

山腊梅叶提取物抗补体及镇咳活性物质基础的初步研究

黄文平^{1,2}, 温芝琪¹, 吴欢^{1,2}, 王琦^{1,2}, 李志峰^{1*}, 周斌³, 李艳¹, 冯育林^{1,2}, 杨世林^{1,2}

1. 江西中医药大学 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330006

2. 创新药物与高效节能降耗制药设备国家重点实验室, 江西 南昌 330006

3. 江西科技师范大学药学院, 江西 南昌 330013

摘要: 目的 研究山腊梅 *Chimonanthus nitens* 叶提取物的抗补体及镇咳活性, 并初步分析其活性成分。方法 以经典抗补体途径和浓氨致咳模型对不同极性部位的山腊梅叶进行活性比较, 确定具有抗补体和镇咳活性的部位; 采用高效液相色谱-质谱联用技术对有效活性部位进行化学成分初步分析。对山腊梅叶中主要的化学成分进行镇咳和抗补体的活性评价。

结果 山腊梅叶的醋酸乙酯提取物部位同时具有抗补体和镇咳作用, 通过质谱分析, 初步鉴定了 28 个化合物。山柰酚-3-*O*-芸香糖苷和山柰酚同时具有镇咳和抗补体的活性。**结论** 山腊梅叶醋酸乙酯提取物具有良好的抗补体和镇咳活性, 其主要活性成分为山柰酚-3-*O*-芸香糖苷和山柰酚, 且两者可作为控制质量的化学标记物。

关键词: 山腊梅; 抗补体; 镇咳; 高效液相色谱-质谱联用技术; 山柰酚-3-*O*-芸香糖苷; 山柰酚

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)15-3869-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.15.005

Primary research on components with anticomplement and antitussive activities from leave extracts of *Chimonanthus nitens*

HUANG Wen-ping^{1,2}, WEN Zhi-qi¹, WU Huan^{1,2}, WANG Qi^{1,2}, LI Zhi-feng¹, ZHOU Bin³, LI Yan¹,
FENG Yu-lin^{1,2}, YANG Shi-lin^{1,2}

1. National Engineering Center of Solid Preparation of Chinese Materia Medica Manufacturing Technology, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China

2. State Key Laboratory of Innovative Drug and Efficient Energy-Saving Pharmaceutical Equipment, Nanchang 330006, China

3. The Pharmacy College of Jiangxi Science and Technology Normal University, Nanchang 330013, China

Abstract: Objective To investigate and analyze anticomplement and antitussive activities and the active ingredients of the extract of *Chimonanthus nitens* leaf. **Methods** The classical anti-complement pathway and the concentrated ammonia-induced cough model was used to compare the activity of the different polar parts of *C. nitens* leaf, and the polar parts with anti-complement and antitussive activity were determined. A preliminary analysis of the chemical composition in activity extract was identified by high performance liquid chromatography-mass spectrometry. The main chemical components in the *C. nitens* leaf of antitussive and antibody activity were also evaluated. **Results** The ethyl acetate extract of *C. nitens* leaf had both anti-complement and antitussive effects. A total of 28 compounds were initially identified through mass spectrometry analysis. Kaempferol-3-*O*-rutoside and kaempferol had both antitussive and anti-complement activities. **Conclusion** The ethyl acetate extract of *C. nitens* leaf has good anti-complement and antitussive activities, and the mainly active ingredients in it were kaempferol-3-*O*-rutoside and kaempferol that could be used as quality-controlling chemical markers.

Key words: *Chimonanthus nitens* Oliv.; anti-complement; antitussive; high performance liquid chromatography-mass spectrometry; kaempferol-3-*O*-rutoside; kaempferol

收稿日期: 2020-01-09

基金项目: 江西省杰出青年资助计划项目 (20162BCB23003); 江西省百千万人才工程资助 [赣人社字 (2016) 332 号]; 江西中医药大学学科建设项目 (JXSYLXK-ZHYA0017); 南昌市中药与天然药物活性成分研究知识创新团队 (洪科字 (2018) 274 号); 江西省卫计委科研项目 (2018B144)

作者简介: 黄文平, 男, 硕士, 助理研究员, 研究方向为中药药效物质基础及质量标准研究。Tel: (0791)87119632 E-mail: huangwenping89@126.com

***通信作者** 李志峰, 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 从事中药药效物质基础研究。Tel: (0791)87119650 E-mail: lizhifeng1976@hotmail.com

咳嗽是一种生理反射,可去除气道中的异物和分泌物,是最常见的临床症状之一^[1]。从植物中药中分离出部分的天然产物已被广泛用于治疗咳嗽,包括麻黄中的伪麻黄碱和罂粟中的可待因^[2]。补体系统对于宿主防御是必不可少的,并且参与各种病理和生理过程^[3]。需要完整的补体级联反应,以防止感染破坏免疫系统,维持身体健康。但是,过度或不适当的补体激活已导致许多严重的疾病,如系统性红斑狼疮(SLE)、类风湿性关节炎和各种肾脏疾病等。研究表明^[4-5],许多中药,特别是清热解毒药,通常都具有抗补体活性。因此,中药在新药开发过程中起着不可或缺的作用。关于抗补体能力,单体化合物如类黄酮和酚酸在体外和体内均显示出抗补体作用。目前,关于山腊梅叶提取物及其生物活性成分的镇咳和抗补体活性的研究很少。

山腊梅叶为腊梅科腊梅属植物山腊梅 *Chimonanthus nitens* Oliv. 的叶,又称之为毛山茶、岩马桑(《新华本草纲要》)、香风茶(《安徽中草药》)等。药理研究^[6-10]表明其具有抗炎、抗氧化、抗微生物和降血压等活性。山腊梅叶的植物化学研究表明^[11-14]存在挥发油、香豆素、黄酮类和生物碱等化合物。在这些化合物中,香豆素类如东莨菪苷、东莨菪内酯和异嗪皮啶的药理特性已受到更多关注^[15-17]。已有相关报道^[18-23]对山腊梅叶的成分进行了定性和定量研究,然而,传统的中药药效物质研究方法是先对中药进行提取分离,得到的单体化合物再进行活性筛选,这对资源和时间都有较大的浪费。首先筛选中药提取物的药理活性,然后使用先进的方法来表征和分类活性部位的化学成分,两者结合以阐明药效学的基础,这比传统研究方法展现了明显的优势。

本实验的目的是建立一种利用“药效-质谱”结合的方法,筛选山腊梅叶提取物的药效活性,并鉴定活性提取物的化学成分,从而说明山腊梅叶的药效物质基础。在这项研究中,采用氨诱导的小鼠咳嗽模型和经典的抗补体途径,评估了山腊梅叶不同提取物的镇咳和抗补体作用。随后,建立了UHPLC-QTOF-MS/MS方法,用于全面鉴定山腊梅叶有效提取物中的化学成分。此外,结合含有的主要化合物的抗补体和镇咳活性,综合评价山腊梅叶潜在的抗补体和镇咳活性的活性成分,为山腊梅叶相关产品的功效提供科学依据,同时活性成分也可作为质量控制的化学标记物。

1 材料

1.1 仪器

高效液相色谱-质谱联用仪 [AB-SCIX 5600 Q-TOF 系列质谱 (AB-SCIX 公司), 包括岛津 LC-30AT 型超高效液相、自动进样系统、柱温箱等 (日本岛津公司)]; BS224S 型电子天平 (万分之一, 赛多利斯科学仪器有限公司); KQ250DB 型数控超声波清洗器 (巩义市予华仪器有限责任公司); 超声雾化器 (广东粤华医疗器械厂有限公司); 小鼠玻璃容器 (自制)。

1.2 试剂

分析纯石油醚 (天津市福晨化学试剂厂); 分析纯醋酸乙酯 (广东光华科技股份有限公司); 分析纯正丁醇 (上海实验试剂有限公司); 分析纯无水乙醇 (上海振兴化工一厂); 枸橼酸喷托维林 (咳必清) 购自益丰大药房; 氨水 (广东光华科技股份有限公司); 羧甲基纤维素钠 (CMC-Na, 西陇化工股份有限公司); 生理盐水 (江西科伦药业有限公司); 绵羊红细胞 (SRBC, 批号 HQ50078)、溶血素 (批号 170522)、苯巴比妥缓冲溶液 (BBS, 批号 IH0075) 购自上海源叶生物科技有限公司; 肝素钠 (≥ 140 IU/mg) 购自北京索莱宝公司; 咳必清 (批号 181211, 丹东医创药业有限责任公司); 对照品东莨菪内酯 (批号 110768-200504)、异嗪皮啶 (批号 110885-200102)、山柰酚-3-O-芸香糖苷 (批号 112007-201602)、滨蒿内酯 (批号 111511-201704)、槲皮素 (批号 100081-201610)、山柰酚 (批号 110861-201611) 均购于中国食品药品检定研究院; 紫云英苷 (批号 BCTG-201607)、东莨菪苷 (批号 BCTG-201609) 均购于江西本草天工科技责任有限公司; 山腊梅叶由江西科技师范大学药学院周斌教授鉴定为正品。

豚鼠 (体质量 200~250 g, SPF 级, 合格证号 SYXK2012-0005) 购自北京通利华实验动物技术有限公司, 经江西中医药大学实验动物伦理委员会批准。昆明种小鼠, 雄性, 体质量 18~20 g, 购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司, 动物许可证号 SCXK (湘) 2016-0002。

2 方法

2.1 山腊梅叶各极性提取物的制备

取山腊梅叶干燥粉末 40 g (过 60 目筛), 置于圆底烧瓶中, 以料液比为 1:10 加入 70%乙醇水回流提取 2 次, 每次 2 h。滤过, 合并提取液, 干燥,

得山腊梅叶提取物 18.2 g, 并依次采用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇进行萃取, 得石油醚、醋酸乙酯、正丁醇及剩余水层萃取物分别为 4.5、5.7、2.3、3.1 g。

2.2 山腊梅叶不同部位提取物抗补体活性评价

经典途径的溶血活性测定补体能使溶血素敏化的绵羊红细胞发生溶血, 当敏化的绵羊红细胞浓度恒定时, 溶血程度与补体含量呈正比关系。因此, 将供试品做不同浓度稀释后与补体混匀, 与红细胞反应, 测定溶血程度, 以导致 50%溶血所需最小供试品浓度 (CH_{50}) 评价供试品的抗补体活性, 具体实验过程参照文献方法^[5,24]。

2.3 山腊梅叶不同部位镇咳活性评价

参照文献方法^[25], 取昆明雄性小鼠 70 只, 适应性饲养 3 d, 随机分为 7 组: 对照组、咳必清组及山腊梅叶 70%乙醇组、石油醚组、醋酸乙酯组、正丁醇组、剩余水层组。各组实验动物采取 ig 给药, 给药体积为 0.02 mL/g。给药组分别 ig 给予不同部位的待试药液 2.5 g/kg, 咳必清组为 10 mg/kg, 对照组每天给予 CMC-Na 溶液, 连续给药 7 d, 每天 1 次。给药前小鼠禁食不禁水 12 h。最后 1 次给药 30 min 后, 分别将小鼠放入自制密闭玻璃容器内, 超声雾化喷入 25%氨水, 分别记录给药后 1、2、4 h 小鼠咳嗽潜伏期及 3 min 内小鼠的咳嗽次数。数据的统计显著性值通过 GraphPad Prism 软件计算。

2.4 山腊梅叶活性部位成分分析

2.4.1 色谱条件 色谱柱为 Welch Ultimate XB C_{18} 柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μ m), 流动相为 0.1%甲酸水溶液 (A)-乙腈 (B), 梯度洗脱: 0~4 min, 2% B; 4~6 min, 2%~5% B; 6~10 min, 5%~10% B; 10~20 min, 10%~20% B; 20~30 min, 20%~28% B; 30~45 min, 28%~70% B; 45~50 min, 70% B; 50~52 min, 70%~2% B; 52~60 min, 2%

B; 体积流量 0.25 mL/min, 柱温 35 $^{\circ}$ C; 进样量 2 μ L。

2.4.2 质谱条件 离子源为 ESI, 负离子模式; 质量扫描范围 m/z 50~1 250; 喷雾电压: -4 500 V, 雾化气温度: 600 $^{\circ}$ C, 气帘气: 170 kPa, 雾化气和辅助气: 340 kPa; 去簇电压 (DP): -80 V; 采用 TOF-MS/MS 方法采集数据, TOF/MS 一级扫描和二级扫描离子累积时间分别为 200、100 ms, CE 碰撞能量为 -38 eV, CES 碰撞能量叠加为 10 eV。一级质谱母离子扫描范围为 m/z 80~1 250, 子离子扫描范围为 m/z 50~1 250。

3 结果

3.1 山腊梅叶不同部位抗补体活性

效价及活性测试豚鼠血清 (补体) 用 BBS 依次稀释成 1:2、1:4、1:8、1:16、1:32、1:64、1:128、1:256 后, 加入溶血体系中, 评价其效价。在补体稀释浓度为 1:2~1:32 时, 溶血率接近 100%, 体系基本达到全溶血。为确保体系能够全部溶血和提高药物筛选时方法的灵敏度, 所以选择 1:32 稀释的豚鼠血清作为以下经典途径筛选实验中所使用的补体。将山腊梅叶的醇提取物、石油醚萃取物、醋酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物及剩余水层等 5 个部位和肝素钠进行体外抗补体活性测试, 所得结果见表 1。其中醋酸乙酯萃取部位的 CH_{50} 为 0.100 mg/mL, 优于其他部位, 但略低于阳性对照药肝素钠。

3.2 山腊梅叶不同部位镇咳活性

通过对山腊梅叶的不同极性部位进行镇咳活性筛选, 从图 1 可知, 石油醚萃取物、正丁醇萃取物及剩余水层均无明显功效。山腊梅叶的 70%乙醇水提取物在 2 h 可延长小鼠咳嗽潜伏期和减少小鼠在 3 min 内的咳嗽次数, 与对照组相比具有显著差异 ($P<0.05$); 醋酸乙酯萃取物在 1~4 h 时咳嗽次数

表 1 山腊梅叶不同极性部分及主要化合物的抗补体活性

Table 1 Anti-complement activity in different polar parts of *C. nitens* and its major compounds

样品	$CH_{50}/(mg \cdot mL^{-1})$	样品	$CH_{50}/(mg \cdot mL^{-1})$
石油醚萃取物	0.632±0.046	异嗪皮啶 (3)	0.081±0.074
70%乙醇水提取物	0.230±0.117	山柰酚-3-O-芸香糖苷 (4)	0.053±0.013
正丁醇萃取物	0.183±0.132	紫云英苷 (5)	0.065±0.014
醋酸乙酯萃取物	0.100±0.061	滨蒿内酯 (6)	0.073±0.103
剩余水层部位	0.165±0.014	槲皮素 (7)	0.062±0.019
东莨菪苷 (1)	0.091±0.154	山柰酚 (8)	0.041±0.036
东莨菪内酯 (2)	0.088±0.023	肝素钠	0.047±0.011

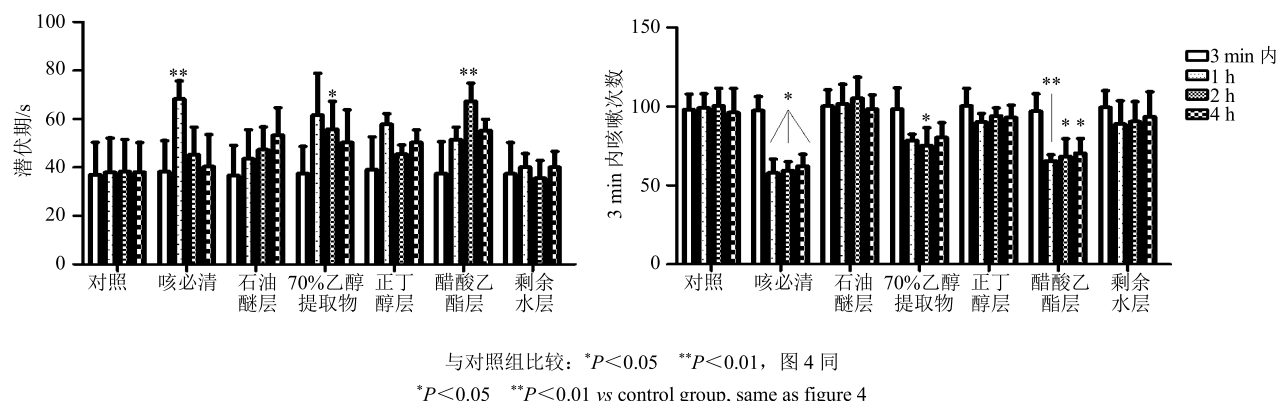


图1 山蜡梅叶不同部位的镇咳活性

Fig. 1 Antitussive activities of different extracts of *C. nitens* leaf

减少了21%~58% ($P < 0.01$), 并且在2 h时潜伏期显著延长 ($P < 0.01$)。

3.3 山蜡梅叶活性部位的化学成分分析结果

经过不同部位的抗补体和镇咳活性筛选, 得出醋酸乙酯萃取部位同时具有抗补体和镇咳的活性。经UHPLC-QTOF-MS/MS分析, 得到质谱总离子流图(图2)。根据推断策略途径(图3)及色谱峰的保留时间、一级质谱和二级质谱数据与参考文献数据^[21]对照, 初步确定了山蜡梅叶醋酸乙酯萃取部位中28个成分, 结果见表2。

3.4 山蜡梅叶中主要成分的抗补体和镇咳活性评价

参照“2.2”及“2.3”项抗补体和镇咳活性评价的方法, 对山蜡梅叶中主要的成分东莨菪苷(1)、东莨菪内酯(2)、异嗪皮啶(3)、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷(4)、紫云英苷(5)、滨蒿内酯(6)、槲皮素(7)和山柰酚(8)进行抗补体和镇咳活性的实验研究, 结果见图4。在测试的主要化合物中, 化合物2、

4、5、7表现出有效的镇咳活性。化合物2在1 h潜伏期时间增加 ($P < 0.05$), 在1 h减少咳嗽次数

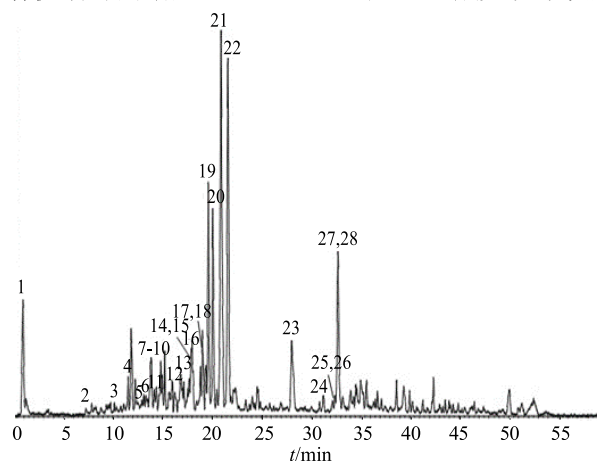


图2 山蜡梅叶醋酸乙酯萃取部位LC-QTOF-MS/MS离子流图

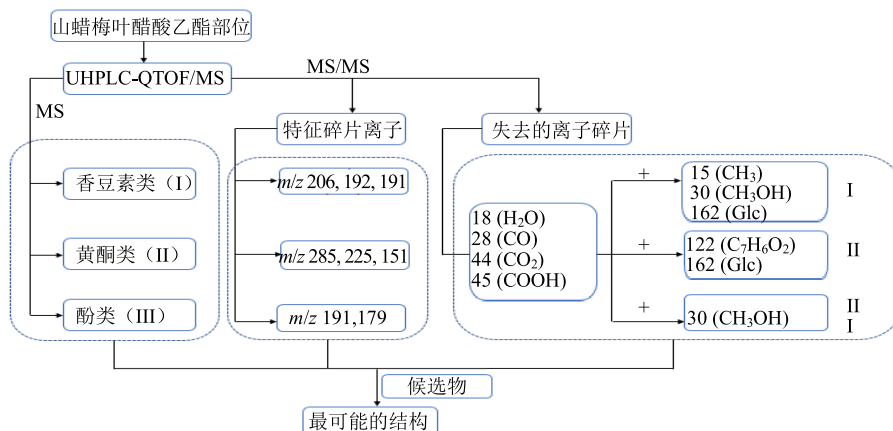
Fig. 2 Icon chromatography of ethyl acetate extract of *C. nitens* leaf by LC-QTOF-MS/MS

图3 化合物推测策略

Fig. 3 Strategy of compound speculation

表 2 UHPLC-QTOF-MS/MS 对山腊梅叶的醋酸乙酯萃取部位化合物进行的表征信息

Table 2 Characterization of compounds in ethyl acetate of *C. nitens* leaf based on UHPLC-QTOF-MS/MS

编号	<i>t_R</i> /min	分子式	离子模式	理论值	实测值	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	化合物
1	0.91	C ₇ H ₁₂ O ₆	[M-H] ⁻	191.056 1	191.056 0	-0.5	171.030 1, 93.035 8, 85.031 6	奎宁酸
2	7.32	C ₇ H ₆ O ₄	[M-H] ⁻	153.019 3	153.019 5	0.8	109.029 7, 108.021 7, 91.019 4, 81.036 0	3,4-二羟基苯甲酸
3	10.14	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	[M-H] ⁻	353.087 8	353.088 0	0.6	191.056 2, 179.035 1	绿原酸
4	11.54	C ₁₆ H ₁₈ O ₁₀	[M-H] ⁻	369.082 7	369.082 6	-0.1	207.029 8, 192.005 8, 190.997 6	白蜡树苷
5	12.99	C ₉ H ₈ O ₄	[M-H] ⁻	179.034 9	179.035 0	0.1	135.044 8, 89.041 0	咖啡酸
6*	13.31	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	[M-H] ⁻	353.087 8	353.087 5	-0.9	191.055 2, 173.045 5, 135.044 9, 93.035 6	东莨菪苷
7	13.50	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	[M-H] ⁻	625.141 0	625.143 1	3.3	463.087 0, 301.033 8, 300.026 7, 299.019 3	九里香素
8	13.68	C ₁₇ H ₂₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	383.098 4	383.098 3	-0.1	221.045 3, 193.050 6, 165.054 7, 147.044 1, 107.050 3	樱桃苷
9	13.70	C ₁₀ H ₈ O ₅	[M-H] ⁻	207.029 9	207.029 7	-0.8	192.006 6, 175.003 3, 164.010 6, 136.015 9, 108.022 0	秦皮素
10	13.88	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	[M-H] ⁻	563.140 6	563.141 5	1.5	411.093 7, 327.051 8, 261.038 6, 177.018 0, 149.023 8	芹菜苷
11	14.81	C ₁₀ H ₈ O ₅	[M-H] ⁻	207.029 9	207.029 8	-0.7	192.005 7, 164.011 3, 108.023 0	秦皮素同分异构体
12	16.03	C ₉ H ₈ O ₃	[M-H] ⁻	163.040 1	163.040 4	1.9	119.051 3, 93.036 3	4-香豆酸
13*	17.02	C ₁₁ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	205.050 6	205.050 5	-0.7	161.059 5, 147.040 5, 135.050 8, 133.065 5, 125.872 7, 115.055 1, 93.037 3	滨蒿内酯
14*	17.17	C ₁₀ H ₈ O ₄	[M-H] ⁻	191.034 9	191.035 1	0.7	176.011 7, 148.016 6, 104.027 8	东莨菪内酯
15	17.55	C ₁₈ H ₁₆ O ₆	[M-H] ⁻	327.087 4	327.087 5	0.4	309.076 9, 265.087 4, 237.091 5, 211.075 7, 143.050 3, 131.050 6, 119.050 8, 93.035 7	3-羟基-3',4',5'-三甲氧基黄酮
16*	17.97	C ₁₁ H ₁₀ O ₅	[M-H] ⁻	221.045 5	221.045 4	-0.3	206.022 8, 190.999 1, 163.003 9, 135.009 0, 107.014 7	异秦皮啶
17	19.10	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	[M-H] ⁻	609.146 1	609.148 2	3.5	301.036 1, 300.027 6, 271.024 5	芦丁
18	19.11	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	[M-H] ⁻	625.141 0	625.142 7	2.7	607.135 1, 489.125 8, 317.029 2, 299.018 5, 255.028 8, 178.997 1	九里香素同分异构体
19	19.69	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	[M-H] ⁻	479.083 1	479.083 6	1.0	461.074 5, 433.247 0, 371.065 0, 343.065 0, 316.021 6, 299.019 9, 271.025 0, 255.030 2, 199.038 8, 179.998 6, 153.020 4, 107.017 2	槲皮素-7- <i>O</i> -葡萄糖苷
20	20.13	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	[M-H] ⁻	463.088 2	463.088 8	1.3	301.036 1, 300.027 6, 271.025 0, 255.029 8	异槲皮苷
21*	20.99	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	[M-H] ⁻	593.151 6	593.154 5	3.1	285.040 1, 284.032 3, 255.029 6	山柰酚-3- <i>O</i> -芸香糖苷
22*	21.62	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	[M-H] ⁻	447.092 9	447.095 1	1.8	285.033 0, 284.041 1, 255.030 6, 227.035 6	紫云英苷
23*	28.09	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	[M-H] ⁻	301.035 4	301.035 5	0.5	273.041 0, 178.998 9, 151.004 1, 121.029 5, 65.005 1	槲皮素
24	31.25	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₀	[M-H] ⁻	441.082 7	441.083 1	0.7	426.059 2, 411.036 1, 355.045 5, 312.026 1, 271.058 6, 256.036 4	6-羟基-6,7,8,8'-四甲基香豆素
25	32.03	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	[M-H] ⁻	269.045 6	269.045 2	-1.1	251.167 9, 225.048 2, 169.120 0, 151.004 0, 149.023 2, 135.919 9, 117.034 8, 115.930 4, 103.925 3	芹菜素
26	32.63	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₀	[M-H] ⁻	441.082 7	441.083 1	0.8	426.061 2, 411.037 4, 236.032 5, 221.009 0, 193.014 0, 177.990 4, 175.040 2, 149.995 5	6-羟基-6,7,8,8'-四甲基香豆素同分异构体
27	32.76	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	[M-H] ⁻	301.035 4	301.035 1	-0.8	283.024 9, 245.045 7, 178.997 6, 151.003 0, 93.035 4	槲皮素同分异构体
28*	32.77	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	[M-H] ⁻	285.040 4	285.040 4	0.0	229.050 3, 185.060 4, 143.050 0, 93.035 5	山柰酚

*代表用对照品进行鉴定

*Identified with reference standard

21% ($P < 0.05$), 化合物 4、5、7 在 1~4 h 减少咳嗽次数分别为 31%~40%、34%~41%和 29%~

38% ($P < 0.01$), 同时在 1 h 潜伏期延长 ($P < 0.05$)。从表 1 中的 CH_{50} 值可知, 黄酮类如化合物 4、7、

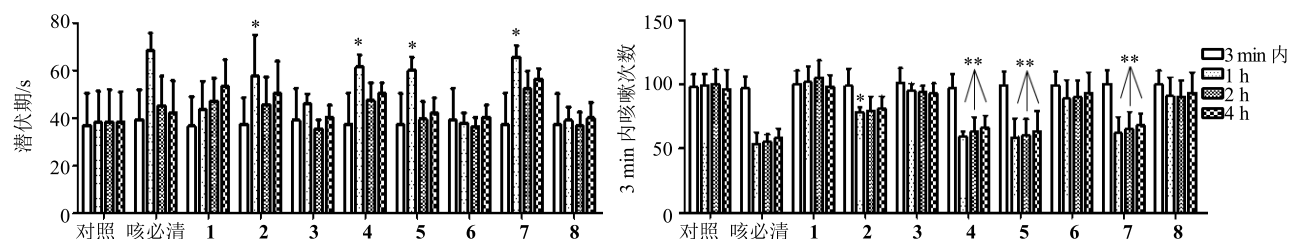


图 4 8 个化合物镇咳活性

Fig. 4 Antitussives of eight compounds

8 的抗补体活性优于香豆素类如化合物 1、2、3。

4 讨论

本研究使用氨诱导的小鼠咳嗽模型和经典的抗补体途径对山腊梅叶不同极性部位的提取物进行了镇咳和抗补体活性评价。发现醋酸乙酯提取物同时具有有效的镇咳和抗补体活性,可认为醋酸乙酯部位为山腊梅叶的有效部位。同时,采用 UHPLC-QTOF-MS/MS 方法,对醋酸乙酯萃取部位中的成分进行初步鉴定。根据与对照化合物的比较及推导策略的使用,结合数据库和参考文献,初步鉴定出总共 28 个化合物,包括 10 个香豆素、13 个黄酮和 5 个酚类化合物。通过对山腊梅叶中主要化合物的镇咳和抗补体活性的联合筛选,可以推断出山腊梅叶中的东茛菪内酯、山柰酚-3-O-芸香糖苷、紫云英苷和山柰酚是主要的镇咳化合物;同时,山柰酚-3-O-芸香苷、槲皮素和山柰酚为主要的抗补体化合物。推断山柰酚-3-O-芸香糖苷和山柰酚可同时用于治疗因补体系统过度活化引起的咳嗽和相关疾病。也可作为山腊梅叶及其产品质量控制的重要化学标记物。对将来进行更深入研究山腊梅叶镇咳和抗补体作用的分子机制提供了有效的物质基础。

参考文献

- [1] Nasra J, Belvisi M G. Modulation of sensory nerve function and the cough reflex: Understanding disease pathogenesis [J]. *Pharm Ther*, 2009, 124(3): 354-375.
- [2] Shergis J L, Wu L, May B H, *et al*. Natural products for chronic cough: Text mining the East Asian historical literature for future therapeutics [J]. *Chron Respir Dis*, 2015, 12(3): 204-211.
- [3] Makrides S C. Therapeutic inhibition of the complement system [J]. *Pharm Rev*, 1998, 50(1): 59-88.
- [4] Xu H, Zhang Y, Zhang J, *et al*. Isolation and characterization of an anti-complementary polysaccharide D3-S1 from the roots of *Bupleurum smithii* [J]. *Int Immunopharmacol*, 2007, 7(2): 175-182.

- [5] Song W H, Cheng Z H, Chen D F. Anticomplement monoterpenoid glucosides from the root bark of *Paeonia suffruticosa* [J]. *J Nat Prod*, 2013, 77(1): 42-48.
- [6] 李晓宇, 何明, 李萍, 等. 山腊梅叶镇痛、镇咳、祛痰作用的实验研究 [J]. *中国中医药科技*, 1997, 4(6): 366.
- [7] 徐文跃, 翁伟俭. 腊梅止咳露止咳祛痰作用的药理实验 [J]. *江苏药学与临床研究*, 1999, 7(2): 10-12.
- [8] 刁军成, 伍学洲, 丁舸. 山腊梅消毒抑菌的实验研究 [J]. *江西中医药*, 2002, 33(6): 35-36.
- [9] Chen H, Ouyang K, Jiang Y, *et al*. Constituent analysis of the ethanol extracts of *Chimonanthus nitens* Oliv. leaves and their inhibitory effect on α -glucosidase activity [J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 98: 829-836.
- [10] Sun Q, Zhu J, Cao F, *et al*. Anti-inflammatory properties of extracts from *Chimonanthus nitens* Oliv. leaf [J]. *PLoS One*, 2017, 12(7): e0181094.
- [11] 徐年军, 白海波, 严小军, 等. 山腊梅中挥发油成分分析 [J]. *分析测试学报*, 2006, 25(1): 90-93.
- [12] 竺叶清, 黄沁, 王智华, 等. 中国腊梅属植物开花期与营养期挥发油化学成分的比较 [J]. *中成药*, 1987(7): 31-33.
- [13] 郑瑶青, 朱芸. 腊梅鲜花香气成分的研究 [J]. *北京大学学报: 自然科学版*, 1990, 26(6): 667-668.
- [14] 肖炳坤, 刘耀明, 冯淑香, 等. 山腊梅的化学成分研究 (I) [J]. *中草药*, 2005, 36(2): 187-189.
- [15] Tabana Y M, Hassan L E A, Ahamed M B K, *et al*. Scopoletin, an active principle of tree tobacco (*Nicotiana glauca*) inhibits human tumor vascularization in xenograft models and modulates ERK1, VEGF-A, and FGF-2 in computer model [J]. *Microvascul Res*, 2016, 107(9): 17-33.
- [16] Yoo A, Narayan V P, Hong E Y, *et al*. Scopolin ameliorates high-fat diet induced hepatic steatosis in mice: Potential involvement of SIRT1-mediated signaling cascades in the liver [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 2251-2261.
- [17] Li J, Li X, Li Z, *et al*. Isofraxidin, a coumarin component improves high-fat diet induced hepatic lipid homeostasis disorder and macrophage inflammation in mice [J]. *Food*

- Funct*, 2017, 8(8): 2886-2896.
- [18] Zhou B, Liu S Z, Li M J, *et al.* Study on quality standards for *Chimonanthus nitens* [J]. *Gen Mol Res*, 2016, 15(3): 1-6.
- [19] Zhou B, Li M J, Wang P, *et al.* Study on quality standard of *Chimonanthus nitens* leaf [J]. *J Chin Med Mater*, 2013, 36(9): 1434-1436.
- [20] Tan T, Luo Y, Zhong C C, *et al.* Comprehensive profiling and characterization of coumarins from roots, stems, leaves, branches, and seeds of *Chimonanthus nitens* Oliv. using ultra-performance liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight mass spectrometry combined with modified mass defect filter [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2017, 141(17): 140-148.
- [21] Huang W P, Tan T, Li Z F, *et al.* Structural characterization and discrimination of *Chimonanthus nitens* Oliv. leaf from different geographical origins based on multiple chromatographic analysis combined with chemometric methods [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 154: 236-244.
- [22] 黄文平, 温芝琪, 王萌萌, 等. 不同产地山腊梅叶 HPLC 指纹图谱 [J]. *中成药*, 2018, 40(8): 1795-1798.
- [23] 黄文平, 温芝琪, 王萌萌, 等. 山腊梅叶中 8 种成分含量测定及主成分分析 [J]. *中药新药与临床药理*, 2018, 29(6): 799-803.
- [24] Wen Z, Huang W, Long W, *et al.* *In vitro* anticomplement activity and quality evaluation of dried blossoms of *Inula nervosa* Wall. from different geographical origins [J]. *Biomed Chromatogr*, 2019, 33(12): e4682.
- [25] Kuang Y, Li B, Fan J, *et al.* Antitussive and expectorant activities of licorice and its major compounds [J]. *Bioorg Med Chem*, 2018, 26(1): 278-284.