位进行了分离, 得到了 5 个化合物, 有关文献报道了原儿茶酸^[16]、儿茶素^[17]对神经保护和抗氧化的作用。原儿茶酸是益智仁水提物中含量最高的。由此本试验认为原儿茶酸可能是益智仁神经保护和抗氧化作用的主要活性成分之一。

REFERENCES

- [1] Ch.P(2010)Vol I (中国药典 2010 年版. 一部) [S]. 2010: Appendix 273-274.
- [2] YANG Y, JI Z H, WANG H, et al. Effects of *Alpinia oxyphylla* fructus on learning-memory and expression of related signal proteins in hippocampus of brain aging mice [J]. Chin J Behav Med Brain Sci(中华行为医学与脑科学杂志), 2010, 19(10): 870-872.
- [3] SUN L, LI K, MIAO Y Q. Regulating effect of *Alpinia oxyphylla* on Ca²⁺ concentration in chronic immobilization stressed rats [J]. Chin J Behav Med Brain Sci(中华行为医学与脑科学杂志), 2010, 19 (3): 243-244.
- [4] YOU W H, HE S. Effect of *Alpinia oxyphylla* Miq. feut on metabolism of free radicals and ultrastructure of liver in exercised mice [J]. J Fourth Mil Med Univ(第四军医大学学报), 2007, 28(23): 2160-2162.
- [5] SHOJI N, UMEYAMA A, TAKEMOTO T, et al. Isolation of a cardiotonic principle from *Alpinia oxyphylla* [J]. Planta Med, 1984, 50(2): 186-187.
- [6] SHOJI N, UMEYANM A, ASAKAWA Y, et al. Structural determination of nootkatol, a new sesquiterpene isolated from *Alpinia oxyphylla* Miquel possessing calcium-antagonistic activity [J]. J Pharm Sci, 1984, 73(6): 843-847.
- [7] LEE E, PARK K K, LEE J M, et al. Suppression of mouse skin tumor promotion and induction of apoptosis in HL-60 cells by *Alpinia oxyphylla* Miquel (Zingiberaceae) [J]. Carcinogenesis, 1998, 19(8): 1377-1381.
- [8] LI W B, HU C J, WU S S, et al. Effects of *Alpiniae oxyphyllae* fructus before and after salt-processing on improving polyuria rats' kidneys with kidney yang-deficiency [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2012, 34(9): 1767-2769.
- [9] DI L, WANG Z Y, WANG Z, et al. Chemical constituents in *Alpinia oxyphylla* seed [J]. J Plant Res Environ(植物资源与环境学报), 2011, 20(2): 94-96.
- [10] XU J J, TAN N H, ZENG G Z, et al. Studies on chemical constituents in fruit of *Alpinia oxyphylla* [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2009, 34(8): 990-993.
- [11] LU H Y, LIANG J Y, CHEN R. Chemical Constituents from *Rabdosia rubescens* [J]. Chin J Nat Med(中国天然药物), 2007, 5(4): 269-271.
- [12] SUN Z, BAI N, XIAO C N, et al. Chemical constituents of *Lepidium sativum* L. [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2013, 35(4): 748-750.
- [13] WU Q Y, WANG P P, WANG K W, et al. Chemical components of *Alpinia sichuanensis* Z. Y. Zhu [J]. Chem Indust Forest Products(林产化学与工业), 2013, 33(1): 122-124.
- [14] XU Z H, WU H X, WEI X Y, et al. Flavonoids from *Lespedeza davurica* [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin(西北植物学报), 2010, 30(7): 1485-1489.
- [15] CUI Y. Chemical constituents from rhizomes of *Bergenia scopulosa* (II) [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2012, 43(9): 1704-1707.
- [16] GUAN S. Studies on protective effect of protocatechuic acid from *Alpinia oxyphylla* in PC12 Cells [D]. Liaoning: Dalian University of Technology, 2006.
- [17] XU X X. Review of research on pharmacological effects of catechins [J]. J Zhengzhou Univ Light Indust(Nat Sci Ed)(郑州轻工业学院学报: 自然科学版), 2012, 27(4): 60-64.

收稿日期: 2013-08-05