

狗脊中的酚酸及其苷类成分

谢美萍, 李 兰, 鲁安琪, 郑远鹏, 臧彩霞, 孙 华, 王素娟*

中国医学科学院 北京协和医学院药物研究所 天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 北京 100050

摘要: 目的 研究狗脊 *Cibotium barometz* 根茎的化学成分。方法 采用大孔吸附树脂、柱色谱及制备 HPLC 进行分离纯化, 并采用波谱学分析和化学方法鉴定其结构, 筛选其抗炎 (LPS 诱导小鼠腹腔 BAW 细胞分泌 NO 模型)、神经保护 (谷氨酸诱导 SK-N-SH 细胞损伤模型)、肝保护 (APAP 诱导 HepG2 细胞损伤模型)、肿瘤细胞毒 (MTT 法)、抗糖尿病 (α 糖苷酶和 PTP1B 酶抑制模型) 和雌激素受体拮抗剂/激动剂等生物活性。结果 从狗脊根茎 50%乙醇提取物中分离得到了 9 个酚酸及其苷类化合物, 分别鉴定为原儿茶酸-4-*O*-(6'-*O*-原儿茶酰基)- β -D-吡喃葡萄糖苷 (1)、白藜芦醇 (2)、对羟基肉桂酸 (3)、对羟基肉桂醛 (4)、*C*-藜芦酰乙二醇 (5)、4-甲基邻苯二酚 (6)、原儿茶醛 (7)、对羟基苯甲酸 (8)、咖啡酸 (9)。在浓度 10、1 及 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 下化合物 1 对 BAW 细胞释放 NO 的抑制率分别为 75.3%、72.0% 和 58.0%, 在浓度 10 $\mu\text{mol/L}$ 下化合物 1 对 APAP 引起的 HepG2 细胞损伤具显著保护作用, 细胞存活率与阳性对照双环醇相当, 在肿瘤细胞毒、雌激素受体激动剂和拮抗剂筛选模型下均未显示出显著的药理活性。在浓度 1 $\mu\text{mol/L}$ 下化合物 2 对 BAW 细胞释放 NO 的抑制率为 50.0%, 其他药理模型下均未显示出显著的药理活性。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为双原儿茶酸苷; 且具有较好的抗炎、肝保护活性, 化合物 2~5 均为首次从该属植物中分离得到。

关键词: 狗脊; 酚酸类; 原儿茶酸-4-*O*-(6'-*O*-原儿茶酰基)- β -D-吡喃葡萄糖苷; 双原儿茶酸苷; 抗炎; 保肝作用

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)02-0194-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.02.002

Phenolic acid and glycosides from rhizomes of *Cibotium barometz*

XIE Mei-ping, LI Lan, LU An-qi, ZHENG Yuan-peng, ZANG Cai-xia, SUN Hua, WANG Su-juan

State Key Laboratory of Active Substance and Function of Natural Medicines, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents from the rhizomes of *Cibotium barometz*. **Methods** Macroporous adsorption resin, column chromatography, and preparative HPLC were carried out to isolate and purify the chemical compounds in the 50% ethanol extracts from the rhizomes of *C. barometz*, and their structures were elucidated by spectroscopic and chemical analyses. The activities of compounds 1 and 2 were tested on *in vitro* assays of anti-inflammatory, anti-tumor, neuro-protection, anti-diabetes, estrogen receptor agonism, and estrogen receptor antagonism. **Results** Nine compounds were isolated and identified as protocatechuic acid-4-*O*-(6'-*O*-protocatechuoyl)- β -D-pyranoglucoside (1), resveratrol (2), *p*-hydroxycinnamic acid (3), *p*-hydroxycinnamic aldehyde (4), *C*-veratroylglycol (5), 4-methyl-1,2-dihydroxybenzene (6), protocatechualdehyde (7), *p*-hydroxybenzoic acid (8), and caffeic acid (9). Compound 1 showed anti-inflammatory activity at the concentration of 10, 1, and 0.1 $\mu\text{mol/L}$ with inhibition rates of 75.3%, 72.0%, and 58.0% to NO release of BAW cells, respectively, and exhibited promising hepatoprotective activity against APAP-induced acute liver damage of HepG 2 cells *in vitro* as effective as bicyclol. Compound 2 showed anti-inflammatory activity at the concentration of 1 $\mu\text{mol/L}$ with inhibition rate of 50.0%. There were no activity on other assays, such as anti-tumor, estrogen receptor agonism, and estrogen receptor antagonism. **Conclusion** Compound 1 is a new compound named biprotocatechuic acid with promising anti-inflammatory and hepatoprotective activity, and compounds 2—5 are isolated from the plants of *Cibotium* Kaulf. for the first time.

Key words: *Cibotium barometz* (L.) J. Sm.; phenolic acids; protocatechuic acid-4-*O*-(6'-*O*-protocatechuoyl)- β -D-pyranoglucoside; biprotocatechuic acid; anti-inflammation; hepatoprotection

收稿日期: 2015-09-29

基金项目: 国家重大专项重大新药创制课题 (2012ZX09301002001003)

作者简介: 谢美萍 (1990—), 女, 硕士在读, 研究方向为天然药物的活性成分。Tel: 15510728258 E-mail: mpxie@imm.ac.cn

*通信作者 王素娟, 女, 副研究员, 硕士生导师, 主要从事天然药物活性成分研究。Tel: (010)60212110 E-mail: sujuanwang@imm.ac.cn

狗脊始载于《神农本草经》，列为中品，为蚌壳蕨科（Dicksoniaceae）植物金毛狗脊 *Cibotium barometz* (L.) J. Sm. 的干燥根茎，历版《中国药典》均有收载。金毛狗脊根茎较硬，外被很多金色绒毛，因此被称为“金毛狗脊”或者“黄狗头”^[1]。蚌壳蕨科植物共 5 属，近 40 种，分布于热带及亚热带。其中金毛狗属植物约 20 种，分布于东南亚至大洋洲、夏威夷及中部美洲。我国蚌壳蕨科植物仅有 1 属 1 种，即金毛狗脊 *Cibotium barometz* (L.) J. Sm.，主要产于云南、贵州、四川南部、广西、广东、福建、台湾、海南、浙江、江西和湖南等地的山脚阴湿缓坡或沟谷密林下的酸性土壤^[2]。

狗脊具有补肝肾、强筋骨、舒经络、除湿痛及利尿的功能，用于腰腿酸痛、手足麻木、半身不遂、白带遗精、血崩等症^[3]。研究发现，金毛狗脊中含蕨素类^[4-9]、萜类^[7]、甾体^[6-7,10]、黄酮类^[4-5]、糖苷类^[11-12]、芳香族^[4-9]、吡喃酮类^[9]等化学成分。狗脊中的特征性成分主要包括蕨素类成分和半萜糖苷类成分，但自 20 世纪 80 年代发现狗脊中存在蕨素类成分以来，其化学成分的研究进展甚慢，目前发现的这两类特征性成分不超过 20 个。因此，本实验对狗脊的化学成分进行了深入研究，从其根茎部位分离得到 9 个酚酸及其苷类化合物，分别鉴定为原儿茶酸-4-*O*-(6'-*O*-原儿茶酰基)- β -*D*-吡喃葡萄糖苷 [protocatechuic acid-4-*O*-(6'-*O*-protocatechuoyl)- β -*D*-pyranoglucoside, **1**]、白藜芦醇 (resveratrol, **2**)、对羟基肉桂酸 (*p*-hydroxycinnamic acid, **3**)、对羟基肉桂醛 (*p*-hydroxycinnamic aldehyde, **4**)、*C*-藜芦酰乙二醇 (*C*-veratroylglycol, **5**)、4-甲基邻苯二酚 (4-methyl-1,2-dihydroxybenzene, **6**)、原儿茶醛 (protocatechualdehyde, **7**)、对羟基苯甲酸 (*p*-hydroxybenzoic acid, **8**)、咖啡酸 (caffeic acid, **9**)。其中化合物 **1** 为新化合物，命名为双原儿茶酸苷，具有较好的抗炎和保肝活性，化合物 **2**~**5** 均为首次从该属植物中分离得到。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); AV-III-500 型核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); Inova-500 型核磁共振仪、Inova-600 型核磁共振光谱仪 (美国 Varian 公司); 1100 Series LC-MSD Trap SL 质谱仪 (美国 Agilent 公司); API-TOFMS 10000 质谱仪 (禾信质谱公司); 柱色谱硅胶 (100~200、200~300 目, 青岛海洋化工厂); Sephadex LH-20

凝胶 (美国 GE 公司); 中压液相色谱仪: Büchi Gradient Former B-687, RP C₁₈, 43~60 μ m (Pharmacia 公司); RP C₁₈ (10 μ m, 制备型; 5 μ m, 半制备型和分析型); 薄层色谱硅胶 GF₂₅₄ (青岛海洋化工厂)。MCI CHP20P (日本三菱公司)。

狗脊药材购于河北安国药材市场，产于广西凭祥，由中国医学科学院药物研究所马林副研究员鉴定为金毛狗脊 *Cibotium barometz* (L.) J. Sm. 的干燥根茎，标本 (ID-S-2606) 保存于中国医学科学院药物研究所标本室。

2 提取与分离

金毛狗脊根茎 60 kg，粉碎，用 50%乙醇回流提取 3 次 (240 L \times 2 h, 180 L \times 1.5 h, 180 L \times 1.5 h)，除药渣浓缩，用水溶解至约 60 L (即 2 个柱体积)，经 SP-700 大孔吸附树脂，分别用水及 30%、50%、100%乙醇分段洗脱，回收溶剂，得到相应的部分。将其 50%乙醇部分 (1 098 g) 经 MCI CHP20P 柱色谱，以水及 10%、20%、30%、40%、50%、82% 甲醇梯度洗脱，得到 7 个组分。其中 10%甲醇洗脱组分 (120 g) 经 Sephadex LH-20 柱色谱，以水及 50%、100%甲醇洗脱，得到 3 个组分 (A、B、C)。组分 A 经硅胶柱色谱及 HPLC 制备，得化合物 **5** (3 mg)、**6** (200 mg)、**7** (3 mg)、**8** (10 mg)、**9** (50 mg)。组分 B 经中压反相 ODS 柱色谱，以 0~70%甲醇洗脱得化合物 **1** (30 mg)、**2** (5 mg)、**4** (5 mg)。组分 C 经硅胶柱色谱及 HPLC 制备，得化合物 **3** (800 mg)。

3 糖绝对构型的确定

取化合物 **1** (0.5 mg) 溶于 0.5 mol/L HCl (0.1 mL) 中 90 $^{\circ}$ C 反应 2 h，加入氨水至中性，用醋酸乙酯萃取 3 次 (0.2 mL/次)，水相冻干。冻干后的样品及约 0.5 mg 的 *D/L*-葡萄糖对照品，分别加入含有 0.5 mg *L*-半胱氨酸甲酯盐酸盐的吡啶溶液 0.1 mL，60 $^{\circ}$ C 反应 1 h；然后加入含有 0.5 mg 邻甲苯异硫氰酸酯的吡啶溶液 0.1 mL，60 $^{\circ}$ C 反应 1 h。反应液滤过，取适量注入 HPLC 分析。色谱柱为 GraceSmart RP₁₈ (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m)，流动相为乙腈-50 mmol/L 磷酸水溶液 25:75，体积流量 0.8 mL/min，波长 250 nm。待测样品与 *D/L*-葡萄糖对照品衍生化对照，检出 *D*-葡萄糖。

4 结构鉴定

化合物 **1**: 白色针晶 (甲醇)。 $[\alpha]_D^{25}$ -40.1 $^{\circ}$ (*c* 0.1, MeOH); mp 137.1~138.3 $^{\circ}$ C。ESI-MS *m/z*: 475 [M+

Na^+ , 451 $[\text{M}-\text{H}]^-$, (-) HR-API-MS 给出准分子离子峰 451.087 4 $[\text{M}-\text{H}]^-$ ($\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{O}_{12}^-$, 计算值 451.088 2), 确定分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$, 不饱和度为 10。UV (MeOH) 光谱在 λ_{max} 260.2 nm (ϵ 7.6×10^4), 293.8 nm (ϵ 7.7×10^4) 给出最大吸收带, 说明化合物分子结构存在长共轭系统。红外光谱中 1 607.2, 1 509.2 和 1 446.9 cm^{-1} 说明含有苯环, 1 693.9 cm^{-1} 说明含有羰基。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) 显示 1 个 β 构型糖的端基质子信号 δ_{H} 4.85 (1H, d, $J = 7.4$ Hz)。氢谱低场区的 δ_{H} 7.40 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 7.39 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz), 6.79 (1H, d, $J = 8.0$ Hz) 及 δ_{H} 7.40 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 7.32 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz), 7.10 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 形成 2 个 AMX 芳香耦合系统, 提示该化合物结构中有 2 个 1,2,4-三取代苯环。 $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) 中给出 19 个碳信号, 低场区存在 12 个芳香碳信号及 1 个酯羰基 δ_{C} 168.5, 结合该化合物的苯环取代方式, 提示该化合

物含 1 个原儿茶酸酯基及另 1 个 1,2,4-三取代苯环。通过 HSQC 谱指认了所有与氢相连的碳信号。在 HMBC 谱中 (图 1), 观察到葡萄糖的 6 位质子 δ_{H} 4.62 (1H, dd, $J = 12.0, 2.0$ Hz), 4.31 (1H, dd, $J = 12.0, 8.0$ Hz) 与原儿茶酸酯基碳 δ_{C} 168.5 相关, 推定原儿茶酸酯基连接在葡萄糖的 6 位。糖的端基 δ_{H} 4.85 (1H, d, $J = 7.4$ Hz), 与另一组 AMX 系统中的 4 位碳信号 δ_{C} 150.4 相关, 推定该 AMX 结构中的 4 位 OH 被糖苷化。在 (-) ESI-MS² 中, 准分子离子峰 m/z 451 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 的二级质谱 (图 2), 出现丢失中性碎片 CO_2 (44) 的离子 m/z 407, 说明该化合物末端含有 1 个羧基, m/z 297 的碎片离子说明结构中确实存在 2 个原儿茶酸片段, 因此推断该化合物中未知的 AMX 结构为原儿茶酸。葡萄糖的绝对构型由 HPLC 柱前衍生化法^[13]确定。综上分析, 化合物 1 的结构确定为原儿茶酸-4-*O*-(6'-*O*-原儿茶酰基)- β -*D*-吡喃葡萄糖苷, 为新化合物。具体核磁数据见表 1。

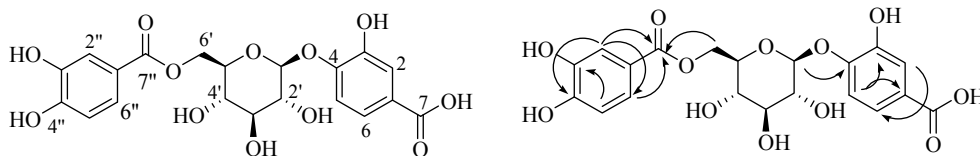


图 1 化合物 1 的结构和重要 HMBC 相关 (H→C)

Fig. 1 Structure and key HMBC correlations (H→C) of compound 1

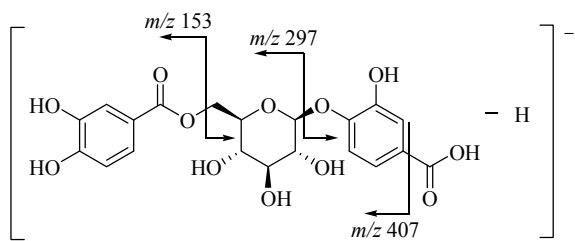


图 2 化合物 1 (-) ESI-MS² 中准分子离子 m/z 451 的二级质谱裂解图

Fig. 2 (-) ESI-MS² fragment of quasi-molecular ion m/z 451 in compound 1

合物 2: 棕色粉末 (甲醇)。 (+) ESI-MS m/z : 7.29 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2', 6'), 6.70 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3', 5'), 6.90 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H- β), 6.74 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H- α), 6.38 (2H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2, 6), 6.10 (1H, $J = 2.0$ Hz, H-4); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 160.0 (C-3, 5), 158.7 (C-4'), 141.6 (C-1), 130.7 (C-1'), 129.7 (C- β), 129.1 (C-2', 6'), 127.1 (C- α), 116.8 (C-3', 5'), 106.1 (C-2, 6), 103.0 (C-4)。以上数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 2 为白藜芦醇。

化合物 3: 白色针晶 (甲醇)。 (+) ESI-MS m/z : 187.4 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.53 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7), 6.30 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8), 7.38 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2, 6), 6.43 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3, 5)。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 3 为对羟基肉桂酸。

化合物 4: 白色针晶 (甲醇)。 (-) ESI-MS m/z : 147.0 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 9.67 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-9), 7.40 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7), 6.25 (1H, dd, $J = 16.0, 8.0$ Hz, H-8), 7.33 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2, 6), 6.72 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3, 5)。以上数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 4 为对羟基肉桂醛。

化合物 5: 白色针晶 (甲醇)。 (+) ESI-MS m/z : 235 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.54 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, H-6'), 7.52 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.82 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 5.06 (1H, dd, $J = 5.0, 3.9$ Hz, H-2), 3.86 (3H, s, - OCH_3), 3.83 (1H, dd, $J = 11.7, 3.7$ Hz, H-3b), 3.68 (1H, dd, $J = 11.5, 5.2$ Hz, H-3a); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 202.1

表 1 化合物 1 的氢谱和碳谱数据
Table 1 ¹H-NMR and ¹³C-NMR data of compound 1

碳位	δ_H		δ_C		HMBC (H→C)
	CD ₃ OD	DMSO- <i>d</i> ₆	CD ₃ OD	DMSO- <i>d</i> ₆	
1			129.0	125.3	
2	7.40 (1H, d, <i>J</i> = 2.0 Hz)	7.38 (1H, d, <i>J</i> = 2.0 Hz)	123.7	121.6	C-4, C-6
3			148.0	146.6	
4			150.4	149.3	
5	7.10 (1H, d, <i>J</i> = 8.0 Hz)	7.13 (1H, d, <i>J</i> = 8.5 Hz)	117.4	115.7	C-1, C-3
6	7.32 (1H, dd, <i>J</i> = 8.0, 2.0 Hz)	7.27 (1H, dd, <i>J</i> = 8.5, 2.0 Hz)	118.8	117.1	C-2, C-4
7			—	167.4	
glucose					
1'	4.85 (1H, d, <i>J</i> = 7.4 Hz)	4.90 (1H, d, <i>J</i> = 7.3 Hz)	103.6	101.2	C-3', C-4, C-5'
2'	3.47 (1H, m)	3.27~3.40 (1H, overlapped)	77.9	76.2	C-4'
3'	3.74 (1H, t, <i>J</i> = 8.0 Hz)	3.72 (1H, t, <i>J</i> = 8.0 Hz)	75.3	73.7	C-1', C-5'
4'	3.50 (1H, t, <i>J</i> = 9.0 Hz)	3.27~3.40 (1H, overlapped)	72.4	70.4	C-2'
5'	3.39 (1H, t, <i>J</i> = 9.0 Hz)	3.27~3.40 (1H, overlapped)	76.4	74.5	C-1', C-3'
6'	4.62 (1H, dd, <i>J</i> = 12.0, 2.0 Hz)	4.47 (1H, dd, <i>J</i> = 12.0, 2.0 Hz)	65.4	64.0	C-4', C-7''
	4.31 (1H, dd, <i>J</i> = 12.0, 8.0 Hz)	4.16 (1H, dd, <i>J</i> = 12.0, 8.0 Hz)			
protocatechuoyl					
1''			122.9	120.9	
2''	7.40 (1H, d, <i>J</i> = 2.0 Hz)	7.35 (1H, d, <i>J</i> = 2.0 Hz)	118.1	116.8	C-4'', C-6'', C-7''
3''			146.8	145.6	
4''			152.4	151.0	
5''	6.79 (1H, d, <i>J</i> = 8.0 Hz)	6.82 (1H, d, <i>J</i> = 8.0 Hz)	116.4	115.4	C-3'', C-1''
6''	7.39 (1H, dd, <i>J</i> = 8.0, 2.0 Hz)	7.35 (1H, dd, <i>J</i> = 8.0, 2.0 Hz)	124.3	122.2	C-2'', C-4'', C-7''
7''			168.5	165.9	

(C-1), 156.5 (C-4'), 151.8 (C-3'), 130.5 (C-1'), 127.7 (C-6'), 118.5 (C-5'), 115.0 (C-2'), 78.0 (C-2), 68.8 (C-3), 59.0 (OCH₃)。上述数据与文献报道基本一致^[17], 故鉴定化合物 5 为 C-藜芦酰乙二醇。

化合物 6: 白色针晶(甲醇)。(+) ESI-MS *m/z*: 147.0 [M+Na]⁺。 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.68 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-6), 6.90 (1H, s, H-2), 6.69 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-5), 1.80 (3H, s, H-7)。上述数据与文献报道基本一致^[18], 故鉴定化合物 6 为 4-甲基邻苯二酚。

化合物 7: 无色针晶 (甲醇)。(−) ESI-MS *m/z*: 136.8 [M−H][−]。 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃COCD₃) δ : 9.79 (1H, s, CHO), 8.67 (2H, brs, 2×OH), 7.35 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz, H-6), 7.33 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2), 7.01 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5)。上述数据与文献报道基本一致^[19], 故鉴定化合物 7 为原儿茶醛。

化合物 8: 米白色针晶(甲醇)。(−) ESI-MS *m/z*: 137.1 [M−H][−]。 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.82 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-2, 6), 6.75 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-3, 5)。上述数据与文献报道基本一致^[20], 故鉴定化合物 8 为对羟基苯甲酸。

化合物 9: 黄色针晶(甲醇)。(−) ESI-MS *m/z*: 178.8 [M−H][−]。 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.47 (1H, d, *J* = 15.5 Hz, H-7), 6.15 (1H, d, *J* = 15.5 Hz, H-8), 6.97 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2), 6.87 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz, H-6), 6.72 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5)。上述数据与文献报道基本一致^[21], 故鉴定化合物 9 为咖啡酸。

5 药理活性研究

化合物 1 表现出较强的抑制 BAW 细胞释放炎症因子^[22] (NO) 活性, 在浓度 10、1 及 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 下的抑制率分别为 75.3%、72.0%和 58.0%; 在 10

$\mu\text{mol/L}$ 浓度下作用 HepG2 细胞 48 h, 对细胞无明显毒性, 对扑热息痛 (APAP) 引起的 HepG2 细胞损伤^[23]具显著保护作用, 损伤组细胞存活率 29.2% 时, 化合物 **1** 的细胞存活率为 35.9%, 与阳性对照双环醇 (35.1%) 作用相当。在肿瘤细胞毒实验^[24] (MTT 法: HCT-116、HepG2、BGC-823、NCI-H1650、A2780) 及雌激素 α 受体激动剂和拮抗剂筛选模型中, 均未显示出显著的药理活性。

对化合物 **2** 进行了抗炎^[22]、神经保护 (谷氨酸诱导神经母细胞瘤 SK-N-SH 细胞损伤模型)、肝保护 (APAP 诱导 HepG2 细胞损伤模型)、肿瘤细胞毒^[24]、抗糖尿病 (α -葡萄糖苷酶抑制模型, PTP1B 酶抑制模型)^[25] 药理活性筛选。结果表明, 化合物 **2** 在浓度 $1 \mu\text{mol/L}$ 下表现出一定的抑制 BAW 细胞释放 NO 活性, 其抑制率为 50.0%, 其他药理模型下均未显示出显著的药理活性。

6 结果与讨论

在化合物 **1** 的 $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD) 中, 末端羧基碳信号未检出, 更换测定溶剂为 $\text{DMSO-}d_6$ 后, 在 $^1\text{H-NMR}$ 中, 低场区出现 4 个活泼氢的信号 δ_{H} 12.58, 9.85, 9.42, 9.02, 即 1 个羧基信号及 3 个酚羟基信号, 证实化合物 **1** 结构中确实存在游离羧基。在 $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$) 中增加样品量后, 该羧基碳即可被检测出 (数据见表 1)。

化合物 **1** 中含有 2 个原儿茶酸的结构片段, 文献报道原儿茶酸^[22]对 LPS 诱导的 BAW 细胞也有明显的抗炎活性, 此外, 原儿茶酸还具有抑制叔丁基过氧化氢 (*t*-BHP)^[26]及脂多糖 (LPS)^[27]致小鼠肝损伤的作用, 推测化合物 **1** 的抗炎及肝保护活性可能与结构中的原儿茶酸片段相关。化合物 **1** 结构中的原儿茶酸片段的数量与活性间的关系有待于进一步研究。

志谢: 本研究所陈晓光研究员课题组测定细胞毒活性, 张丹研究员课题组测定抗炎活性及肝保护活性, 王晓良研究员课题组测定神经保护活性, 叶菲研究员课题组测定抗糖尿病活性及国家新药筛选中心测定雌激素 α 受体激动剂/拮抗剂活性。

参考文献

[1] 许 柎, 石亚因, 谢 雪, 等. 金毛狗脊中的一个新酚苷 [J]. 中草药, 2013, 44(4): 383-386.
[2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [J]. 北京: 科学出版社, 1990.

[3] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
[4] Murakami T, Satake T, Ninomiya K, *et al.* Pterosin-derivate aus der familie Pteridaceae [J]. *Phytochemistry*, 1980, 19(8): 1743-1746.
[5] Saito K, Nagao T, Matoba M, *et al.* Chemical assay of ptaquiloside, the carcinogen of *Pteridium aquilinum*, and the distribution of related compounds in the Pteridaceae [J]. *Phytochemistry*, 1989, 28(6): 1605-1611.
[6] 张春玲, 王喆星. 狗脊化学成分的分离与鉴定 [J]. 中国药物化学杂志, 2001, 11(5): 279-280.
[7] 吴 琦, 杨秀伟, 杨世海, 等. 金毛狗脊的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(2): 240-243.
[8] Wu Q, Yang X W. The constituents of *Cibotium barometz* and their permeability in the human Caco-2 monolayer cell model [J]. *Ethnopharmacology*, 2009, 125(3): 417-422.
[9] 许 柎, 步显坤, 周 翎, 等. 烫狗脊中的酚性化合物研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(8): 71-73.
[10] 程启厚, 杨中林, 胡永美. 狗脊化学成分的研究 [J]. 药学进展, 2003, 27(5): 298-299.
[11] Kim S, Han Y, Son Y, *et al.* Isolation of bioactive constituent for neuronal regeneration from *Cibotium barometz* [J]. *Yakhak Hoechi*, 2002, 46(6): 398-404.
[12] Cuong N X, Minh C V, Kiem P V, *et al.* Inhibitors of osteoclast formation from rhizomes of *Cibotium barometz* [J]. *J Nat Prod*, 2009, 72(9): 1673-1677.
[13] Tanaka T, Nakashima T, Ueda T, *et al.* Facile discrimination of aldose enantiomers by reversed-phase HPLC [J]. *Chem Pharm Bull*, 2007, 55(6): 899-901.
[14] Franz A H, Serebnitskaya I, Gudial G, *et al.* Structure assignment and H/D-exchange behavior of several glycosylated polyphenols [J]. *Arkivoc*, 2014, 2014(5): 94-122.
[15] Ali K, Maltese F, Toepfer R, *et al.* Metabolic characterization of Palatinate German white wines according to sensory attributes, varieties, and vintages using NMR spectroscopy and multivariate data analyses [J]. *J Biomol NMR*, 2011, 49(3/4): 255-266.
[16] Stange R R J, Sims J J, Midland S L, *et al.* Isolation of a phytoalexin, *trans-p*-coumaryl aldehyde, from *Cucurbita maxima*, Cucurbitaceae [J]. *Phytochemistry*, 1999, 52(1): 41-43.
[17] Baderschneider B, Winterhalter P. Isolation and characterization of novel benzoates, cinnamates, flavonoids, and lignans from Riesling wine and screening for antioxidant activity [J]. *J Agric Food Chem*, 2001, 49(6): 2788-2798.
[18] Yang X, Sun Y, Chen Z, *et al.* A general approach towards catechol and pyrogallol through ruthenium- and palladium-catalyzed C-H hydroxylation by weak

- coordination [J]. *Adv Synt Catal*, 2014, 356(7): 1625-1630.
- [19] Chiji H, Tanaka S, Izawa M. Phenolic germination inhibitors in the seed balls of red beet (*Beta vulgaris* L. var. *rubra*) [J]. *Agric Biol Chem*, 1980, 44(1): 205-207.
- [20] Wang Y, Zhou C, Wang R. Copper-catalyzed hydroxylation of aryl halides: Efficient synthesis of phenols, alkyl aryl ethers and benzofuran derivatives in neat water [J]. *Green Chem*, 2015, 17(7): 3910-3915.
- [21] Nguyen P H, Zhao B T, Lee J H, et al. Antithrombotic phenolics from the stems of *Parthenocissus tricuspidata* possess anti-inflammatory effect [J]. *Bull Korean Chem Soc*, 2014, 35(6): 1763-1768.
- [22] Min S W, Ryu S N, Kim D H. Anti-inflammatory effects of black rice, cyanidin-3-*O*-beta-*D*-glycoside, and its metabolites, cyanidin and protocatechuic acid [J]. *Int Immunopharmacol*, 2010, 10(8): 959-966.
- [23] 鲍秀琦. 热休克蛋白 27/70 在双环醇抗肝损伤保护机制中作用的研究 [D]. 北京: 中国协和医科大学, 2008.
- [24] Mo S, Wang S, Zhou G, et al. Phelligrins C-F: Cytotoxic pyrano [4, 3-*c*]benzopyran-1, 6-dione and furo [3,2-*c*] pyran-4-one derivatives from the fungus *Phellinus igniarius* [J]. *J Nat Prod*, 2004, 67(5): 823-828.
- [25] 马明, 王素娟, 李帅, 等. 盾叶木中具蛋白酪氨酸磷酸酶 1B 抑制活性的三萜类成分 [J]. *中草药*, 2006, 37(8): 1128-1131.
- [26] Liu C L, Wang J M, Chu C Y, et al. *In vivo* protective effect of protocatechuic acid on tert-butyl hydroperoxide-induced rat hepatotoxicity [J]. *Food Chem Toxicol*, 2002, 40(5): 635-641.
- [27] Lin W L, Hsieh Y J, Chou F P, et al. Hibiscus protocatechuic acid inhibits lipopolysaccharide-induced rat hepatic damage [J]. *Arch Toxicol*, 2003, 77(1): 42-47.