

麻黄中生物碱类成分富集新方法及化学成分分析

史丽颖^{1,2}, 陈瑶¹, 卢轩^{1,2}, 冯宝民^{1,2}, 于大永^{1,2*}

(1. 大连大学 生命科学与技术学院, 辽宁 大连 116622; 2. 大连大学 药物研究所, 辽宁 大连 116622)

[摘要] 目的: 研究麻黄中生物碱类成分富集新方法并对其生物碱类成分进行分析, 以期从中发现新的平喘活性成分。方法: 为减少非生物碱类成分对定性分析的干扰, 提高生物碱类成分分离制备的效率, 该研究采用新型固相萃取填料对麻黄提取物中生物碱类成分进行富集, 利用高效液相色谱法对富集到的生物碱类成分进行分离制备, 采用 HPLC-TOF-MS 技术对制备的各组分进行分析, 应用无标记整合药理学方法筛选各组分对 β_2 受体的激动活性。结果: 新型 AC₁₈ 固相萃取填料对麻黄中生物碱类成分的富集具有较高的选择性, 采用基于反相/强阴离子交换混合模式的色谱固定相 XCharge C₁₈ 对富集得到的生物碱类成分进行分离, 共制备了 14 个组分, 经 HPLC-MS 分析, 共检测出 26 个生物碱类成分。在筛选的 14 个组分中有 11 个组分显示了对 β_2 肾上腺素受体的激动活性。结合这 11 个组分 HPLC-MS 分析结果, 检识出其中 12 个生物碱类成分具有 β_2 肾上腺素受体激动活性, 其中包括 5 组生物碱及其异构体: 麻黄碱/伪麻黄碱, 甲基麻黄碱/甲基伪麻黄碱, 去甲基麻黄碱/去甲基伪麻黄碱 (±)-1-苯基-2-亚胺基-1-丙醇 (±)-酰胺甜菜碱。结论: 麻黄中活性生物碱同分异构体的分离和鉴定对新的平喘活性成分的发现具有指导意义。

[关键词] 麻黄; 生物碱; 固相萃取; 质谱; β_2 受体

[中图分类号] R284.1; R289; R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)21-0056-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181615

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180523.1433.007.html>

[网络出版时间] 2018-05-25 9:26

New Enrichment Method and Characterization of Alkaloids in *Ephedra sinica*

SHI Li-ying^{1,2}, CHEN Yao¹, LU Xuan^{1,2}, FENG Bao-min^{1,2}, YU Da-yong^{1,2*}

(1. School of Life Sciences and Biotechnology, Dalian University, Dalian 116622, China;
2. Institute of Materia Medica, Dalian University, Dalian 116622, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate a new method for the enrichment of alkaloids, analyze the compositions of alkaloids, and look for new anti-asthmatic constituents in *Ephedra sinica*. **Method:** In order to reduce the interference by non-alkaloid components on qualitative analysis and to improve the efficiency of separation and preparation of alkaloids, alkaloids in *E. sinica* were enriched by using new solid phase extraction (SPE) packing in this study; and the fractions of the enriched alkaloids were prepared by applying high performance liquid chromatography (HPLC); HPLC-TOF-MS was used to identify the main components in each fraction; active constituents as β_2 -adrenergic receptor agonists were characterized by using label-free dynamic mass redistribution assays. **Result:** The results indicated that AC₁₈ SPE packing had high selectivity for the enrichment of alkaloids in *E. sinica*. A mixed-mode chromatography method was developed to separate alkaloids based on a mixed-mode reversed phase/strong anion-exchange XCharge C₁₈ column, and 14 fractions were prepared in total. In high performance liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS), 26 alkaloids were identified. Among the 14 fractions screened, 11 fractions showed agonistic activity on β_2 -adrenergic receptor (β_2 -AR). Combined

[收稿日期] 20180308(010)

[基金项目] 辽宁省自然科学基金指导计划项目(2016010027-301)

[第一作者] 史丽颖, 博士, 副教授, 从事天然活性物质的研究, Tel: 0411-87402107, E-mail: shiliying@dlu.edu.cn

[通信作者] * 于大永, 博士, 副教授, 从事天然活性物质的研究, Tel: 0411-87402107, E-mail: yudayong@dlu.edu.cn

with HPLC-MS results for these 11 fractions, 12 alkaloids displayed agonistic activity on β_2 -AR, including 5 groups of alkaloid and their isomers: ephedrine/pseudoephedrine, methyl ephedrine/methyl pseudoephedrine, norephedrine/norpseudoephedrine (\pm)-1-phenyl-2-imido-1-propanol and (\pm)-tyramine betaine. **Conclusion:** The separation and characterization of alkaloid isomers in *E. sinica* provided guidance for discovering novel anti-asthmatic constituents.

[Key words] *Ephedra sinica*; alkaloids; solid phase extraction (SPE); MS; β_2 -adrenergic receptor

麻黄为麻黄科植物草麻黄、中麻黄或木贼麻黄的干燥草质茎^[1]。其化学成分主要含生物碱、黄酮、鞣质、有机酸、挥发性成分等^[2-9]。其中生物碱类成分主要为麻黄碱、伪麻黄碱、*N*-甲基麻黄碱、*D*-*N*-甲基伪麻黄碱、去甲基麻黄碱、*D*-去甲基伪麻黄碱及麻黄次碱等^[4-5]。对于麻黄平喘的作用机制,目前普遍认可的观点是其所含的麻黄碱和伪麻黄碱兴奋支气管平滑肌上的 β_2 受体,使细胞内环磷酸腺苷(cAMP)升高,胞浆游离钙浓度下降,平滑肌舒张所致^[10]。赵云生等^[11]研究了37个不同产地麻黄平喘作用及其生物效价的差异,结果表明37个产地的麻黄药材与对照药材相比平喘效价值存在显著差异,麻黄平喘生物效价与麻黄碱及伪麻黄碱总量之间相关不显著,其中甘肃安宁草麻黄生物效价值最高,为489.040 U·g⁻¹,而其麻黄碱与伪麻黄碱总质量分数为0.833%,新疆和硕草麻黄生物效价为53.328 U·g⁻¹,而其麻黄碱与伪麻黄碱总质量分数为3.064%。上述研究结果提示,麻黄中除麻黄碱、伪麻黄碱外,可能还含有活性更强的与平喘作用相关的成分。本文拟通过对麻黄提取物进行生物碱类成分的富集、组分的分离制备、化学成分的质谱表征、组分活性筛选,进一步探讨麻黄中除麻黄碱、伪麻黄碱以外的其他生物碱对 β_2 受体的激动活性,为麻黄中具有平喘活性的生物碱的发现提供理论依据。

1 材料

麻黄药材2016年8月采自内蒙古,标本经沈阳药科大学中药学院路金才教授鉴定为麻黄科植物草麻黄 *Ephedra sinica* 的干燥草质茎,标本现存于大连大学药物研究所(标本号20160830)。

甲醇、乙腈(色谱纯)购自德国 Merck 公司,甲酸(色谱纯,纯度>95%)购自美国 Sigma 公司。甲酸铵、乙醇胺购自北京百灵威化学技术有限公司,磷酸、硫酸钠、三氟乙酸、磷酸氢二钠购自天津市科密欧化学试剂有限公司,均为分析纯。AC₁₈ SPE 填料(30 g, μ p 60 μ m, 60 mL), XCharge C₁₈ 制备型色谱柱(50 mm \times 250 mm, 7 μ m), XAqua C₁₈ 色谱柱

(4.6 mm \times 150 mm, 5 μ m) 购自北京华谱公司。盐酸麻黄碱(纯度99.8%,批号171241-201508) 购自中国食品药品检定研究院;(-)-肾上腺素购自美国 Sigma 公司(批号E4250);Hank's 平衡盐溶液(HBSS,批号1906395),DMEM 培养液(批号8117205),均购自 Gibco 公司;Epic[®] 384 孔生物感应器微型板(批号28215018),购自美国 Corning 公司;人表皮癌 A431 细胞(批号18975),购自中国科学院上海细胞生物研究所细胞库。

BX53 型显微镜(日本 Olympus 公司),5415R 型高速离心机(德国 Eppendorf 公司),SPX-40 型 CO₂ 恒温培养箱和 686 型 pH 计(美国 Thermo 公司),LC-MS 系统由安捷伦 1290 型高效液相色谱仪与安捷伦 6540 型 Q-TOF-MS 联用(美国安捷伦科技公司),2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),Milli-Q 去离子水发生器(美国 Millipore 公司)。

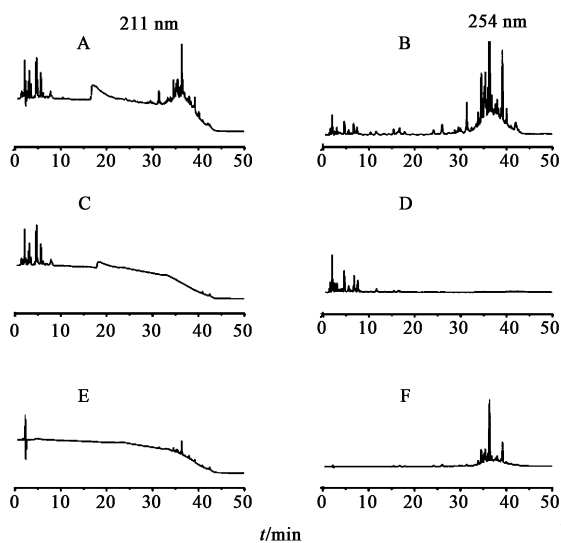
2 方法与结果

2.1 麻黄生物碱类成分富集和组分制备

2.1.1 药材的提取 将草麻黄干燥草质茎 50 g,用 8 倍量的 85% 乙醇水浴加热回流提取,水浴温度 80 $^{\circ}$ C,提取 3 次,每次 2 h,合并提取液并浓缩至 30 mL,经测定浸膏中含提取物的质量浓度为 217.5 g·L⁻¹,置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中保存。

2.1.2 生物碱类成分的富集 麻黄提取物中成分复杂,有必要通过预处理方法降低样品的复杂性。在预处理之前,麻黄提取物经 XCharge C₁₈ 色谱柱,在紫外波长 211 nm 和 254 nm 下进行检测,这 2 个波长分别为生物碱的代表性成分麻黄碱和非生物碱的代表性成分槲皮素的紫外最大吸收波长。为了从麻黄提取物中选择性富集生物碱类成分,笔者发展了固相萃取(SPE)前处理方法:将提取液用甲醇-水-甲酸(25:75:0.1)溶液稀 1 倍(质量浓度为 109 g·L⁻¹),4 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,取上清液。AC₁₈ SPE 柱预先用甲醇 150 mL 活化,用 0.1% 甲酸-水 180 mL 平衡,取上清液 18.5 mL 上样。上样结束时,抽干 SPE 柱,弃去上样流出液,用 0.1% 甲酸-水 40 mL 淋洗并抽干,重复 3 次,合并淋洗液,记为 S1。

用甲醇 150 mL 洗脱,收集洗脱液,记为 S2。将 S1, S2 浓缩后,经 XCharge C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm 5 μm) 进行 HPLC 分析,流动相为甲醇(A)→水(含 0.1% 甲酸,B) 梯度洗脱(0 ~ 20 min, 0% ~ 10% A; 20 ~ 30 min, 10% ~ 30% A; 30 ~ 40 min, 30% ~ 90% A; 40 ~ 50 min, 90% A), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 25 °C。与在波长 254 nm 处相比 S1 部分在波长 211 nm 处有更强的吸收,而 S2 部分在 254 nm 处比在 211 nm 处有更强的吸收,说明 AC₁₈ 固相萃取填料成功将麻黄提取物富集为生物碱 S1 与非生物碱 S2 两部分(图 1)。



A, B. 麻黄总提取物; C, D. 麻黄生物碱部分 S1; E, F. 麻黄非生物碱部分 S2

图 1 麻黄总提取物 HPLC 色谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of total extract of *Ephedra sinica*

2.1.3 组分的制备 取麻黄生物碱部分(S1) 样品质量浓度为 54.7 g·L⁻¹, 经微孔滤膜过滤。用 XCharge C₁₈ 制备型色谱柱(50 mm × 250 mm 7 μm) 分离。流动相 A 为甲醇, B 相为 200 mmol·L⁻¹ 硫酸钠水溶液(含有 0.35% 的磷酸和 0.01% 乙醇胺, pH 2.3), C 相为水 梯度洗脱(0 ~ 20 min, 0% ~ 10% A, 10% B; 20 ~ 30 min, 10% ~ 30% A, 10% B; 30 ~ 40 min, 30% ~ 90% A, 10% B; 40 ~ 50 min, 90% A, 10% B); 流速 70 mL·min⁻¹; 进样量 6 mL; 检测波长 211 nm; 按色谱峰收集流分, 共得到 14 个组分 F1 ~ F14(图 2)。

2.2 质谱表征 为解析组分的化学组成, 采用 HPLC-TOF-MS 技术对组分 F1 ~ F14 的化学成分进行了分析。

2.2.1 色谱与质谱条件 选用 XAqua C₁₈ 色谱柱; 流动相 A 甲醇(含 0.1% 甲酸), 流动相 B 水(含

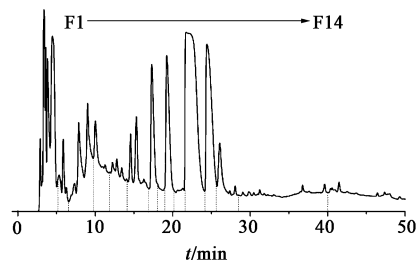


图 2 麻黄生物碱部分制备 HPLC 色谱

Fig. 2 HPLC preparative chromatogram of alkaloids in *Ephedra sinica*

0.1% 甲酸); 梯度洗脱(0 ~ 10 min, 0% A, 10 ~ 30 min, 0% ~ 10% A, 30 ~ 50 min, 10% ~ 50% A, 50 ~ 60 min, 90% A); 流速 0.2 mL·min⁻¹, 柱温 25 °C, 进样量 5 μL。

采用电喷雾离子源(ESI) 正离子模式, 电离电压为 4.5 kV, 雾化气 0.17 MPa, 气体温度 350 °C, 干燥器流速 8.0 L·min⁻¹ 检测模式飞行时间全扫描质谱(TOF-MS) 模式, 碰撞电压 3 500 V, 碰撞能量 25 eV, TOF-MS 扫描范围为 *m/z* 100 ~ 1 500。

2.2.2 数据处理 采用 Qualitative Analysis B. 04.00 分析软件对质谱测定结果进行处理。

2.2.3 成分分析 为了分析生物碱部分的化学成分, 对生物碱部分进行了组分的制备, 共得到 14 个组分。采用 XAqua C₁₈ 柱色谱串联质谱对这 14 个组分进行了分析。根据从麻黄中已发现的生物碱类化合物的相对分子质量^[12-48], 与实验中的质谱数进行比对, 如果两个化合物有相同的 *m/z*, 而保留时间不同, 二者则被视为异构体; 或者两个化合物有相同的 *m/z* 相同的保留时间, 而分别存在于不连续的两个组分中, 二者也被视为异构体; 但是两个化合物有相同的 *m/z* 相同的保留时间, 且分别存在于连续的两个组分中, 二者则被视为同一个化合物。

按照此种方法从麻黄的生物碱部分, 检测出 26 个生物碱, 通过提取每个生物碱的 *m/z* δ 在 -20 ~ 20 ppm, 最终发现了 5 组生物碱及其异构体(表 1)。除 *m/z* 192.1049 所代表的化合物为麻黄噁唑酮, *m/z* 122.0967 所代表的甲基苄胺和 *m/z* 178.1227 所代表的 3,4-二甲基苯噁唑烷, 其他化合物被分成 5 组异构体, 麻黄碱和伪麻黄碱, 甲基麻黄碱和甲基伪麻黄碱, 去甲基麻黄碱和去甲基伪麻黄碱, (±)-1-苯基-2-亚胺基-1-丙醇, (±)-酪胺甜菜碱和其异构体。以麻黄碱和伪麻黄碱为例, 麻黄碱的精确相对分子质量是 165.1154, [M + H]⁺ 为 166.1226, 分子式 C₁₀H₁₅NO。伪麻黄碱和麻黄碱是同分异构

体,故质谱信息与麻黄碱一致。利用 Qualitative Analysis B. 04. 00 软件分析所有组分中 $[M + H]^+$ 为 166. 12 的分子,分别在 F3, F4, F6, F8, F10, F11 这 6 个组分中检测到 $[M + H]^+$ 为 166. 12 的分子,经检测在相同条件下麻黄碱对照品的保留时间为 26 min,组分 F3, F6, F8, F10, F11 中 $[M + H]^+$ 为

166. 12 的分子的保留时间与麻黄碱对照品的保留时间接近,因此推测组分 F3, F6, F8, F10, F11 中 $[M + H]^+$ 为 166. 12 的分子为麻黄碱,而组分 F4 中 $[M + H]^+$ 为 166. 12 的分子的保留时间为 17 min,与麻黄碱对照品的保留时间相差很大,因此推测组分 F4 中 $[M + H]^+$ 为 166. 12 的分子为伪麻黄碱(表 1)。

表 1 麻黄中生物碱组分的液相色谱-质谱分析

Table 1 Alkaloids identified using LC-MS in *Ephedra sinica*

No.	组分	t_R /min	$[M + H]^+$	分子式	δ /ppm	可能的生物碱或其异构体
1	F3	27. 884	166. 122 4	$C_{10}H_{15}NO$	1. 57	麻黄碱/伪麻黄碱
2	F4	17. 388	166. 122 4	$C_{10}H_{15}NO$	1. 34	麻黄碱/伪麻黄碱
3	F6	27. 648	166. 122 8	$C_{10}H_{15}NO$	-0. 95	麻黄碱/伪麻黄碱
4	F8	24. 615	166. 122 5	$C_{10}H_{15}NO$	1. 12	麻黄碱/伪麻黄碱
5	F10	26. 055	166. 124 7	$C_{10}H_{15}NO$	-12. 32	麻黄碱/伪麻黄碱
6	F10	27. 803	166. 122 8	$C_{10}H_{15}NO$	-1. 02	麻黄碱/伪麻黄碱
7	F11	29. 713	166. 125 1	$C_{10}H_{15}NO$	-14. 63	麻黄碱/伪麻黄碱
8	F8	28. 113	180. 138 3	$C_{11}H_{17}NO$	-0. 06	甲基麻黄碱/甲基伪麻黄碱
9	F11	31. 144	180. 139 0	$C_{11}H_{17}NO$	-4. 23	甲基麻黄碱/甲基伪麻黄碱
10	F13	32. 571	180. 138 2	$C_{11}H_{17}NO$	0. 25	甲基麻黄碱/甲基伪麻黄碱
11	F3	12. 860	152. 107 0	$C_9H_{13}NO$	-0. 14	去甲基麻黄碱/去甲基伪麻黄碱
12	F5	20. 169	152. 107 4	$C_9H_{13}NO$	-2. 94	去甲基麻黄碱/去甲基伪麻黄碱
13	F6	17. 473	152. 106 9	$C_9H_{13}NO$	0. 31	去甲基麻黄碱/去甲基伪麻黄碱
14	F7	23. 040	152. 108 1	$C_9H_{13}NO$	-7. 04	去甲基麻黄碱/去甲基伪麻黄碱
15	F8	18. 653	152. 106 8	$C_9H_{13}NO$	1. 07	去甲基麻黄碱/去甲基伪麻黄碱
16	F8	20. 958	152. 109 2	$C_9H_{13}NO$	-14. 58	去甲基麻黄碱/去甲基伪麻黄碱
17	F12	19. 142	152. 106 7	$C_9H_{13}NO$	1. 81	去甲基麻黄碱/去甲基伪麻黄碱
18	F12	22. 560	152. 107 3	$C_9H_{13}NO$	-1. 76	去甲基麻黄碱/去甲基伪麻黄碱
19	F2	8. 962	150. 091 1	$C_9H_{11}NO$	1. 49	(±)-1-苯基-2-亚胺基-1-丙醇
20	F6	25. 263	150. 091 5	$C_9H_{11}NO$	-0. 85	(±)-1-苯基-2-亚胺基-1-丙醇
21	F8	22. 786	150. 090 9	$C_9H_{11}NO$	3. 10	(±)-1-苯基-2-亚胺基-1-丙醇
22	F7	20. 099	122. 096 7	$C_8H_{11}N$	-2. 38	甲基苄胺
23	F13	37. 102	208. 133 4	$C_{12}H_{17}NO_2$	-1. 01	(±)-酪胺甜菜碱
24	F13	41. 077	208. 133 3	$C_{12}H_{17}NO_2$	-0. 64	(±)-酪胺甜菜碱
25	F12	34. 962	178. 122 7	$C_{11}H_{15}NO$	-0. 36	3,4-二甲基苯噁唑烷
26	F6	40. 288	192. 104 9	$C_{11}H_{13}NO_2$	-15. 74	麻黄噁唑酮

2. 3 麻黄生物碱类组分抗哮喘活性筛选 肾上腺素受体(AR)是抗哮喘药物的重要靶标^[19] β_2 -肾上腺素受体(β_2 -AR)作为肾上腺素家族的重要成员,在哮喘发病机制中发挥重要的作用 β_2 受体激动剂的发现对于抗哮喘药物的研发具有重要意义^[20]。采用 Epic 系统进行组分活性筛选,Epic 系统由共振波导光栅读板仪和标准微量滴定板组成。读板仪利

用集成光纤测量入射光的波长移位,该移位是由药物分子刺激细胞引发配体结合、受体激活、蛋白募集、受体内化和再循环、第二信使变化、细胞骨架重塑、基因表达、细胞黏附等引起的,该移位反映的是活细胞内部动态的物质再分布(DMR),从而反映药物作用靶点和通路^[21-23]。由于这种方法不会对细胞造成伤害并且灵敏度极高,因此可以作为药物发

现及候选药物评价领域的一个强有力的工具,可用于药物作用机制的研究^[24-25]。

本研究采用 A431 细胞培养,以其高表达的 β_2 受体为靶标,通过无标记细胞靶点药理学技术筛选了麻黄生物碱类组分的 β_2 -AR 受体激动活性。

2.3.1 试验设计 β_2 -AR 受体激动活性筛选参照 FANG 等^[23]的方法。A431 细胞以 2.5×10^4 个/孔的密度接种到 Epic[®] 384 孔生物感应器微型板中,置于 37 °C 5% CO₂ 的细胞培养箱中培养 20 h。检测前用 HBSS 缓冲液洗 2 次,然后每孔加 HBSS 缓冲液 30 μ L,置于 Epic[®] 系统上平衡孵育 1 h,平衡后在 Epic[®] 系统上建立一个 2 min 的基线。对于激动分析,加入待测组分(工作质量浓度 50 mg·L⁻¹) 10 μ L 或对照溶液,继续监测 1 h。通过监测各组分引起的 DMR 响应信号来评价各组分对 β_2 -AR 受体的激动活性。对于脱敏分析,加入待测组分 10 μ L 预处理 A431 细胞 1 h,加入工作浓度为 4 nmol·L⁻¹ 的肾上腺素(EPI) 10 μ L 继续监测 1 h。通过监测各组分预处理后肾上腺素引起的 DMR 信号响应来评价各组分对肾上腺素的脱敏作用。

2.3.2 数据处理 DMR 数据由 Epic Imager 软件(美国康宁公司)记录,并经 Imager Beta 3.7 软件(美国康宁公司)处理得到。采用 Microsoft Excel 2010 和 GraphPad Prism 软件进行统计分析。所有的 DMR 信号均经空白校正得到。

2.3.3 组分分析 在筛选的 14 个麻黄生物碱组分中有 11 个组分显示了对 β_2 肾上腺素受体的激动活性。如组分 F11 在 A431 细胞上引起了和肾上腺素相似的 DMR 信号,而预先用 F11 处理 A431 细胞,再加入肾上腺素作用,肾上腺素所能引起的 DMR 信号几乎全部被抑制,提示其占据了肾上腺素所要结合的 β_2 受体的位点,说明组分 F11 中存在 β_2 肾上腺素受体激动剂。笔者采用聚类分析的热度图描述了 14 个组分对 β_2 肾上腺素受体的激动活性。结果显示 F1 ~ F2, F4 ~ F11 以及 F13 引起了明显的 DMR 正信号,并降低了肾上腺素的 DMR 信号,说明这 11 个组分都含有对 β_2 肾上腺素受体有激动作用的活性成分。结合这 11 个组分 HPLC-MS 分析结果,检识出其中 12 个生物碱类成分具有 β_2 肾上腺素受体激动活性,其中包括 5 组生物碱及其异构体(图 3)。

3 结论

本研究成功发展了麻黄中生物碱类成分富集的新方法,采用新型 AC₁₈ 固相萃取填料对麻黄中的生

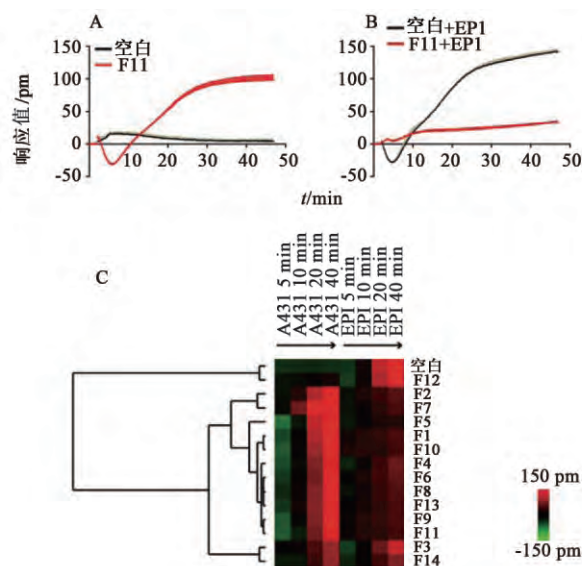


图 3 组分 11 引起的 DMR 信号及组分 1 ~ 14 引起的 DMR 信号的热度

Fig. 3 DMR response of F11 and DMR heat map of F1-14

物碱类成分实现了选择性富集。采用基于反相强阴离子交换混合模式的色谱固定相 XCharge C₁₈ 对富集得到的生物碱类成分进行分离,共制备了 14 个组分,经 HPLC-TOF-MS 分析,共检测出 26 个生物碱类成分。 β_2 肾上腺素受体激动活性筛选结果显示,有 12 个生物碱类成分对 β_2 肾上腺素受体有较强的激动活性,其中包括 5 组生物碱及其同分异构体,麻黄碱/伪麻黄碱,甲基麻黄碱/甲基伪麻黄碱,去甲基麻黄碱/去甲基伪麻黄碱, (±)-1-苯基-2-亚胺基-1-丙醇, (±)-酪胺甜菜碱。

4 讨论

本研究采用质谱解析与活性评价相结合的方法,不仅鉴定出麻黄中已知的生物碱类成分,还鉴定出尚未见从麻黄中分离的生物碱或已知生物碱的异构体,且活性评价结果显示其可能为麻黄平喘的活性成分。这提示麻黄作为平喘的传统中药,仅就对 β_2 肾上腺素受体的激动活性而言,其平喘作用是多成分作用的结果。本研究为麻黄生物碱异构体的分离和表征提供了指导作用,为新的平喘活性成分的发

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 300.
- [2] 丁丽丽, 施松善, 崔健, 等. 麻黄化学成分与药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(20): 1661-1664.

- [3] 马勇,徐敬海,徐海燕,等.麻黄研究进展[J].吉林中医药 2008,28(10):777-779.
- [4] Krizevski R,Bar E,Shalit O,et al. Composition and stereochemistry of ephedrine alkaloids accumulation in *Ephedra sinica* Stapf [J]. Phytochemistry 2010,71(8/9):895-903.
- [5] HONG H,CHEN H B,YANG D H,et al. Comparison of contents of five ephedrine alkaloids in three official origins of Ephedra Herb in China by high-performance liquid chromatography [J]. J Nat Med 2011,65(3/4):623-628.
- [6] Sahar A M H,Heba H B,Mahmoud A M N,et al. Flavonoids from *Ephedra aphylla* [J]. Phytochemistry, 1997,45(7):1529-1532.
- [7] 张丹.草麻黄表观型化学组成特征研究柳叶白前化学成分的研究[D].北京:北京协和医学院 2014.
- [8] Nishioka I. Chemistry and biological activities of tannins [J]. Yakugaku Zasshi,1983,103(2):125-142.
- [9] Amakura Y, Yoshimura M, Yamakami S, et al. Characterization of phenolic constituents from Ephedra Herb extract [J]. Molecules 2013,18(5):5326-5334.
- [10] Vansal S S, Feller D R. Direct effects of ephedrine isomers on human beta-adrenergic receptor subtypes [J]. Biochem Pharmacol,1999,58(5):807-810.
- [11] 赵云生,谢丽霞,毛福英,等.基于平喘生物效价的麻黄品质评价研究[J].中草药,2015,46(24):3695-3703.
- [12] 赵巍.草麻黄化学成分研究[D].北京:中国医学科学院 & 北京协和医学院药物研究所 2009.
- [13] ZHAO W, DENG A J, DU G H, et al. Chemical constituents of the stems of *Ephedra sinica* [J]. J Asian Nat Prod Res 2009,11(2):168-171.
- [14] Abourashed E A, El-Alfy A T, Khan I A, et al. Ephedra in perspective—a current review [J]. Phytother Res, 2003,17(7):703-712.
- [15] Schaneberg B T, Crockett S, Bedir E, et al. The role of chemical fingerprinting: application to Ephedra [J]. Phytochemistry 2003,62(6):911-918.
- [16] ZHANG D, DENG A J, MA L, et al. Phenylpropanoids from the stems of *Ephedra sinica* [J]. J Asian Nat Prod Res 2016,18(3):260-267.
- [17] 梁军,孙黎明,夏永刚,等.亲水作用色谱-质谱法测定麻黄根多糖单糖的组成[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(7):73-78.
- [18] 宓嘉琪,吴巧凤.葛根-麻黄药对不同比例配伍对葛根素溶出量的影响[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(16):33-35.
- [19] 谢彬.定喘汤加减方配合气道吸入糖皮质激素与 β_2 受体激动剂治疗小儿支气管哮喘[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(6):247-248.
- [20] Martinez F D, Vercelli D. Asthma [J]. Lancet,2013,382(9901):1360-1372.
- [21] FANG Y. The development of label-free cellular assays for drug discovery [J]. Expert Opin Drug Dis,2011,6(12):1285-1298.
- [22] FANG Y. Troubleshooting and deconvoluting label-free cell phenotypic assays in drug discovery [J]. J Pharmacol Toxicol Methods 2013,67(2):69-81.
- [23] FANG Y, Ferrie A M, Fontaine N H, et al. Resonant waveguide grating biosensor for living cell sensing [J]. Biophys J 2006,91(5):1925-1940.
- [24] 丁辉,史丽颖,陈瑶,等.葫芦茶叶抗过敏性哮喘组分分析[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(9):30-35.
- [25] FANG Y, Ferrie A M. Label-free optical biosensor for ligand-directed functional selectivity acting on beta(2) adrenoceptor in living cells [J]. FEBS Lett 2008,582(5):558-564.

[责任编辑 顾雪竹]