

中麻黄的化学成分研究

范锡玲,曹彦刚,焦新棉,郑晓珂,冯卫生*

河南中医药大学药学院 河南省中药开发工程技术研究中心,郑州 450046

摘要:研究中麻黄(*Ephedra intermedia* Schrenk et C. A. Mey.)干燥草质茎的化学成分及其抗哮喘活性。应用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱、Toyopreal HW-40C 柱色谱以及半制备型高效液相色谱等多种手段对中麻黄草质茎的 50%丙酮提取物进行化学成分研究,从中分离鉴定了 22 个化合物,根据其理化性质和波谱学数据鉴定其结构,分别为 4-甲氧基肉桂酸(1)、肉桂酸(2)、 ω -hydroxypropioquaiacone(3)、*threo*-8S-7-methoxysyringylglycerol(4)、3-(2,4'-dihydroxy-3',5'-dimethoxyphenyl) propanoic acid(5)、8-hydroxy-9-methyl-7-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-7-propanone(6)、3-羟基-1-(4-羟基-3,5-二甲氧基苯基)-1-丙酮(7)、2-羟基-1-(4-羟基-3-甲氧基) 苯基-1-丙酮(8)、异咖啡酸甲酯(9)、*trans*-syringin(10)、*cis*-syringin(11)、(4R)-4-hydroxy-4-(2-hydroxypropan-2-yl) cyclo-hex-1-ene-1-carboxylic acid(12)、7-羟基- α -松油醇(13)、去氢吐叶醇(14)、脱落酸(15)、黑麦草素内脂(16)、(E)-3-(3-hydroxybut-1-enyl)-2,4,4-trimethylcyclohexa-2,5-dienone(17)、3-(3'-hydroxybutyl)-2,4,4-trimethylcyclohexa-2,5-dienone(18)、对异丙基苯甲酸(19)、*p*-cymen-7-yl β -D-glucopyranoside(20)、acyclic 7-hydroxygeranic acid(21)、7,7-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene-1-carboxylic acid(22),其中化合物 3~6,8,10~14,17~19,21,22 为首次从该植物中分离得到,同时经体外抗哮喘活性筛选,结果显示化合物 11 和 14 能够显著抑制 β -氨基己糖苷酶的释放。

关键词:麻黄属;中麻黄;结构鉴定;抗哮喘活性

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2024)3-0415-09

DOI:10.16333/j.1001-6880.2024.3.005

Chemical constituents from *Ephedra intermedia*

FAN Xi-ling, CAO Yan-gang, JIAO Xin-mian, ZHENG Xiao-ke, FENG Wei-sheng*

The Engineering and Technology Center for Chinese Medicine Development of Henan Province,

School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

Abstract: To study the chemical constituents of the herbaceous stems of *Ephedra intermedia* Schrenk et C. A. Mey. Twenty-two compounds were isolated from the 50% aqueous acetone extract of *Ephedra intermedia* by silica gel, sephadex LH-20 column chromatography, Toyopreal HW-40C column chromatography, as well as semi-preparative HPLC methods. Their structures were identified by spectral analysis as 4-methoxycinnamic acid (1), cinnamic acid (2), ω -hydroxypropioquaiacone (3), *threo*-8S-7-methoxysyringylglycerol (4), 3-(2,4'-dihydroxy-3',5'-dimethoxyphenyl) propanoic acid (5), 8-hydroxy-9-methyl-7-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-7-propanone (6), 3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-1-propanone (7), 2-hydroxyl-1-[4-hydroxy-3-methoxyphenyl(propan-1-one)] (8), methyl caffete (9), *trans*-syringin (10), *cis*-syringin (11), (4R)-4-hydroxy-4-(2-hydroxypropan-2-yl) cyclo-hex-1-ene-1-carboxylic acid (12), 7-hydroxyterpineol (13), dehydrovomifoliol (14), abscisic acid (15), loliolide (16), (E)-3-(3-hydroxybut-1-enyl)-2,4,4-trimethylcyclohexa-2,5-dienone (17), 3-(3'-hydroxybutyl)-2,4,4-trimethylcyclohexa-2,5-dienone (18), 4-isopropyl benzoic acid (19), *p*-cymen-7-yl β -D-glucopyranoside (20), acyclic 7-hydroxygeranic acid (21), 7,7-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene-1-carboxylic acid (22). And compounds 3-6,8,10-14,17-19,21 and 22 are isolated from this plant for the first time. The results of their anti-asthma activities showed that compounds 11,14 could significantly inhibit the release of β -aminohexosidase.

Key words: *Ephedra*; *Ephedra intermedia*; structural identification; anti-asthmatic activities

收稿日期:2023-10-13

接受日期:2024-01-04

基金项目:国家重点研发计划-中医药现代化研究重点专项(2019YFC1708800)

*通信作者 Tel:86-371-60190296; E-mail: fwsh@hactcm.edu.cn

中麻黄(*Ephedra intermedia* Schrenk et C. A. Mey.)是 2020 版《中国药典》收录的三种药用麻黄之一^[1],始载于《神农本草经》,列为中品,味辛,微

苦,归肺和膀胱经,具有发汗散寒、宣肺平喘、利水消肿的功效^[2,3]。中麻黄主要分布在我国新疆、内蒙古、西藏等省区,以西北地区常见,生长在海拔数百米至两千多米的干旱荒漠、沙滩地区及干旱的山坡或草地上,对维持生态环境的平衡具有重要作用,被誉为“大漠之宝”^[4]。20世纪末,中麻黄多处于野生状态,种植品少见,同时,农牧民采取“斩草除根”式的采收方式,以及各企业对麻黄资源的争夺导致中麻黄野生资源遭到了极大破坏,目前中麻黄已经被列入第二批《国家重点保护野生药材物种名录》^[5]。随着种植技术的不断发展以及对现有的天然资源的保护,中麻黄也逐渐在宁夏、内蒙古和新疆等地形成了规范化的种植,资源匮乏的现象已得到了改善。

现代研究表明,麻黄所含化学成分主要有生物碱类、黄酮类、挥发油、木脂素类以及多糖类物质^[1,6],具有抗炎、抗哮喘、免疫抑制、抗肿瘤等^[7]药理作用。因此,基于前期本课题组对草麻黄和木贼麻黄化学成分的研究^[1,8],也为了进一步阐明和发掘中麻黄的药效物质基础,现对中麻黄的50%丙酮提取物进行化学成分研究,并对所得单体化合物进行体外抗哮喘活性评价,以期进一步丰富中麻黄的药效物质基础。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Bruker AVANCE III 500型核磁共振仪(德国布鲁克公司);Bruker maxis HD型飞行时间质谱(德国布鲁克公司);赛谱锐思 LC52型高压制备液相色谱仪(赛谱锐思北京科技有限公司);Thermo EVO300紫外分光光度计(Thermo Scientific, USA)型紫外检测器;Autopol IV全自动旋光仪(美国鲁道夫公司);YMC-Pack ODS-A色谱柱(250 mm×20 mm, 5 μm,日本YMC有限公司);Multiskan MK3酶标仪(美国Thermo Fisher公司);Operetta CLS高内涵成像分析系统(美国珀金埃尔默公司)。

柱色谱填料 Sephadex LH-20(瑞典 Amersham Pharmacia Biotech公司);Toyopearl HW-40C(日本TOSOH公司);ODS(40~60 μm,日本YMC有限公司);MCI gel CHP-20、大孔树脂 Diaion HP-20(日本三菱化学公司);薄层色谱硅胶 GF 254、柱色谱硅胶(100~200目、200~300目,青岛海洋化工厂);大鼠嗜碱性细胞白血病细胞株(RBL-2H3)(北纳创联生物科技有限公司);TrintonX-100(批号:

1109F0518,北京索莱宝科技有限公司);EMEM培养基(Gibco Invitrogen公司);氨苄青霉素(批号:3230426002)、链霉素(批号:5220726003)、C48/80(批号:0000220011)、4-硝基苯基-N-乙酰基-β-D-氨基葡萄糖(批号:102547763,纯度≥99%)(Sigma公司);甲醇(色谱纯,天津四友精细化学品有限公司);乙腈(色谱纯,美国天地有限公司);其他试剂(分析纯,天津恒兴化学试剂有限公司)。

1.2 植物材料

中麻黄购自新疆西域漠草中药材开发有限公司,经河南中医药大学药学院董诚明教授鉴定为麻黄科植物中麻黄 *Ephedra intermedia* 的干燥草质茎,植物标本(NO. 20201111)保存于河南中医药大学药学院中药化学提取分离实验室。

1.3 实验方法

1.3.1 提取与分离

取45.0 kg 中麻黄的干燥草质茎,切段,50%含水丙酮浸泡1周,组织破碎提取2次,减压浓缩得到总浸膏11.1 kg,加水分散后,依次用二氯甲烷、乙酸乙酯和正丁醇萃取若干次后得到二氯甲烷部位(185.0 g)、乙酸乙酯部位(1.37 kg)、正丁醇部位(1.5 kg)和水部位。

二氯甲烷部位(185.0 g)上硅胶柱(100~200目),用石油醚-乙酸乙酯(50:1、20:1、10:1、4:1、1:1)以及乙酸乙酯-甲醇(20:1、10:1、5:1)梯度洗脱,得到10个组分(D1~D10)。D7(17.2 g)经ODS反相色谱柱,以甲醇-水(10:90→100:0)梯度洗脱,得到7个组分(D7-1~D7-7);D7-2(2.6 g)经硅胶柱(100~200目),以二氯甲烷-甲醇(350:1→20:1)梯度洗脱后得到5个组分(D7-2-1~D7-2-5),其中D7-2-3上Sephadex LH-20凝胶柱,以70%甲醇等度洗脱后得到5个组分(D7-2-3-1~D7-2-3-5),D7-2-3-3又经硅胶柱色谱(200~300目)以及HPLC分离纯化得到化合物1(乙腈-水26:74, t_R =44.2 min, 12.6 mg)、2(乙腈-水30:70, t_R =40.1 min, 2.65 mg)、9(甲醇-水38:62, t_R =27.9 min, 13.2 mg);D7-2-3-4经薄层制备色谱(二氯甲烷-甲醇35:1)得到化合物8(4.6 mg);D7-3(1.7 g)上MCI gel CHP-20柱,以甲醇-水(10:90→100:0)梯度洗脱,得到5个组分(D7-3-1~D7-3-5),其中D7-3-3和D7-3-5分别经硅胶柱(200~300目)分离后进一步由HPLC纯化得到化合物14(乙腈-水24:76, t_R =25.0 min, 7.0 mg)

和**21**(乙腈-水 27:73, $t_R = 19.4$ min, 12.3 mg); D8(12.0 g)上 MCI gel CHP-20 柱, 以甲醇-水(10:90→100:0)梯度洗脱, 得到 6 个组分(D8-1~D8-6); D8-2(2.0 g)上硅胶柱(200~300 目), 以二氯甲烷-甲醇(270:1→10:1)梯度洗脱后得到 5 个组分(D8-2-1~D8-2-5), D8-2-1 经 HPLC(甲醇-水 29:71)粗砍断得到 5 个组分(D8-2-1-1~D8-2-1-5), 其中 D8-2-1-3 和 D8-2-1-4 分别经过 HPLC 纯化得到化合物**6**(乙腈-水 12:88, $t_R = 45.2$ min, 13.7 mg)、**16**(乙腈-水 25:75, $t_R = 23.5$ min, 44.6 mg); D8-2-1-5 经制备薄层色谱(二氯甲烷-甲醇 35:1)得到化合物**7**(4.0 mg); D8-2-2 和 D8-2-5 分别重复上硅胶柱(200~300 目)后经 HPLC 纯化得到化合物**3**(乙腈-水 15:85, $t_R = 22.2$ min, 1.2 mg)、**4**(甲醇-水 42:58, $t_R = 26.5$ min, 1.4 mg); D8-4(1.2 g)上硅胶柱(200~300 目), 以二氯甲烷-甲醇(200:1→15:1)梯度洗脱后得到 8 个组分(D8-4-1~D8-4-8), 其中 D8-4-2 上 Sephadex LH-20 凝胶柱, 以 70% 甲醇等度洗脱后又经 HPLC(乙腈-水 71:29)纯化得到化合物**12**($t_R = 18.4$ min, 6.2 mg)和**13**($t_R = 22.6$ min, 11.5 mg); D8-4-5 上 Toyopearl HW-40C 凝胶柱, 以甲醇-水(10:90→100:0)梯度洗脱后得到 4 个组分(D8-4-5-1~D8-4-5-4), 其中 D8-4-5-2 和 D8-4-5-3 分别经 HPLC 纯化得到化合物**15**(乙腈-水 26:74, $t_R = 28.8$ min, 22.8 mg)和**20**(甲醇-水 41:59, $t_R = 20.6$ min, 5.4 mg); D8-4-5-4 经硅胶柱(200~300 目)后进一步通过 HPLC(甲醇-水 60:40)纯化得到化合物**22**($t_R = 28.4$ min, 17.5 mg)。

乙酸乙酯部位(1.37 kg)上硅胶柱(100~200 目), 用二氯甲烷-甲醇(25:1, 12:1, 8:1)以及乙酸乙酯-甲醇(35:1, 15:1, 5:1, 2:1, 0:1)梯度洗脱后得到 11 个组分(E1~E11), E-4(24.3 g)上 MCI gel CHP-20 柱, 以甲醇-水(10:90→100:0)梯度洗脱, 得到 5 个组分(E4-1~E4-5), E4-3 经硅胶柱色谱(200~300 目), 以二氯甲烷-甲醇(25:1→5:1)梯度洗脱, 得到 4 个组分(E4-3-1~E4-3-4), 其中 E4-3-2 上硅胶柱(200~300 目), 以甲醇-乙酸乙酯(100:1→20:1)梯度洗脱后得到 4 个组分(E4-3-2-1~E4-3-2-4), 其中 E4-3-2-2 经 HPLC(乙腈-水 30:70)纯化得到化合物**17**($t_R = 19.3$ min, 2.4 mg)和**18**($t_R = 24.1$ min, 9.2 mg); E4-3-2-4 经 HPLC(甲醇-水 10:90)纯化得到化合物**19**($t_R = 28.1$ min, 3.0 mg); E8(89.3

g)上 MCI gel CHP-20 柱, 以甲醇-水(10:90→100:0)梯度洗脱, 得到 6 个组分(E8-1~E8-6), E8-2(5.3 g)上 Toyopearl HW-40C 凝胶柱以甲醇-水(10:90→100:0)梯度洗脱, 得到 5 个组分(E8-2-1~E8-2-5), E8-2-2 上硅胶柱(200~300 目), 以乙酸乙酯-甲醇(400:1→50:1)梯度洗脱后得到 5 个组分(E8-2-2-1~E8-2-2-5), 其中 E8-2-2-1 和 E8-2-2-4 分别经 HPLC 纯化得到化合物**5**(乙腈-水 8:92, $t_R = 20.1$ min, 17.8 mg)、**10**(乙腈-水 10:90, $t_R = 20.6$ min, 12 mg)、**11**(乙腈-水 10:90, $t_R = 24.6$ min, 3.7 mg)。

1.3.2 体外抗哮喘活性评价

肥大细胞是参与哮喘的核心效应细胞, 哮喘时会发生肥大细胞脱颗粒, 即 β -氨基己糖苷酶(β -amino-N-acetylhexosidase)、组胺(histamine)等的释放, 在哮喘的发病过程中起关键作用。大鼠嗜碱性细胞白血病细胞株(RBL-2H3)能够模拟哮喘中肥大细胞活化脱颗粒。本实验采用 C48/80 诱导 RBL-2H3 细胞脱颗粒, 加入从中麻黄中分离纯化得到的单体化合物进行干预。利用底物显色法检测 β -Hex 释放率, 从而筛选出抗哮喘活性成分。

将 RBL-2H3 细胞置于含有 15% FBS 的 EMEM 培养基中, 于 5% CO₂ 的 37 °C 恒温培养箱培养至对数生长期, 按照细胞密度为 3×10^4 个/mL 接种于 96 孔板中, 24 h 后分为正常组、模型组(C48/80, 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、给药组(10 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 单体化合物 + C48/80, 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$)以及总酶组(1% Triton X-100)。药物及 C48/80 溶液均用台式液配制, 另外设 3~5 个空白孔(不含细胞, 单加台式液)。刺激 30 min 后, 取 50 μL 细胞上清, 加入 50 μL 1 mmol/L 的 β -氨基己糖苷酶底物溶液, 37 °C 孵育 1 h, 加入 150 μL Na₂CO₃/NaHCO₃ 终止液终止反应, 酶标仪 405 nm 下检测吸光度按公式(1)计算 β -Hex 释放率(R)。

$$R = (A_1 - A_2) / (A_3 - A_2) \times 100\% \quad (1)$$

式中, A_1 : 实验组上清液吸光度; A_2 : 空白孔上清液吸光度; A_3 : 总酶孔上清液吸光度。

2 结果与分析

2.1 结构鉴定

化合物 1 无色晶体(甲醇); ESI-MS: m/z 179 [M+H]⁺, 分子式为 C₁₀H₁₀O₃。¹H NMR(500 MHz, CD₃OD) δ : 7.66(2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2, 6), 6.87(2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3, 5), 6.83(1H, d, $J = 12.8$ Hz, H-7), 5.81(1H, d, $J = 12.8$ Hz, H-8), 3.80(3H,

$\text{s}, 4\text{-OCH}_3$) $;$ ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 133.1 (C-1), 128.9 (C-2, 6), 114.4 (C-3, 5), 161.9 (C-4), 143.3 (C-7), 118.4 (C-8), 170.3 (C-9), 55.7 (4-OCH₃)。以上数据与文献^[9]报道一致, 确定化合物为4-甲氧基肉桂酸。

化合物2 白色晶体(甲醇); ESI-MS: m/z 149 [$\text{M} + \text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_2$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.66 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7), 7.58 (2H, m, H-2, 6), 7.40 (3H, m, H-3, 4, 5), 6.47 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 135.9 (C-1), 129.3 (C-2, 6), 130.1 (C-3, 5), 131.4 (C-4), 146.2 (C-7), 119.5 (C-8), 170.5 (C-9)。以上数据与文献^[10]报道一致, 确定化合物为肉桂酸。

化合物3 无色油状物; ESI-MS: m/z 196 [$\text{M}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_4$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.57 (1H, dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, H-6'), 7.54 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.86 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5'), 3.93 (2H, t, $J = 6.2$ Hz, H-2), 3.90 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.15 (2H, t, $J = 6.2$ Hz, H-1); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 58.9 (C-1), 130.7 (C-1'), 41.7 (C-2), 111.9 (C-2'), 199.7 (C-3), 149.1 (C-3'), 153.4 (C-4'), 115.8 (C-5'), 124.7 (C-6'), 56.4 (3'-OCH₃)。以上数据与文献^[11]报道一致, 确定化合物为 ω -hydroxypropioguaiacone。

化合物4 无色油状物; ESI-MS: m/z 281 [$\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_6$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.63 (2H, s, H-2, 6), 4.07 (1H, d, $J = 6.3$ Hz, H-7), 3.84 (6H, s, 3, 5-OCH₃), 3.72 (1H, td, $J = 6.4, 3.9$ Hz, H-8), 3.63 (1H, dd, $J = 11.3, 3.9$ Hz, H-9a), 3.55 (1H, dd, $J = 11.3, 6.4$ Hz, H-9b), 3.21 (3H, s, 7-OCH₃); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 130.6 (C-1), 106.2 (C-2, 6), 149.2 (C-3, 5), 136.4 (C-4), 85.9 (C-7), 76.2 (C-8), 64.3 (C-9), 56.7 (3, 5-OCH₃)。以上数据与文献^[12]报道一致, 确定化合物为 threo-8S-7-methoxysyringylglycerol。

化合物5 白色无定型粉末; ESI-MS: m/z 243 [$\text{M} + \text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_6$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.33 (2H, s, H-2', 6'), 5.13 (2H, td, $J = 3.9$ Hz, H-2), 3.90 (6H, s, 3', 5'-OCH₃), 3.87 (1H, s, H-3a), 3.74 (1H, dd, $J = 11.6, 4.9$ Hz, H-3b); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 199.7 (C-1), 75.6 (C-2), 66.2 (C-3), 126.7 (C-1'), 107.7 (C-2', 6'), 149.1

(C-3', 5'), 143.0 (C-4'), 56.9 (3', 5'-OCH₃)。以上数据与文献^[13]报道一致, 确定化合物为 3-(2,4'-di-hydroxy-3',5'-dimethoxyphenyl) propanoic acid。

化合物6 无色结晶(甲醇); ESI-MS: m/z 227 [$\text{M} + \text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_5$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.32 (2H, overlap, H-2, 6), 5.19 (1H, q, $J = 6.9$ Hz, H-8), 3.90 (6H, s, 3, 5-OCH₃), 1.41 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-9); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 126.2 (C-1), 107.7 (C-2, 6), 149.1 (C-3, 5), 142.9 (C-4), 202.0 (C-7), 70.0 (C-8), 22.1 (C-9), 56.9 (3, 5-OCH₃)。以上数据与文献^[14]报道一致, 确定化合物为 8-hydroxy-9-methyl-7-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-7-propanone。

化合物7 白色针状结晶(甲醇); ESI-MS: m/z 249 [$\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_5$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.31 (2H, br s, H-3, 5), 3.94 (2H, t, $J = 6.2$ Hz, H-9), 3.89 (6H, s, 2, 6-OCH₃), 3.17 (2H, t, $J = 6.2$ Hz, H-8); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 129.0 (C-1), 149.1 (C-2, 6), 107.3 (C-3, 5), 143.1 (C-4), 199.6 (C-7), 41.7 (C-8), 59.0 (C-9), 56.9 (2, 6-OCH₃)。以上数据与文献^[15]报道一致, 确定化合物为 3-羟基-1-(4-羟基-3,5-二甲氧基苯基)-1-丙酮。

化合物8 白色固体; ESI-MS: m/z 197 [$\text{M} + \text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_4$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.55 (1H, br s, H-2), 7.53 (1H, br s, H-6), 6.83 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-5), 5.15 (1H, m, H-8), 3.89 (3H, s, 3-OCH₃), 1.39 (1H, d, $J = 6.9$ Hz, H-9); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 126.7 (C-1), 112.3 (C-2), 155.2 (C-3), 149.6 (C-4), 116.2 (C-5), 125.3 (C-6), 201.8 (C-7), 69.8 (C-8), 22.2 (C-9), 56.3 (3-OCH₃)。以上数据与文献^[16]报道一致, 确定化合物为 2-羟基-1-(4-羟基-3-甲氧基)苯基-1-丙酮。

化合物9 淡黄色粉末; ESI-MS: m/z 231 [$\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_4$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.58 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7), 7.16 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2), 7.05 (1H, dd, $J = 8.0, 1.8$ Hz, H-6), 6.80 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.30 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8), 3.88 (3H, s, 9-OCH₃); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 127.8 (C-1), 116.0 (C-2), 150.5 (C-3), 149.4 (C-4), 116.5 (C-5), 124.0

(C-6), 111.7(C-7), 146.8(C-8), 171.1(C-9), 56.4(9-OCH₃)。以上数据与文献^[17]报道一致,确定化合物为异咖啡酸甲酯。

化合物 10 白色针晶(甲醇);ESI-MS:*m/z* 372 [M]⁺, 分子式为 C₁₇H₂₄O₉。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 6.74 (2H, s, H-3, 5), 6.54 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-7), 6.32 (1H, dt, *J* = 15.9, 5.6 Hz, H-8), 4.25 (2H, d, *J* = 5.6 Hz, H-9), 4.86 (1H, d, *J* = 7.7 Hz, H-1'), 3.85 (6H, s, 2, 6-OCH₃), 3.20 ~ 3.77 处的一系列多重峰,推测该化合物含有葡萄糖片段,并根据偶合常数 *J* = 7.7 Hz 推测该葡萄糖为 β 构型; ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ: 135.9(C-1), 154.3(C-2, 6), 105.4(C-3, 5), 135.2(C-4), 130.0(C-7), 131.3(C-8), 62.6(C-9), 105.3(C-1'), 75.7(C-2'), 78.3(C-3'), 71.3(C-4'), 77.8(C-5'), 63.6(C-6'), 57.0(2, 6-OCH₃)。以上数据与文献^[18]报道一致,确定化合物为 *trans*-syringin。

化合物 11 白色针晶(甲醇);ESI-MS:*m/z* 372 [M + Na]⁺, 分子式为 C₁₇H₂₄O₉。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 6.49 (1H, d, *J* = 11.7 Hz, H-7), 5.82 (1H, dt, *J* = 11.7, 5.3 Hz, H-8) 为一个顺式双键氢信号; ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ: 135.6(C-1), 154(C-2), 108.0(C-3), 134.7(C-4), 108.0(C-5), 154.0(C-6), 131.5(C-7), 132.5(C-8), 62.6(C-9), 105.3(C-1'), 75.7(C-2'), 78.4(C-3'), 71.4(C-4'), 77.8(C-5'), 59.8(C-6'), 57.1(2, 6-OCH₃)。以上数据与文献^[19]报道一致,确定该化合物为 *cis*-syringin。

化合物 12 无色油状物;ESI-MS:*m/z* 223 [M + Na]⁺, 分子式为 C₁₀H₁₆O₄。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 6.90 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-2), 2.48 (1H, d, *J* = 16.9 Hz, H-3a), 2.35 (2H, m, H-6), 2.18 (1H, d, *J* = 16.9 Hz, H-3b), 1.90 (1H, m, H-5a), 1.57 (1H, m, H-5b), 1.22 (3H, s, H-10), 1.21 (3H, s, H-9); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ: 130.9(C-1), 138.9(C-2), 33.9(C-3), 74.7(C-4), 27.7(C-5), 22.1(C-6), 171.0(C-7), 75.6(C-8), 24.6(C-9, 10)。以上数据与文献^[20]报道一致,确定化合物为 (4*R*)-4-hydroxy-4-(2-hydroxypropan-2-yl) cyclo-hex-1-ene-1-carboxylic acid。

化合物 13 无色油状物;ESI-MS:*m/z* 193 [M + Na]⁺, 分子式为 C₁₀H₁₈O₂。¹H NMR (500 MHz,

CD₃OD) δ: 5.65 (1H, s, H-2), 3.92 (2H, *J* = 13.5 Hz, H-7), 2.14 (1H, m, H-3b), 2.11 (1H, m, H-6a), 2.03 (1H, m, H-6b), 1.97 (1H, m, H-5a), 1.85 (1H, m, H-3a), 1.51 (1H, m, H-4), 1.25 (1H, m, H-5b), 1.16 (6H, s, H-9, 10); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ: 138.6(C-1), 123.3(C-2), 24.9(C-3), 46.5(C-4), 27.6(C-5), 27.2(C-6), 67.2(C-7), 73.1(C-8), 26.2(C-9), 27.7(C-10)。以上数据与文献^[21]报道一致,确定化合物为 7-羟基- α -松油醇。

化合物 14 无色油状物;ESI-MS:*m/z* 223 [M + H]⁺, 分子式为 C₁₃H₁₈O₃。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 6.99 (1H, d, *J* = 15.8 Hz, H-7), 6.42 (1H, d, *J* = 15.8 Hz, H-8), 5.93 (1H, s, H-4), 2.60 (1H, d, *J* = 17.1 Hz, H-2a), 2.27 (1H, d, *J* = 17.1 Hz, H-2b), 2.30 (3H, s, H-10), 1.89 (3H, d, *J* = 1.3 Hz, H-11), 1.05 (3H, s, H-12), 1.01 (3H, s, H-13); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ: 42.0(C-1), 50.5(C-2), 200.7(C-3), 128.4(C-4), 164.7(C-5), 80.0(C-6), 148.4(C-7), 131.7(C-8), 200.4(C-9), 27.6(C-10), 19.2(C-11), 23.5(C-12), 24.7(C-13)。以上数据与文献^[22]报道一致,确定化合物为去氢吐叶醇。

化合物 15 白色粉末;ESI-MS:*m/z* 265 [M + H]⁺, 分子式为 C₁₅H₂₀O₄。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 7.77 (1H, d, *J* = 16.1 Hz, H-4), 6.24 (1H, d, *J* = 16.1 Hz, H-5), 5.91 (1H, s, H-8), 5.74 (1H, s, H-2), 2.52 (1H, d, *J* = 17.0 Hz, H-10a), 2.18 (1H, d, *J* = 17.0 Hz, H-10b), 2.03 (3H, s, H-15), 1.92 (3H, s, H-14), 1.06 (3H, s, H-12), 1.02 (3H, s, H-13); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ: 169.4(C-1), 119.5(C-2), 166.5(C-3), 129.4(C-4), 138.0(C-5), 80.6(C-6), 151.1(C-7), 127.6(C-8), 201.0(C-9), 50.6(C-10), 42.8(C-11), 19.6(C-12), 23.6(C-13), 21.3(C-14), 24.7(C-15)。以上数据与文献^[23]报道一致,确定化合物为脱落酸。

化合物 16 黄色不定型粉末;ESI-MS:*m/z* 197 [M + H]⁺, 分子式为 C₁₁H₁₆O₃。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 5.74 (1H, s, H-7), 4.21 (1H, m, H-3), 2.43 (1H, d, *J* = 13.6 Hz, H-4a), 1.98 (1H, d, *J* = 14.4 Hz, H-2b), 1.75 (3H, s, H-11), 1.72 (1H, d, *J* = 13.6, 3.9 Hz, H-4b), 1.52 (1H, dd, *J* = 14.4, 3.5 Hz, H-2a), 1.45 (3H, s, H-9), 1.26 (3H, s, H-10); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ: 37.2(C-1), 47.9(C-

2), 67.2(C-3), 46.4(C-4), 88.9(C-5), 174.4(C-6), 113.5(C-7), 185.6(C-8), 27.0(C-9), 31.0(C-10), (C-11)。以上数据与文献^[24]报道一致, 确定化合物为黑麦草素内脂。

化合物 17 无色油状物; ESI-MS: m/z 207 [M + H]⁺, 分子式为 $C_{13}H_{18}O_2$ 。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 6.98(1H, d, J = 9.9 Hz, H-2), 6.34(1H, d, J = 16.2 Hz, H-7), 6.17(1H, d, J = 9.9 Hz, H-3), 5.84(1H, d, J = 16.2 Hz, H-8), 4.42(1H, m, H-9), 1.93(3H, s, H-13), 1.32(3H, d, J = 6.5 Hz, H-10), 1.26(3H, s, H-12), 1.25(3H, s, H-11); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 41.0(C-1), 160.0(C-2), 126.2(C-3), 188.9(C-4), 125.0(C-5), 161.3(C-6), 143.8(C-7), 131.5(C-8), 69.0(C-9), 23.6(C-10), 26.9(C-11, 12), 13.2(C-13)。以上数据与文献^[25]报道一致, 确定化合物为(*E*)-3-(3-hydroxybut-1-enyl)-2,4,4-trimethylcyclohexa-2,5-dienone。

化合物 18 无色晶体(甲醇); ESI-MS: m/z 207 [M-H]⁻, 分子式为 $C_{13}H_{20}O_2$ 。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 6.93(1H, d, J = 9.9 Hz, H-5), 6.14(1H, d, J = 9.9 Hz, H-6), 3.81(1H, m, H-3'), 2.59(1H, m, H-1'a), 2.37(1H, m, H-1'b), 1.88(3H, s, H-7), 1.58(1H, m, H-2'), 1.28(3H, s, H-8), 1.27(3H, s, H-9), 1.21(3H, d, J = 6.3 Hz, H-4'); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 188.5(C-1), 132.4(C-2), 165.5(C-3), 42.2(C-4), 160.2(C-5), 126.1(C-6), 26.0(C-7), 25.9(C-8), 11.5(C-9), 27.9(C-1'), 38.7(C-2'), 68.8(C-3'), 23.3(C-4')。以上数据与文献^[26]报道一致, 确定化合物为3-(3'-hydroxybutyl)-2,4,4-trimethylcyclohexa-2,5-dienone。

化合物 19 无色晶体(甲醇); ESI-MS: m/z 187 [M + Na]⁺, 分子式为 $C_{10}H_{12}O_2$ 。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.93(1H, d, J = 8.4 Hz, H-3, 5), 7.32(1H, d, J = 8.4 Hz, H-2, 6), 2.98(1H, m, H-1'), 1.26(6H, d, J = 6.4 Hz, H-2', 3'); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 155.7(C-1), 131.0(C-2, 6), 127.5(C-3, 5), 129.6(C-4), 35.5(C-1'), 24.1(C-2', 3'), 170.1(C-4')。以上数据与文献^[27]报道一致, 确定化合物为对异丙基苯甲酸。

化合物 20 无色油状物; ESI-MS: m/z 335 [M + Na]⁺, 分子式为 $C_{16}H_{24}O_6$ 。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.33(2H, d, J = 8.0 Hz, H-2, 6), 7.20

(2H, d, J = 8.0 Hz, H-3, 5), 4.63(1H, d, J = 11.6 Hz, H-10), 4.63(1H, d, J = 11.6 Hz, H-4'), 4.33(1H, d, J = 7.8 Hz, H-1'), 3.98(1H, dd, J = 11.9, 2.1 Hz, H-6'a), 3.69(1H, dd, J = 11.9, 5.6 Hz, H-6'b), 3.26 ~ 3.32(3H, m, H-2', 3', 5'), 2.87(1H, m, H-7), 1.24(3H, s), 1.22(3H, s); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 136.3(C-1), 129.5(C-2, 6), 127.3(C-3, 5), 150.0(C-4), 35.1(C-7), 24.5(C-8, 9), 71.6(C-10), 103.1(C-1'), 72.1(C-2'), 78.0(C-3'), 71.7(C-4'), 78.1(C-5'), 62.8(C-6')。以上数据与文献^[7]报道一致, 可以确定化合物为 *p*-cymen-7-yl β -D-glucopyranoside。

化合物 21 黄色油状物; ESI-MS: m/z 209 [M + Na]⁺, 分子式为 $C_{10}H_{18}O_3$ 。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 5.66(1H, br s, H-2), 2.16(1H, d, J = 7.4 Hz, H-5), 2.13 ~ 3H, d, J = 1.1 Hz, H-4), 1.56(2H, m, H-6), 1.43(2H, m, H-7), 1.17(6H, s, H-9, 10); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 170.3(C-1), 116.9(C-2), 161.5(C-3), 18.7(C-4), 44.1(C-5), 42.3(C-6), 29.2(C-7), 71.2(C-8), 23.2(C-9, 10)。以上数据与文献^[28]报道一致, 确定化合物为 acyclic 7-hydroxygeranic acid。

化合物 22 黄色油状物; ESI-MS: m/z 189 [M + Na]⁺, 分子式为 $C_{10}H_{14}O_2$ 。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 6.82(1H, m, H-2), 2.73(1H, m, H-3), 2.49(1H, m, H-5), 2.44(2H, m, H-6), 2.12(1H, m, H-4a), 1.34(3H, s, H-8), 1.10(1H, d, J = 9.0 Hz, H-4b), 0.79(3H, s, H-9); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 137.8(C-1), 141.7(C-2), 42.5(C-3), 33.1(C-4), 41.7(C-5), 32.1(C-6), 38.6(C-7), 26.4(C-8), 21.3(C-9), 169.7(C-10)。以上数据与文献^[29]报道一致, 确定化合物为 7,7-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene-1-carboxylic acid。

化合物 1 ~ 22 的结构见图 1。

2.2 体外抗哮喘活性评价

通过建立 C48/80 诱导 RBL-2H3 细胞脱颗粒体外模型, 对中麻黄中 22 个单体化合物进行活性筛选, 给药剂量均为 10 μ mol/L, 结果显示, 中麻黄中单体化合物 **11**、**14** 能够显著抑制 β -氨基己糖苷酶的释放 ($P < 0.05$) (见表 1), 改善 RBL-2H3 细胞脱颗粒现象, 提示其可能通过抑制肥大细胞脱颗粒发挥抗哮喘作用。

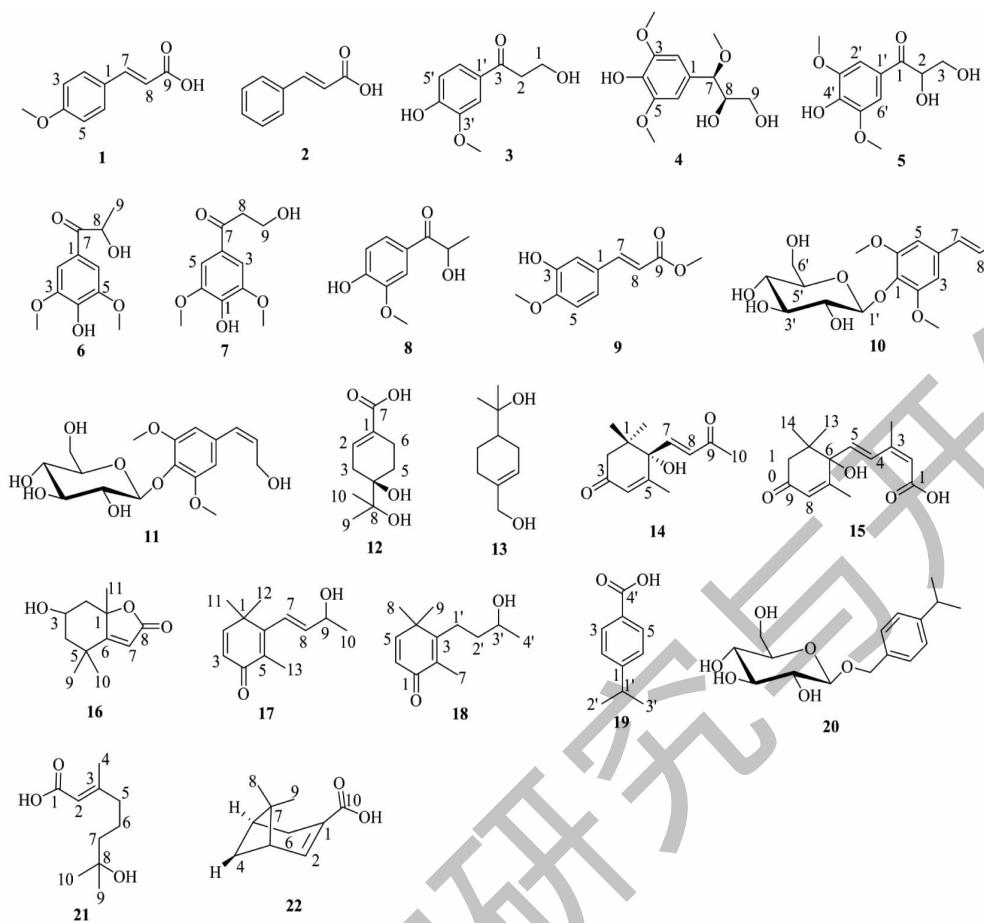


图1 化合物1~22的结构
Fig. 1 Structures of compounds 1-22

表1 化合物对C48/80诱导RBL-2H3细胞中 β -Hex释放的影响

Table 1 Effect of compounds on release of β -Hex in RBL-2H3 induced by C48/80

组别 Group	β -Hex 释放率 Release of β -Hex (%)	组别 Group	β -Hex 释放率 Release of β -Hex (%)
正常组 Normal group	0.60 ± 0.08	11	0.74 ± 0.03 *
模型组 Model group	1.00 ± 0.06 ***	12	1.09 ± 0.02
1	0.89 ± 0.12	13	1.24 ± 0.13
2	1.24 ± 0.02	14	0.74 ± 0.12 *
4	0.96 ± 0.18	16	0.99 ± 0.03
5	0.93 ± 0.08	17	0.94 ± 0.08
6	0.94 ± 0.12	18	0.94 ± 0.11
7	1.22 ± 0.12	19	1.06 ± 0.11
8	1.14 ± 0.04	20	1.02 ± 0.09
9	1.08 ± 0.00	22	0.93 ± 0.11
10	0.87 ± 0.03		

注:与正常组相比, *** $P < 0.001$;与模型组相比, * $P < 0.05$ 。

Note: Compared with normal group, *** $P < 0.001$; Compared with model group, * $P < 0.05$.

3 讨论与结论

麻黄作为我国历史悠久的药用植物,得到了许多专家学者的青睐,对其成分和药理作用也进行了系统研究,然而查阅相关文献我们发现,有关研究多集中于草麻黄和木贼麻黄,关于中麻黄的研究相对来说较少。因此,本研究采用多种色谱学方法对中麻黄50%丙酮提取物进行化学成分研究,从中分离得到了22个化合物,化合物1~11为苯丙素类化合物,化合物12~22个萜类化合物。同时对所得化合物进行了体外抗哮喘活性筛选,结果显示化合物11和14能够显著抑制 β -氨基己糖苷酶的释放,改善肥大细胞脱颗粒现象,表明化合物11和14具有潜在的抗哮喘活性。

从体外活性测试结果来看,活性物质的化合物类型不集中且数量相对较少,因此对其构效关系的总结难度相对较大,后续考虑可进一步导向性分离相关化合物并对其活性进行评价,总结其构效关系,以期进一步丰富中麻黄的药效物质基础,为中麻黄资源的利用和开发奠定了基础。

参考文献

- Zhu DH, Zhang JK, Li M, et al. Lignans from the stems of *Ephedra equisetina* and their anti-asthmatic activities [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2023, 45:1513-1520.
- Zhang BB, Zeng MN, Zhang QQ, et al. Intervention effects of *Ephedra sinica* Stapf, *Ephedra intermedia* Schrenk et C. A. Mey., and *Ephedra equisetina* Bge. non rat model of Fenghanbiaozheng[J]. Chin Med Pharmacol Clin(中药药理与临床), 2022, 38:121-127.
- Fan XL, Cao YG, Zeng MN, et al. A new lignan from the herbaceous stems of *Ephedra intermedia* Schrenk C. A. Meyer. [J]. Rec Nat Prod, 2023, 17:293-299.
- Ma XH, Lu YY, Zhang XF, et al. UPLC fingerprint and chemical components difference among *Ephedra intermedia* from different regions [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2016, 39:2217-2220.
- Hong H, Chen HB, Xu F, et al. Investigation on the original plant resources and market varieties of *Ephedra*[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2011, 36:1129-1132.
- Zhang BM, et al. Phytochemistry and pharmacology of genus *Ephedra*[J]. Chin J Nat Med, 2018, 16:811-828.
- Zhu DH, Zhang JK, Li M, et al. Chemical constituents of dichloromethane extract from the stems of *Ephedra equisetina* [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2023, 46:353-357.
- He C, Cao YG, Zeng MN, et al. Two new monoterpenoids from the stems of *Ephedra sinica*[J]. Phytochem Lett, 2023, 53:88-91.
- He MZ, Gong SF, Huang XF, et al. Chemical constituents of *Gynura procumbens*(II)[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2018, 49:2519-2526.
- Liu NZ, Zhao BQ, Qian QG, et al. Chemical constituents from *Scropularia ningpoensis*[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2019, 41:576-579.
- Qu Y, Liu C, Liu XY, et al. Chemical constituents from the tuber of *Curcuma longa*[J]. J Chin Pharm Univ(中国药科大学学报), 2013, 44:207-209.
- Gao L, Tian H, Lv PJ, et al. Chemical constituents of *Sapium sebiferum* leaves[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2015, 40:1518-1522.
- Gao HX, Ding AW, Tang YP, et al. Chemical constituents from the rhizomas of *Phragmites communis*[J]. Chin J Nat Med(中国天然药物), 2009, 7:196-198.
- Choi YH, Choi CW, Hong SH, et al. Coixlachrysides B: a new benzoxazinoid glycoside from the roots of *Coix lachryma-jobi* var. *ma-yuen*(Gramineae) [J]. J Asian Nat Prod Res, 2019, 21:806-812.
- Qiao JT, Chen LH, Kong LK, et al. Characteristic components and authenticity evaluation of rape, acacia, and linden honey [J]. J Agric Food Chem, 2020, 68:9776-9788.
- Yao JL, Fu HZ, Zhou ZQ, et al. Chemical constituents of ethyl acetate-soluble from *Xianzhuli*[J]. J Chin Med Mater(中药材), 2018, 41:2354-2358.
- Su J, Feng Y, Lin BH, et al. Isolation and identification of chemical constituents from *Acanthopanax senticosus*[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2021, 52:4783-4788.
- Wang XG, Li Q, Jiang SR, et al. Chemical composition and insecticidal property of *Myrsine stolonifera* (Koidz.) Walker (Family: Myrsinaceae) on *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) [J]. Acta Trop, 2017, 170:70-78.
- Xi CC, Xu YL, Feng K, et al. Chemical constituents from the seeds of *Capparis masaikai*[J]. J Chin Pharm Sci, 2021, 30: 924-931.
- Zhou L, et al. Research progress of chemical constituents in *Ephedra*[J]. J Nanjing Univ TCM, 2008, 24:71-72.
- Liu JY, Zhou N, Gong YX, et al. Isolation and identification of chemical constituents from *Clematis mandshurica*[J]. Chin J Med Chem(中国药物化学杂志), 2016, 26:56-60.
- Shen CX, Shao F, Zhang PZ, et al. Chemical constituents from leaves of *Dalbergia odorifera* [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2022, 45:2607-2613.

(下转第484页)