

**Chemical study on the root of *Cynanchum otophyllum*
Schneid**

By

Shen Dongyan



Master of Science

2013

**Institute of Chinese Medical Sciences
University of Macau**



Chemical study on the root of *Cynanchum otophyllum* Schneid

by

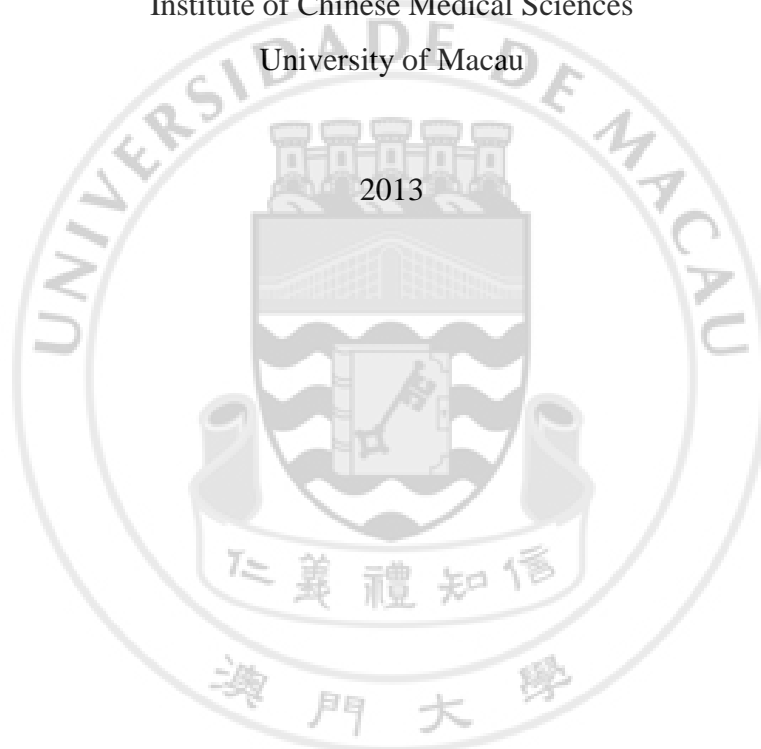
Shen Dongyan

A thesis submitted in partial fulfillment of the
requirements for the degree of

Master of Science

Institute of Chinese Medical Sciences

University of Macau



Approved by _____

Supervisor

Date



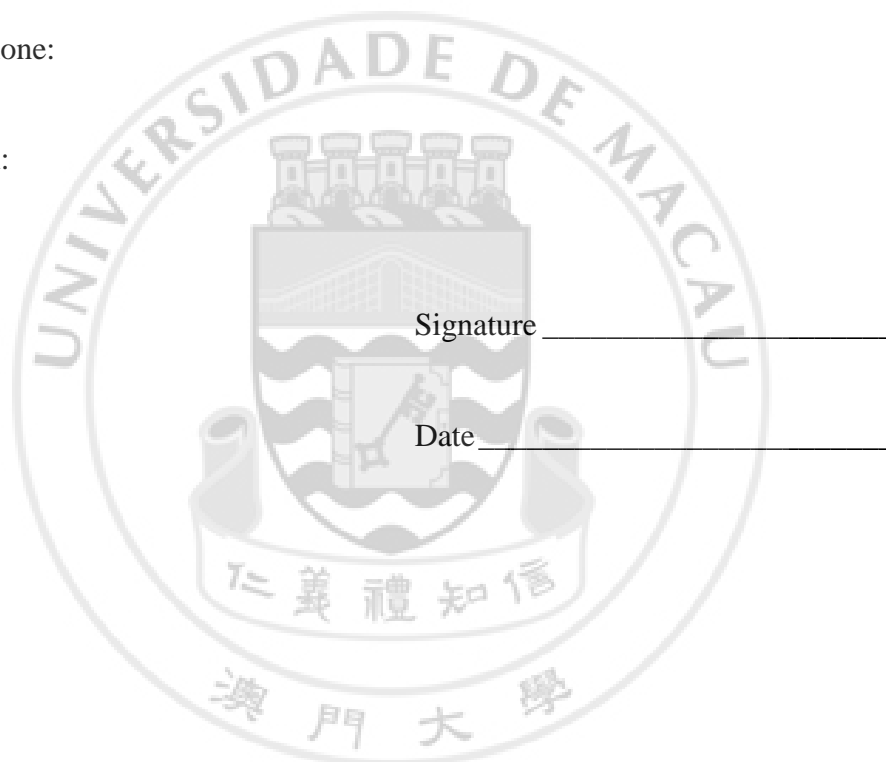
In presenting this thesis in partial fulfillment of the requirements for a Master's degree at the University of Macau, I agree that the Library and the Institute of Chinese Medical Sciences shall make its copies freely available for inspection. However, reproduction of this thesis for any purposes or by any means shall not be allowed without my written permission. Authorization is sought by contacting the author at

Address:

Telephone:

Fax:

E-mail:





碩士學位論文

青陽參的化學成分研究

UNIVERSIDADE DE MACAU
澳門大學

仁義禮知信

UNIVERSIDADE DE MACAU
澳門大學

仁義禮知信

澳門大學

研究生姓名： 申東豔
導師： 李 鵬
專業： 中藥學
日期： 2013年05月



澳門大學中華醫藥研究院



致謝

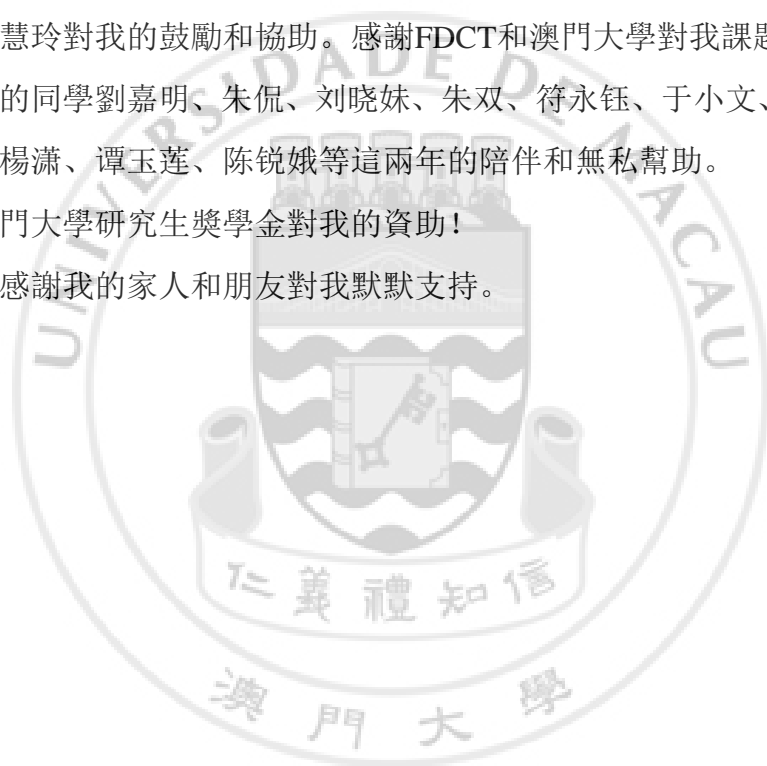
首先感謝我的導師李鵬博士兩年來對我的關心和指導，李鵬博士以他豐富的人生閱歷和寶貴的科研經驗，指導我在研究生的學習和生活中中開拓思路，積極創新，李老師以他紮實的專業知識和嚴謹的治學態度指引我走向科研之路，在整個課題研究中他追求完美，精益求精的科研態度令我銘記在心。

感謝王一濤教授、張慶文教授以及李銘源教授對我課題以及研究生學習中的無私的關心和幫助，感謝ICMS所有老師和技術員，感謝袁帥師姐、黃曉君師姐、感謝師妹朱慧玲對我的鼓勵和協助。感謝FDCT和澳門大學對我課題的資助。

感謝我的同學劉嘉明、朱侃、刘晓妹、朱双、符永钰、于小文、钟海静、宋菊、劉戈、楊瀟、譚玉蓮、陈锐娥等這兩年的陪伴和無私幫助。

感謝澳門大學研究生獎學金對我的資助！

最後，感謝我的家人和朋友對我默默支持。



摘要

青陽參 (*Cynanchum otophyllum* Schneid) 系蘿藦科鵝絨藤屬植物，又名青羊參、青洋參等，分佈在我國的貴州、雲南等西南部地區。其性微溫，味甘微苦，民間常用於治療風濕骨痛，腰肌勞損，癩癩等癥。現代藥理研究表明，青陽參具有抗癩癩、抗抑鬱、免疫調劑和肝臟保護等作用，而其主要有效成分為 C₂₁ 甾體皂苷類物質。爲了進一步探索青陽參的化學成分，爲品質控制和藥理研究提供物質基礎，本文對青陽參進行了化學成分研究。

本文對青陽參粗提物的氯仿萃取部位所含的主要化學成分進行了系統的研究，從中分離得到了 1 種苯乙酮類物質和 9 種 C₂₁ 甾體皂苷類物質。根據化合物的理化性質和波譜數據將 10 種化合物的結構鑒定為：2,6,2',5'-四羟基, 3-乙酰基, 6'-甲基二苯酮 (1)，青陽參苷元 3-O-β-D-黃夾吡喃糖基-(1→4)-β-D-磁麻吡喃糖基-(1→4)-β-D-洋地黃毒吡喃糖苷 (2)，青陽參苷元 3-O-β-D-黃夾吡喃糖基-(1→4)-β-D-磁麻吡喃糖基-(1→4)-β-D-磁麻吡喃糖苷 (3)，告達亭 3-O-β-D-葡萄吡喃羰基-(1→4)-β-D-夾竹桃吡喃糖基-(1→4)-β-D-磁麻吡喃糖基-(1→4)-β-D-洋地黃毒吡喃糖苷 (4)，告達亭 3-O-β-D-葡萄吡喃羰基-(1→4)-β-D-夾竹桃吡喃糖基-(1→4)-β-D-磁麻吡喃糖基-(1→4)-β-D-磁麻吡喃糖苷 (5)，告達亭 3-O-β-D-葡萄吡喃羰基-(1→4)-β-D-磁麻吡喃糖基-(1→4)-β-D-夾竹桃吡喃糖基-(1→4)-β-D-磁麻吡喃糖基-(1→4)-β-D-磁麻吡喃糖苷 (6)，告達亭 3-O-β-D-葡萄吡喃羰基-(1→4)-β-D-葡萄吡喃糖基-(1→4)-β-D-磁麻吡喃糖基-(1→4)-β-D-夾竹桃吡喃糖基-(1→4)-β-D-洋地黃毒吡喃糖苷 (7)，告達亭 3-O-β-D-葡萄吡喃羰基-(1→4)-β-D-葡萄吡喃糖基-(1→4)-β-D-磁麻桃吡喃糖基-(1→4)-β-D-夾竹桃吡喃糖基-(1→4)-β-D-磁麻吡喃糖苷 (8)，告達亭 3-O-β-D-葡萄吡喃羰基-(1→4)-β-D-葡萄吡喃糖基-(1→4)-β-D-磁麻吡喃糖基-(1→4)-β-D-夾竹桃吡喃糖基-(1→4)-β-D-磁麻吡喃糖基-(1→4)-β-D-磁麻吡喃糖苷 (9)，告達亭 3-O-β-D-葡萄吡喃羰基-(1→4)-β-D-葡萄吡喃糖基-(1→4)-β-D-夾竹桃吡喃糖基-(1→4)-β-D-夾竹桃吡喃糖基-(1→4)-β-D-磁麻吡喃糖基-(1→4)-β-D-磁麻吡喃糖苷 (10)。其中化合物 2、3、4 和 10 爲新化合物，化合物 7 爲首次從青陽參中分離得到。

此外，本文建立了同時對 7 種 C₂₁ 甾體皂苷成分（2、3、5、6、7、8 和 10）的 HPLC-DAD 的定量分析方法，并用建立的分析方法測定了青陽參中 C₂₁ 甾體皂苷成分的含量。

關鍵字：青陽參；C₂₁ 甾體皂苷；分離純化；定量分析



Abstract

Cynanchum otophyllum Schneid (Chinese name Qingyangshen), a plant of the genus *Cynanchum* L. (Family: Asclepiadaceae), mostly distributed in the southwest of China, such as Guizhou and Yunnan provinces. As a traditional medicinal plant, the dried root of *C. otophyllum* has been used clinically in these areas to treat rheumatism, lumbar muscle strain and epilepsy. Modern pharmacological studies have revealed that it has anti-epileptic effect, anti-depressant effect, immunoregulation, liver protection and many other functions. C₂₁ steroidal glycosides were reported to be the main bioactive compounds of *C. otophyllum*. In order to supply the materials for further exploration of quality control and pharmacological activities, a systematic chemical study on this herb has been carried out.

10 compounds were isolated from the dried root of *C. otophyllum*. Based on their physical and chemical properties and the spectral data, their structures were identified as: 1-(3-(3,6-dihydroxy-2-methylbenzoyl)-2,4-dihydroxyphenyl)ethanone (1), qingyangshengenin 3-O-β-D-thevetopyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-digitoxopyranoside (2), qingyangshengenin 3-O-β-D-thevetopyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranoside (3), caudatin 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-β-D-oleandropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-digitoxopyranoside (4), caudatin 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-β-D-oleandropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranoside (5), caudatin 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-oleandropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranoside (6), caudatin 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-oleandropyranosyl-(1→4)-β-D-digitoxopyranoside (7), caudatin 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-oleandropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranoside (8), caudatin 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-oleandropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranoside (9), caudatin 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-β-D-oleandropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranoside (10).

An HPLC method was developed for simultaneous determination of seven major C₂₁ steroidal glycosides (2, 3, 5, 6, 7, 8 and 10) and the method was applied to quantitatively analyze the seven compounds in *C. otophyllum*.

Keywords: *Cynanchum otophyllum* Schneid, C₂₁ steroidal glycosides, separation and purification, quantitative analysis.



目录

致謝	I
摘要	II
Abstract	IV
List of Figures	VII
List of Tables	VIII
符號說明	IX
第一章 文獻綜述	1
1. 化學成分與分析方法	1
2. 藥理作用	8
參考文獻	11
第二章 活性導向的青陽參化學成分分離	13
1. 實驗儀器和材料	13
2. 活性導向的提取與分離	14
3. 結構鑒定（譜圖見附錄）	18
參考文獻	44
第三章 青陽參藥材中皂苷成分的含量測定	45
1. 實驗材料和儀器	46
2. 實驗方法	47
3. 方法學考察	48
參考文獻	52
附錄	53
個人簡介	71

List of Figures

圖 1.1 青陽參中 C ₂₁ 甾體苷元類型	2
圖 1.2 青陽參中 C ₂₁ 甾體皂苷糖鏈結構	5
圖 1.3 青陽參中去氧寡糖化合物	7
圖 1.4 青陽參中苯乙酮類化合物	7
圖 2.1 青陽參不同溶劑萃取部位的抗癲癇活性	15
圖 2.2 化合物 1 的分離純化	16
圖 2.3 化合物 2-6 的分離純化	17
圖 2.4 化合物 7-10 的分離純化	18
圖 2.5 化合物 2 的結構式	18
圖 2.6 化合物 3 的結構式	22
圖 2.7 化合物 4 的結構式	26
圖 2.8 化合物 10 的結構式	30
圖 2.9 化合物 1 的結構式	34
圖 2.10 化合物 5 的結構式	35
圖 2.11 化合物 6 的結構式	36
圖 2.12 化合物 7 的結構式	37
圖 2.13 化合物 8 的結構式	38
圖 2.14 化合物 9 的結構式	39
圖 3.1 所選 7 種皂苷的結構	46
圖 3.2 青陽參 7 種皂苷成分的 HPLC 譜圖	48
圖 3.3 超聲提取方法的優化	51

List of Tables

表 1.1 青陽參中 C ₂₁ 甾體皂苷的結構	5
表 2.1a 化合物 2 苷元部份的 NMR 數據 (C ₅ D ₅ N, 100M, 400M)	20
表 2.1b 化合物 2 糖鏈部份的 NMR 數據 (C ₅ D ₅ N, 100M, 400M)	21
表 2.2a 化合物 3 苷元部份的 NMR 數據 (C ₅ D ₅ N, 150M, 600M)	23
表 2.2b 化合物 3 糖鏈部份的 NMR 數據 (C ₅ D ₅ N, 150M, 600M)	25
表 2.3a 化合物 4 苷元部份的 NMR 數據 (C ₅ D ₅ N, 150M, 600M)	27
表 2.3b 化合物 4 糖鏈部份的 NMR 數據 (C ₅ D ₅ N, 150M, 600M)	28
表 2.4a 化合物 10 苷元部份的 NMR 數據 (C ₅ D ₅ N, 150M, 600M)	32
表 2.4b 化合物 10 糖鏈部份的 NMR 數據 (C ₅ D ₅ N, 150M, 600M)	33
表 2.5 已知化合物苷元部分的 ¹³ C NMR 數據 (CD ₃ OD, 75M)	39
表 2.6 已知化合物苷元部分的主要 ¹ H NMR 數據 (CD ₃ OD, 300M)	40
表 2.7 已知化合物糖鏈部分的 ¹³ C NMR 數據 (CD ₃ OD, 75M)	40
表 2.8 已知化合物糖鏈的 ¹ H NMR 數據 (CD ₃ OD, 300M)	42
表 3.1 七種皂苷的標準曲線	48
表 3.2 七種皂苷的檢測限、定量限和加樣回收率	48
表 3.3 七種皂苷的日間精密度與日內精密度	49
表 3.4 七種皂苷的重現性	50
表 3.5 青陽參樣品中皂苷含量	51

符號說明

縮寫	英文全稱	中文全稱
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	高效液相色譜
NMR	Nuclear Magnetic Resonance	核磁共振
TLC	Thin Layer Chromatography	薄層色譜法
MS	Mass spectrometry	質譜
Pre-HPLC	Preparative High Performance Liquid Chromatography	製備高效液相色譜



