

黎药荔花鼻窦炎处方中 1 个新的酚苷类化合物

董琳^{1,2}, 李艳梅³, 王金辉³, 刘明生^{4*}

1. 海南医学院药学院, 海南 海口 571199

2. 海南省热带药用植物研究开发重点实验室, 海南 海口 571199

3. 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016

4. 海南省南药黎药研究院, 海南 海口 571199

摘要: 目的 研究黎药荔花鼻窦炎处方的化学成分。方法 采用多种色谱手段分离化合物, 运用理化性质和波谱技术鉴定化合物的结构; 考察化合物 1 对脂多糖 (LPS) 诱导的巨噬细胞 RAW264.7 释放 NO 的影响。结果 从荔花鼻窦炎处方中分离得到 2 个化合物, 分别鉴定为尖瓣海莲苷 A-4-甲醚(1)、尖瓣海莲苷 C(2)。化合物 1 在 50 $\mu\text{mol/L}$ 时对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞释放 NO 有轻微的抑制作用。结论 化合物 1 为 1 个新的酚苷类化合物, 化合物 2 为首次从荔花鼻窦炎处方中分离得到, 尖瓣海莲苷 A-4-甲醚具有一定的抗炎作用。

关键词: 黎药; 荔花鼻窦炎处方; 薜荔; 角花胡颓子; 酚苷类; 尖瓣海莲苷 A-4-甲醚; 尖瓣海莲苷 C; 抗炎

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2014)17-2437-03

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.17.003

A new phenolic glycoside from *Li* medicine Lihua Bidou Yan Prescription

DONG Lin^{1,2}, LI Yan-mei³, WANG Jin-hui³, LIU Ming-sheng⁴

1. School of Pharmaceutical Sciences, Hainan Medical University, Haikou 571199, China

2. Hainan Provincial Key Laboratory of R&D on Tropical Medicinal Plants, Hainan Medical University, Haikou 571199, China

3. School of Traditional Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

4. Academy of South Medicine and Li Medicine of Hainan Province, Haikou 571199, China

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents of *Li* medicine Lihua Bidou Yan prescription. **Methods** Chemical constituents were isolated by using various column chromatography. The structures were elucidated on the basis of physicochemical constants and spectral analysis. The anti-inflammatory activities of compound 1 were evaluated using LPS-induced RAW 264.7 cells. **Results** Two compounds were obtained from Lihua bidou yan Prescription and identified as rhyncoside A-4-methyl ether (1) and rhyncoside C (2), respectively. The NO production in LPS-induced RAW264.7 cells was slightly inhibited by compound 1 at a concentration of 50 $\mu\text{mol/L}$. **Conclusion** Compound 1 is a new phenolic glycoside; Compound 2 is obtained from the prescription for the first time. Rhyncoside A-4-methyl ether has anti-inflammatory activity.

Key words: *Li* medicine; Lihua Bidou Yan Prescription; *Ficus pumila* L.; *Elaeagnus gonyanthes* Benth.; phenolic glycoside; rhyncoside A-4-methyl ether; rhyncoside C; anti-inflammation

黎药荔花鼻窦炎处方是由薜荔 *Ficus pumila* L. 和角花胡颓子 *Elaeagnus gonyanthes* Benth. 组成, 该处方来源于海南黎族地区世代流传下来的验方, 由上述 2 味药材 1:1 混合后用水煎煮制成的中药制剂荔花鼻窦炎片对治疗由急慢性鼻窦炎引起的头痛、头昏、流涕和鼻塞等均有显著疗效, 为海南主

打中药品种^[1]。对荔花鼻窦炎片和克拉霉素缓释片治疗急慢性鼻窦炎进行了疗效观察, 结果表明荔花鼻窦炎片与克拉霉素缓释片治疗急性鼻窦炎都有效, 但荔花鼻窦炎片较克拉霉素缓释片不良反应少, 该研究结果证实了荔花鼻窦炎片治疗急慢性鼻窦炎的良好疗效^[2-3]。目前国内外对该处方及其组成单味

收稿日期: 2014-07-10

基金项目: 海口市重点科技计划项目 (0000252)

作者简介: 董琳 (1979—), 女, 助理研究员, 研究方向南药黎药药效成分。Tel: (0898)66893826 E-mail: donglin793@126.com

*通信作者 刘明生 Tel: (0898)66893826 E-mail: mingsliu2002@yahoo.com

药的研究尚少,在此处方中的药效成分尚不明确。因此,本实验按照制备荔花鼻窦炎片的提取方法对该处方的活性成分进行研究,从荔花鼻窦炎处方中分离鉴定了2个化合物,化合物1(尖瓣海莲苷 A-4-甲醚, rhyncoside A-4-methly ether)为未见文献报道的新化合物;化合物2(尖瓣海莲苷 C, rhyncoside C)为首次从荔花鼻窦炎处方中分离得到。化合物1在50 $\mu\text{mol/L}$ 时对脂多糖(LPS)诱导的巨噬细胞 RAW264.7 细胞释放 NO 有轻微的抑制作用。

1 仪器与材料

Perkin-Elmer 241MC 型旋光仪; Bruker ARX—300 型和 Bruker AV—600 型核磁共振光谱仪(瑞士 Bruker 公司)。Auto spec Ultima—TOF 型质谱仪(美国)。Sephadex LH-20 凝胶为瑞士 Pharmacia 公司产品;薄层色谱用硅胶 GF₂₅₄ (10~40 μm) 和柱色谱用硅胶(200~300 目)为青岛海洋化工有限公司产品,大孔树脂 HPD-100 为河北沧州保恩化工有限公司产品。半制备 HPLC 用 Hitachi-L—7110 高效液相色谱仪,紫外检测器为 Hitachi L—7420 UV, 色谱柱为岛津 YMC C₁₈ PREP-ODS 柱(250 mm×10 mm, 5 μm)。柱色谱试剂规格均为分析纯,其中石油醚沸程为 60~90 $^{\circ}\text{C}$; 色谱用化学试剂为天津康科德科技有限公司产品。

组成荔花鼻窦炎处方的两味药材薜荔 *Ficus pumila* L. 和角花胡颓子 *Elaeagnus gonyanthes* Benth. 均采自海南省万宁市,由中国医学科学院药用植物研究所海南分所陈伟平研究员鉴定。样品(20100806)保存在海南医学院海南省热带药用植物研究开发重点实验室。RAW264.7 小鼠单核巨噬细胞株,购于中国医学科学院基础医学研究所。

2 提取与分离

按该处方制剂制备方法,取薜荔 4.5 kg 和角花胡颓子 4.5 kg,粉碎后混合,水浸润过夜,回流提取3次,每次3 h,合并3次水提液共20 L。将20 L 水提液直接过5 L HPD-100 大孔树脂柱,分别用蒸馏水及60%、90%乙醇洗脱,减压回收溶剂得水层浸膏、60%醇洗浸膏(107 g)、90%醇洗浸膏。将60%醇洗浸膏(107 g)经硅胶柱色谱分离,氯仿-甲醇(1:0→0:1)梯度洗脱, TLC 检识合并得到9个流分, Fr. 6 经 HPD-100 大孔树脂柱分离,以10%~95%乙醇进行梯度洗脱, TLC 检识合并得到10个流分,将10%乙醇洗脱部分经硅胶柱色谱分离,以氯仿-甲醇(8:1→0:1)梯度洗脱, Fr. 3

经反相高效液相色谱分离,用17%甲醇洗脱,得化合物1(20 mg)和2(6 mg)。

3 结构鉴定

化合物1: 白色无定形粉末, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -42.0^{\circ}$ (c 2.1, H₂O), HR-FAB-MS m/z : 895.307 6 $[2\text{M}-\text{H}]^{-}$ (计算值 895.308 3), 说明其相对分子质量为 448, 推测其分子式为 C₁₉H₂₈O₁₂, 表明有 6 个不饱和度。IR 光谱给出羟基(3 419 cm^{-1}), 苯环(1 602, 1 514, 1 458 cm^{-1}) 特征吸收峰。在 ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) 谱中, δ 6.85 (1H, d, J = 8.8 Hz), 6.65 (1H, dd, J = 2.7, 8.8 Hz) 和 6.76 (1H, d, J = 2.7 Hz), 提示存在 1 个 ABX 耦合系统的苯环; δ 3.81 (s, 3H) 和 3.77 (s, 3H) 提示存在 2 个甲氧基; δ 3.00~4.91 为糖质子信号; 在 ¹³C-NMR (CD₃OD, 75 MHz) 谱中有 19 个碳信号, 其中有 6 个芳基碳信号 δ 153.7, 104.2, 151.1, 146.2, 113.9, 109.4; 2 个甲氧基碳信号 δ 56.5, 57.1; 有 11 个碳信号在 δ 60~110, 为糖的碳信号(表 1)。由 HSQC、HMBC 和 HSQC-TOCSY 可知, δ 103.4 (C-1'), 74.9 (C-2'), 77.8 (C-3'), 71.8 (C-4'), 76.4 (C-5'), 67.9 (C-6') 为 1, 6 取代的葡萄糖的碳信号; δ 109.6 (C-1''), 82.1 (C-2''), 77.6 (C-3''), 84.4 (C-4''), 62.6 (C-5'') 为 C-1 位取代的阿拉伯糖的碳信号。糖片段的连接顺序根据如下 HMBC 相关信号(图 1)得出: 阿拉伯糖的端基质子 δ 4.91 (brs, H-1'') 与葡萄糖 C-6 (δ 67.9) 有远程相关信号, 葡萄糖的端基质子 δ 4.79 (d, J = 7.3 Hz, H-1') 与苯环的 C-1 (δ 153.7) 有远程相关信号。由此可以确定葡萄糖在内侧, 与苯环 C-1 相连, 阿拉伯糖在外侧, 连在葡萄糖的 6 位。由 δ 4.79 (d, J = 7.3 Hz, H-1') 的耦合常数数值判断该葡萄糖端基构型为 β ; ¹³C-NMR 谱中给出阿拉伯糖的端基碳信号为 δ 109.6, 并判断该阿拉伯糖的构型为 α -L, 该化合物的数据与 rhyncoside A^[4] 的数据十分接近, 区别在于该化合物的 ¹H-NMR 谱中没有酚羟基氢信号, 而是多了 1 个甲氧基氢信号 δ 3.77 (3H, s)。¹³C-NMR 中多了 1 个甲氧基碳信号 δ 57.1。HMBC 谱中, 甲氧基信号 δ 3.81 (3H, s) 与苯环的碳信号 δ 151.1 (C-3) 有相关, 甲氧基信号 δ 3.77 (3H, s) 与苯环碳信号 δ 146.2 (C-4) 有远程相关; 说明甲氧基 δ 3.81 (3H, s) 和 δ 3.77 (3H, s) 分别连在苯环的 3 位和 4 位。由此确定化合物 1 的结构为 1-O-[α -L-arabinofuranosyl-(1→6)- β -D-glucopyranosyl]-3, 4-dimethoxy phenol, 即尖瓣海莲苷 A-4-甲醚, 为一未见文献报道的新化合物。

表1 化合物1的¹³C-NMR和¹H-NMR数据
(75/600 MHz, CD₃OD)Table 1 ¹³C-NMR and ¹H-NMR data of compound 1
(75/600 MHz, CD₃OD)

碳位	δ _C	δ _H
1	153.7	—
2	104.2	6.76 (1H, d, <i>J</i> = 2.7 Hz)
3	151.1	—
4	146.2	—
5	113.9	6.85 (1H, d, <i>J</i> = 8.8 Hz)
6	109.4	6.65 (1H, dd, <i>J</i> = 2.7, 8.8 Hz)
1''	103.4	4.79 (1H, d, <i>J</i> = 7.3 Hz)
2'	74.9	3.39 (1H, m)
3'	77.8	3.44 (1H, m)
4'	71.8	3.37 (1H, m)
5'	76.4	3.57 (1H, m)
6'	67.9	3.63 (1H, dd, <i>J</i> = 10.8, 5.4 Hz) 4.09 (1H, dd, <i>J</i> = 10.8, 3.0 Hz)
1''	109.6	4.91 (1H, brs)
2''	82.1	4.07 (1H, m)
3''	77.6	4.03 (1H, m)
4''	84.4	4.24 (1H, m)
5''	62.6	3.76 (1H, m) 3.71 (1H, m)
3-OMe	56.5	3.81 (3H, s)
4-OMe	57.1	3.77 (3H, s)

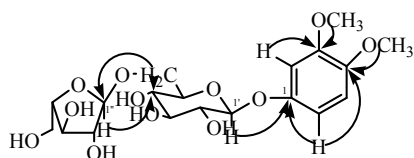


图1 化合物1的结构及主要HMBC(H→C)相关

Fig. 1 Key HMBC (H→C) correlations of compound 1

化合物2: 白色无定形粉末。¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ: 6.44 (2H, s, H-2, 6), 4.79 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-1'), 3.39 (1H, m, H-2'), 3.42 (1H, m, H-3'), 3.36 (1H, m, H-4'), 3.58 (1H, m, H-5'), 3.62 (1H, d, *J* = 9.8 Hz, H-6'a), 4.08 (1H, m, H-6'b), 4.90 (1H, brs, H-1''), 4.03 (1H, m, H-2''), 4.02 (1H, m, H-3''), 4.22 (1H, m, H-4''), 3.78 (1H, m, H-5''a), 3.68 (1H, m, H-5''b), 3.81 (3H, s, 3-OCH₃), 3.71 (3H, s, 4-OCH₃), 3.81 (3H, s, 5-OCH₃); ¹³C-NMR (75 MHz, CD₃OD) δ: 155.9

(C-1), 96.3 (C-2), 154.8 (C-3), 134.9 (C-4), 154.8 (C-5), 96.3 (C-6), 103.1 (C-1'), 74.9 (C-2'), 77.8 (C-3'), 71.8 (C-4'), 76.4 (C-5'), 67.9 (C-6'), 109.5 (C-1''), 82.1 (C-2''), 77.6 (C-3''), 84.4 (C-4''), 62.6 (C-5''), 56.7 (3-OCH₃), 61.2 (4-OCH₃), 56.7 (5-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[4], 故鉴定化合物2为尖瓣海莲苷C。

4 抗炎活性

将RAW264.7细胞于37℃、5% CO₂及饱和湿度环境下培养于含10%胎牛血清D/F12培养基中, 细胞呈对数生长时进行传代, 调整细胞浓度至1×10⁵个/mL, 接种200 μL于96孔培养板。待细胞贴壁生长18~24 h, 改加入180 μL无血清培养基, 4 h后加入检测样品及阳性对照药阿司匹林10 μL (终质量浓度均为50 μmol/L), 对照组和模型组同时加入等体积生理盐水, 孵育2 h后加入10 μL LPS刺激 (终质量浓度0.5 μg/mL), 对照组同时加入等体积培养基, 与细胞共同孵育24 h。孵育结束后, 小心吸取细胞上清100 μL, 加入Griess试剂, 置摇床上低速振荡10 min, 于酶标仪540 nm处测量吸光度值, 并计算抑制率。活性测试结果为化合物1在50 μmol/L时对LPS诱导的RAW264.7细胞释放NO抑制率为37.51%, 阳性对照药阿司匹林在50 μmol/L时对LPS诱导的RAW264.7细胞释放NO抑制率为33.43%, 表明化合物1有一定的抗炎活性。

参考文献

- [1] 卫生部药品标准-中药成方制剂 (第十四册) [S]. 1997.
- [2] 吴荣艳, 黄金平, 何勇. 荔花鼻窦炎片治疗急性鼻窦炎与慢性鼻窦炎疗效观察 [J]. 实用中西医结合临床, 2012, 12(2): 51-52.
- [3] 何勇, 赖珺, 吴荣艳. 荔花鼻窦炎片与克拉霉素缓释片临床对比治疗急性鼻窦炎 [J]. 赣南医学院学报, 2011, 31(3): 409-410.
- [4] Bao S Y, Ding Y, Deng Z W, et al. Rhyncosides A—F, phenolic constituents from the Chinese mangrove plant *Bruguiera sexangula* var. *rhynchopetala* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2007, 55(8): 1175-1180.