

• 化学成分 •

毛果一枝黄花化学成分及其抗炎活性研究

李 涛, 白 虹, 仲 浩, 邓志鹏, 杜 勇, 姚庆强*

山东省医学科学院药物研究所/济南大学 山东省医学科学院医学与生命科学学院/山东省罕见病重点实验室, 山东 济南 250062

摘要: 目的 对毛果一枝黄花 *Solidago virgaurea* 全草的化学成分和抗炎活性进行研究。方法 采用硅胶柱色谱、凝胶柱色谱、ODS 反相柱色谱及重结晶等方法分离纯化, 通过理化常数和波谱分析鉴定化合物结构, 并采用 ELISA 法对得到的苯甲酸苄酯类化合物进行抗炎活性研究。结果 从毛果一枝黄花全草 95%乙醇提取物中分离得到 9 个化合物, 分别鉴定为 2'-甲氧基苯甲醇-2-甲氧基-6-羟基苯甲酸酯 (1)、2'-甲氧基苯甲醇-2, 6-二甲氧基苯甲酸酯 (2)、毛果一枝黄花素 (3)、十六烷酸 (4)、水杨酸 (5)、对羟基苯甲酸 (6)、毛果一枝黄花糖苷 (7)、山柰酚-3-O- β -D-芸香糖苷 (8)、芦丁 (9)。结论 化合物 3 和 7 为新化合物; 化合物 4 和 6 为首次从一枝黄花属植物中分离得到, 化合物 1 和 2 为首次从该植物中分离得到。抗炎活性研究表明, 化合物 1 和 2 对脂多糖 (LPS) 诱导的小鼠单核细胞 RAW 264.7 释放的肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 及白细胞介素-6 (IL-6) 具有抑制作用, 而化合物 7 无明显抑制作用。

关键词: 毛果一枝黄花; 毛果一枝黄花素; 毛果一枝黄花糖苷; 对羟基苯甲酸; 抗炎活性

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2014)06-0749-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.06.001

Chemical constituents of *Solidago virgaurea* and their anti-inflammatory activities

LI Tao, BAI Hong, ZHONG Hao, DENG Zhi-peng, DU Yong, YAO Qing-qiang

Institute of Materia Medica, Shandong Academy of Medical Sciences, School of Medicine and Life Sciences, University of Jinan, Shandong Academy of Medical Sciences, Key Laboratory of Rare and Uncommon Diseases of Shandong Province, Jinan 250062, China

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents of *Solidago virgaurea* and their pharmacological activities. **Methods** The compounds were isolated and purified from the plant with chromatography techniques and the chemical structures were identified on the basis of spectroscopic analyses and physicochemical properties, and the anti-inflammatory effects of obtained benzyl benzoate compounds were evaluated by ELISA. **Results** Nine compounds were isolated from 90% ethanol extract of *S. virgaurea* and their structures were identified as 2'-methoxybenzyl-2-methoxy-6-hydroxybenzoate (1), 2'-methoxybenzyl-2, 6-dimethoxybenzoate (2), solidagobenzofuran (3), hexadecanoic acid (4), salicylic acid (5), *p*-hydroxybenzoic acid (6), solidago virgaurea glycoside (7), kaempferol-3-O- β -D-rutinoside (8), and rutin (9). **Conclusion** Compounds 3 and 7 are new compounds; Compounds 4 and 6 are obtained from the plants of *Solidago* L. for the first time; Compounds 1 and 2 are isolated from this species for the first time. Anti-inflammatory studies show that compounds 1 and 2 could inhibit the TNF- α and IL-6 release of LPS-induced RAW264.7 murine monocytes, while compound 7 shows no significant inhibitory effect.

Key words: *Solidago virgaurea* L.; solidagobenzofuran; solidago virgaurea glycoside; *p*-hydroxybenzoic acid; anti-inflammatory activity

菊科 (Compositae) 一枝黄花属 *Solidago* L. 植物现存 120 余种, 我国有 4 种, 分别为毛果一枝黄花 *Solidago virgaurea* L.、一枝黄花 *S. decurrens* Lour.、加拿大一枝黄花 *S. canadensis* L. 和钝苞一枝黄花 *S. pacifica* Juz.^[1]。目前一枝黄花属植物国内研

究较少, 国外研究相对较多, 但要充分利用其生物多样性, 便于更好地应用于临床, 还需不断深入的研究。本课题组已经对我国存在的 3 种一枝黄花属植物一枝黄花、加拿大一枝黄花和钝苞一枝黄花的化学成分和药理活性进行了系统的研究^[2-3], 为完

收稿日期: 2013-09-11

基金项目: 山东省泰山学者—药学特聘专家专项建设工程经费资助

作者简介: 李 涛, 男, 研究生, 研究方向为天然药物化学。

*通信作者 姚庆强, 博士, 研究员。Tel: (0531)82919960 E-mail: yao_imm@163.com

善该属植物的化学成分及药理学研究, 本实验对毛果一枝黄花的化学成分进行了研究。

毛果一枝黄花 *Solidago virgaurea* L. 又名新疆一枝黄花, 为菊科一枝黄花属植物毛果一枝黄花的干燥全草, 多年生草本植物, 主产于我国新疆阿尔泰山等海拔较高地区的树林下及灌木丛中, 在我国东北、华北地区以及前苏联、蒙古也有分布^[4]。毛果一枝黄花作为药用植物, 全草入药, 对肾炎及膀胱炎有效, 其主要化学成分主要有二萜^[5-9]、黄酮^[10-11]、皂苷^[12-15]、苯丙酸及苯甲酸苄酯^[16-17]类化合物等, 具有抗菌消炎、利尿、抗肿瘤等作用。本实验从毛果一枝黄花干燥全草中分离得到9个化合物, 分别鉴定为 2'-甲氧基苯甲醇-2-甲氧基-6-羟基苯甲酸酯 (2'-methoxybenzyl-2-methoxy-6-hydroxybenzoate, **1**)、2'-甲氧基苯甲醇-2, 6-二甲氧基苯甲酸酯 (2'-methoxybenzyl-2, 6-dimethoxybenzoate, **2**)、毛果一枝黄花素 (solidagobenzofuran, **3**)、十六烷酸 (hexadecanoic acid, **4**)、水杨酸 (salicylic acid, **5**)、对羟基苯甲酸 (*p*-hydroxybenzoic acid, **6**)、毛果一枝黄花糖苷 (solidago virgaurea glycoside, **7**)、山柰酚-3-*O*- β -D-芸香糖苷 (kaempferol-3-*O*- β -D-rutinoside, **8**)、芦丁 (rutin, **9**)。其中, 化合物 **3** 和 **7** 为新化合物。抗炎活性研究表明, 化合物 **1** 和 **2** 对脂多糖 (LPS) 诱导的小鼠单核细胞 RAW 264.7 释放的肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 及白细胞介素-6 (IL-6) 具有抑制作用, 而化合物 **7** 无明显抑制作用。

1 仪器与材料

Agilent Trap VL 型质谱仪 (HP Agilent), Agilent 1100 型 LC-MS 液质联用仪, Bruker Avance 600 型核磁共振仪 (瑞士 Bruker 公司), INOVA-600 型核磁共振仪 (美国 Varian 公司), X-6 型显微熔点测定仪 (北京亚欧德鹏公司)。聚酰胺 30~60 目 (国药集团), 柱色谱用硅胶 (200~300、300~400 目)、薄层色谱硅胶 GF₂₅₄ (青岛海洋化工厂), ODS C₁₈ 反相色谱柱, Sephadex LH-20 (GE Healthcare Bio-Sciences AB), 大孔树脂 D-101 (山东鲁抗树脂分厂)。

毛果一枝黄花全草于2010年8月购自安徽省亳州市华申药业有限公司, 经山东省医学科学院药物研究所唐文照博士鉴定为毛果一枝黄花 *Solidago virgaurea* L. 的干燥全草。

2 提取与分离

毛果一枝黄花干燥全草 20 kg, 用 95%乙醇冷浸提取 3 次, 每次冷浸 7 d, 减压回收并浓缩, 得浸

膏约 1 kg。浸膏加水混悬后, 依次用氯仿、醋酸乙酯和正丁醇萃取, 浓缩, 得到 3 个不同极性部位。氯仿部位经聚酰胺柱色谱, 流动相为水-乙醇 (100:0→0:100), 得到 A、B 两个部分, A 部分经硅胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇 100:0→0:100) 和重结晶得到化合物 **1** (150 mg)、**2** (10 mg)、**3** (7 mg); B 部分经硅胶柱色谱 (石油醚-丙酮 100:0→0:100) 得到化合物 **4** (20 mg)。对醋酸乙酯部位进行硅胶柱色谱 (二氯甲烷-醇 100:0→50:50), 并通过凝胶 Sephadex LH-20 反相、ODS 柱色谱得到化合物 **5** (7 mg)、**6** (30 mg)。对正丁醇部位经 D101 型大孔树脂洗脱后进行硅胶柱色谱 (二氯甲烷-醇 99:1→0:100), 并通过凝胶 Sephadex LH-20 反相、ODS 柱色谱得到化合物 **7** (25 mg)、**8** (21 mg)、**9** (18 mg)。部分化合物结构见图 1。

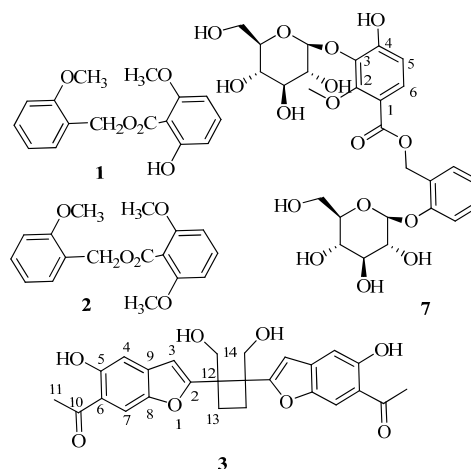


图 1 化合物 1~3 和 7 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—3 and 7

3 结构鉴定

化合物 **1**: 无色结晶 (二氯甲烷-甲醇), ESI-MS m/z : 289 $[M+H]^+$, 311 $[M+Na]^+$, 相对分子质量为 288。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 3.90 (6H, s, 2, 2'-OCH₃), 5.49 (2H, s, -CH₂-), 6.46 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5), 6.62 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-3), 6.93 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-3'), 7.01 (1H, t, J = 7.6 Hz, H-5'), 7.35 (1H, td, J = 8.4, 1.8 Hz, H-4'), 7.36 (1H, t, J = 8.4 Hz, H-4), 7.56 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-6'); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 56.1 (2-OCH₃), 55.3 (2'-OCH₃), 124.2 (C-1), 163.3 (C-2), 103.7 (C-3), 135.0 (C-4), 102.5 (C-5), 161.1 (C-6), 170.3 (C-7), 62.8 (C-8), 110.1 (C-1'), 156.9 (C-2'), 110.2 (C-3'), 128.5 (C-4'), 120.5 (C-5'), 129.2 (C-6')。以上数据与文献报道一致^[18],

故鉴定化合物 **1** 为 2'-甲氧基苯甲醇-2-甲氧基-6-羟基苯甲酸酯。

化合物 **2**: 无色结晶 (二氯甲烷), mp 100 °C。ESI-MS m/z : 303 $[M+H]^+$, 325 $[M+Na]^+$, 相对分子质量为 302。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 3.83 (6H, s, 2, 6-OCH₃), 3.87 (3H, s, 2'-OCH₃), 5.47 (2H, s, -CH₂-), 6.57 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-3, 5), 6.90 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-3'), 6.97 (1H, t, J = 7.8 Hz, H-5'), 7.29 (1H, t, J = 8.4 Hz, H-4), 7.31 (1H, t, J = 7.8 Hz, H-4'), 7.50 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-6'); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 56.2 (2, 6-OCH₃), 55.6 (2'-OCH₃), 124.8 (C-1), 158.8 (C-2), 104.3 (C-3), 131.4 (C-4), 104.2 (C-5), 157.7 (C-6), 166.8 (C-7), 62.5 (C-8), 113.5 (C-1'), 157.5 (C-2'), 110.5 (C-3'), 129.4 (C-4'), 120.6 (C-5'), 129.5 (C-6')。以上数据与文献报道一致^[18], 故鉴定化合物 **2** 为 2'-甲氧基苯甲醇-2, 6-二甲氧基苯甲酸酯。

化合物 **3**: 淡黄色粉末 (二氯甲烷-丙酮), ESI-MS m/z : 465 $[M+H]^+$, 487 $[M+Na]^+$, 463 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3COCD_3) δ : 2.39~2.41 (2H, m, -CH₂-), 2.40 (3H, s, -CH₃), 4.17~4.19 (2H, m, -CH₂-), 6.61 (1H, s, H-3), 6.80 (1H, s, H-4), 7.64 (1H, s, H-7), 12.06 (1H, s, -OH); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3COCD_3) δ : 24.1 (C-13), 26.7 (C-11), 51.8 (C-12), 63.9 (C-14), 104.1 (C-3), 106.5 (C-4), 111.9 (C-7), 115.4 (C-6), 136.7 (C-9), 147.6 (C-8), 158.0 (C-5), 166.8 (C-2), 204.4 (C=O)。氢谱和碳谱信号经 HSQC 和 HMBC 谱归属, 结合质谱数据, 表明该化合物为对称结构。HMBC 谱 (图 2) 显示 δ_H 7.64 (H-7) 和 C-5, 8, 9, 10 相关, δ_H 6.80 (H-4) 和 C-6, 3 相关, δ_H 6.61 (H-3) 和 C-8, 9 相关, δ_H 2.59 (-CH₃) 和 C-6, 10 相关, 推测存在苯骈呋喃母核结构, 且连有乙酰基。 δ_H 4.20 (-CH₂-) 和 C-2, C-12 (季碳) 以及 C-13 相关, 以及 δ_H 2.41 与 C-2, 12, 14 相关, 可基本验证上述结构的正确性。因存在四元环, 通常情况下该结构不稳定, 故需单晶衍射验证, 单晶培养正在进行中。经 Sciencefinder 检索, 确定化合物 **3** 为新化合物, 命名为毛果一枝黄花素。

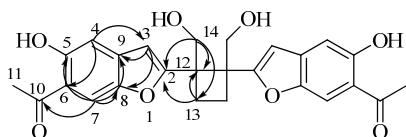


图 2 化合物 **3** 的重要 HMBC 相关关系

Fig. 2 Key HMBC correlations of compound **3**

化合物 **4**: 白色结晶 (二氯甲烷-甲醇), ESI-MS m/z : 255 $[M-H]^-$, 相对分子质量为 256, 分子式为 $C_{16}H_{32}O_2$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.89 (3H, t, J = 7.2 Hz, -CH₃), 1.31 (2H, m, -CH₂CH₃), 2.36 (2H, t, J = 7.2 Hz, -CH₂COOH); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 14.1 (-CH₃), 24.7 (-CH₂CH₃), 34.0 (-CH₂COOH), 21.1~31.9 (12×-CH₂), 180.0 (-C=O-)。结合以上数据鉴定化合物 **4** 为十六烷酸。

化合物 **5**: 无色针状结晶 (二氯甲烷), ESI-MS m/z : 139 $[M+H]^+$, 137 $[M-H]^-$, 相对分子质量为 138。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.97 (1H, td, J = 8.4, 1.0 Hz, H-4), 7.04 (1H, dd, J = 8.4, 1.0 Hz, H-6), 7.56 (1H, td, J = 8.4, 1.0 Hz, H-5), 7.96 (1H, dd, J = 8.4, 1.0 Hz, H-3)。综合以上光谱数据, 鉴定化合物 **5** 为水杨酸。

化合物 **6**: 白色粉末 (二氯甲烷-甲醇), ESI-MS m/z : 139 $[M+H]^+$, 137 $[M-H]^-$, 相对分子质量为 138。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 6.70 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-3, 5), 7.88 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2, 6); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 114.6 (C-3, 5), 121.3 (C-1), 131.6 (C-2, 6), 161.9 (C-4), 168.7 (-COOH)。结合文献报道^[19], 鉴定化合物 **6** 为对羟基苯甲酸。

化合物 **7**: 白色粉末 (二氯甲烷-甲醇), ESI-MS m/z : 637 $[M+Na]^+$, 653 $[M+K]^+$, 相对分子质量为 614。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) 中 δ 3.80 (3 H, s) 提示存在 -OCH₃, δ 4.81 和 4.99 (1H, d, J = 7.8 Hz) 为糖端基氢信号, δ 5.54 (2H, s) 提示存在羟甲基, δ 6.62 (1H, d, J = 9.0 Hz, H-6), 7.29 (1H, d, J = 9.0 Hz, H-5) 为四取代苯上邻位氢信号, δ 7.07 (1H, t, J = 7.5 Hz, H-4'), 7.25 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-3'), 7.34 (1H, t, J = 7.5 Hz, H-5'), 7.51 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-6'), 表明存在邻二取代苯结构。 ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 61.4 (-CH₂), 62.4 (-OCH₃), 61.0 (Glc-C-6), 61.1 (Glc-C-6'), 69.9 (Glc-C-5), 69.9 (Glc-C-5'), 73.5 (Glc-C-4), 73.6 (Glc-C-4'), 76.6 (Glc-C-3), 76.6 (Glc-C-3'), 76.7 (Glc-C-2), 76.7 (Glc-C-2'), 101.2 (Glc-C-1), 102.3 (Glc-C-1'), 111.2 (C-6), 113.2 (C-1), 115.2 (C-3'), 122.0 (C-4'), 122.9 (C-5), 125.2 (C-1'), 129.4 (C-5', 6'), 143.3 (C-3), 149.1 (C-2), 153.3 (C-4), 155.5 (C-2'), 167.8 (-C=O)。其中 δ_C 62.4 (-OCH₃) 的存在表明了苯环中甲氧基两侧均被取代, 氢谱和碳谱信号经 HSQC 和 HMBC 谱归属, HSQC 数据表明, δ_H 6.62 和 δ_C 111.3 以及 δ_H 7.29 和 δ_C 122.9 分别直接相连为 A 苯环未被取代信号, δ_H 7.07 和 δ_C

121.7, δ_{H} 7.25 和 δ_{C} 115.2, δ_{H} 7.34, 7.51 和 δ_{C} 129.4 (C-5', 6') 分别直接相连, 为 B 苯环中的未被取代的质子及其碳信号。HMBC (图 3) 显示 δ_{H} 3.87 和 δ_{C} 149.1 相关为与 A 苯环相连的甲氧基信号, δ_{H} 4.79 与 δ_{C} 143.3 (C-3) 相关信号为 A 苯环相连的葡萄糖信号, δ_{H} 6.62 与 δ_{C} 113.2 (C-1), 149.1 (C-2), 153.3 (C-4) 以及 167.8 (C=O) 的碳信号相关, 表明该氢信号与连糖碳信号 (C-3) 为对位, 与 C-1 为邻位, δ_{H} 7.29 与 δ_{C} 153.3 (C-4), 149.1 (C-2), 143.3 (C-3), 113.2 (C-1) 分别相关。综上推断出 A 环 C-1~C-4 号位所连基团分别为 -COO-、-OCH₃、-OGlc、-OH, 结合文献报道^[20]中平滑果一枝黄花糖苷 (leiocarposide) 的苷元和糖的光谱数据, 与该化合物相似, 故确定并命名该化合物为毛果一枝黄花糖苷。

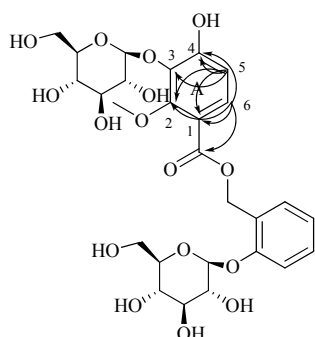


图 3 化合物 7 的重要 HMBC 相关关系

Fig. 3 Key HMBC correlations of compound 7

化合物 8: 黄色粉末 (二氯甲烷-甲醇), ESI-MS m/z : 595 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 617 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 593 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 相对分子质量为 594。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 1.45 (3H, d, J = 6.0 Hz, H-6'''), 4.65 (1H, s, H-1'''), 5.50 (1H, d, J = 7.2 Hz, H-1'), 6.54 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-6), 6.76 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-8), 7.25 (2H, d, J = 9.0 Hz, H-3', 5'), 8.45 (2H, d, J = 9.0 Hz, H-2', 6'), 结合以上光谱数据, 并将该化合物与山柰酚-3-O- β -D-芸香糖苷对照品共薄层, 其 R_f 值及显色行为均一致, 故鉴定化合物 8 为山柰酚-3-O- β -D-芸香糖苷。

化合物 9: 黄色粉末 (二氯甲烷-甲醇), ESI-MS m/z : 611 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 609 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 相对分子质量为 610。与芦丁对照品共薄层, 显示其 R_f 值与显色情况均相同, 结合文献报道^[21], 鉴定化合物 9 为芦丁。

4 毛果一枝黄花提取物中苯甲酸苄酯类化合物抗炎活性研究

长久以来, 毛果一枝黄花作为一种抗菌消炎的药用植物已得到广泛应用, 尤其对肾炎及膀胱炎

效显著。苯甲酸苄酯类化合物是毛果一枝黄花植物中的主要成分之一, 为了对该属植物的抗炎活性的来源和机制进行更深入的研究, 本实验运用酶联免疫吸附测定法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA), 通过利用 LPS 诱导体外炎症模型, 检测苯甲酸苄酯类化合物对 LPS 诱导小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 释放炎症介质 IL-6 和 TNF- α 的抑制作用, 来探寻该类化合物的抗炎活性和机制。

4.1 实验材料与仪器

4.1.1 供试品 苯甲酸苄酯类化合物: 2'-甲氧基苯甲醇-2-甲氧基-6-羟基苯甲酸酯 (1)、2'-甲氧基苯甲醇-2, 6-二甲氧基苯甲酸酯 (2) 和毛果一枝黄花糖苷 (7), 为毛果一枝黄花中提取分离得到。

4.1.2 试剂 DMEM 培养基购自美国 Gibco 公司; 胎牛血清, 批号 120602, 购自浙江天杭生物科技有限公司; 胰蛋白酶、LPS 购自美国 Sigma 公司; 小鼠 TNF- α 和 IL-6 ELISA 检测试剂盒购自联科生物技术有限公司。

4.1.3 仪器 Forma3111 水套式二氧化碳培养箱, 美国 Forma 公司生产; 1420Victor 多标记检测仪, 美国 PerkinElmer 公司产品; XDS-IB 倒置生物显微镜, 重庆光学仪器厂产品; 96 孔培养板, 美国 Becton Dickinson 公司生产。

4.1.4 细胞株: 小鼠单核细胞 RAW264.7 由山东大学药学院馈赠。

4.2 实验方法

采用 ELISA 法, 进行化合物的活性研究。

4.2.1 供试品的配制 准确称取供试品各 1 mg, 加 20 μL DMSO 溶解, 用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液稀释至终浓度分别为 1×10^{-4} 、 1×10^{-5} 、 1×10^{-6} 、 1×10^{-7} 、 1×10^{-8} mol/L, 备用。

4.2.2 ELISA 法测定 TNF- α 和 IL-6 水平 取指数生长期 RAW264.7 细胞, 用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液制成单细胞悬液, 调整细胞密度为 $5 \times 10^5/\text{mL}$, 按每孔 200 μL 接种到 96 孔培养板内, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h 后, 分别加入不同浓度的供试品 50 μL , 阳性对照组加入 1×10^{-4} mol/L 氢化可的松溶液, 空白对照组和 LPS 模型组分别加相同容量的细胞培养液, 每组设 3 个平行孔, 继续常规培养 24 h。

取供试品作用后的细胞, 每孔分别加入 50 μL LPS, 终质量浓度为 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 空白对照组加相同容量的细胞培养液, 继续常规培养 18 h。收集细胞

上清液,按照 ELISA 试剂盒说明书方法测定,根据标准曲线计算各组培养上清液中 TNF- α 和 IL-6 的浓度。

4.3 活性测试结果

如表 1 所示, 1×10^{-4} mol/L 化合物 1 和 2 对 LPS 诱导小鼠单核细胞 RAW 264.7 释放 TNF- α 具有抑制作用, 化合物 7 对其的抑制作用不明显, 这 3 个化

合物的抑制作用均呈现明显的浓度依赖性。

如表 1 所示, 1×10^{-4} mol/L 化合物 1 和 1×10^{-4} mol/L、 1×10^{-5} mol/L 化合物 2 时, 对 LPS 诱导 RAW 264.7 细胞释放 IL-6 具有抑制作用, 化合物 7 对其抑制作用不明显。这 3 个化合物的抑制作用均呈现明显的浓度依赖性。

表 1 化合物 1、2 和 7 对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞释放 TNF- α 和 IL-6 的抑制作用 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 1 Inhibition of compounds 1, 2, and 7 on RAW264.7 cells releasing TNF- α and IL-6 induced by LPS ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

组别	剂量 / (mol·L ⁻¹)	TNF- α / (pg·mL ⁻¹)	IL-6 / (pg·mL ⁻¹)
空白对照	—	1 222.21 $\pm$ 55.07	65.48 $\pm$ 16.55
模型	—	11 641.09 $\pm$ 409.26	335.25 $\pm$ 10.01
氢化可的松	1×10^{-4}	7 674.58 $\pm$ 268.73**	162.01 $\pm$ 18.89**
化合物 1	1×10^{-4}	9 315.49 $\pm$ 917.87*	207.05 $\pm$ 32.92**
	1×10^{-5}	10 902.80 $\pm$ 774.33	299.51 $\pm$ 34.17
	1×10^{-6}	11 240.66 $\pm$ 917.84	319.73 $\pm$ 25.55
	1×10^{-7}	11 352.49 $\pm$ 888.35	341.12 $\pm$ 36.85
	1×10^{-8}	11 409.07 $\pm$ 808.34	345.18 $\pm$ 11.16
化合物 2	1×10^{-4}	9 203.61 $\pm$ 891.29*	227.31 $\pm$ 10.96**
	1×10^{-5}	10 388.98 $\pm$ 771.74	252.69 $\pm$ 30.71*
	1×10^{-6}	10 878.85 $\pm$ 1 160.99	279.80 $\pm$ 36.15
	1×10^{-7}	11 101.27 $\pm$ 717.30	284.71 $\pm$ 32.75
	1×10^{-8}	11 340.54 $\pm$ 691.30	310.37 $\pm$ 46.65
化合物 7	1×10^{-4}	10 187.72 $\pm$ 1 239.57	313.62 $\pm$ 24.94
	1×10^{-5}	10 772.43 $\pm$ 1 052.15	340.24 $\pm$ 21.06
	1×10^{-6}	11 114.72 $\pm$ 785.84	346.55 $\pm$ 20.96
	1×10^{-7}	11 223.67 $\pm$ 153.23	354.66 $\pm$ 51.29
	1×10^{-8}	11 748.09 $\pm$ 1 435.89	419.40 $\pm$ 40.63

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

5 结论

从毛果一枝黄花的干燥全草中共分离纯化并鉴定了 9 个化合物, 其中化合物 3 和 7 为新化合物。化合物 3 的提取分离过程中未经过高温处理, 因此可能是四元环稳定存在的原因。

对从毛果一枝黄花分离纯化得到的 3 个苯甲酸苄酯类化合物进行了抗炎实验, 结果表明化合物 1 和 2 对 LPS 诱导小鼠单核细胞 RAW 264.7 释放 TNF- α 以及 IL-6 均具有抑制作用, 化合物 7 对 LPS 诱导 RAW 264.7 细胞释放 TNF- α 和 IL-6 无明显抑制作用, 且 3 个化合物的抑制作用均呈现明显的浓度依赖性。作为毛果一枝黄花中量较高的苯甲酸苄酯类化合物, 推断该类化合物可能为毛果一枝黄花抗炎活性的主要活性成分之一。

参考文献

- [1] 印丽萍, 谭永彬, 沈国辉, 等. 加拿大一枝黄花的研究进展 [J]. 杂草科学, 2004(4): 8-11.
- [2] 薛晓霞, 仲浩, 姚庆强. 一枝黄花化学成分的研究 [J]. 中草药, 2008, 39(2): 182-184.
- [3] 马腾, 翟晶, 刘少超, 等. 加拿大一枝黄花化学成分的研究 [J]. 食品与药品, 2011, 13(3): 104-106.
- [4] 薛晓霞, 姚庆强, 仲浩. 毛果一枝黄花化学成分与药理活性研究进展 [J]. 齐鲁药事, 2006, 25(3): 163-165.
- [5] Lu T, Menelaou M A, Vargas D, et al. Polyacetylenes and diterpenes from *Solidago canadensis* [J]. *Phytochemistry*, 1993, 32(6): 1483-1488.
- [6] Lu T, Vargas D, Franzblau S G, et al. Diterpenes from *Solidago rugosa* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 38(2): 451.
- [7] Quesne P W L, Honkan V, Onan K D, et al. Oxidized

- kaurene derivatives from leaves of *Solidago missouriensis* and *Solidago rigida* [J]. *Phytochemistry*, 1985, 24(8): 1785-1787.
- [8] 刘晓月, 朱洪科, 吴世华. 加拿大一枝黄花二萜成分的抗肿瘤活性 [J]. 浙江大学学报: 理学版, 2007, 34(6): 661-664.
- [9] Jurenitsch J, Maurer J, Rain U, *et al.* Diterpene-butenolides in *Solidago gigantea* [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27(2): 626-627.
- [10] Batyuk V S, Kovaleva S N. Flavonoids of *Solidago canadensis* and *S. virgaurea* [J]. *Chem Nat Compd*, 1985, 21(4): 566-567.
- [11] 王开金, 陈列中, 李 宁, 等. 加拿大一枝黄花黄酮类成分及抗氧化与自由基消除活性的研究 [J]. 中国药理学杂志, 2006, 41(7): 1486-1488.
- [12] Reznicek G, Jurenitsch J, Michal G, *et al.* The first structurally confirmed saponin from *Solidago gigantea*: structure elucidation by modern NMR techniques [J]. *Tetrahedron Lett*, 1989, 30(31): 4097-4100.
- [13] Reznicek G, Jurenitsch J, Pluson M, *et al.* Four major saponins from *Solidago canadensis* [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(5): 1629-1633.
- [14] Miyase T, Inose Y, Uneno A. Studies on the constituents of *Solidago virgaurea* L. III: structural elucidation of solidagosaponins XXI-XXIV [J]. *Chem Pharm Bull*, 1994, 42(3): 617-624.
- [15] Inose Y, Miyase T, Uneno A. Studies on the constituents of *Solidago virgaurea* L. I: Structures elucidation of saponins in the herb [J]. *Chem Pharm Bull*, 1991, 9(8): 2037-2042.
- [16] Ivancheva S, Vitkova A. Flavonoids from *Solidago virgaurea* L. [J]. *Farmatsiya*, 1997, 44(1): 17-19.
- [17] Choi S Z, Choi S U, Bae S Y, *et al.* Immunobiological activity of a new benzyl benzoate from the aerial parts of *Solidago virgaurea* var. *gigantea* [J]. *Arch Pharm Res*, 2005, 28(1): 49-54.
- [18] Chodera A, Dabrowska K, Sloderbach A, *et al.* Effect of flavonoid fraction of *Solidago virgaurea* L. on diuresis and levels of electrolytes [J]. *Acta Pol Pharm*, 1991, 48(5/6): 35-37.
- [19] 邵泽艳, 赵娜夏, 夏广萍, 等. 芫花醋酸乙酯部位的化学成分研究 [J]. 现代药物与临床, 2013, 28(3): 278-281.
- [20] Hiller K, Gil-R jong R. Saponin/Sapogenin-structures in the genus *Salidago* [J]. *Herba Hung*, 1980, 19(1): 91-94.
- [21] Yang L M, Hu R, Fu H Z, *et al.* A New Cyano-compound from *Rhodiola kirilowii* [J]. *Chin Herb Med*, 2011, 3(4): 241-243.