

• 化学成分 •

小花鬼针草中的苯丙苷类成分及抑制组胺释放活性

王 珏^{1,2}, 王乃利^{1*}, 姚新生¹, 北中进²(1. 沈阳药科大学 天然药化教研室, 辽宁 沈阳 110016; 2. 日本大学药学部 生药药研究室,
千叶 船桥 274-8555 日本)

摘要:目的 研究小花鬼针草 *Bidens parviflora* 全株的化学成分, 并通过组胺抑制实验寻找活性成分。方法 采用硅胶、Sephadex LH-20 和 ODS 柱色谱分离化合物, 运用 1D NMR、2D NMR 波谱学方法鉴定了化合物的结构, 通过组胺抑制实验测定化合物抗过敏活性。结果 分离鉴定了 4 个苯丙苷类及 1 个苯甲醇苷成分: 4-羟基-3-甲氧基苯丙三醇 8-*O*- β -D-葡萄糖苷(guaiacyl glycerol 8-*O*- β -D-glucoside I)、丁香酚苷(syringin, II)、4-烯丙基-2-甲氧基苯酚-*O*-(6-*O*- β -D-芹糖基)- β -D-葡萄糖苷[4-allyl-2-methoxyphenol-*O*-(6-*O*- β -D-apiofuranosyl)- β -D-glucoside, III]、5,7-二羟基色原酮-7-*O*- β -D-葡萄糖苷(5,7-dihydroxy chromone 7-*O*- β -D-glucoside, IV)、苯醇-*O*- β -D-葡萄糖苷(benzyl alcohol-*O*- β -D-glucoside, V)。化合物 I~V 抑制组胺释放, IC₅₀ 分别为 70, 61, >100, 52, >100 μ g/mL。结论 化合物 I~V 首次从本植物中分得, III 为未见文献报道的新化合物, 命名为鬼针草酚葡萄糖苷(bidenphenol glucoside)。化合物 I~V 具有抑制组胺释放的活性。

关键词:小花鬼针草; 4-羟基-3-甲氧基苯丙三醇 8-*O*- β -D-葡萄糖苷; 4-烯丙基-2-甲氧基苯酚-*O*-(6-*O*- β -D-芹糖基)- β -D-葡萄糖苷(鬼针草酚葡萄糖苷); 丁香酚苷; 组胺抑制活性

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)05-0647-03

Phenolic glucosides from *Bidens parviflora* and their anti-histamine activitiesWANG Jue^{1,2}, WANG Nai-li¹, YAO Xin-sheng¹, KITANAKA Susumu²

(1. Department of Natural Product Chemistry, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China;

2. College of Pharmacy, Nihon University, Chiba 274-8555, Japan)

Abstract: **Objective** Based on the activities against histamine release of *Bidens parviflora* to find biological active compounds. **Methods** The chemical constituents from *B. parviflora* were isolated by silica gel column chromatography and Sephadex LH-20 column chromatography, then purified by preparative HPLC. Their chemical structures were identified by 1D NMR, 2D NMR methods. **Results** Five phenolic glucosides were identified as guaiacyl glycerol 8-*O*- β -D-glucoside (I), syringin (II), 4-allyl-2-methoxyphenol-*O*-(6-*O*- β -D-apiofuranosyl)- β -D-glucoside (III), 5,7-dihydroxy chromone 7-*O*- β -D-glucoside (IV), benzyl alcohol-*O*- β -D-glucoside (V). Compounds I~V could inhibit the histamine releasing and their IC₅₀ were 70, 61, >100, 52, >100 μ g/mL, respectively. **Conclusion** Compounds I~V are isolated from *B. parviflora* for the first time, III is a new phenolic glucoside named as bidenphenol glucoside. Compounds I~V exhibit the activities of anti-histamine release from rat mast cell stimulated by antigen-antibody reaction.

Key words: *Bidens parviflora* Willd.; guaiacyl glycerol 8-*O*- β -D-glucoside; 4-allyl-2-methoxyphenol-*O*-(6-*O*- β -D-apiofuranosyl)- β -D-glucoside (bidenphenol glucoside); syringin; anti-histamine activities

笔者曾对小花鬼针草 *Bidens parviflora* Willd. 中分离得到的 5 个聚糖苷类^[1] 和 3 个木脂素四环糖酯类化合物进行过报道^[2,3]。在对小花鬼针草 60% 乙醇提取物正丁醇层的深入研究中, 又从中分

离鉴定了 5 个酚苷类成分, 分别是: 4-羟基-3-甲氧基苯丙三醇 8-*O*- β -D-葡萄糖苷(guaiacyl glycerol 8-*O*- β -D-glucoside I)、丁香酚苷(syringin, II)、4-烯丙基-2-甲氧基苯酚-*O*-(6-*O*- β -D-芹糖基)- β -D-葡

葡萄糖苷, [4-allyl-2-methoxyphenol-*O*-(6-*O*- β -*D*-apiofuranosyl)- β -*D*-glucoside, III], 5,7-二羟基色原酮-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷(5,7-dihydroxy chrom-one 7-*O*- β -*D*-glucoside, IV), 苜蓿醇-*O*- β -*D*-葡萄糖苷(benzyl alcohol-*O*- β -*D*-glucoside, V)。化合物 I ~ V 为首次从本植物中分得, III 为未见文献报道的新化合物, 命名为鬼针草酚葡萄糖苷(bidenphenol glucoside)。通过抑制由刺激大鼠腹腔肥大细胞释放的组胺量活性实验, 进一步评估上述化合物的抗炎活性。

1 仪器与试剂

小花鬼针草 *Bidens parviflora* Willd. 全草于 1999 年 7 月采于辽宁省大黑山市, 并经沈阳药科大学中药学院吴维春高级工程师鉴定, 标本保存于沈阳药科大学中药学院。熔点用 Yanagimoto 显微熔点测定仪测定; 紫外光谱用 Hitachi 200-10 型紫外光谱仪测定, 红外光谱用 JASCO IRA-2 型红外光谱仪测定。¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 用 JEOL GL-400 和 FX-100 核磁共振仪测定(TMS 作内标)。质谱用 Hitachi M-80B 型质谱仪测定。柱色谱用硅胶为日本和光公司产品, 葡聚糖凝胶 LH-20(20~100 μ m) 为 Pharmacia 公司产品。

2 提取与分离

小花鬼针草干燥全草 5.5 kg 用 60% 乙醇加热回流提取 2 次, 减压回收溶剂, 所得浸膏依次用正己烷、醋酸乙酯和正丁醇萃取。正丁醇萃取部分(176 g)经硅胶柱色谱分离, 氯仿-甲醇梯度洗脱得 12 个流份, 将流份 Fr. 6-Fr. 8(10.5 g)经 Sephadex LH-20 柱色谱 50% 甲醇-水洗脱得流份 Fr. 4-Fr. 9, 然后经 HPLC(INW 125 Fluofix, 100 mm $\times$ 250 mm, UV 检测仪, 254 nm)18% 乙腈-水洗脱得化合物 I ~ V。小花鬼针草的提取和分离工作于 1999 年在日本大学药学部完成。

3 结构鉴定

化合物 I: 白色粉末, mp 205~206 $^{\circ}$ C, $[\alpha]_D^{25} + 14.9^{\circ}$ (*c* 0.44, 甲醇)。HR-FAB-MS *m/z*: 399.125 50([M]⁺, 计算值 399.129 08, 提示化合物分子式为 C₁₆H₂₄O₁₀)。FAB-MS *m/z*: 399[M+Na]⁺ 推测其分子式为 C₁₆H₂₄O₁₀。在 ¹H-NMR(CD₃OD, 500 MHz) 中, 存在一系列亚甲基氢: 3.53(1H, dd, *J* = 12.0, 3.4 Hz, H-9a), 3.35(1H, dd, *J* = 12.0, 7.4 Hz, H-9b), 两个次甲基氢: 4.67(1H, d, *J* = 7.4 Hz, H-7), 3.80(1H, m, H-8), 一个甲氧基氢: 3.87(1H, s), 一个葡萄糖基端基氢: 4.40(1H, d, *J* = 7.7 Hz, H-1'), 芳香氢 7.01(1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-2), 6.76

(1H, d, *J* = 8.3 Hz, H-5), 6.81(1H, dd, *J* = 8.3, 1.9 Hz, H-6), 这些数据证明存在 1,3,4-三取代苯基和 1-(3'-甲氧基-4-羟基-苯基)-丙三醇。¹³C-NMR 显示存在 β -*D*-葡萄糖苷。在 HMBC 谱中, 糖的端基(δ_c 105.4)只与 C-8 次甲基氢(δ_H 3.80)有远程相关, 说明该糖连接于苷元 8 位。将化合物 I 在 0.2 mol/L 盐酸-二氧杂环己烷中酸水解得到苷元(Ia)和糖, 通过 TLC 鉴定糖为葡萄糖。Ia(邻甲氧基苯基丙三醇), 无色针晶, mp 209~210 $^{\circ}$ C; EI-MS *m/z*: 214[M]⁺, 推测其分子式为 C₁₀H₁₄O₅; ¹H-NMR(CD₃OD, 500 MHz) δ : 6.90(1H, d, *J* = 1.6 Hz, H-2), 6.69(1H, dd, *J* = 8.3 Hz, H-5), 6.71(1H, dd, *J* = 8.3, 1.6 Hz, H-6), 4.39(1H, d, *J* = 5.5 Hz, H-7), 3.46(1H, dd, *J* = 10.7, 5.5 Hz, H-8), 3.16(2H, dd, *J* = 10.7, 5.5 Hz, H-9), 3.75(3H, s, OCH₃)。 ¹³C-NMR(CD₃OD, 125 MHz) δ : 134.4(C-1), 110.0(C-2), 147.1(C-3), 145.3(C-4), 114.8(C-5), 119.2(C-6), 76.0(C-7), 72.9(C-8), 62.6(C-9), 55.6(OCH₃)。化合物 I 的 UV λ_{max}^{MeOH} nm (ϵ): 278(820.3), 220(6723.1); IR ν_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 3396, 1610, 1519, 1455, 1276, 1160, 1086, 1021, 925, 840。 ¹H-NMR(CD₃OD, 500 MHz) δ : 7.01(1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-2), 6.76(1H, dd, *J* = 8.3 Hz, H-5), 6.81(1H, dd, *J* = 8.3, 1.9 Hz, H-6), 4.67(1H, d, *J* = 7.4 Hz, H-7), 3.80(1H, m, H-8), 3.53(1H, dd, *J* = 12.0, 3.5 Hz, H-9a), 3.35(1H, dd, *J* = 12.0, 7.4 Hz, H-9b), 3.87(3H, s, OCH₃), 4.40(1H, d, *J* = 7.7 Hz, H-1')。 ¹³C-NMR(CD₃OD, 125 MHz) δ : 133.5(C-1), 111.6(C-2), 149.1(C-3), 147.5(C-4), 116.0(C-5), 120.9(C-6), 75.0(C-7), 87.7(C-8), 63.2(C-9), 56.4(OCH₃), 105.4(C-1'), 75.6(C-2'), 78.1(C-3'), 71.5(C-4'), 77.9(C-5'), 62.6(C-6')。通过 1D NMR 和 2D NMR 数据, 经与文献对照^[4], 鉴定化合物 I 为 4-羟基-3-甲氧基苯丙三醇 8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷。

化合物 II: 无色针晶, mp 192~193 $^{\circ}$ C。通过核磁数据的分析, 经与文献对照^[5], 鉴定化合物 II 为丁香酚苷。

化合物 III: 白色粉末; $[\alpha]_D^{25} - 24.5^{\circ}$ (甲醇, *c* 0.22); FD-MS *m/z*: 489[M+H]⁺, 推测其分子式为 C₂₂H₃₂O₁₂; HR-FAB-MS *m/z*: 489.189 10; UV λ_{max}^{MeOH} nm (ϵ): 254(34,732); IR ν_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 2931, 1710, 1635, 1595, 1505, 1330, 1261, 1093, 923, 803。 ¹H-NMR(C₅D₅N, 500 MHz) δ : 6.84(1H, d, *J* =

1.9 Hz, H-2), 6.92 (1H, dd, $J=8.3, 1.9$ Hz, H-6), 7.64 (1H, d, $J=8.3$ Hz, H-5), 3.27 (2H, d, $J=6.4$ Hz, H-7), 5.98 (1H, dm, $J=5.3$ Hz, H-8), 5.01 (2H, m, $J=5.3$ Hz, H-9), 3.86 (3H, s, OCH₃), 5.53 (1H, d, $J=7.2$ Hz, Glc-H-1'), 5.73 (1H, d, $J=2.5$ Hz, Api-H-1). ¹³C-NMR (C₅D₅N, 125 MHz) δ : 134.5 (C-1), 113.6 (C-2), 150.1 (C-3), 146.6 (C-4), 117.3 (C-5), 121.5 (C-6), 40.0 (C-7), 138.3 (C-8), 115.6 (C-9), 55.6 (OCH₃), 102.9 (d, glc-C-1), 77.3 (d, glc-C-2), 78.6 (d, glc-C-3), 71.6 (d, glc-C-4), 75.5 (d, glc-C-5), 68.9 (t, glc-C-6), 111.2 (d, api-C-1), 75.9 (d, api-C-2), 80.4 (s, api-C-3), 75.0 (t, api-C-4), 65.5 (t, api-C-5)。化合物Ⅲ在0.2 mol/L HCl-Dioxane (1:1) 酸水解得到苷元、葡萄糖和芹糖片断。通过1D NMR和2D NMR数据, 经与文献对照^[6], 鉴定化合物Ⅲ为4-烯丙基-2-甲氧基苯酚-O-(6-O- β -D-芹糖基)- β -D-葡萄糖苷, 命名为鬼针草酚葡萄糖苷(bidenphenol glucoside)。结构式见图1。

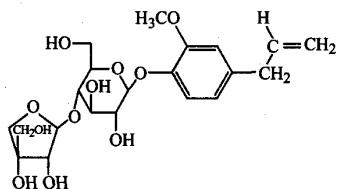


图1 化合物Ⅲ的结构式

Fig.1 Structure of compound III

化合物Ⅳ: 无色针晶, mp 176~177 °C, $[\alpha]_D^{25} + 18.7^\circ$ (甲醇, c 0.47)。EI-MS m/z : 340 $[M]^+$, 推测其分子式为C₁₅H₁₆O₉; HR-EI-MS m/z : 340.084 54; UV λ_{max}^{MeOH} nm (ϵ): 350 (15, 360), 258 (24, 180); IR ν_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 490, 3 363, 1 664, 1 620, 1 569, 1 506, 1 442, 1 297, 1 079. ¹H-NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ : 8.04 (1H, d, $J=6.1$ Hz, H-2), 6.26 (1H, d, $J=6.1$ Hz, H-3), 6.51 (1H, d, $J=2.5$ Hz, H-6), 6.70 (1H, d, $J=2.5$ Hz, H-7) 和葡萄糖端基氢 δ 5.03 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-1')。 ¹³C-NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ : 158.7 (C-2), 112.0 (C-3), 183.7 (C-4), 163.2 (C-5), 101.3 (C-6), 164.9 (C-7), 96.2 (C-8), 159.5 (C-9), 108.4 (C-10), 105.4 (C-1'), 75.8 (C-2'), 78.4 (C-3'), 71.4 (C-4'), 77.9 (C-5'), 62.6 (C-6')。HMBC谱中显示C-7与 δ 5.03 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-1')相关, 说明葡萄糖是与C-7相连的。通过1D NMR和2D NMR数据, 经与文献对照^[7], 鉴定化合物Ⅳ为5,7-二羟基色原酮-7-O- β -D-葡萄糖苷。

化合物Ⅴ: 无色针晶, mp 124~125 °C。通过分析核磁数据, 经与文献对照^[8], 鉴定化合物Ⅴ为苜蓿醇-O- β -D-葡萄糖苷。

4 抑制组胺释放活性

所有分离得到的化合物都按文献报道^[9,10]的HPLC-荧光法进行活性测试。

通过大鼠腹腔渗出细胞的抗原-抗体反应, 测试了以上化合物的抑制组胺释放活性, 4-羟基-3-甲氧基苯丙三醇 8-O- β -D-葡萄糖苷(I) (IC₅₀, 70 μ g/mL), 丁香酚苷(II) (IC₅₀, 61 μ g/mL), 4-烯丙基-2-甲氧基苯酚-O-(6-O- β -D-芹糖基)- β -D-葡萄糖苷(III) (IC₅₀, >100 μ g/mL), 5,7-二羟基色原酮-7-O- β -D-葡萄糖苷(IV) (IC₅₀, 52 μ g/mL), 苜蓿醇-O- β -D-葡萄糖苷(V) (IC₅₀, >100 μ g/mL)。这个结果说明酚羟基基团对抑制组胺释放活性十分重要。综上, 小花鬼针草在抗过敏、抗炎以及治疗相关疾病方面值得深入研究。

References

- [1] Wang N L, Yao X S, Ishii R, et al. Antiallergic agents from natural sources 3. Structures and inhibitory effects on nitric oxide production and histamine release of five Novel polyacetylene glucosides from *Bidens parviflora* Willd. [J]. *Chem Pharm Bull*, 2001, 49(8): 938-942.
- [2] Wang N L, Yao X S, Ishii R, et al. Bioactive sucrose esters from *Bidens parviflora* [J]. *Phytochemistry*, 2003, 62(5): 741-746.
- [3] Ma T B, Li J L, Yuan J R. Isolation and identification of flavonoid glycosides from the leaf of small flower beggarticks (*Bidens parviflora*) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1991, 22(12): 531-533.
- [4] Theander O. The constituents of conifer needles II. Isolation of beta-D-glucosides of guaiacylglycerol from *Pinus silvestris* [J]. *Acta Chem Scand*, 1965, 19(7): 1792-1793.
- [5] Bhakuni D S, Joshi P P, Uprety H, et al. Roseoside. C13 glycoside from *Vinca rosea* [J]. *Phytochemistry*, 1974, 13(11): 2541-2543.
- [6] Teng R W, Wang D Z, Wu Y S, et al. NMR Assignments and single-crystal X-ray diffraction analysis of deoxyloganic acid [J]. *Magn Reson Chem*, 2005, 43(1): 92-96.
- [7] Backhouse N, Delporte C, Negrete R, et al. Bioactive phenolic derivatives from *Acaena splendens* methanol extract [J]. *Phytother Res*, 2002, 16(6): 562-566.
- [8] Miyase T, Ueno A, Takisawa N, et al. Studies on the glycosides of *Epimedii grandiflorum* Morr. var. *thunbergianum* (Miq.) Nakai. I [J]. *Chem Pharm Bull*, 1987, 35(3): 1109-1117.
- [9] Knowless R G, Moncade S. Nitric oxide synthesis in mammals [J]. *Biochem J*, 1994, 298(2): 249-258.
- [10] Ishii R, Saito K, Horie M, et al. Inhibitory effects of hydrolyzable tannins from *Melastoma dodecandrum* Lour. on nitric oxide production by a murine macrophage-like cell line, RAW 264.7, activated with lipopolysaccharide and interferon- γ [J]. *Biol Pharm Bull*, 1999, 22(6): 647-653.