

# 口炎清中酚酸类成分研究

张慧晔<sup>1\*</sup>, 魏孝义<sup>2</sup>, 黄琳<sup>1</sup>

(1. 广州白云山和记黄埔中药有限公司, 广东 广州 510515;  
2. 中国科学院华南植物园, 广东 广州 510615)

[摘要] 目的: 研究口炎清流膏中的酚酸类成分。方法: 采用薄层、硅胶柱和大孔树脂柱等色谱和制备 HPLC 方法进行化合物的分离, 通过 HPLC 分析及 MS、<sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR 等技术进行化合物的结构鉴定。结果: 从口炎清流膏中分离得到 4 个酚酸类成分: 咖啡酸(1)、绿原酸(2)、3,5-二咖啡酰奎宁酸(3) 和 3,4-二咖啡酰奎宁酸(4)。结论: 首次对中药口炎清复方化学成分进行研究, 4 个酚酸类成分均来自于君药山银花。

[关键词] 口炎清; 酚酸类成分

口炎清颗粒是广州白云山和记黄埔中药有限公司独家生产的中药保护品种, 由山银花、天冬、麦冬、玄参、甘草 5 味中药组成, 具有滋阴清热, 解毒消肿的功能。用于阴虚火旺所致的口腔炎症<sup>[1]</sup>。本文报道从口炎清流膏中分离得到 4 个有机酸成分: 咖啡酸(1)、绿原酸(2)、3,5-二咖啡酰奎宁酸(3) 和 3,4-二咖啡酰奎宁酸(4), 为君药山银花的主要成分。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

Agilent 1200 色谱仪, 日本 SHIMADZU 公司 LC-6AD/RID-10A, 色谱柱为 YMC-Pack ODS(250 mm × 4.6 mm, 250 mm × 20 mm)。柱色谱用硅胶(100 ~ 200 目, 青岛海洋化工有限公司); 柱色谱反相硅胶[十八烷基硅醚, Develosil ODS, 50 μm, 日本野村(Nomura)化学株式会社]; 大孔吸附树脂(Diaion HP-20, 日本三菱化学株式会社); 薄层色谱板(烟台江友硅胶开发有限公司); 反相(RP-18) TLC 板[德国默克(Merck)公司]。核磁共振波谱用 Bruker DRX-400 核磁共振仪测定, 以 TMS 为内标。电喷雾质谱(ESIMS)用 MDS SCIEX API 2000 LC/MS/MS 仪, 以甲醇为溶剂, 直接进样测定。

### 1.2 试剂

甲醇、丙酮、三氯甲烷和石油醚(60 ~ 90 °C): 均为分析纯, 广州化学试剂二厂; 乙酸乙酯、正丁醇(天津市大茂化学试剂厂)为分析纯; 乙腈为色谱纯(美国天地公司, 批号 811900), 水为重蒸水;

其他试剂均为分析纯。

口炎清流膏(广州白云山和记黄埔中药有限公司提供)。

## 2 提取和分离

取口炎清流膏 12 g, 加入甲醇 500 mL, 超声处理(功率 360 W, 频率 35 kHz) 30 min, 放冷, 摇匀, 滤过, 滤液减压回收溶剂, 得 8 g 干膏; 经大孔吸附树脂柱(120 g), 6 L 的蒸馏水淋洗, 淋洗液弃去, 再用甲醇 6 L 洗脱, 收集洗脱液, 减压浓缩后得甲醇洗脱物; 甲醇洗脱物(2.4 g)经反相硅胶柱色谱(C<sub>18</sub>, 50 μm, 25 g), 得到 10% 甲醇水溶液洗脱部分 360 mg、20% 甲醇水溶液洗脱部分 65 mg、30% 甲醇水溶液洗脱部分 95 mg、40% 甲醇水溶液洗脱部分 197 mg 和 50% 甲醇水溶液洗脱部分 30 mg。10% 甲醇水溶液洗脱部分经 HPLC 分析[乙腈-0.4% 磷酸水溶液(13:87), 检测波长 327 nm]<sup>[1]</sup>, 与绿原酸对照品对照显示 10% 甲醇水溶液洗脱部分的主要成分为绿原酸, 含量为 31%; 20% 甲醇水溶液洗脱部分, 将其与咖啡酸对照品同时经 3 种薄层系统展开、显色<sup>[2]</sup>, 3 种展开系统下均显示 20% 甲醇水溶液洗脱部分中的主要成分与咖啡酸对照品的 R<sub>f</sub> 值一致, 再经 HPLC 分析[0.1% 甲酸水溶液-乙腈(90:10)], 与咖啡酸对照品对照, 显示 20% 甲醇洗脱部分的主要成分为咖啡酸, 含量为 13%; 40% 甲醇水溶液洗脱部分经 HPLC 制备, 乙腈-0.1% 甲酸水溶液(20:80)洗脱, 得到化合物 3(10 mg) 和化合物 4(10 mg)。

\* [通讯作者] 张慧晔, E-mail: zhanghuiye@813zy.com

### 3 结构鉴定

#### 3.1 化合物3

黄色固体; 分子式为  $C_{25}H_{24}O_{12}$ ; 负离子 ESIMS  $m/z$  515  $[M - H]^-$ , 353  $[M - C_9H_6O_3 - H]^-$ , 191  $[M - 2C_9H_6O_3 - H]^-$ , 179, 135;  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ ):  $\delta$  7.61 (1H, d,  $J = 16.2$  Hz, H-7, caffeoyl), 7.57 (1H, d,  $J = 15.6$  Hz, H-7', caffeoyl), 7.06 (2H, s, H-2, H-2', caffeoyl), 6.96 (2H, dd,  $J = 8.0$  Hz, 1.8 Hz, H-6, H-6', caffeoyl), 6.77 (2H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-5, H-5', caffeoyl), 6.35 (1H, d,  $J = 15.6$  Hz, H-8, caffeoyl), 6.26 (1H, d,  $J = 15.6$  Hz, H-8', caffeoyl), 5.43 (1H, m, H-3, quinic), 5.40 (1H, m, H-5, quinic), 3.97 (1H, dd,  $J = 7.8$  Hz, 3.0 Hz, H-4, quinic), 2.31 ~ 2.16 (4H, H-2  $\times$  2, H-6  $\times$  2, quinic);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ ):  $\delta$  177.6, 168.9, 168.4, 149.69, 149.5, 147.3, 147.1, 146.8  $\times$  2, 128.0, 127.8, 123.1, 123.0, 116.5  $\times$  2, 115.6, 115.3, 115.1  $\times$  2, 74.8, 37.7, 72.1, 70.7, 72.6, 36.1。数据与文献报道的3, 5-二咖啡酰奎宁酸(3, 5-dicaffeoylquinic acid)一致<sup>[3-4]</sup>。

#### 3.2 化合物4

黄色固体; 分子式为  $C_{25}H_{24}O_{12}$ ; 负离子 ESIMS  $m/z$  515  $[M - H]^-$ , 353  $[M - C_9H_6O_3 - H]^-$ , 191  $[M - 2C_9H_6O_3 - H]^-$ , 179, 135;  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta$  7.47 (1H, d,  $J = 16.0$  Hz, H-7, caffeoyl), 7.41 (1H, d,  $J = 16.0$  Hz, H-7', caffeoyl), 7.01 (2H, s, H-2, H-2', caffeoyl), 6.96 (2H, d,  $J = 7.6$  Hz, H-6, H-6', caffeoyl), 6.78 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-5, caffeoyl), 6.73 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-5', caffeoyl), 6.24 (1H, d,  $J = 16.0$  Hz, H-8, caffeoyl), 6.13 (1H, d,  $J = 16.0$  Hz, H-8', caffeoyl), 5.34 (1H, m, H-3, quinic), 4.94 (1H, d,  $J = 5.6$  Hz, H-4, quinic), 4.16 (1H, m, H-5, quinic), 2.14 (2H,  $J = 12.8$  Hz, H-2  $\times$  2, quinic), 2.01 (1H, m, H-6, quinic), 1.87 (1H, m, H-6, quinic);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ ):  $\delta$  177.7, 168.6, 168.3, 149.6  $\times$  2, 147.7, 147.5, 146.7  $\times$  2, 127.7, 127.6, 123.1  $\times$  2, 116.5  $\times$  2, 115.2  $\times$  2, 114.8, 114.7, 76.1, 75.8, 69.7, 69.1, 39.7, 38.5。数据与文献报道的3, 4-二咖啡酰奎宁酸(3, 4-dicaffeoylquinic acid)一致<sup>[3-4]</sup>。

### 4 结果和讨论

在对中药现代化的研究中, 张礼和<sup>[5]</sup>认为直接对中药复方进行拆方研究, 通过对各药材的化学基础研究来筛选活性化合物, 有学者<sup>[6-7]</sup>认为药物同煎后, 其成分不是简单的加和, 而是发生了一定的化学变化, 所以表现出药效的变化, 黄成刚<sup>[8]</sup>则认为复方的多种功效主要是多成分、多系统、多靶点相互作用的结果。本实验通过对口炎清复方的分离, 得到4个酚酸类成分: 绿原酸、咖啡酸、3, 4-二咖啡酰奎宁酸和3, 5-二咖啡酰奎宁酸; 根据已有文献报道, 这4种酚酸类成分的山银花抗菌消炎的主要活性成分<sup>[9-12]</sup>, 从而证明口炎清的抗菌消炎作用与君药山银花直接相关, 并为口炎清复方的质量标准研究工作提供了依据。

#### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 一部. 北京: 中国医药科技出版社 2010: 465-466.
- [2] 何忠梅, 宗颖, 孙佳明, 等. 千里光中几种黄酮和酚酸类成分的分离与鉴定[J]. 应用化学, 2010, 27(12): 1486-1488.
- [3] Dini, I, Tenore, G, Dini, A. New Polyphenol Derivative in *Ipomoea batatas* Tubers and Its Antioxidant Activity[J]. J Agric Food Chem 2006, 54: 8733-8737.
- [4] Tomoki TATEFUJI, Noboru IZUMI, Tsunetaka OHTA, et al. Isolation and Identification of Compounds from Brazilian Propolis which Enhance Macrophage Spreading and Mobility[J]. Biol Pharm Bull, 1996, 19(7): 966-970.
- [5] 张礼和. 我对中药复方有效成分研究的一些看法[J]. 化学进展, 1999, 11(2): 186-188.
- [6] 陈新, 崔健, 张英华. 从中药化学成分的变化来探讨中药配伍理论[J]. 中国中医药信息杂志, 1998, 5(3): 14-15.
- [7] 孔令义, 杨智, 闵知大. 对中药现代化中有效成分研究的思考[J]. 中草药, 1998, 29(5): 354-355.
- [8] 黄成钢. 中药研究的必然趋势——中药复方系统研究[J]. 中国药学杂志, 2000, 35(7): 433-434.
- [9] 银胜高, 辛宁. 山银花的研究概况[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(12): 2920-2922.
- [10] 粟时颖, 郑兴, 廖端芳. 山银花研究进展[J]. 南华大学学报(医学版) 2009, 37(6): 744-746, 757.
- [11] 李组晟, 朱志安. 二咖啡酰奎宁酸药理实验研究进展[J]. 医学综述, 2004, 10(4): 249-251.
- [12] 谢碧秀, 孙志达. 金银花中主要有机酸的研究进展[J]. 现代食品科技, 23(9): 93-97.

(下转第32页)

- [8] 汪琼. 草药杠板归抗 HBV 及保肝活性的初步研究 [D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院 2009.
- [9] 李红芳, 马青云, 刘玉清, 等. 杠板归的化学成分 [J]. 应用与环境生物学报 2009, 15(5): 615-620.
- [10] 徐进. 杠板归的化学成分及其生物活性研究 [D]. 杭州: 浙江工商大学 2010.
- [11] 赵超, 周欣, 秦翱, 等. 杠板归的化学成分研究 [J]. 中成药 2009, 31(10): 1610-1611.
- [12] 赵超, 陈华国, 龚小见, 等. 杠板归的化学成分研究(II) [J]. 中草药 2010, 41(3): 365-367.
- [13] 温云贵. 生杠板归治疗带状疱疹疗效观察 [J]. 中国民族民间医药杂志 2004, (1): 29.
- [14] 龚平, 崔志刚. 杠板归的超临界萃取和红外光谱研究 [J]. 北京联合大学学报(自然科学版), 2007, 21(4): 32-37.
- [15] 周日宝, 罗跃龙. 杠板归的形态组织和紫外吸收光谱鉴别 [J]. 中药材 2001, 24(4): 251-254.
- [16] 谢海, 熊丽, 等. 杠板归的性状及组织显微鉴定 [J]. 中药材 2002, 25(7): 470-472.
- [17] Sun X Z, Sneden A T. Neoflavonoids from *Polygonum perfoliatum* [J]. Planta Medica, 1999, 65(7): 671-673.
- [18] Liu J M, Wang D Y, Zheng S Z. A new limonoid of *Polygonum perfoliatum* [J]. Indian Journal of Heterocyclic Chemistry, 1999, 9(1): 69-70.
- [19] Li Y L, Li J, Wang N L. Flavonoids and a New Polyacetylene from *Bidens parviflora* Willd [J]. Molecules, 2008, 13: 1931-1941.
- [20] Zheng Z P, Cheng K W, Zhu Q. Tyrosinase Inhibitory Constituents from the Roots of *Morus nigra*: A Structure-Activity Relationship Study [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry article J. Agric. Food Chem. 2010, 58, 5368-5373.

### Research Progress on the Chemical Components and Pharmacological Effects of the *Polygonum perfoliatum*

CHENG Huan-bo<sup>1</sup>, LIU Xin-qiao<sup>2</sup>, CHEN Ke-li<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Ministry of Education on Traditional Chinese Medicine Resource and Compound Prescription & Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China;  
2. South-Central University For Nationalities, Wuhan 430074, China)

**[Abstract]** *Polygonum perfoliatum* L. is a kind of traditional Chinese medicine with widely application in recent years. The chemical composition is very complex, it also contains wide pharmacological effects, such as anti-inflammatory, anti-virus, anti-tumor and so on. This article presents an overview about domestic and overseas researches on main chemical constituents and pharmacological effects of *Polygonum perfoliatum* L. to provide a scientific basis for its development, utilization and further research.

**[Key words]** *Polygonum perfoliatum*; Chemical constituents; Pharmacological effects; Flavones

(收稿日期 2012-02-13)

(上接第 21 页)

### Study on Four Phenolic Acids in Kouyanqing Liquid Extraction

Zhang Hui-ye<sup>1</sup>, Wei Xiao-yi<sup>2</sup>, Huang Lin<sup>1</sup>

(1. Hutchison Whampoa Guangzhou Baiyunshan, Chinese Medicine Company Limited, Guangzhou, 510515, China;  
2. South China Botanical Garden, the Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China)

**[Abstract]** **Objective:** To isolate and identify the phenolic acids in Kouyanqing liquid extraction. **Methods:** Compounds isolation used thin-layer, silica gel column, macroporous resin column Chromatography and preparative HPLC. Compounds identify used MS, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, analytical HPLC. **Results:** From the extractive of Kouyanqing, four phenolic acids compounds were isolated and identified as caffeic acid (1), chlorogenic acid (2), 3, 5-dicaffeoylquinic acid (3), 3, 4-dicaffeoylquinic acid (4). **Conclusion:** It is the first time study of the components in Kouyanqing liquid extraction. The four phenolic acids come from *Lonicera confusa*, which is the monarch drug in Kouyanqing Granules.

**[Key words]** Kouyanqing; Phenolic acids

(收稿日期 2011-11-22)