

东京银背藤化学成分及其抗炎活性研究

滕明雪, 刘嘉艺, 钟金明, 黄承鸿, 廖广凤*, 卢汝梅*

广西中医药大学药学院, 广西 南宁 530200

摘要: 目的 研究东京银背藤 *Argyreia pierreana* 的化学成分及其抗炎活性。方法 运用硅胶、Sephadex LH-20、C₁₈ 等柱色谱和半制备高效液相色谱对其化学成分进行分离纯化, 根据 MS、1D/2D NMR 等波谱技术确定化合物结构。采用 Griess 试剂法测试化合物抗炎活性。结果 从东京银背藤中分离得到 13 个化合物, 分别鉴定为 8-羟基-1,9-二甲氧基-[2',2'-二甲基吡喃(5',6':2,3)]香豆酮并色酮 (1)、derrusin (2)、东莨菪内酯 (3)、caesalpinaphenol D (4)、(-)-gynuraone (5)、咖啡酸甲酯 (6)、咖啡酸乙酯 (7)、阿魏酸乙酯 (8)、反式对羟基肉桂酸乙酯 (9)、对羟基苯甲酸 (10)、香草酸 (11)、咖啡酸 (12)、阿魏酸 (13)。结论 化合物 1 为新的苯并呋喃[3,2-c]香豆素类化合物, 命名为银背藤内酯 (argypierstan), 化合物 2、4~6、8~13 为首次从东京银背藤分离得到。化合物 4、6、8 和 9 具有较好的抗炎活性, 半数抑制浓度 (half maximal inhibitory concentration, IC₅₀) 分别为 (43.38±0.44)、(4.95±0.10)、(35.96±0.31)、(42.77±1.80) μmol/L。

关键词: 东京银背藤; 苯并呋喃[3,2-c]香豆素; 银背藤内酯; 抗炎活性; 阿魏酸乙酯; 反式对羟基肉桂酸乙酯

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2024)15-5018-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.15.002

Chemical constituents from *Argyreia pierreana* and their anti-inflammatory activities

TENG Mingxue, LIU Jiayi, ZHONG Jinming, HUANG Chenghong, LIAO Guangfeng, LU Rumei

College of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

Abstract: Objective To study the chemical components and their anti-inflammatory activities in *Argyreia pierreana*. **Methods** The chemical components were isolated and purified using methods including silica gel, Sephadex LH-20, C₁₈ column chromatography and semi-preparative high performance liquid chromatography. The structures of the compounds were identified by MS, 1D/2D NMR spectral data and other techniques. The anti-inflammatory activities of the compounds were determined by Griess method. **Results** A total of thirteen compounds were isolated from *A. pierreana*, and their structures were identified as 8-hydroxy-1,9-dimethoxy-[2',2'-dimethylpyrano(5',6':2,3)]coumaronochromone (1), derrusin (2), scopoletin (3), caesalpinaphenol D (4), (-)-gynuraone (5), methyl caffeate (6), ethyl caffeate (7), ethyl ferulate (8), *trans-p*-hydroxycinnamic acid ethyl ester (9), *p*-hydroxy benzoic (10), vanillic acid (11), caffeic acid (12), ferulic acid (13). **Conclusion** Compounds 1 was a new coumarin compound of benzofuran [3,2-c] and named as argypierstan. Compounds 2, 4—6, 8—13 were isolated from *A. pierreana* for the first time. Compounds 4, 6, 8 and 9 exhibited mild anti-inflammatory activity and the half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) was (43.38 ± 0.44), (4.95 ± 0.10), (35.96 ± 0.31) and (42.77 ± 1.80) μmol/L, respectively.

Key words: *Argyreia pierreana* Bois; benzofuran [3,2-c] coumarin; argypierstan; anti-inflammatory activity; ethyl ferulate; *trans-p*-hydroxycinnamic acid ethyl ester

东京银背藤 *Argyreia pierreana* Bois 为旋花科 (Convolvulaceae) 银背藤属 *Argyreia* Lour. 植物, 药

材名为白花银背藤, 又名牛白藤、白面水鸡、一匹绸和滇一匹绸等, 主产于广西、云南、贵州等地^[1-2]。

收稿日期: 2024-02-26

基金项目: 广西科技基地和人才专项 (桂科 AD20159007); 广西中医药大学桂派中医药传承创新团队资助项目 (2022B005); 2022 年自治区中药学研究生联合培养基地开放项目 (桂学位 (2021) 6 号); 2022 年大学生创新创业训练计划项目 (S202210600051); 2021 年大学生创新创业训练计划项目 (S202110600113)

作者简介: 滕明雪 (1999—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药化学成分研究与应用。E-mail: tmx_snow@163.com

*通信作者: 卢汝梅 Tel: 13507714262 E-mail: lrm1969@163.com

廖广凤 Tel: 15240691707 E-mail: guangfengliao@126.com

东京银背藤是广西民间常用的壮药, 壮药名勾茨 (Gaeucenj), 藤和叶均可入药, 具有化痰止咳、理血祛风、散瘀止血、除湿毒等功效, 主要用于跌打损伤、风湿疼痛、急慢性支气管炎、崩漏、内外出血、湿疹、乳腺炎等疾病^[3-5]。壮药“一匹绸”的基原植物为白鹤藤 *A. aceta* Lour., 但在广西、云南等壮族地区, 亦有将同属植物东京银背藤当作“一匹绸”使用的情况, 属于民族药中常见的异物同名、多药同用现象。课题组为探究“一匹绸”基原植物与替代品化学成分及活性的差异, 前期已对白鹤藤的化学成分及抗炎活性进行研究^[6-10], 东京银背藤是否具有类似的化学成分及抗炎活性, 需要深入研究。前期发现, 东京银背藤醋酸乙酯部位具有较好的抗炎活性, 100 $\mu\text{g/mL}$ 下对 NO 的生成抑制率为 $(33.19 \pm 1.47)\%$ 。因此本研究主要对东京银背藤醋酸乙酯部位进行化学成分和抗炎活性研究, 从中分离得到 13 个化合物, 分别鉴定为银背藤内酯 (argyrolactone, **1**)、derrusin (**2**)、东莨菪内酯 (scopoletin, **3**)、caesalpiniahenol D (**4**)、(-)-gynuraone (**5**)、咖啡酸甲酯 (methyl caffeate, **6**)、咖啡酸乙酯 (ethyl caffeate, **7**)、阿魏酸乙酯 (ethyl ferulate, **8**)、反式对羟基肉桂酸乙酯 (*p*-coumaric acid ethyl ester, **9**)、对羟基苯甲酸 (*p*-hydroxy benzoic, **10**)、香草酸 (vanillic acid, **11**)、咖啡酸 (caffeic acid, **12**)、阿魏酸 (ferulic acid, **13**)。其中化合物 **1** 为新化合物, 命名为银背藤内酯; 化合物 **2**、**4**~**6**、**8**~**13** 为首次从该植物中分离得到。体外抗炎活性实验表明, 化合物 **4**、**6**、**8** 和 **9** 可以抑制脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的小鼠巨噬细胞 RAW264.7 中 NO 的分泌, 具有较好的抗炎活性。

1 仪器与材料

Bruker AVANCE III 500 MHz 核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); Agilent G6230 TOF MS (美国 Agilent 公司); DFS 型快原子轰击离子源质谱仪 (Thermo Fisher Scientific 公司); LC-20AR 型制备型高效液相色谱仪 (日本岛津公司); LC-2030 型高效液相色谱仪 (日本岛津公司); REVELERIS X2 型中低压半制备型液相色谱仪 (美国格雷斯科戴维森公司); 爱朗 CCA-1112A 型旋转蒸发仪 [东京理化(上海)公司]; 分析天平 (德国赛多利斯股份公司); 分析型色谱柱 YMC-Pack ODS-A (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 半制备型色谱柱 YMC-Pack ODS-A (250 mm $\times$ 21.2 mm, S-5 μm); YMC 反相填料 (日本株式会社维美

希上海代表处); 柱色谱硅胶 (青岛海洋化工厂); 薄层色谱硅胶 G (烟台江友硅胶开发有限公司); Sephadex LH-20 (Pharmacia 公司); 乙腈、甲醇 (色谱纯, 赛默飞世尔科技有限公司); 其余试剂为国产分析纯 (西陇试剂有限公司); DMEM 培养基和胎牛血清 (Biological Industries 公司); Griess 试剂、LPS、NG-单甲基-L-精氨酸乙酸盐 (L-NMMA, Sigma 公司)。

实验用 RAW264.7 细胞购自中科院上海细胞库。东京银背藤 2021 年 5 月采于广西壮族自治区河池市大化县, 经广西中医药大学梁子宁教授鉴定为旋花科银背藤属植物东京银背藤 *A. pierreana* Bois 的藤和叶, 标本 (AP2105) 存放于广西中医药大学药学院中药化学教研室。

2 方法

2.1 提取与分离

干燥东京银背藤粗粉 15.0 kg, 用 80%乙醇浸提 3 次, 合并提取液浓缩得总浸膏 1 123.0 g。总浸膏用等量水悬浮, 依次用石油醚 (60~90 $^{\circ}\text{C}$)、氯仿、醋酸乙酯、正丁醇萃取, 回收溶剂后得到石油醚部位浸膏 (108.0 g)、氯仿部位浸膏 (86.5 g)、醋酸乙酯部位浸膏 (112.7 g)、正丁醇部位浸膏 (367.0 g)。

醋酸乙酯部位浸膏 112.7 g, 经硅胶柱色谱分离, 洗脱剂梯度为石油醚 $\rightarrow$ 石油醚-醋酸乙酯 (90:10 $\rightarrow$ 80:20 $\rightarrow$ 70:30 $\rightarrow$ 60:40 $\rightarrow$ 50:50) $\rightarrow$ 醋酸乙酯, 得到 9 个组分 Fr. y1~y9。Fr. y4 (3.9 g) 经 C_{18} 柱色谱分离, 用 20%~100%甲醇水梯度洗脱, 得到 14 个组分 Fr. y4-1~y4-14。Fr. y4-4 用 Sephadex LH-20 柱色谱和半制备液相色谱 (甲醇-0.1%甲酸水 30:70, 2 mL/min) 分离, 得到化合物 **3** (25.0 mg, t_{R} =40.5 min) 和 **5** (3.5 mg, t_{R} =57.8 min); Fr. y4-6 经半制备液相色谱 (甲醇-水 46:54, 2 mL/min) 分离, 得到化合物 **7** (30.0 mg, t_{R} =21.1 min); Fr. y4-7 经半制备液相色谱 (甲醇-水 48:52, 2 mL/min) 分离, 得到化合物 **9** (4.3 mg, t_{R} =29.4 min) 和 **8** (20.3 mg, t_{R} =34.5 min); Fr. y4-10 经半制备液相色谱 (甲醇-水 60:40, 2 mL/min) 分离, 得到化合物 **2** (7.3 mg, t_{R} =35.4 min) 和 **1** (3.0 mg, t_{R} =42.3 min); Fr. y5 (13.9 g) 经 C_{18} 柱色谱分离, 用 30%~100%甲醇梯度洗脱, 得到 13 个组分 Fr. y5-1~y5-13。其中, Fr. y5-1 经硅胶柱色谱分离, 洗脱梯度为石油醚 $\rightarrow$ 石油醚-醋酸乙酯 (70:30 $\rightarrow$ 65:35 $\rightarrow$ 60:40 $\rightarrow$ 55:45 $\rightarrow$ 50:50) $\rightarrow$ 醋酸乙酯, 得到 4 个组分

Fr. y5-1-1~y5-1-4, Fr. y5-1-2 用 Sephadex LH-20 柱色谱和半制备液相色谱(甲醇-0.1%甲酸水 25:75, 2 mL/min)分离,得到化合物 **13** (11.8 mg, t_R =45.8 min); Fr. y5-2 经硅胶柱色谱分离,石油醚→石油醚-醋酸乙酯(80:20→70:30→60:40→55:45→50:50→45:55→40:60→35:75)→醋酸乙酯梯度洗脱,得到 5 个组分 Fr. y5-2-1~y5-2-5, Fr. y5-2-2 用 Sephadex LH-20 柱色谱和半制备液相色谱(甲醇-0.1%甲酸水 15:85, 2 mL/min)分离,得到化合物 **4** (9.5 mg, t_R =27.5 min)、**10** (9.0 mg, t_R =35.6 min)、**11** (38.6 mg, t_R =53.52 min); Fr. y5-2-5 用 Sephadex LH-20 柱色谱和半制备液相色谱(甲醇-0.1%甲酸水 25:75, 2 mL/min)分离,得到化合物 **12** (8.0 mg, t_R =47.5 min)。Fr. y5-4 用 Sephadex LH-20 柱色谱和半制备液相色谱(甲醇-水 40:60, 2 mL/min)分离,得到化合物 **6** (16.6 mg, t_R =36.0 min)。

2.2 活性测试

将 RAW264.7 细胞接种至 96 孔板,用 1 μ g/mL LPS 进行诱导刺激,同时加入待测化合物(终浓度 50 μ mol/L)处理,同时设置不含药物组和 L-NMMA 阳性药物组。细胞过夜培养后取培养基检测 NO 生成,在 570 nm 处测定吸光度(A)值。在剩余培养基中加入 MTS 进行细胞存活率检测,排除化合物对细胞的毒性影响。并利用 Reed & Muench 法计算半数抑制浓度(median inhibition concentration, IC_{50})。

$$NO \text{ 生成抑制率} = (A_{\text{非药物处理}} - A_{\text{样品}}) / A_{\text{非药物处理}}$$

3 结构鉴定

化合物 **1**: 无色透明针状结晶(甲醇), HR-ESI-MS 显示准分子离子峰 m/z : 395.113 1 $[M+H]^+$ (计算值 395.113 1), 推测其分子式为 $C_{22}H_{18}O_7$, 不饱和度为 14。

1H -NMR (500 MHz, acetone- d_6) 谱(表 1)显示 3 个芳香环质子信号 [δ_H 7.47 (1H, s), 7.41 (1H, s), 6.69 (1H, s)], 2 个顺式烯烃质子信号 [δ_H 6.75 (1H, d, J =10.1 Hz), 5.93 (1H, d, J =10.1 Hz)], 2 个甲氧基质子信号 [δ_H 4.04 (3H, s), 4.00 (3H, s)], 以及 2 个甲基质子信号 [δ_H 1.49 (6H, s)]。 ^{13}C -NMR 谱和 DEPT 谱显示 22 个碳信号, 包括 2 个甲基、2 个甲氧基、5 个次甲基以及 13 个季碳信号。综合化合物 **1** 的 1H -NMR、 ^{13}C -NMR 和 HSQC 谱信息, 对其碳氢信号进行了全归属, 见表 1。

查阅文献发现, 该化合物的核磁数据与豆科植物毛茛子梢 *Campylotropis hirtella* (Franch.) Schindl.

中分离得到的 coumestan 类化合物 hirtellanes B 较为相似^[11]。化合物 **1** 比 hirtellanes B 多了 1 个甲氧基信号, 结合 HMBC 谱(图 1), 该甲氧基信号(δ_H 4.00)与 C-9 (δ_C 148.7)相关, 且 NOESY 谱显示甲氧基信号(δ_H 4.00)与苯环 H-10 (δ_H 7.47)相关, 提示该甲氧基信号取代在 C-9 位。因此, 确定化合物 **1** 为 8-羟基-1,9-二甲氧基-[2',2'-二甲基吡喃(5',6':2,3)]香豆酮并色酮, 结构如图 2 所示, 命名为银背藤内酯(argyrolactone)。

表 1 化合物 **1** 的 1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据 (500/125 MHz, acetone- d_6)

Table 1 1H -NMR and ^{13}C -NMR data of compound **1** (500/125 MHz, acetone- d_6)

碳位	δ_H	δ_C
1		152.2
2		113.3
3		157.5
4	6.69 (1H, s)	101.9
4a		155.5
6		158.2
6a		104.6
6b		116.4
7	7.41 (1H, s)	105.6
8		146.4
9		148.7
10	7.47 (1H, s)	96.7
10a		150.6
11a		159.0
11b		102.7
2'		78.5
3'	5.93 (1H, d, J =10.1 Hz)	132.1
4'	6.75 (1H, d, J =10.1 Hz)	116.2
2'-CH ₃	1.49 (3H, s)	28.3
2'-CH ₃	1.49 (3H, s)	28.3
1-OCH ₃	4.04 (3H, s)	63.6
9-OCH ₃	4.00 (3H, s)	56.9

化合物 **2**: 白色无定型粉末, ESI-MS m/z : 379.1 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{19}H_{16}O_7$ 。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.95 (1H, d, J =8.0 Hz, H-5'), 6.92 (1H, d, J =1.7 Hz, H-2'), 6.83 (1H, dd, J =8.0, 1.7 Hz, H-6'), 6.65 (1H, d, J =2.4 Hz, H-8), 6.54 (1H, d, J =2.4 Hz, H-6), 6.05 (2H, s, -O-CH₂-O-), 3.88 (3H, s, 7-OCH₃), 3.86 (3H, s, 5-OCH₃), 3.47 (3H, s, 4-OCH₃); ^{13}C -NMR

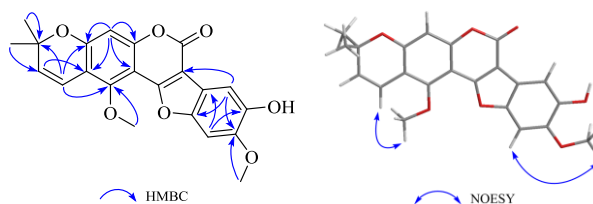


图 1 化合物 1 的关键 HMBC 和 NOESY 相关

Fig. 1 Key HMBC and NOESY correlations of compound 1

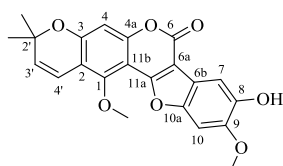


图 2 化合物 1 的结构

Fig. 2 Structure of compound 1

(125 MHz, CD₃OD) δ : 163.5 (C-2), 101.5 (C-3), 165.7 (C-4), 96.4 (C-4a), 156.2 (C-5), 93.9 (C-6), 158.3 (C-7), 101.3 (C-8), 162.3 (C-8a), 125.9 (C-1'), 111.4 (C-2'), 147.2 (C-3'), 147.0 (C-4'), 112.7 (C-5'), 124.7 (C-6'), 108.3 (-O-CH₂-O-), 56.5 (4-OCH₃), 61.3 (5-OCH₃), 57.0 (7-OCH₃). 以上波谱数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 2 为 derrusnin。

化合物 3: 白色无定型粉末, ESI-MS m/z : 215.0 [M+Na]⁺, 分子为 C₁₀H₈O₄。 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.85 (1H, d, J = 9.4 Hz, H-4), 7.10 (1H, s, H-5), 6.76 (1H, s, H-8), 6.20 (1H, d, J = 9.4 Hz, H-3), 3.90 (3H, s, 6-OCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 164.1 (C-2), 109.8 (C-3), 147.1 (C-4), 112.5 (C-5), 146.1 (C-6), 153.1 (C-7), 103.9 (C-8), 151.4 (C-9), 112.5 (C-10), 56.7 (6-OCH₃)。以上波谱数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 3 为东莨菪内酯。

化合物 4: 棕色粉末, ESI-MS m/z : 275.1 [M-H]⁻, 分子式为 C₁₄H₁₂O₆。 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 9.69 (1H, s, 6-CHO), 7.31 (1H, s, H-2), 7.29 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5), 6.91 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-4), 6.85 (1H, s, H-2'), 6.74 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-6'), 6.71 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 5.21 (1H, s, H-7); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 147.2 (C-1), 115.3 (C-2), 153.8 (C-3), 116.2 (C-4), 126.4 (C-5), 130.1 (C-6), 104.8 (C-7), 131.1 (C-1'), 114.8 (C-2'), 146.6 (C-3'), 146.1 (C-4'), 115.8 (C-5'), 119.5 (C-6'), 193.1 (6-CHO)。以上波谱数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 4 为 caesalpiniaphenol D。

化合物 5: 无色油状液体, EI-MS m/z : 194.0 [M]⁺, 分子式为 C₁₀H₁₀O₄。 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.57 (1H, t, J = 7.9 Hz, H-7), 7.08 (1H, t, J = 7.5 Hz, H-8), 6.94 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-6), 4.56 (2H, m, H-2, 3), 1.47 (3H, d, J = 6.2 Hz, H-2a); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 81.6 (C-2), 69.5 (C-3), 170.2 (C-4), 108.0 (C-4a), 162.9 (C-5), 117.8 (C-6), 137.8 (C-7), 117.7 (C-8), 144.1 (C-8a), 18.2 (C-2a)。以上波谱数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 5 为 (-)-gynuraone。

化合物 6: 白色粉末, ESI-MS m/z : 193.1 [M-H]⁻, 分子式 C₁₀H₁₀O₄。 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.54 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-7), 7.03 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-2), 6.93 (1H, dd, J = 8.2, 2.1 Hz, H-6), 6.77 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5), 6.25 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-8), 3.75 (3H, s, H-10); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 126.3 (C-1), 113.7 (C-2), 145.4 (C-3), 148.2 (C-4), 115.1 (C-5), 121.5 (C-6), 145.5 (C-7), 113.4 (C-8), 168.4 (C-9), 50.6 (C-10)。以上波谱数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 6 为咖啡酸甲酯。

化合物 7: 白色粉末, ESI-MS m/z : 207.1 [M-H]⁻, 分子式 C₁₁H₁₂O₄。 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.54 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-7), 7.06 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2), 6.94 (1H, dd, J = 8.2, 2.0 Hz, H-6), 6.80 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5), 6.24 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-8), 4.20 (2H, q, J = 7.1 Hz, H-10), 1.30 (3H, t, J = 7.1 Hz, H-11); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 127.7 (C-1), 115.2 (C-2), 144.6 (C-3), 149.4 (C-4), 115.2 (C-5), 122.9 (C-6), 146.6 (C-7), 116.5 (C-8), 169.3 (C-9), 61.4 (C-10), 14.6 (C-11)。以上波谱数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 7 为咖啡酸乙酯。

化合物 8: 白色粉末, ESI-MS m/z : 245.1 [M+Na]⁺, 分子式为 C₁₂H₁₄O₄。 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.54 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-7), 7.12 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-2), 7.01 (1H, dd, J = 8.2, 1.9 Hz, H-6),

6.75 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5), 6.29 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8), 4.16 (2H, q, $J = 7.1$ Hz, H-10), 3.83 (3H, s, 3-OCH₃), 1.26 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, H-11); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 127.6 (C-1), 115.6 (C-2), 149.4 (C-3), 150.6 (C-4), 116.5 (C-5), 124.0 (C-6), 146.6 (C-7), 111.6 (C-8), 169.3 (C-9), 61.4 (C-10), 14.6 (C-11), 56.4 (3-OCH₃)。以上波谱数据与文献报道一致^[18], 故鉴定化合物 **8** 为阿魏酸乙酯。

化合物 **9**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 191.1 [M-H]⁻, 分子式为 C₁₁H₁₂O₃。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.58 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-7), 7.43 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2, 6), 6.78 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3, 5), 6.29 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8), 4.19 (2H, q, $J = 7.1$ Hz, H-1'), 1.29 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, H-11); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 127.2 (C-1), 131.1 (C-2, 6), 116.8 (C-3, 5), 161.3 (C-4), 146.4 (C-7), 115.3 (C-8), 169.3 (C-9), 61.4 (C-10), 14.6 (C-11)。以上波谱数据与文献报道一致^[19], 故鉴定化合物 **9** 为反式对羟基肉桂酸乙酯。

化合物 **10**: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 137.0 [M-H]⁻, 分子式为 C₇H₆O₃。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.87 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2, 6), 6.81 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3, 5); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 122.8 (C-1), 133.0 (C-2, 6), 116.0 (C-3, 5), 163.3 (C-4), 170.2 (C-7)。以上波谱数据与文献报道一致^[20], 故鉴定化合物 **10** 为对羟基苯甲酸。

化合物 **11**: 无色针状结晶 (甲醇), ESI-MS m/z : 167.0 [M-H]⁻, 分子式为 C₈H₈O₄。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.56 (1H, s, H-2), 7.55 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-6), 6.84 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-5), 3.87 (3H, s, H-8); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 123 (C-1), 113.7 (C-2), 152.6 (C-3), 148.5 (C-4), 115.8 (C-5), 125.2 (C-6), 170.0 (C-7), 56.3 (C-8)。以上波谱数据与文献报道一致^[20], 故鉴定化合物 **11** 为香草酸。

化合物 **12**: 淡黄色粉末, ESI-MS m/z : 179.0 [M-H]⁻, 分子式为 C₉H₈O₄。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.37 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-7), 6.99 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 6.92 (1H, dd, $J = 8.1, 2.0$ Hz, H-6), 6.72 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5), 6.13 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-8); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 125.7 (C-1), 115.2 (C-2), 145.5 (C-3), 148.1 (C-4), 114.6 (C-5), 121.1 (C-6), 144.6 (C-7), 115.8 (C-8), 167.9 (C-9)。以上波谱数据与文献报道一致^[21], 故鉴定化合物 **12** 为咖啡酸。

化合物 **13**: 无色针状结晶 (甲醇), ESI-MS m/z : 193.1 [M-H]⁻, 分子式为 C₁₀H₁₀O₄。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.59 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-7), 7.17 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 7.06 (1H, dd, $J = 8.1, 2.0$ Hz, H-6), 6.81 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5), 6.31 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8), 3.89 (3H, s, 3-OCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 127.8 (C-1), 116.4 (C-2), 150.4 (C-3), 149.3 (C-4), 116.1 (C-5), 123.9 (C-6), 146.8 (C-7), 111.7 (C-8), 171.1 (C-9), 56.4 (3-OCH₃)。以上波谱数据与文献报道一致^[22], 故鉴定化合物 **13** 为阿魏酸。

4 抗炎活性测试结果

对分离鉴定的化合物进行抗炎活性筛选, 初筛结果 (表 2) 显示 50 μ mol/L 下化合物 **4**、**6**、**8** 和 **9** 在对 NO 生成的抑制率大于 50%, 50 μ mol/L 浓度下化合物 **6** 对 RAW264.7 细胞有细胞毒性, 降低至 12.5 μ mol/L 时无明显的细胞毒性, 抑制率为 (65.13 $\pm$ 0.68)%, 其余化合物在 50 μ mol/L 均无明显抗炎活性。进一步测定化合物 **4**、**6**、**8** 和 **9** 的 IC₅₀, 结果如表 3 所示。

5 讨论

本研究从东京银背藤醋酸乙酯部位中分离鉴定了 13 个化合物, 主要为香豆素类和酚酸类成分, 其表 2 化合物对 RAW264.7 细胞 NO 释放的抑制率 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 2 Inhibition rate of compounds on release of NO in RAW264.7 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

化合物	抑制率/%	化合物	抑制率/%
L-NMMA	53.75 $\pm$ 1.28	7	46.15 $\pm$ 2.54
1	37.04 $\pm$ 3.73	8	54.65 $\pm$ 0.65
2	23.14 $\pm$ 1.48	9	51.70 $\pm$ 0.81
3	10.13 $\pm$ 2.22	10	-0.11 $\pm$ 2.59
4	51.64 $\pm$ 0.50	11	2.04 $\pm$ 0.56
5	-1.03 $\pm$ 2.60	12	2.35 $\pm$ 3.66
6	82.04 $\pm$ 1.13	13	4.20 $\pm$ 2.95

表 3 化合物抑制 RAW264.7 细胞生成 NO 的 IC₅₀ ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 3 IC₅₀ of compounds on inhibition of NO in RAW264.7 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

化合物	IC ₅₀ /(μ mol·L ⁻¹)
L-NMMA	41.11 $\pm$ 1.34
4	43.38 $\pm$ 0.44
6	4.95 $\pm$ 0.10
8	35.96 $\pm$ 0.31
9	42.77 $\pm$ 1.80

中化合物 **1** 为新的苯并呋喃[3,2-c]香豆素类化合物。其系统名称为 6*H*-苯并呋喃[3,2-c]苯并吡喃-6-酮,是具有 4 个环的内酯类化合物,其结构类似于香豆素、异黄酮和紫檀素。该类化合物主要从豆科、菊科和蝶形花科植物中分离得到^[23],目前尚未见旋花科植物有相关报道。化合物 **2**、**4**~**6**、**8**~**13** 为首次从该植物中分离得到,其中化合物 **4**、**6**、**8** 和 **9** 具有较好的抗炎活性,这些发现丰富了东京银背藤的化学成分库,为该药的临床应用提供科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第二十七卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1979: 128.
- [2] 滕红丽, 梅之南. 中国壮药资源名录 [M]. 北京: 中医古籍出版社, 2014: 290-291.
- [3] 黄瑞松. 壮药选编 (下册) [M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2019: 425.
- [4] 赵国平, 戴慎, 陈仁寿主编. 南京中医药大学编著. 中药大辞典 [M]. 第 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 3538.
- [5] 黎光南. 云南中药志 (I) [M]. 昆明: 云南科技出版社, 1990: 3.
- [6] 葛玉聪, 石瑞娟, 吴燕红, 等. 银背藤属植物化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中药材, 2018, 41(1): 233-238.
- [7] 卢汝梅, 廖广凤, 韦建华, 等. 壮药一匹绸根茎的化学成分 [J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(12): 2060-2063.
- [8] 卢汝梅, 王肖, 蒙秋艳, 等. 白鹤藤中的 1 个新生物碱 [J]. 中草药, 2018, 49(15): 3572-3575.
- [9] Li Y Q, Zhu X Y, Mo L Y, *et al.* Chemical constituents of the folk medicinal plant *Argyreia acuta* Lour. and their anti-inflammatory activity [J]. *Nat Prod Commun*, 2021, 16(9): 1934578X2110445.
- [10] Liao G F, Li Y Q, Teng M X, *et al.* Acutalourin and acutalourone: New metabolites isolated from folk medicinal plant *Argyreia acuta* Lour. [J]. *Chemistry Select*, 2023, 8(6): e202204006.
- [11] Shou Q Y, Tan Q, Shen Z W. Hirtellanines A and B, a pair of isomeric isoflavonoid derivatives from *Campylotropis hirtella* and their immunosuppressive activities [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19(13): 3389-3391.
- [12] 徐锦. 两粤黄檀化学成分研究 [D]. 南宁: 广西中医药大学, 2018.
- [13] 刘平平, 于会明, 田友清. 青蒿中 1 个新的木脂素类化合物 [J]. 中草药, 2020, 51(6): 1481-1484.
- [14] Cuong T D, Hung T M, Kim J C, *et al.* Phenolic compounds from *Caesalpinia sappan* heartwood and their anti-inflammatory activity [J]. *J Nat Prod*, 2012, 75(12): 2069-2075.
- [15] 张瑶, 陶美华, 陈玉婵, 等. 白木香内生真菌 *Botryosphae riarhodina* A13 固体发酵产物的分离鉴定 [J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(5): 799-803.
- [16] 杨丽媛, 王朝阳, 陈俊磊, 等. 牛耳朵全草中化学成分及其生物活性研究 [J]. 中草药, 2023, 54(11): 3430-3437.
- [17] 黄乐怡, 孙煜铮, 陈倩倩, 等. 白花败酱的化学成分研究 [J]. 中草药, 2021, 52(23): 7088-7095.
- [18] 金悦仙, 魏鸿雁, 马晓玲, 等. 伊犁贝母中化学成分及其体外抗肿瘤活性研究 [J]. 中草药, 2021, 52(6): 1562-1567.
- [19] 朱鸿, 张再, 黄文忠, 等. 光叶决明中 1 个新的二聚苯丙素类化合物 [J]. 中草药, 2020, 51(11): 2871-2877.
- [20] 甘杰, 韦微, 谭锦妮, 等. 壮药红花青藤中抑制 NO 生成的活性成分研究 [J]. 药学报, 2022, 57(6): 1849-1854.
- [21] 张彬, 曾国平, 熊校勤, 等. 侧蒿中一个新的桉烷型倍半萜及其肿瘤细胞毒活性 [J]. 药学报, 2021, 56(10): 2830-2834.
- [22] 张旭, 李敏, 王月, 等. 臭阿魏化学成分研究 [J]. 中草药, 2023, 54(8): 2373-2378.
- [23] 汤丽娜. 三氯化铁作用下合成 Coumestan 化合物的新方法 [D]. 天津: 天津大学, 2011.

[责任编辑 王文倩]