

光叶丁公藤酚性成分研究

周 岳, 曾 婷, 李丽梅*

成都医学院, 四川 成都 610500

摘 要: **目的** 研究光叶丁公藤 *Erycibe schmidtii* 藤茎的化学成分。**方法** 利用正、反相硅胶色谱柱、Sephadex LH-20 色谱及半制备高效液相色谱等方法分离纯化, 通过核磁共振波谱分析方法鉴定结构。利用 NO 相对生成率法对量较多的化合物进行抗炎活性检测。**结果** 从光叶丁公藤藤茎 95%乙醇提取物中分离得到 12 个化合物, 分别鉴定为咖啡酸(1)、*N*-反式-对羟基苯乙基阿魏酰胺(2)、绿原酸(3)、绿原酸甲酯(4)、4-*O*-咖啡酰基奎宁酸(5)、4-*O*-咖啡酰基奎宁酸甲酯(6)、4,5-*O*-双咖啡酰基奎宁酸(7)、4,5-*O*-双咖啡酰基奎宁酸甲酯(8)、3,5-*O*-双咖啡酰基奎宁酸(9)、3,5-*O*-双咖啡酰基奎宁酸甲酯(10)、3,4-*O*-双咖啡酰基奎宁酸(11)、3,4-*O*-双咖啡酰基奎宁酸甲酯(12)。化合物 1 和 2 对 RAW 264.7 细胞释放 NO 显示出一定的抑制活性。**结论** 化合物 5~7、9、11、12 为首次从该属植物中分离得到, 化合物 1、2、4~12 为首次从该植物中分离得到。化合物 1 和 2 有一定抗炎活性。

关键词: 光叶丁公藤; 酚性成分; 4-*O*-咖啡酰基奎宁酸; 4,5-*O*-双咖啡酰基奎宁酸; 3,5-*O*-双咖啡酰基奎宁酸; 抗炎活性; NO

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)09-1496-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.09.008

Phenolic constituents from *Erycibe schmidtii*

ZHOU Yue, ZENG Ting, LI Li-mei

Chengdu Medical College, Chengdu 610500, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents of *Erycibe schmidtii*. **Methods** The compounds were separated and purified by silica gel and Sephadex LH-20 column chromatography, and semipreparative HPLC. Their structures were determined by nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy analysis method. The anti-inflammatory activity of some compounds was tested by relative NO productivity. **Results** Twelve compounds were isolated and identified as caffeic acid (1), *N*-trans-*p*-hydroxyphenethyl ferolamine (2), chlorogenic acid (3), chlorogenic acid methyl ester (4), 4-*O*-caffeoylquinic acid (5), 4-*O*-caffeoylquinic acid methyl ester (6), 4,5-di-*O*-caffeoylquinic acid (7), 4,5-di-*O*-caffeoylquinic acid methyl ester (8), 3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid (9), 3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid methyl ester (10), 3,4-di-*O*-caffeoylquinic acid (11), and 3,4-di-*O*-caffeoylquinic acid methyl ester (12). Compounds 1 and 2 showed some inhibitory activity for RAW cells 264.7 releasing NO. **Conclusion** Compounds 5—7, 9, 11, and 12 are obtained from the plants of *Erycibe* Roxb. for the first time, while compounds 1, 2, and 4—12 are separated from this plant for the first time. Compounds 1 and 2 exhibit certain anti-inflammatory activity.

Key words: *Erycibe schmidtii* Craib; phenolic compounds; 4-*O*-caffeoylquinic acid; 4,5-di-*O*-caffeoylquinic acid; 3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid; anti-inflammatory activity; NO

光叶丁公藤 *Erycibe schmidtii* Craib 为旋花科 (Convolvulaceae) 丁公藤属 *Erycibe* Roxb. 植物^[1]。其藤茎部分是中药丁公藤的药源之一, 具有祛风除湿、消肿止痛的功效, 用于治疗风湿痹痛、半身不遂、跌扑肿痛^[2]。目前, 关于光叶丁公藤化学成分研究只有宋蔚等^[3]从中分离出了 7 个化合物, 分别

为十六碳酸、β-谷甾醇、绿原酸、东莨菪素、胡萝卜苷、东莨菪素-7-葡萄糖苷及 1 个水溶性生物碱丁公藤丙素。为了进一步阐明光叶丁公藤的药效物质基础, 并为其质量控制和开发利用提供依据, 本实验对其化学成分进行了研究, 从中分离得到 12 个化合物, 分别鉴定为咖啡酸 (caffeic acid, 1)、*N*-反式-对羟

收稿日期: 2015-12-21

基金项目: 四川省杰出青年学术技术带头人培育计划 (2014JQ0049)

作者简介: 周 岳 (1989—), 男, 硕士在读, 研究方向为天然药物化学。Tel: (028)62739161 E-mail: 18380277970@163.com

*通信作者 李丽梅, 博士, 教授。Tel: (028)62739161 E-mail: limeilgy@gmail.com

基苯乙基阿魏酰胺 (*N-trans-p*-hydroxyphenethyl ferolamine, **2**)、绿原酸 (chlorogenic acid, **3**)、绿原酸甲酯 (chlorogenic acid methyl ester, **4**)、4-*O*-咖啡酰基奎宁酸 (4-*O*-caffeoylquinic acid, **5**)、4-*O*-咖啡酰基奎宁酸甲酯 (4-*O*-caffeoylquinic acid methyl ester, **6**)、4,5-*O*-双咖啡酰基奎宁酸 (4,5-di-*O*-caffeoylquinic acid, **7**)、4,5-*O*-双咖啡酰基奎宁酸甲酯 (4,5-di-*O*-caffeoylquinic acid methyl ester, **8**)、3,5-*O*-双咖啡酰基奎宁酸 (3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid, **9**)、3,5-*O*-双咖啡酰基奎宁酸甲酯 (3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid methyl ester, **10**)、3,4-*O*-双咖啡酰基奎宁酸 (3,4-di-*O*-caffeoylquinic acid, **11**)、3,4-*O*-双咖啡酰基奎宁酸甲酯 (3,4-di-*O*-caffeoylquinic acid methyl ester, **12**)。化合物 **5**~**7**、**9**、**11**、**12** 为首次从该属植物中分离得到, 化合物 **1**、**2**、**4**~**12** 为首次从该植物中分离得到。抗炎活性筛选结果表明: 化合物 **1** 和 **2** 对 RAW 264.7 细胞释放 NO 显示出一定的抑制活性。

1 仪器和材料

Bruker Avance 400 核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司); Bruker Daltonics BioTOF-Q 质谱仪 (德国 Bruker 公司); 高效液相色谱仪 (上海伍丰科学仪器有限公司); 薄层色谱硅胶板 GF254 (60 型) 和柱色谱硅胶 (200~300 目) 购于青岛海洋化工厂; 葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 (40~70 μm , GE Healthcare Bio-Sciences AB 公司); 反相硅胶 (ODS, 50 μm , YMC 公司); D101 大孔树脂 (成都科龙化工试剂厂); 其他试剂均为分析或色谱纯。

光叶丁公藤藤茎于 2013 年 8 月采自广西桂林, 由中国科学院成都生物研究所彭玉兰副研究员鉴定为旋花科丁公藤属植物光叶丁公藤 *Erycibe schmidtii* Craib 藤茎, 标本 (ES201301) 保存在成都医学院科研实验中心。

2 提取分离

光叶丁公藤藤茎 20.0 kg, 粉碎, 用 60.0 kg 95% 乙醇室温浸提 3 次, 每次 7 d, 减压浓缩得到浸膏, 分散于 5.0 L 水中, 依次用等体积石油醚、醋酸乙酯和正丁醇萃取 3 次, 分别得到石油醚层 (150.0 g)、醋酸乙酯层 (200.0 g) 和正丁醇层 (500.0 g)。

醋酸乙酯层经反相硅胶柱色谱, 水和 20%、30%、40%、100% 甲醇进行梯度洗脱, 经 TLC 检测合并, 得到 B1 (58.0 g)、B2 (61.5 g)、B3 (49.5 g)、B4 (31.0 g) 4 段。B1 段 (取 4.8 g) 过 Sephadex LH-20 柱 (甲醇), TLC 分析后合并为 B11 (1.5 g) 和 B12

(2.0 g) 2 部分, 其中 B12 (2.0 g) 以 40% 甲醇水 (含 0.3% 甲酸) 为流动相, 进行 HPLC 制备得到化合物 **9** (40.0 mg)。B2 段 (取 3.6 g) 过 Sephadex LH-20 柱 (甲醇), 经 TLC 分析后合并, 分为 7 个部分 B21、B22、B23、B24、B25、B26、B27, 其中 B27 (0.6 g) 以 30% 甲醇水 (含 0.3% 甲酸) 为流动相, 进行 HPLC 制备得到化合物 **3** (35.0 mg)。B3 段 (取 0.2 g) 经硅胶柱色谱, 氯仿-甲醇 (20:1→8:1) 洗脱, 得到化合物 **2** (87.0 mg)。B3 段 (另取 2.3 g) 以 45% 甲醇水 (含 0.2% 甲酸) 为流动相, 进行 HPLC 分段制备, 分为 B31、B32、B33 3 个部分, 其中, B31 为化合物 **4** (6.0 mg); B32 (25.0 mg) 进一步用 40% 甲醇水进行 HPLC 制备, 得到化合物 **7** (11.0 mg); B33 (0.8 g) 用 30% 乙腈 (含 0.15% 甲酸) HPLC 制备, 得到化合物 **11** (0.4 g) 和 **12** (35.0 mg)。B4 段 (取 5.0 g) 用 45% 甲醇水 (含 0.1% 甲酸) 进行 HPLC 制备, 得到化合物 **8** (0.2 g) 和 **10** (0.2 g)。

正丁醇层经大孔吸附树脂柱, 甲醇-水 (20%→100%) 进行梯度洗脱, 经 TLC 检测合并得到 C1 (150.0 g) 和 C2 (170.0 g) 2 个部分。C1 部分 (取 2.5 g) 用 24% 甲醇 (含 0.3% 乙酸) 进行 HPLC 制备, 得到化合物 **1** (84.0 mg)、**3** (0.3 g) 和 **5** (90.0 mg)。C2 部分 (取 8.0 g) 过 Sephadex LH-20 柱 (甲醇), TLC 分析后合并为 C21 (2.5 g)、C22 (0.4 g) 2 段。C21 段经硅胶柱色谱, 氯仿-甲醇 (20:1→4:1) 进行梯度洗脱, TLC 检测合并, 分为 2 部分 C211 和 C212, 其中, C212 部分 (0.4 g) 用 34% 甲醇水进行 HPLC 制备, 得到化合物 **4** (65.0 mg) 和 **6** (17.5 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 棕色粉末 (甲醇)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 6.18 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-8), 6.78 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-5), 6.95 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-6), 7.03 (1H, brs, H-2), 7.40 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-7); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 115.1 (C-8), 116.0 (C-2), 116.2 (C-5), 121.5 (C-6), 126.2 (C-1), 144.7 (C-7), 146.1 (C-3), 148.6 (C-4), 168.6 (C-9)。通过波谱数据分析, 并与文献数据对照^[4], 将该化合物鉴定为咖啡酸。

化合物 **2**: 白色无定形粉末 (氯仿)。ESI-MS m/z : 336 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 2.76 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-7'), 3.48 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-8'), 3.87 (3H, s, OCH_3), 6.42 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8),

6.74 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3', 5'), 6.81 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 7.02 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6), 7.06 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2', 6'), 7.11 (1H, brs, H-2), 7.45 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-7); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 34.5 (C-7'), 41.1 (C-8'), 55.0 (OCH_3), 110.2 (C-2), 115.0 (C-3', 5'), 115.1 (C-8), 117.4 (C-5), 121.2 (C-6), 126.9 (C-1'), 129.4 (C-1), 129.9 (C-2', 6'), 140.4 (C-7), 147.8 (C-4), 148.4 (C-3), 155.5 (C-4'), 167.8 (C-9)。通过波谱数据分析, 并与文献数据对照^[5], 将该化合物鉴定为 *N*-反式-对羟基苯乙基阿魏酰胺。

化合物 3: 淡黄色粉末(甲醇)。ESI-MS m/z : 377 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.82~

2.03 (4H, m, H-2, 6), 3.57 (1H, m, H-3), 3.94 (1H, m, H-4), 5.08 (1H, m, H-5), 6.16 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8'), 6.78 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 7.00 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6'), 7.04 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-2'), 7.43 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7'); ^{13}C -NMR 数据见表 1。通过波谱数据分析, 并与文献数据对照^[6], 将该化合物鉴定为绿原酸。

化合物 4: 白色粉末(甲醇)。 ^1H -NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.77~2.11 (4H, m, H-2, 6), 3.57 (3H, s, OCH_3), 3.76 (1H, m, H-3), 3.87 (1H, m, H-4), 5.02 (1H, m, H-5), 6.11 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8'), 6.77 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.98 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-6'), 7.03

表 1 化合物 3~12 的碳谱数据 (100 MHz)

Table 1 ^{13}C -NMR (100 MHz) data of compounds 3—12

碳位	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	73.9	73.5	74.6	74.0	73.9	73.5	73.4	72.9	74.0	73.1
2	37.6	37.6	40.8	40.6	37.1	38.2	36.2	35.2	37.9	38.2
3	68.6	67.3	64.5	64.7	68.8	68.2	69.3	71.4	66.6	68.3
4	70.8	69.8	77.4	76.2	73.2	72.4	71.2	67.0	73.7	72.8
5	71.3	71.5	66.7	65.9	65.0	65.7	70.7	70.4	68.0	65.1
6	36.7	35.5	38.4	38.3	36.2	36.6	34.6	34.9	37.4	35.9
7	175.4	174.2	176.3	174.3	176.7	173.8	176.1	174.2	175.1	174.4
1'	126.1	125.8	126.1	125.9	125.9	125.9	126.6	126.1	125.9	125.9
2'	115.2	115.0	115.2	115.1	115.2	115.3	114.2	115.3	115.3	115.2
3'	145.4	145.5	145.2	145.4	145.5	146.1	145.4	145.9	146.0	145.7
4'	148.7	148.9	148.7	149.1	148.8	149.1	148.2	149.1	148.9	148.9
5'	116.2	116.3	116.3	116.3	116.2	116.3	115.2	116.4	116.3	116.3
6'	121.8	121.7	121.7	121.7	121.8	122.0	121.8	121.8	121.9	121.8
7'	146.0	146.1	146.0	146.2	146.1	146.2	146.0	146.1	146.1	146.1
8'	114.8	114.3	115.1	114.7	114.5	114.3	113.8	115.0	114.3	114.3
9'	166.1	165.7	166.8	166.7	166.3	166.4	167.6	166.5	166.4	166.2
1''					126.0	125.7	126.4	125.8	125.9	125.8
2''					115.3	115.2	114.0	115.2	115.3	115.3
3''					145.7	146.0	145.4	145.4	146.0	145.9
4''					148.9	149.0	148.1	148.8	148.9	149.0
5''					116.2	116.3	115.2	116.3	116.2	116.3
6''					121.9	121.9	121.7	121.7	121.8	121.9
7''					146.1	146.1	145.8	146.1	146.1	146.1
8''					114.7	113.7	113.7	114.1	114.1	114.5
9''					166.4	165.7	167.1	165.7	166.0	166.4
OCH_3		52.1		52.0		52.4		52.4		52.2

化合物 9 在 CD_3OD 中测试, 其他化合物均用 $\text{DMSO}-d_6$ 溶解测定

Compound 9 was recorded in CD_3OD and others were run in $\text{DMSO}-d_6$

(1H, brs, H-2'), 7.38 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-7'); ^{13}C -NMR 数据见表 1。通过波谱数据分析, 并与文献数据对照^[7], 将该化合物鉴定为绿原酸甲酯。

化合物 5: 淡黄色粉末(甲醇)。ESI-MS m/z : 377 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.85~2.00 (4H, m, H-2, 6), 4.00 (1H, m, H-3), 4.12 (1H, m, H-5), 4.70 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-4), 6.28 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8'), 6.78 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-5'), 7.01 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-6'), 7.06 (1H, brs, H-2'), 7.51 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7'); ^{13}C -NMR 数据见表 1。通过波谱数据分析, 并与文献数据对照^[6], 将该化合物鉴定为 4-*O*-咖啡酰基奎宁酸。

化合物 6: 淡黄色粉末(甲醇)。 ^1H -NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.83~2.08 (4H, m, H-2, 6), 3.62 (3H, s, OCH_3), 3.97 (1H, m, H-3), 4.09 (1H, m, H-5), 4.73 (1H, dd, $J = 6.8, 2.8$ Hz, H-4), 6.27 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8'), 6.76 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 7.00 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6'), 7.05 (1H, brs, H-2'), 7.50 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7'); ^{13}C -NMR 数据见表 1。通过波谱数据分析, 并与文献数据对照^[8], 将该化合物鉴定为 4-*O*-咖啡酰基奎宁酸甲酯。

化合物 7: 淡黄色粉末(甲醇)。ESI-MS m/z : 539 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.95~2.15 (4H, m, H-2, 6), 4.19 (1H, m, H-3), 4.98 (1H, m, H-4), 5.37 (1H, m, H-5), 6.18 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8'), 6.25 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-8'), 6.75 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5', 5''), 6.97 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6', 6''), 7.05 (2H, s, H-2', 2''), 7.45 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-7''), 7.47 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7'); ^{13}C -NMR 数据见表 1。通过波谱数据分析, 并与文献数据对照^[9], 将该化合物鉴定为 4,5-*O*-双咖啡酰基奎宁酸。

化合物 8: 微黄色粉末(甲醇)。ESI-MS m/z : 553 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.90~2.26 (4H, m, H-2, 6), 3.60 (3H, s, OCH_3), 4.15 (1H, m, H-3), 4.97 (1H, dd, $J = 2.8, 6.4$ Hz, H-4), 5.28 (1H, m, H-5), 6.14 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-8''), 6.27 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8'), 6.77 (2H, d, $J = 7.2$ Hz, H-5', 5''), 7.00 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-6', 6''), 7.05 (2H, d, $J = 4.4$ Hz, H-2', 2''), 7.42 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-7''), 7.51 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-7'); ^{13}C -NMR 数据见表 1。通过波谱数据分析, 并与文献数据对照^[10], 将该化合物鉴定为 4,5-*O*-双咖啡酰基奎宁酸甲酯。

化合物 9: 微黄色粉末(甲醇)。ESI-MS m/z : 539

$[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 2.18~2.34 (4H, m, H-2, 6), 4.00 (1H, dd, $J = 8.8, 7.2$ Hz, H-4), 5.41 (1H, m, H-3), 5.46 (1H, m, H-5), 6.28 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8''), 6.37 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8'), 6.80 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5', 5''), 6.99 (2H, m, H-6', 6''), 7.09 (2H, brs, H-2', 2''), 7.59 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7''), 7.63 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7'); ^{13}C -NMR 数据见表 1。通过波谱数据分析, 并与文献数据对照^[7], 将该化合物鉴定为 3,5-*O*-双咖啡酰基奎宁酸。

化合物 10: 微黄色粉末(甲醇)。ESI-MS m/z : 553 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 2.00~2.23 (4H, m, H-2, 6), 3.60 (3H, s, OCH_3), 3.86 (1H, m, H-4), 5.09 (1H, m, H-3), 5.19 (1H, m, H-5), 6.14 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-8''), 6.27 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8'), 6.80 (2H, d, $J = 7.6$ Hz, H-5', 5''), 7.02 (2H, d, $J = 7.6$ Hz, H-6', 6''), 7.06 (2H, brs, H-2', 2''), 7.43 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-7''), 7.50 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-7'); ^{13}C -NMR 数据见表 1。通过波谱数据分析, 并与文献数据对照^[10], 将该化合物鉴定为 3,5-*O*-双咖啡酰基奎宁酸甲酯。

化合物 11: 微黄色粉末(甲醇)。ESI-MS m/z : 539 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.92~2.16 (4H, m, H-2, 6), 4.18 (1H, m, H-4), 4.97 (1H, m, H-5), 5.39 (1H, m, H-3), 6.15 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8''), 6.25 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-8'), 6.77 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5', 5''), 6.98 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6', 6''), 7.03 (2H, brs, H-2', 2''), 7.44 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-7''), 7.50 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7'); ^{13}C -NMR 数据见表 1。通过波谱数据分析, 并与文献数据对照^[11], 将该化合物鉴定为 3,4-*O*-双咖啡酰基奎宁酸。

化合物 12: 淡黄色粉末(甲醇)。ESI-MS m/z : 553 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.96~2.21 (4H, m, H-2, 6), 3.63 (3H, s, OCH_3), 4.05 (1H, m, H-5), 4.98 (1H, m, H-4), 5.40 (1H, m, H-3), 6.18 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-8''), 6.27 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-8'), 6.76 (2H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5', 5''), 6.97 (2H, dd, $J = 8.1, 2.1$ Hz, H-6', 6''), 7.05 (2H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2', 2''), 7.44 (1H, d, $J = 15.2$ Hz, H-7''), 7.47 (1H, d, $J = 15.2$ Hz, H-7'); ^{13}C -NMR 数据见表 1。通过波谱数据分析, 并与文献数据对照^[12], 将该化合物鉴定为 3,4-*O*-双咖啡酰基奎宁酸甲酯。

4 抗炎活性

本实验利用 NO 相对生成率法对量较多的化合

物 1~3、5~6、8、10 和 11 进行抗炎活性检测, 结果见图 1。将 2×10^5 个/mL RAW 264.7 细胞悬液接种于 48 孔培养板上, 每孔加入 0.5 mL 细胞悬液, 每组设置 3 个复孔, 置于培养箱中培养。待培养板中细胞贴壁后, 各实验组分别加入 1 μ L 受试药物 (终质量浓度 10 μ g/mL), 阳性对照组加入 1 μ L NF- κ B 抑制剂 BAY 11-7802 (简称为 BAY, 10 μ mol/L), 模型组与空白组加入 1 μ L DMSO, 孵育 2 h 后各孔内加入 1 μ L 脂多糖 (LPS, 终质量浓度 0.5 μ g/mL), 空白组不予处理。培养 24 h 后吸取培养液上清至酶标板中, 加入等体积的 Griess 试剂, 室温条件下反应 10 min, 然后测定 540 nm 波长处的吸光度 (A) 值, 绘制标准曲线, 根据相应标准曲线计算样品质量浓度, 以模型组 NO 生成量作为 100%, 最后计算出 NO 的相对生成率。

该结果显示, 化合物 1 和 2 对 RAW 264.7 细胞

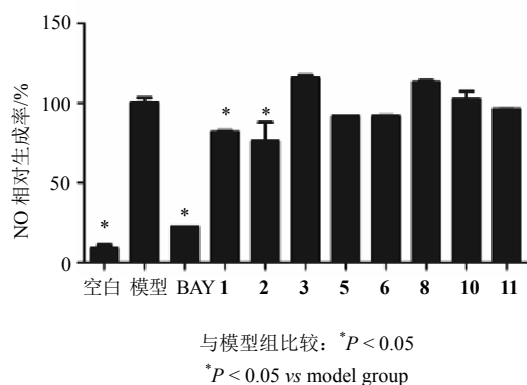


图 1 各化合物的 NO 相对生成率

Fig. 1 Relative yield of NO for each compound

释放 NO 显示出一定的抑制活性, 其余化合物的 NO 相对生成率均大于 80%, 提示其对 RAW 264.7 细胞释放 NO 无明显的抑制作用。

参考文献

- [1] 中国医学科学院药物研究所. 中药志 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [3] 宋蔚, 金蓉鸾, 刘继华. 光叶丁公藤化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 1997, 22(6): 359-360.
- [4] 李岗, 仙云霞, 王晓, 等. 皂角刺化学成分及其抗肿瘤活性研究 [J]. 中草药, 2015, 46(19): 2846-2850.
- [5] 宋爽, 杨亚军, 李义秀, 等. 毛叶丁公藤化学成分研究 [A] // 第十届全国中药和天然药物学术研讨会论文集 [C]. 北京: 中国药学会, 2010.
- [6] 刘俊霞, 侯微, 窦凤鸣, 等. 五味子藤茎正丁醇部位化学成分研究 [J]. 中草药, 2015, 46(13): 1878-1882.
- [7] Peng L Y, Mei S X, Jiang B, et al. Constituents from *Lonicera japonica* [J]. *Fitoterapia*, 2000, 71(6): 713-715.
- [8] 张卫东, 陈万生, 孔德云, 等. 中药灯盏细辛中酚酸类化合物的结构与活性研究 [J]. 中国药学杂志, 2002, 37(8): 579-581.
- [9] 汤丹, 李会军, 钱正明, 等. 黄褐毛忍冬花蕾咖啡酰奎宁酸类成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2007, 42(20): 1537-1539.
- [10] 刘健. 丁公藤的化学成分及生物活性研究 [D]. 北京: 中国医学科学院中国协和医科大学, 2007.
- [11] 王永霞, 王恩, 尚靖, 等. 驱虫斑鸠菊中咖啡酰基奎宁酸类化学成分 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(11): 1590-1592.
- [12] 胡扬帆, 吴楚材. 灰毡毛忍冬藤化学成分研究 [J]. 中草药, 2012, 35(1): 66-69.