

· 化学成分 ·

银翘散抗流感病毒有效部位群中的黄酮二糖苷

石 钺¹, 石任兵², 刘 斌², 陆蕴如², 杜力军^{1*}

(1. 清华大学生命科学院, 北京 100084; 2. 北京中医药大学中药学院, 北京 100029)

摘要: 目的 对银翘散抗流感病毒作用的物质基础进行研究。方法 运用色谱技术进行分离、波谱等方法鉴定化合物的结构。结果 从银翘散抗流感病毒有效部位群中分离得到 4 种黄酮二糖苷成分, 鉴定为异甘草素-2'-O-芹糖 (I)、异甘草素-4'-O-芹糖 (II)、异甘草素-4-O-芹糖 (III)、甘草素-4'-O-芹糖 (IV)。结论 异甘草素-2'-O-芹糖 (I)、异甘草素-4'-O-芹糖 (II)、异甘草素-4-O-芹糖 (III)、甘草素-4'-O-芹糖 (IV)。关键词 银翘散; 抗流感病毒; 异甘草素-2'-O-芹糖 (I)、异甘草素-4'-O-芹糖 (II)、异甘草素-4-O-芹糖 (III)、甘草素-4'-O-芹糖 (IV)。

关键词: 银翘散; 抗流感病毒; 异甘草素-2'-O-芹糖 (I)、异甘草素-4'-O-芹糖 (II)、异甘草素-4-O-芹糖 (III)、甘草素-4'-O-芹糖 (IV)。

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)08-0676-03

Studies on flavonoid glycosides with antiviral effect from Yinqiaosan on influenza virus

SHI Yue¹, SHI Ren-bing², LIU Bin², LU Yun-ru², Du Li-jun¹

(1. School of Life Science, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 2. School of Chinese

Materia Medica, Beijing University of TCM, Beijing 100029, China)

Abstract **Object** To study the chemical constituents with the antiviral effect from Yinqiaosan on influenza virus. **Methods** Isolation of the constituents by different kinds of column chromatography and elucidation of their structures on the basis of chemical and spectral methods. **Results** Four flavonoid glycosides were isolated and elucidated as 2'-O-[β-D-apiofuranosyl (1→2)-β-D-glucopyranosyl] isoliquiritigenin, 4'-O-[β-D-apiofuranosyl (1→2)-β-D-glucopyranosyl] isoliquiritigenin, 4-O-[β-D-apiofuranosyl (1→2)-β-D-glucopyranosyl] isoliquiritigenin and 4'-O-[β-D-apiofuranosyl (1→2)-β-D-glucopyranosyl] liquiritigenin, respectively. **Conclusion** 2'-O-[β-D-apiofuranosyl (1→2)-β-D-glucopyranosyl] isoliquiritigenin is a new naturally compound.

Key words Yinqiaosan; anti-influenza virus; 2'-O-[β-D-apiofuranosyl (1→2)-β-D-glucopyranosyl] isoliquiritigenin

银翘散由金银花、连翘、桔梗、薄荷、淡竹叶、甘草、荆芥、淡豆豉、牛蒡子 9 味中药组成。现代用于治疗流行性感冒、急性扁桃体炎、咽峡疱疹、麻疹、腮腺炎、乙脑、流脑、大叶性肺炎等疾病的初期阶段。具有解热、抗菌、抗病毒、抗炎、抗过敏、镇痛、增强免疫等作用,且无明显的毒副作用^[1]。曾对银翘散抗流感病毒活性进行研究,结果显示良好的抗流感病毒作用,并筛选出了银翘散抗流感病毒有效部位群 (EFY) 为阐明银翘散抗流感病毒作用的物质基础,运用现代分离技术,对 EFY 进行了系统、深入的研究,从中分离得到多种化学成分^[2,3],本文报道后续分离鉴定的 4 种黄酮二糖苷。

EFY 经 AB-8 型大孔吸附树脂柱、聚酰胺柱、硅胶柱、Sphadex LH-20 柱层析等分离,得到 4 种黄酮二糖苷成分。经光谱分析鉴定为异甘草素-2'-O-芹糖 (I)、异甘草素-4'-O-芹糖 (II)、异甘草素-4-O-芹糖 (III)、甘草素-4'-O-芹糖 (IV),其中异甘草素-2'-O-芹糖 (I)、异甘草素-4'-O-芹糖 (II)、异甘草素-4-O-芹糖 (III)、甘草素-4'-O-芹糖 (IV) 为一新化合物。

化合物 I: 黄色结晶粉末, mp 150℃ ~ 155℃ (MeOH)。Molish 反应阳性。ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z 551 ($M+1$), 其他碎片 m/z 419 ($M+1-132$), 257 ($M+1-132-162$), 据此可以初步判定该

* 收稿日期: 2002-12-12

基金项目: 国家中医药管理局重点课题 (972072)

作者简介: 石 钺 (1963-), 男, 博士, 在清华大学生命科学院药物药理研究室从事博士后研究工作, 主要方向为中药新药研制与开发。

Tel (010) 62655865 E-mail shiyuel029@ hotmail.com

化合物可能为二糖苷类化合物,一个为五碳糖,一个为六碳糖,且六碳糖与苷元相连。HR-SIMS给出分子式为 $C_{26}H_{30}O_{13}$ ($M-1$ 实测值 549.161 8,计算值 549.161 4),碎片离子(即苷元)实验式 $C_{15}H_{11}O_4$ ($M-1$ -糖:实测值 225.065 7,计算值 255.066 3) $UV \lambda_{max}$ (nm): 356, 224,显示出查耳酮母核的特征 IR显示出羟基 ($3\ 410\ cm^{-1}$),羰基 ($1\ 640\ cm^{-1}$),芳香环 ($1\ 580, 1\ 550, 1\ 500\ cm^{-1}$)等典型吸收 $^1HNM R$ 给出 $\delta 7.83(1H, d, J= 15.0\ Hz)$, $7.64(1H, d, J= 17.0\ Hz)$ 应为查耳酮 C环 α, β 质子^[4]。 $\delta 8.06(1H, d, J= 9.0\ Hz)$, $6.67(1H, dd, J= 9.0, 2.5\ Hz)$, $6.60(1H, d, J= 2.5\ Hz)$ 应为 A环 ABX系统信号,说明 A环在 C-2', C-4'位有取代基的存在 $\delta 7.64(2H, d, J= 8.5\ Hz)$, $6.85(2H, d, J= 8.5\ Hz)$ 为 B环 AA'BB'系统信号,说明 B环 C-4位也有取代基的存在。 $\delta 5.45(1H, s)$, $5.10(1H, d, J= 7.5\ Hz)$ 分别为两个糖端基氢信号,而后者应为 β -D-葡萄糖^[5]。根据已有的 $^1HNM R$ 和 $^{13}CNM R$ 数据分析(表 1, 2),其黄酮母核应为异甘草素 从 HR-SIMS测定结果也可得到证实。由 $^{13}CNM R$ 可见, $\delta 194.1, 146.4, 118.3$ 显示了典型的查耳酮母核结构^[6]。 $\delta 131.9, 117.0$ 分别显示两个碳的信号,进一步证实 B环 C-4位取代基的存在 母核部分与异甘草素^[7]相比,除 $\delta 164.9$ (C-2')较正常值移向高场,而 $\delta 116.7$ (C-1'), 105.0 (C-3')则移向低场,显示出典型的苷元糖苷化位移信息外,其他数据基本一致,因此确定母核为异甘草素,其中 C-2'位发生苷化 HMCB谱显示出化合物中 $\delta 164.9$ (C-2')与 $\delta 5.10$ ($1''-H$), $\delta 8.06$ ($6'-H$), $\delta 6.60$ ($3'-H$)相关; $\delta 5.45$ ($1'''-H$)与 $\delta 78.2$ (C-2''), $\delta 80.7$ (C-3''), $\delta 75.5$ (C-5'')相关。从所给出的碳信号中也可以看出,除 15个母核信号外,其余 11个应为两个糖的信号,且 1个五碳糖,1个六碳糖,与上述推断一致 $\delta 110.9$ 的出现提示含有芹糖基^[8],从 DEPT谱中也可以看出芹糖两个特征的亚甲基信号 $\delta 75.5$ (C-5''')和 66.0 (C-4''')与文献中糖部分 ($-O$ 芹糖 ($1 \rightarrow 2$)葡萄糖)比较,数据完全一致^[9],从而证实葡萄糖与 A环 2'位相连,且芹糖与葡萄糖是 $\beta 1 \rightarrow 2$ 苷键相连。根据以上分析,推定化合物I 为异甘草素-2'- O -芹糖 ($1 \rightarrow 2$)-葡萄糖苷 ($2'-O-[\beta$ -D-apiofuranosyl ($1 \rightarrow 2$)] β -D-glucopyranosyl] isoliquiritigenin)。经文献检索未见报道,因此确定其为新化合物。

1 仪器与材料

药材 试剂与仪器均同文献^[2]。

表 1 化合物I 和异甘草素的 $^1HNM R$ 光谱数据(在 CD_3OD 中)

Table 1 $^1HNM R$ data of compoundI and isoliquiritigenin (in CD_3OD)

氢位	化合物I $\delta_H(J, Hz)$	异甘草素 $\delta_H(J, Hz)$
α	7.64 (1H, d, 17.0)	7.68 (1H, d, 17.0)
β	7.83 (1H, d, 15.0)	7.85 (1H, d, 15.5)
3'-H	6.60 (1H, d, 2.5)	6.35 (1H, d, 1.8)
5'-H	6.67 (1H, dd, 9.0, 2.5)	6.45 (1H, dd, 8.8, 1.8)
6'-H	8.06 (1H, d, 9.0)	8.11 (1H, d, 8.8)
2, 6-H	7.64 (2H, d, 8.5)	7.72 (2H, d, 8.5)
3, 5-H	6.85 (2H, d, 8.5)	6.91 (2H, d, 8.5)
1''-H	5.10 (1H, d, 7.5)	
1'''-H	5.45 (1H, s)	

表 2 化合物I 和异甘草素的 $^{13}CNM R$ 光谱数据(在 CD_3OD 中)

Table 2 $^{13}CNM R$ data of compoundI and isoliquiritigenin (in CD_3OD)

碳位	化合物I		碳位	异甘草素	
	δ_C	DEPT		δ_C	DEPT
α	118.3	CH	5	117.0	CH
β	146.4	CH	6	131.9	CH
C=O	194.1	C	1''	100.1	CH
1'	116.7	C	2''	78.2	CH
2'	164.9	C	3''	78.8	CH
3'	105.0	CH	4''	71.3	CH
4'	166.8	C	5''	78.5	CH
5'	109.3	CH	6''	62.4	CH ₂
6'	133.0	CH	1'''	110.9	CH
1	127.8	C	2'''	78.2	CH
2	131.9	CH	3'''	80.7	C
3	117.0	CH	4'''	66.0	CH ₂
4	161.7	C	5'''	75.5	CH ₂

2 提取与分离

样品制备与提取步骤同文献^[2]。取 EFY 500 g,经 AB-8型大孔吸附树脂处理,水-乙醇梯度洗脱,分别得到 30%, 50%, 70%和 95%乙醇部分。其中 30%和 50%乙醇部分经聚酰胺柱层析;水-乙醇梯度洗脱, Sephadex LH-20反复柱层析,甲醇洗脱;硅胶柱层析,氯仿-甲醇梯度洗脱,以及制备薄层层析分离,得到化合物I (12 mg), II (15 mg), III (42 mg), IV (14 mg)。

3 结构鉴定

化合物I :黄色结晶性粉末, mp $150\ ^\circ C \sim 152\ ^\circ C$ ($M eOH$)。分子式 $C_{26}H_{30}O_{13}$ $UV \lambda_{max}$ (nm): 359, 230 $IR \nu_{max}^{KBr}\ cm^{-1}$: $3\ 410(OH)$, $1\ 640(C=O)$, $1\ 580, 1\ 550, 1\ 500$ (芳香环), $1\ 230, 1\ 160(C-O)$ 。ESI-MS (m/z): $551([M+1]^+)$, $419(M+1-Api)$, $257(M+1-Api-Glc)$ HR-SIMS (m/z): $[M+1]^+$: Found 549.161 8 (C26, H30, O13), Calcd

549. 161 4; 255. 065 7 (M - Api - Glc), ¹H NMR (CD₃OD) δ 见表 1 ¹³C NMR (CD₃OD) δ 见表 2 根据以上数据推定化合物I 为甘草素-2'-O-芹糖 (1→2)-葡萄糖苷。

化合物II: 淡黄色针状结晶, mp 188 °C ~ 189 °C (MeOH), UV, ¹H NMR 和 ¹³C NMR 光谱数据与文献基本一致^[4,9], 故鉴定化合物II 为异甘草素-4'-O-芹糖 (1→2)-葡萄糖苷。

化合物III: 淡黄色粉末, mp 144 °C ~ 147 °C (MeOH), UV λ_{max} (nm): 358, 229 ESI-MS (*m/z*): 549 ([M - H]⁻), 417 (M - H - Api), 255 (M - H - Api - Glc), ¹H NMR (CD₃OD) δ 7. 97 (1H, d, *J* = 9. 0 Hz, 6'-H), 7. 80 (1H, d, *J* = 15. 5 Hz, β-H), 7. 70 (2H, d, *J* = 9. 0 Hz, 2, 6-H), 7. 66 (1H, d, *J* = 17. 0 Hz, α-H), 7. 12 (2H, d, *J* = 8. 5 Hz, 3, 5-H), 6. 42 (1H, dd, *J* = 8. 5, 2. 0 Hz, 5'-H), 6. 30 (1H, d, *J* = 2. 0 Hz, 3'-H), 5. 47 (1H, s, 1'''-H), 5. 06 (1H, d, *J* = 7. 5 Hz, 1''-H), 4. 04 ~ 3. 36 (m, 糖 H), ¹³C NMR (CD₃OD) δ 144. 8 (Cβ), 120. 2 (Cα), 193. 5 (C=O), 130. 6 (C-1), 131. 4 (C-2), 118. 0 (C-3), 160. 9 (C-4), 118. 0 (C-5), 131. 4 (C-6), 114. 8 (C-1'), 166. 5 (C-2'), 103. 9 (C-3'), 167. 5 (C-4'), 109. 3 (C-5'), 133. 5 (C-6'), 100. 7 (C-1''), 78. 2 (C-2''), 78. 8 (C-3''), 71. 5 (C-4''), 78. 6 (C-5''), 62. 6 (C-6''), 110. 9 (C-1'''), 78. 2 (C-2'''), 80. 7 (C-3'''), 66. 1 (C-4'''), 75. 5 (C-5'''), HMBC (CD₃OD) δ 5. 06 (1''-H) 和 160. 9 ((C-4) 相关, 5. 47 (1'''-H) 和 δ 80. 7 (C-3'''), 78. 2 (C-2'''), 75. 5 (C-5''') 相关。根据以上数据, 推定化合物III 为异甘草素-4-O-芹糖 (1→2)-葡萄糖苷。

化合物IV: 白色结晶性粉末, mp 152 °C ~ 154 °C (MeOH), IR, EIMS, ¹H NMR 和 ¹³C NMR 光谱数据与文献基本一致^[9-11], 故鉴定化合物IV 为甘草素-4'-O-芹糖 (1→2)-葡萄糖苷。

References

- [1] Du L J, Lin Y K. Review of Yinqiaosan in pharmacological experiments [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1992, 14 (3): 41-43.
- [2] Shi Y, Shi R B, Lu Y R, *et al.* Studies on flavonoids having antiviral action from Yinqiaosan against influenza virus [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2001, 26 (5): 320-322.
- [3] Shi Y, Shi R B, Lu Y R, *et al.* Isolation and elucidation of chemical constituents having antiviral action from Yinqiaosan against influenza virus [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2003, 28 (1): 43-47.
- [4] Xiao C H. *Chemistry of Chinese Material Medicine* (中药化学) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishers, 1990.
- [5] Zhao T Z. *Hydrogen-1 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* (核磁共振氢谱) [M]. Beijing: Peking University Press, 1983.
- [6] Wu L J, Li X, Wang S X, *et al.* Application of ¹³C NMR to structural identification of the flavonoids [J]. *J Shenyang Pharm Coll* (沈阳药学院学报), 1991, 8 (3): 219-222.
- [7] Liu Q, Liu Y L. Studies on the chemical constituents of *Glycyrrhiza korshiskyi* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 1989, 24 (7): 525-528.
- [8] Markham K R, Ternai B, Stanley R, *et al.* Carbon-13 studies of flavonoids-III: Naturally occurring flavonoid glycosides and their acylated derivatives [J]. *Tetrahedron*, 1978, 34: 1389-1397.
- [9] Yahara S, Nishioka I. Flavonoid glycosides from *Licorice* [J]. *Phytochemistry*, 1984, 23 (9): 2108-2109.
- [10] Nakanishi T, Inada A, Kamabayashi K, *et al.* Flavonoid glycosides of the roots of *Glycyrrhiza uralensis* [J]. *Phytochemistry*, 1985, 24 (2): 339-341.
- [11] Liu Q, Liu Y L. Application of ¹³C NMR to structural identification of the flavonoid glycosides [J]. *Acta Acad Med Sin* (中国医学科学院学报), 1990, 12 (5): 359-364.

胡芦巴中皂苷成分的研究

I. 新皂苷 A 及其次生苷的分离纯化和化学结构测定

徐学民, 王 筠, 杨 红, 黄卫平, 袁崇军*

(四川省中药研究所, 四川 成都 610041)

摘要: 目的 对胡芦巴 *Trigonella foenum-graecum* 种子所含的皂苷成分作深入研究。方法 采用大孔吸附树脂法提取纯化总皂苷, 并应用硅胶 H 柱层析、干柱层析等方法分离出单一皂苷成分, 通过 ¹³C NMR, FAB-MS, DEPT 等光谱及部分水解获得的次生苷的方法进行了结构测定。结果 从总皂苷中分出一个新皂苷 A, 为测定其结构将其部分水解获得次生苷 I, II。经测定皂苷 A 的化学结构为薯蓣皂苷元-3-O-α-L-鼠李吡喃糖 (1→4)-β-D-葡萄糖吡喃糖 (1→4)-β-D-葡萄糖吡喃糖; 次生苷 I 结构为: 薯蓣皂苷元-3-O-β-D-葡萄糖吡喃糖; 次生苷 II 结构为薯蓣皂苷元-

* 收稿日期: 2002-10-12

作者简介: 徐学民 (1954-), 男, 四川宜宾市人, 四川省中药研究所研究员, 四川省学术和技术带头人, 四川省科技顾问团顾问, 国务院特殊津贴专家 Tel (028) 85221598