

• 化学成分 •

青蒿中咖啡酰奎宁酸类成分研究

李海波^{1,2}, 石丹枫^{3#}, 刘苓娴¹, 黄玉欣¹, 王振中², 姚新生¹, 肖伟^{2*}, 于洋^{1*}

1. 暨南大学中药及天然药物研究所, 广东省中药药效物质基础与创新药物研究重点实验室, 广东 广州 510632

2. 中药制药过程控制与智能制造技术全国重点实验室, 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

3. 徐州工业职业技术学院化学工程学院, 江苏 徐州 221140

摘要: 目的 对青蒿 *Artemisiae Annuae Herba* 中酚酸类成分进行系统研究。方法 综合应用各种现代色谱分离技术进行系统的分离纯化, 根据化合物的理化性质和核磁共振波谱数据进行结构鉴定, 并通过分子对接技术和酶活性检测的方法, 对分离得到的咖啡酰奎宁酸类化合物进行了靶向磷酸二酯酶的抑制活性研究。结果 从青蒿水提取物经 HP-20 大孔吸附树脂 50% 乙醇洗脱部位中共分离鉴定 20 个咖啡酰奎宁酸类化合物, 分别为 4-*O*-咖啡酰基-5-*O*-阿魏酰奎宁酸甲酯 (1)、3-*O*-阿魏酰奎宁酸 (2)、3-*O*-阿魏酰奎宁酸甲酯 (3)、4-*O*-阿魏酰奎宁酸甲酯 (4)、5-*O*-阿魏酰奎宁酸甲酯 (5)、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸 (6)、3-*O*-咖啡酰基-4-*O*-阿魏酰奎宁酸 (7)、3,4-*O*-二阿魏酰奎宁酸甲酯 (8)、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸 (9)、3-*O*-阿魏酰基-5-*O*-咖啡酰奎宁酸甲酯 (10)、1-*O*-咖啡酰基-3-*O*-阿魏酰奎宁酸 (11)、1,3-*O*-二阿魏酰奎宁酸 (12)、1,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸 (13)、1-*O*-咖啡酰基-5-*O*-阿魏酰奎宁酸 (14)、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸 (15)、4-*O*-阿魏酰基-5-*O*-咖啡酰奎宁酸 (16)、4-*O*-咖啡酰基-5-*O*-阿魏酰奎宁酸 (17)、4-*O*-阿魏酰基-5-*O*-咖啡酰奎宁酸甲酯 (18)、4,5-*O*-二阿魏酰奎宁酸 (19)、3,4,5-*O*-三咖啡酰取代奎宁酸 (20); 分离得到的奎宁酸类化合物对磷酸二酯酶的不同亚型蛋白具有较好的抑制潜力, 其中化合物 9 对磷酸二酯酶 PDE4B 的抑制活性半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 值在 0.36 μmol/L 左右。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为青蒿酸 A, 化合物 3~5、8、10~12、14、18 为首次从蒿属植物中分离得到, 该类化合物具有靶向抑制磷酸二酯酶的作用。

关键词: 青蒿; 4-*O*-阿魏酰基-5-*O*-咖啡酰奎宁酸甲酯; 青蒿酸 A; 3-*O*-阿魏酰奎宁酸甲酯; 3,4-*O*-二阿魏酰奎宁酸甲酯; 3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸; 磷酸二酯酶; 分子对接

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)16-5386-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.16.002

Study on caffeoylquinic acids from *Artemisiae Annuae Herba*LI Haibo^{1,2}, SHI Danfeng³, LIU Lingxian¹, HUANG Yuxin¹, WANG Zhenzhong², YAO Xinsheng¹, XIAO Wei², YU Yang¹

1. Guangdong Key Laboratory of Pharmacodynamic Constituents of Traditional Chinese Medicine and New Drugs Research, Institute of Traditional Chinese Medicine and Natural Products, Jinan University, Guangzhou 510632, China

2. State Key Laboratory of Chinese Medicine Pharmaceutical Process Control and Intelligent Manufacture Technologies, Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

3. School of Chemical Engineering, Xuzhou College of Industrial Technology, Xuzhou 221140, China

Abstract: Objective To study the phenolic acids from Qinghao (*Artemisiae Annuae Herba*). **Methods** The chemical constituents were isolated by various chromatographic techniques and their structures were elucidated by spectroscopic analyses and comparison of NMR data with those reported in literatures. The obtained compounds were further applied in the inhibition activity studies

收稿日期: 2024-05-10

基金项目: 江苏省基础研究计划自然科学基金-前沿引领技术基础研究专项 (SBK2023050003); 2021 年国家中医药管理局岐黄学者支持项目 (国中医药人教函 (2022) 6 号)

作者简介: 李海波, 女, 博士, 高级工程师, 硕士研究生导师, 研究方向为中药及天然药物的活性成分研究。E-mail: lihaibo1985124@sina.com

*通信作者: 于洋, 研究员, 硕士生导师, 研究方向为中药及天然药物活性成分研究, Tel: (020)5225849 E-mail: 1018yuyang@163.com

肖伟, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药新剂型的研究与开发。Tel: (020)5225849 E-mail: xw_kanion@163.com

targeted on phosphodiesterase through molecular docking technology and enzyme inhibitory activity assays. **Results** The water extract of *Artemisiae Annuae Herba* was subjected to HP-20 macroporous adsorption resin to yield 50% ethanol fraction. Twenty caffeoylquinic acids were obtained and characterized as 4-*O*-caffeoyl-5-*O*-feruloylquinic methyl ester (1), 3-*O*-feruloylquinic acid (2), 3-*O*-feruloylquinic methyl ester (3), 4-*O*-feruloylquinic methyl ester (4), 5-*O*-feruloylquinic methyl ester (5), 3,4-*O*-caffeoylquinic acid (6), 3-*O*-caffeoyl-4-*O*-feruloylquinic acid (7), 3,4-*O*-feruloylquinic methyl ester (8), 3,5-*O*-caffeoylquinic acid (9), 3-*O*-feruloyl-5-*O*-caffeoylquinic methyl ester (10), 1-*O*-caffeoyl-3-*O*-feruloylquinic acid (11), 1,3-*O*-feruloylquinic acid (12), 1,5-*O*-caffeoylquinic acid (13), 1-*O*-caffeoyl-5-*O*-feruloylquinic acid (14), 4,5-*O*-caffeoylquinic acid (15), 4-*O*-feruloyl-5-*O*-caffeoylquinic acid (16), 4-*O*-caffeoyl-5-*O*-feruloylquinic acid (17), 4-*O*-feruloyl-5-*O*-caffeoylquinic methyl ester (18), 4,5-*O*-feruloylquinic acid (19), 3,4,5-*O*-caffeoylquinic acid (20), respectively. The isolated caffeoylquinic acid compounds exhibited good inhibitory potential against different isoform proteins of phosphodiesterase family, with compound 9 showing an IC₅₀ value of 0.36 μmol/L for PDE4B inhibition. **Conclusion** Compound 1 is a new compound, named artemisinic acid A. Compounds 3—5, 8, 10—12, 14, 18 are identified from *Artemisia* genus for the first time. These compounds have a targeted inhibitory effect on phosphodiesterase.

Key words: *Artemisiae Annuae Herba*; 4-*O*-caffeoyl-5-*O*-feruloylquinic methyl ester; artemisinic acid A; 3-*O*-feruloylquinic methyl ester; 3,4-*O*-feruloylquinic methyl ester; 3,5-*O*-caffeoylquinic acid; phosphodiesterase; molecular docking

青蒿 *Artemisiae Annuae Herba* 为菊科 (Compositae) 蒿属 *Artemisia* L. 一年生草本植物黄花蒿 *Artemisia annua* L. 的干燥地上部分, 秋季花盛开时采割, 除老茎, 阴干^[1-2]。青蒿以全草入药, 其味苦、辛, 性寒, 归肝胆经, 具有清虚热、截疟、退黄等功效, 主要用于治疗温邪伤热、骨蒸劳热、疟疾等^[1]。主要分布在我国重庆、广西、四川等地, 越南和印度等国家也有少量分布^[3]。青蒿化学成分多样, 主要含有倍半萜、二萜、黄酮、苯丙酸、香豆素、黄酮和挥发油等成分, 具有抗疟疾、抗肿瘤、抑菌杀虫、解热抗炎、免疫调节等药理活性^[4]。课题组前期对青蒿水提取物经大孔树脂 95% 乙醇洗脱部位 (AA-3) 进行化学成分研究, 从中分离鉴定 37 个倍半萜类化合物, 包括 3 个具有新颖骨架的杜松烷倍半萜衍生物, 以及 21 个不同骨架类型的新的倍半萜类化合物^[5-7]; 50% 乙醇洗脱部位 (AA-2) 中分离鉴定 20 个不同结构类型化合物, 其中 1 个为新的生物碱^[8-9]。为了进一步丰富其化学多样性, 本实验对青蒿水提取物经 HP-20 (三菱化学聚苯乙烯二乙烯型) 大孔吸附树脂 50% 乙醇洗脱部位 (AA-2) 继续进行系统的化学成分研究, 从中分离鉴定了 20 个咖啡酰奎宁酸类化合物, 分别为 4-*O*-咖啡酰基-5-*O*-阿魏酰奎宁酸甲酯 (4-*O*-caffeoyl-5-*O*-feruloylquinic methyl ester, 1)、3-*O*-阿魏酰奎宁酸 (3-*O*-feruloylquinic acid, 2)、3-*O*-阿魏酰奎宁酸甲酯 (3-*O*-feruloylquinic methyl ester, 3)、4-*O*-阿魏酰奎宁酸甲酯 (4-*O*-feruloylquinic methyl ester, 4)、5-*O*-阿魏酰奎宁酸甲酯 (5-*O*-feruloylquinic methyl

ester, 5)、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸 (3,4-*O*-caffeoylquinic acid, 6)、3-*O*-咖啡酰基-4-*O*-阿魏酰奎宁酸 (3-*O*-caffeoyl-4-*O*-feruloylquinic acid, 7)、3,4-*O*-二阿魏酰奎宁酸甲酯 (3,4-*O*-feruloylquinic methyl ester, 8)、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸 (3,5-*O*-caffeoylquinic acid, 9)、3-*O*-阿魏酰基-5-*O*-咖啡酰奎宁酸甲酯 (3-*O*-feruloyl-5-*O*-caffeoylquinic methyl ester, 10)、1-*O*-咖啡酰基-3-*O*-阿魏酰奎宁酸 (1-*O*-caffeoyl-3-*O*-feruloylquinic acid, 11)、1,3-*O*-二阿魏酰奎宁酸 (1,3-*O*-feruloylquinic acid, 12)、1,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸 (1,5-*O*-caffeoylquinic acid, 13)、1-*O*-咖啡酰基-5-*O*-阿魏酰奎宁酸 (1-*O*-caffeoyl-5-*O*-feruloylquinic acid, 14)、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸 (4,5-*O*-caffeoylquinic acid, 15)、4-*O*-阿魏酰基-5-*O*-咖啡酰奎宁酸 (4-*O*-feruloyl-5-*O*-caffeoylquinic acid, 16)、4-*O*-咖啡酰基-5-*O*-阿魏酰奎宁酸 (4-*O*-caffeoyl-5-*O*-feruloylquinic acid, 17)、4-*O*-阿魏酰基-5-*O*-咖啡酰奎宁酸甲酯 (4-*O*-feruloyl-5-*O*-caffeoylquinic methyl ester, 18)、4,5-*O*-二阿魏酰奎宁酸 (4,5-*O*-feruloylquinic acid, 19)、3,4,5-*O*-三咖啡酰取代奎宁酸 (3,4,5-*O*-caffeoylquinic acid, 20), 其中化合物 1 为新化合物, 命名为青蒿酸 A; 化合物 3~5、8、10~12、14、18 为首次从蒿属植物中分离得到。采用分子对接技术对 20 个分离得到的化合物与磷酸二酯酶的 11 个亚型蛋白活性位点进行亲和力预测, 发现分离得到的咖啡酰奎宁酸类化合物对磷酸二酯酶的不同亚型蛋白具有较好的抑制潜力; 进一步通过酶水平抑制

活性检测确定 20 个化合物对磷酸二酯酶 PDE4B 具有不同程度的抑制作用, 其中化合物 **9** 对 PDE4B 的抑制活性最佳, IC_{50} 值在 $0.36 \mu\text{mol/L}$ 。

1 仪器与材料

Brucker AVANCE 600 型核磁共振仪, Finnigan LCQ Advantage MAX 质谱仪, Waters Synapt G2 mass spectrometer 高分辨质谱仪, Shimadzu 分析高效液相色谱 [Shimadzu LC-6AD series pump equipped with a UV detector], Shimadzu 制备型高效液相色谱, P2000 旋光测定仪、FT/IR-480 plus 红外光谱仪 (KBr 压片)、JASCOV-550 紫外-可见光谱仪 (日本 Jasco 公司)。分析高效液相色谱柱为 Phenomenex Gemini (C_{18} , $250 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$), 制备高效液相色谱柱为 C_{18} 柱 ($250 \text{ mm} \times 20 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$, Nacalai tesque Inc., 日本)。薄层硅胶 GF₂₅₄ 和柱色谱硅胶 (青岛海洋化工厂), HP-20 (三菱化学聚苯乙烯二乙烯型) 大孔树脂 (Mitsubishi-Chemical, 日本), 反相 ODS 填料 (Merck 公司), Sephadex LH-20 填料 (Amersham Biosciences 公司), Toyo-pearl HW-40 填料 (Toyo Soda MFG), 多功能酶标仪 (Synergy HTX, Bio Tek 公司, 美国), PDE4B2 Assay Kit 试剂盒 (目录号 60343; BPS Bioscience 公司), Apremilast 化合物 (MCE 公司)。

青蒿药材 110 kg, 2014 年在江西吉安药材市场购买, 药材经江苏康缘药业股份有限公司吴舟教授鉴定为黄花蒿 *A. annua* L. 的干燥地上部分, 样品标本 (2014AA206) 现保存于暨南大学药学院天然及药物研究所。

2 方法

2.1 提取与分离

青蒿干燥地上部分 100 kg, 经 3 倍量水热回流提取 2 次, 每次 2 h, 合并提取液, 减压浓缩之后, 加入 95% 乙醇调至醇浓度 80%, 静置过夜, 收集上清液减压浓缩得到总浸膏 5.2 kg。总浸膏用适量水分散后, 经大孔吸附树脂 HP-20 柱色谱, 水、50% 乙醇-水、95% 乙醇-水梯度洗脱, 得到水洗脱部位 (AA-1) 3.2 kg, 50% 乙醇洗脱部位 (AA-2) 1.4 kg, 95% 乙醇洗脱部位 (AA-3) 240 g。取 50% 乙醇水洗脱部分 AA-2 (325 g) 进行硅胶柱色谱 ($8.5 \text{ cm} \times 110 \text{ cm}$) 分离, 二氯甲烷-甲醇 (9:1、8:2、7:3、6:4、1:1、4:6、3:7、0:100) 梯度洗脱得到 Fr. 2A~2K 共 11 个流分。Fr. 2I 经硅胶柱色谱 ($4.5 \text{ cm} \times 37.5 \text{ cm}$) 分离, 二氯甲烷-甲醇 (9:1、8:2、7:3、6:

4、1:1、4:6、3:7、0:100) 梯度洗脱得到 Fr. 2I1~2I6。Fr. 2I4 经 ODS 柱色谱 ($2.5 \text{ cm} \times 26.5 \text{ cm}$) 分离, 甲醇-水 (30%、35%、40%、45%、50%、60%、100%) 梯度洗脱得到 8 个流分 Fr. 2I4A~2I4H。Fr. 2I4A~2I4H 分别经半制备液相纯化得到化合物 **2** [10.0 mg, $t_R=10.3 \text{ min}$, 20% 甲醇-水 (0.1% 甲酸)], **19** [17.3 mg, $t_R=15.6 \text{ min}$, 35% 甲醇-水 (0.1% 甲酸)], **11** [39.4 mg, $t_R=16.1 \text{ min}$, 30% 甲醇-水 (0.1% 甲酸)], **13** [40.0 mg, $t_R=17.3 \text{ min}$, 35% 甲醇-水 (0.1% 甲酸)], **14** [10.0 mg, $t_R=16.9 \text{ min}$, 35% 甲醇-水 (0.1% 甲酸)], **15** [49.9 mg, $t_R=18.2 \text{ min}$, 35% 甲醇-水 (0.1% 甲酸)], **16** [16.9 mg, $t_R=16.4 \text{ min}$, 35% 甲醇-水 (0.1% 甲酸)], **17** [21.1 mg, $t_R=18.1 \text{ min}$, 35% 甲醇-水 (0.1% 甲酸)], **20** [12.1 mg, $t_R=15.9 \text{ min}$, 50% 甲醇-水 (0.1% 甲酸)]。Fr. 2H 经硅胶柱色谱 ($\phi 5.0 \times 50.0 \text{ cm}$) 分离, 二氯甲烷-甲醇 (9:1、8:2、7:3、6:4、1:1、4:6、3:7、0:100) 梯度洗脱得到 6 个流分 Fr. 2H1~2H6。Fr. 2H1 经 ODS 柱色谱 ($1.5 \text{ cm} \times 37.0 \text{ cm}$) 分离, 甲醇-水 (30%、35%、40%、45%、50%、60%、100%) 梯度洗脱得到 10 个流分 Fr. 2H1A~2H1J。Fr. 2H1E、2H1I 和 2H1J 分别经半制备液相纯化得到化合物 **1** [32.0 mg, $t_R=17.1 \text{ min}$, 40% 甲醇-水 (0.1% 甲酸)], **4** [15.5 mg, $t_R=16.7 \text{ min}$, 35% 甲醇-水 (0.1% 甲酸)], **5** [20.5 mg, $t_R=19.1 \text{ min}$, 35% 甲醇-水 (0.1% 甲酸)], **8** [10.7 mg, $t_R=17.9 \text{ min}$, 40% 甲醇-水 (0.1% 甲酸)], **18** [12.9 mg, $t_R=18.5 \text{ min}$, 40% 甲醇-水 (0.1% 甲酸)]。Fr. 2H2 经 ODS 柱色谱 ($1.5 \text{ cm} \times 35.5 \text{ cm}$) 分离, 甲醇-水 (30%、35%、40%、45%、50%) 梯度洗脱得到 7 个流分 Fr. 2H2A~2H2G。Fr. 2H2B 和 2H2G 分别经半制备液相纯化得到化合物 **3** [4.1 mg, $t_R=10.9 \text{ min}$, 25% 甲醇-水 (0.1% 甲酸)] 和 **10** [9.0 mg, $t_R=14.9 \text{ min}$, 50% 甲醇-水 (0.1% 甲酸)]。Fr. 2H3 经 ODS 柱色谱 ($4.0 \text{ cm} \times 22.0 \text{ cm}$) 分离, 甲醇-水 (30%、35%、40%) 梯度洗脱得到 7 个流分 Fr. 2H3A~2H3G。Fr. 2H3D 经半制备液相纯化得到化合物 **12** [53.3 mg, $t_R=16.9 \text{ min}$, 35% 甲醇-水 (0.1% 甲酸)]。Fr. 2H4 经 ODS 柱色谱 ($5.0 \text{ cm} \times 35.0 \text{ cm}$) 分离, 甲醇-水 (30%、35%、40%、50%、70%、90%、100%) 梯度洗脱得到 9 个流分 Fr. 2H4A~2H4I。Fr. 2H4G 经 ODS 柱色谱 ($1.5 \text{ cm} \times 40.5 \text{ cm}$) 分离, 甲醇-水 (30%) 等度洗脱得到 4 个流分 Fr. 2H4G1~2H4G4。Fr. 2H4G4 经半制备液

相 [30% 甲醇-水 (0.1% 甲酸)] 纯化得到化合物 **6** (54.6 mg, $t_R=15.6$ min)、**7** (16.8 mg, $t_R=17.2$ min) 和 **9** (17.3 mg, $t_R=18.5$ min)。

2.2 化合物与磷酸二酯酶蛋白靶标的亲和力预测

分子对接技术是基于锁钥模型的原理评估小分子化合物与靶标蛋白亲和力有效方法^[10]。本实验用到的 11 个亚型蛋白的三维结构从 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 下载获得, PDB 编号依次为 5UOY、5U00、1SO2、3TVX、4KP6、1Y2K、1XOZ、1ZKL、3ECN、3QI3、4LM4。20 个咖啡酰奎宁酸类分子的准确三维结构在 Chemdraw 软件中转化得到。各蛋白晶体结构的加氢、侧链补全和结构优化在 Schrödinger 软件中进行, 并基于晶体复合物自带配体的中心来定义小分子的结合口袋。20 个化合物结构在 Ligprep 模块中采用 MMFFs 力场进行预处理。11 个蛋白亚型活性口袋与 20 个化合物的分子对接过程在 Glide 模块中完成, 采用 SP 的对接协议, 得到小分子与蛋白中间的亲和力预测结果。

2.3 化合物抑制 PDE4B 活性检测

酶活性检测实验中, 基于 PDE4B 催化生成的荧光核苷酸单磷酸与结合剂作用发射高度极化的偏振光, 通过荧光偏振检测来识别 PDE4B 的活性抑制剂。除了使用阿普司特作为阳性对照外, 测试了分离得到的 20 个化合物在浓度 20 $\mu\text{mol/L}$ 时的抑制活性, 并测试了活性最佳化合物的 IC_{50} 数值。活性测定过程按照试剂盒 (BPS Bioscience) 说明书进行。测试化合物在测定缓冲液中以 10% DMSO 制备, 并向 50 μL 的反应体系中加入 5 μL 稀释液, 以便最终 DMSO 浓度在所有反应中为 1%。活性测试组为包含 PDE4B 测定缓冲液、100 nmol/L FAM-cAMP、PDE4B 酶和待测化合物的 50 μL 混合物。相比活性测试组, 对照组中待测化合物被等体积的缓冲液替代; 底物对照组中 PDE4B 酶和待测化合物均被等体积的缓冲液替代。酶反应过程在室温下进行 1 h。之后, 向每个反应中加入 100 μL 结合溶液 (结合剂与结合剂稀释剂 1:100 稀释), 并在室温下反应 1 h。使用微孔板读数仪在 480 nm 的激发波长和 535 nm 的发射波长下测量荧光发光数值。利用公式计算抑制率, 其中 FP 是测试化合物的荧光偏振。绘制了活性与对数浓度的图表, 并使用 GraphPad Prism 软件的非线性回归曲线拟合方法确定 IC_{50} 值。

$$\text{抑制率} = 1 - (\text{FP}_{\text{活性测试}} - \text{FP}_{\text{底物对照}}) / (\text{FP}_{\text{对照}} - \text{FP}_{\text{底物对照}})$$

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 **1**: 棕色无定型粉末。HR-ESI-MS 给出 m/z 545.165 0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (计算值为 545.165 9), 确定分子式为 $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{O}_{12}$, 计算不饱和度为 14。UV (MeOH) 图谱 λ_{max} ($\log \epsilon$): 204 (3.61), 328 (3.38) nm 为共轭苯环特征吸收峰。IR (KBr) 图谱 ν_{max} 3 389 cm^{-1} 为羟基特征吸收峰, 1 701 cm^{-1} 为羰基特征吸收峰, 1 601、1 518 cm^{-1} 为芳香苯环特性吸收峰。

^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) 图谱显示 2 组反式烯烃氢信号 [δ_{H} 7.60 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-3'), 7.56 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-3''), 6.30 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-2'), 6.28 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-2'')]; 2 组 1,2,4-三取代苯环氢信号 [δ_{H} 7.13 (1H, d, $J=1.9$ Hz, H-5''), 7.04 (1H, dd, $J=8.2, 1.9$ Hz, H-9''), 7.03 (1H, d, $J=1.9$ Hz, H-5'), 6.93 (1H, dd, $J=8.2, 1.9$ Hz, H-9'), 6.78 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-8'), 6.76 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-8'')]; 1 组奎宁酸结构特征氢信号 [δ_{H} 5.58 (1H, m, H-5), 5.11 (1H, dd, $J=8.3, 3.1$ Hz, H-4), 2.32 (1H, dd, $J=14.0, 3.3$ Hz, H-6a), 2.26 (2H, overlapped, H-2a, 6b), 2.10 (1H, dd, $J=14.1, 6.0$ Hz, H-4)] 和 2 个甲氧基氢信号 [δ_{H} 3.85 (3H, s, 6''- OCH_3), 3.73 (3H, s, 7- OCH_3)].

^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) 结合 DEPT 135 图谱共显示 27 个碳信号, 包括 10 个季碳信号 (δ_{C} 175.2, 168.5, 168.3, 150.8, 149.7, 149.4, 146.8, 127.6, 127.5, 75.9), 13 个次甲基碳信号 (δ_{C} 147.7, 147.5, 124.2, 123.1, 116.5 $\times$ 2, 115.7, 115.0, 114.9, 111.7, 75.1, 69.0, 68.7), 2 个亚甲基碳信号 (δ_{C} 38.7, 38.4) 以及 2 个甲氧基碳信号 (δ_{C} 56.4, 53.1)。

^1H - ^1H COSY 谱 (图 1) 中, 可见 H₂-2/H-3/H-4/H-5/H₂-6 相关, 结合 HMBC 谱 (图 1) 中, H₂-2、H-5、H₂-6 均与 C-1 相关, 提示结构中存在奎宁酸结构片段。此外, HMBC 谱中可见 H-2''/C-1'', C-4''; H-3''/C-1'',

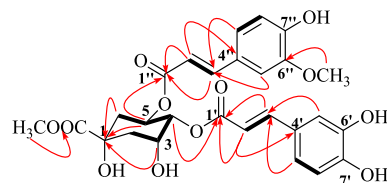


图 1 化合物 **1** 的主要 ^1H - ^1H COSY (—) 和 HMBC (—→) 相关

Fig. 1 Key ^1H - ^1H COSY (—) and HMBC (—→) correlations of compound **1**

C-5'', C-9''; H-9'', H-5''/C-3''; -OCH₃ (δ_{H} 3.85)/C-6''; H-2'/C-1', C-4'; H-3'/C-1', C-5', C-9'; H-9', H-5'/C-3' 相关, 推测结构中存在阿魏酰基和咖啡酰基结构片段。最后根据 HMBC 谱中 H-1/C-1'; H-5/C-1'' 以及 -OCH₃ (δ_{H} 3.73)/C-7 相关, 结合氢信号 [δ_{H} 5.58 (1H, m, H-5), 5.11 (1H, dd, J = 8.3, 3.1 Hz, H-4)] 明

显向低场位移也提示奎宁酸 4,5 位被酰基取代。综合以上信息, 得到化合物 **1** 的结构, 鉴定为 4-*O*-咖啡酰基-5-*O*-阿魏酰奎宁酸甲酯。经 SciFinder 检索, 未发现相关报道, 为 1 个新的咖啡酰奎宁酸类化合物, 命名为青蒿酸 **A**; 对其全部碳氢信号进行了归属, 见表 1。

表 1 化合物 1 的 ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) 和 ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD)
Table 1 ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) and ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) data of compound 1

碳位	δ_{C}	δ_{H}	碳位	δ_{C}	δ_{H}
1	75.9		8'	116.5	6.78 (d, J = 8.2 Hz)
2	38.4	2.26 (overlapped), 2.10 (dd, J = 14.1, 6.0 Hz)	9'	123.1	6.93 (dd, J = 8.2, 1.9 Hz)
3	68.7	4.35 (m)	1''	168.3	
4	75.1	5.11 (dd, J = 8.3, 3.1 Hz)	2''	115.0	6.28 (d, J = 15.9 Hz)
5	69.0	5.58 (m)	3''	147.5	7.56 (d, J = 15.9 Hz)
6	38.7	2.32 (dd, J = 14.0, 3.3 Hz), 2.26 (overlapped)	4''	127.5	
7	175.2		5''	111.7	7.13 (d, J = 1.9 Hz)
1'	168.5		6''	149.4	
2'	114.9	6.30 (d, J = 15.9 Hz)	7''	150.8	
3'	147.7	7.60 (d, J = 15.9 Hz)	8''	116.5	6.76 (d, J = 8.2 Hz)
4'	127.6		9''	124.2	7.04 (dd, J = 8.2, 1.9 Hz)
5'	115.2	7.03 (d, J = 1.9 Hz)	6''-OCH ₃	56.4	3.85 (s)
6'	146.8		7-OCH ₃	53.1	3.73 (s)
7'	149.7				

化合物 **2**: 棕色无定型粉末。HR-ESI-MS 给出 m/z 369.119 3 [$\text{M}+\text{H}$]⁺ (计算值为 369.118 6), 确定分子式为 C₁₇H₂₀O₉, 计算不饱和度为 8。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.65 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-3'), 7.18 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-5'), 7.07 (1H, dd, J = 8.1, 1.6 Hz, H-9'), 6.81 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-8'), 6.40 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-2'), 5.38 (1H, m, H-3), 4.14 (1H, td, J = 7.8, 2.5 Hz, H-5), 3.89 (3H, s, 6'-OCH₃), 3.68 (1H, dd, J = 7.8, 2.7 Hz, H-4), 2.19 (2H, m, H-2), 2.15 (1H, m, H-6a), 1.97 (1H, m, H-6b); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 175.8 (C-7), 168.9 (C-1'), 150.5 (C-7'), 149.3 (C-6'), 146.7 (C-3'), 128.0 (C-4'), 124.0 (C-9'), 116.4 (C-2'), 116.2 (C-8'), 111.7 (C-5'), 75.7 (C-1), 74.6 (C-4), 73.0 (C-3), 68.6 (C-5), 56.4 (6'-OCH₃), 41.2 (C-6), 36.8 (C-2)。氢谱、碳谱数据与文献报道的数据一致^[11], 故鉴定化合物 **2** 为 3-*O*-阿魏酰奎宁酸。

化合物 **3**: 棕色无定型粉末。HR-ESI-MS 给出 m/z 383.131 4 [$\text{M}+\text{H}$]⁺ (计算值为 383.134 2), 确定分子式为 C₁₈H₂₂O₉, 计算不饱和度为 8。¹H-NMR

(600 MHz, CD₃OD) δ : 7.65 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-3'), 7.19 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-5'), 7.07 (1H, dd, J = 8.4, 1.8 Hz, H-9'), 6.81 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-8'), 6.40 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-2'), 5.36 (1H, m, H-3), 4.12 (1H, td, J = 8.4, 4.0 Hz, H-5), 3.90 (3H, s, 6'-OCH₃), 3.73 (3H, s, 7-OCH₃), 3.68 (1H, dd, J = 7.7, 3.0 Hz, H-4), 2.20 (2H, m, H-2), 2.10 (1H, m, H-6a), 2.00 (1H, m, H-6b); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 176.4 (C-7), 168.9 (C-1'), 150.5 (C-7'), 149.4 (C-6'), 146.7 (C-3'), 127.9 (C-4'), 124.0 (C-9'), 116.5 (C-2'), 116.1 (C-8'), 111.7 (C-5'), 75.3 (C-1), 73.9 (C-4), 72.6 (C-3), 68.6 (C-5), 56.4 (6'-OCH₃), 52.9 (7-OCH₃), 40.8 (C-6), 36.4 (C-2)。氢谱、碳谱数据与文献报道的数据一致^[12], 故鉴定化合物 **3** 为 3-*O*-阿魏酰奎宁酸甲酯。

化合物 **4**: 棕色无定型粉末。HR-ESI-MS 给出 m/z 383.134 2 [$\text{M}+\text{H}$]⁺ (计算值为 383.134 2), 确定分子式为 C₁₈H₂₂O₉, 计算不饱和度为 8。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.71 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-3'), 7.21 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-5'), 7.10 (1H, dd, J = 8.2,

1.8 Hz, H-9'), 6.83 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-8'), 6.46 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-2'), 4.84 (1H, dd, $J = 8.7, 3.1$ Hz, H-4), 4.27 (1H, td, $J = 9.6, 3.6$ Hz, H-5), 4.31 (1H, m, H-3), 3.91 (3H, s, 6'-OCH₃), 3.73 (3H, s, 7-OCH₃), 2.17 (2H, m, H-2), 2.06 (2H, m, H₂-6); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 175.7 (C-7), 168.9 (C-1'), 150.6 (C-7'), 149.4 (C-6'), 147.0 (C-3'), 127.8 (C-4'), 124.1 (C-9'), 116.5 (C-8'), 115.7 (C-2'), 111.7 (C-5'), 78.5 (C-1), 76.4 (C-4), 69.0 (C-5), 65.7 (C-3), 56.4 (6'-OCH₃), 53.0 (7-OCH₃), 42.1 (C-6), 38.4 (C-2)。氢谱、碳谱数据与文献报道的数据一致^[13], 故鉴定化合物 **4** 为 4-*O*-阿魏酰奎宁酸甲酯。

化合物 **5**: 棕色无定型粉末。HR-ESI-MS 给出 m/z 383.134 8 [M+H]⁺ (计算值为 383.134 2), 确定分子式为 C₁₈H₂₂O₉, 计算不饱和度为 8。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.59 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-3'), 7.18 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-5'), 7.08 (1H, dd, $J = 8.2, 1.9$ Hz, H-9'), 6.82 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-8'), 6.32 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-2'), 5.30 (1H, td, $J = 7.9, 4.3$ Hz, H-5), 4.15 (1H, td, $J = 6.6, 3.3$ Hz, H-3), 3.74 (1H, dd, $J = 8.7, 3.1$ Hz, H-4), 3.89 (3H, s, 6'-OCH₃), 3.70 (3H, s, 7-OCH₃), 2.19 (1H, m, H-2a), 2.14 (1H, dd, $J = 13.3, 6.3$ Hz, H-2b), 2.22 (1H, m, H-6a), 2.02 (1H, dd, $J = 13.3, 8.4$ Hz, H-6b); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 175.5 (C-7), 168.3 (C-1'), 150.6 (C-7'), 149.4 (C-6'), 147.1 (C-3'), 127.6 (C-4'), 124.1 (C-9'), 116.5 (C-8'), 115.4 (C-2'), 111.7 (C-5'), 75.9 (C-1), 72.7 (C-4), 72.1 (C-3), 70.4 (C-5), 56.4 (6'-OCH₃), 53.0 (7-OCH₃), 38.0 (C-2, 6)。氢谱、碳谱数据与文献报道的数据一致^[13], 故鉴定化合物 **5** 为 5-*O*-阿魏酰奎宁酸甲酯。

化合物 **6**: 棕色无定型粉末。HR-ESI-MS 给出 m/z 517.135 2 [M+H]⁺ (计算值为 517.134 6), 确定分子式为 C₂₅H₂₄O₁₂, 计算不饱和度为 14。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.57 (1H, d, $J = 16.1$ Hz, H-3'), 7.54 (1H, d, $J = 16.1$ Hz, H-3'), 7.04 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-5'), 7.02 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-5'), 6.93 (1H, dd, $J = 8.2, 1.8$ Hz, H-9'), 6.87 (1H, dd, $J = 8.2, 1.8$ Hz, H-9'), 6.77 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-8'), 6.73 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-8'), 6.29 (1H, d, $J = 16.1$ Hz, H-2'), 6.24 (1H, d, $J = 16.1$ Hz, H-2'), 5.64 (1H, m, H-3), 5.02 (1H, dd, $J = 8.8, 3.3$ Hz, H-4), 4.37 (1H, td, $J = 9.4, 4.3$ Hz, H-5), 2.13~2.35 (4H, m, H-2, 6);

¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 178.2 (C-7), 168.5 (C-1'), 168.6 (C-1''), 149.6 (C-7', 7''), 146.7 (C-6'), 146.8 (C-6''), 147.4 (C-3''), 147.3 (C-3'), 127.8 (C-4''), 127.7 (C-4'), 123.2 (C-9''), 123.1 (C-9'), 116.4 (C-8'), 116.5 (C-8''), 115.1 (C-2'), 115.2 (C-2''), 114.9 (C-5'), 115.0 (C-5''), 76.4 (C-4), 75.3 (C-1), 70.1 (C-3), 65.9 (C-5), 41.8 (C-6), 37.0 (C-2)。氢谱、碳谱数据与文献报道的数据一致^[14], 故鉴定化合物 **6** 为 3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸。

化合物 **7**: 棕色无定型粉末。HR-ESI-MS 给出 m/z 553.130 1 [M+H]⁺ (计算值为 553.132 2), 确定分子式为 C₂₆H₂₆O₁₂, 计算不饱和度为 14。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.62 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-3'), 7.58 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-3''), 7.15 (1H, brs, H-5'), 7.06 (1H, brs, H-5''), 7.06 (1H, brd, $J = 8.2$ Hz, H-9'), 6.91 (1H, dd, $J = 8.2, 1.8$ Hz, H-9''), 6.81 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-8'), 6.76 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-8''), 6.39 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-2'), 6.28 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-2''), 5.67 (1H, m, H-3), 5.10 (1H, brd, $J = 7.8$ Hz, H-4), 4.31 (1H, m, H-5), 3.86 (3H, s, 6''-OCH₃), 2.17 (2H, m, H₂-6), 2.15 (2H, m, H₂-2); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 178.1 (C-7), 168.5 (C-1'), 168.4 (C-1''), 150.6 (C-7'), 146.8 (C-7''), 149.6 (C-6'), 149.3 (C-6''), 147.4 (C-3''), 147.2 (C-3'), 127.8 (C-4''), 127.7 (C-4'), 124.1 (C-9'), 123.2 (C-9''), 116.4 (C-8, 8''), 115.6 (C-2'), 115.1 (C-5'), 115.0 (C-2''), 111.7 (C-5'), 75.7 (C-4), 75.5 (C-1), 70.0 (C-3), 56.4 (6''-OCH₃), 66.5 (C-5), 40.5 (C-6), 37.4 (C-2)。氢谱、碳谱数据与文献报道的数据一致^[15], 故鉴定化合物 **7** 为 3-*O*-咖啡酰基-4-*O*-阿魏酰奎宁酸。

化合物 **8**: 棕色无定型粉末。HR-ESI-MS 给出 m/z 559.180 8 [M+H]⁺ (计算值为 559.181 6), 确定分子式为 C₂₈H₃₀O₁₂, 计算不饱和度为 14。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.62 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-3'), 7.59 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-3''), 7.14 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-5'), 7.11 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-5''), 7.05 (1H, dd, $J = 8.2, 1.8$ Hz, H-9'), 7.03 (1H, dd, $J = 8.2, 1.8$ Hz, H-9''), 6.79 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-8'), 6.77 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-8''), 6.38 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-2'), 6.35 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-2''), 5.64 (1H, dt, $J = 5.5, 3.8$ Hz, H-3), 5.05 (1H, brd, $J = 8.2, 3.3$ Hz, H-4), 4.33 (1H, td, $J = 8.5, 4.3$ Hz, H-5), 3.85 (3H, s, 6''-OCH₃), 3.80 (3H, s, 6'-OCH₃), 3.76 (3H, s, 7-OCH₃), 2.18 (2H,

m, H₂-6), 2.12 (2H, m, H₂-2); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 176.1 (C-7), 168.4 (C-1', 1''), 150.6 (C-7', 7''), 149.4 (C-6''), 149.3 (C-6'), 147.3 (C-3', 3''), 127.7 (C-4''), 127.6 (C-4'), 124.1 (C-9', 9''), 116.5 (C-8, 8''), 115.6 (C-2'), 115.3 (C-2''), 111.8 (C-5', 5''), 75.6 (C-4), 75.2 (C-1), 69.8 (C-3), 66.1 (C-5), 56.4 (6''-OCH₃), 56.3 (6'-OCH₃), 53.0 (7-OCH₃), 41.3 (C-6), 36.8 (C-2)。氢谱、碳谱数据与文献报道的数据一致^[16], 故鉴定化合物 **8** 为 3,4-*O*-二阿魏酰奎宁酸甲酯。

化合物 **9**: 棕色无定型粉末。HR-ESI-MS 给出 m/z 517.136 0 [M+H]⁺ (计算值为 517.134 6), 确定分子式为 C₂₅H₂₄O₁₂, 计算不饱和度为 14。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.62 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-3''), 7.58 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-3'), 7.09 (2H, brs, H-5', H-5''), 6.98 (2H, dd, J = 8.4, 1.2 Hz, H-9', H-9''), 6.81 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-8', H-8''), 6.37 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-2''), 6.28 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-2'), 5.43 (1H, m, H-3), 5.40 (1H, m, H-5), 3.98 (1H, dd, J = 7.4, 2.9 Hz, H-4), 2.18~2.33 (4H, m, H₂-6, 2); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 177.6 (C-7), 168.8 (C-1'), 168.4 (C-1''), 149.5 (C-7''), 149.4 (C-7'), 146.7 (C-6', 6''), 147.2 (C-3''), 147.0 (C-3'), 127.8 (C-4''), 127.7 (C-4'), 123.1 (C-9''), 123.0 (C-9'), 116.5 (C-8, 8''), 115.6 (C-5''), 115.3 (C-5'), 115.2 (C-2''), 115.1 (C-2'), 74.9 (C-1), 72.7 (C-5), 72.1 (C-3), 70.7 (C-4), 37.8 (C-6), 36.1 (C-2)。氢谱、碳谱数据与文献报道的数据一致^[14], 故鉴定化合物 **9** 为 3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸。

化合物 **10**: 棕色无定型粉末。HR-ESI-MS 给出 m/z 567.149 0 [M+H]⁺ (计算值为 567.147 8), 确定分子式为 C₂₇H₂₈O₁₂, 计算不饱和度为 14。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.70 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-3'), 7.54 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-3''), 7.21 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-5'), 7.09 (2H, dd, J = 8.2, 1.8 Hz, H-9'), 7.06 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-5''), 6.98 (1H, dd, J = 8.2, 1.8 Hz, H-9''), 6.81 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-8'), 6.79 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-8''), 6.45 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-2'), 6.23 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-2''), 5.41 (1H, m, H-3), 5.32 (1H, m, H-5), 3.98 (1H, dd, J = 6.2, 3.1 Hz, H-4), 3.90 (3H, s, 6'-OCH₃), 3.70 (3H, s, 7-OCH₃), 2.30 (1H, m, H-6a), 2.20 (1H, m, H-6b), 2.16 (2H, m, H-2); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 175.6 (C-7),

168.7 (C-1'), 167.9 (C-1''), 150.6 (C-7'), 149.8 (C-7''), 149.4 (C-6''), 149.3 (C-6'), 147.4 (C-3''), 147.0 (C-3'), 127.9 (C-4'), 127.6 (C-4''), 124.1 (C-9'), 123.1 (C-9''), 116.4 (C-8, 8''), 115.8 (C-2'), 115.7 (C-5'), 115.6 (C-5''), 115.1 (C-2''), 74.7 (C-1), 72.2 (C-3), 72.0 (C-5), 69.8 (C-4), 56.4 (6'-OCH₃), 53.0 (7-OCH₃), 37.8 (C-6), 36.1 (C-2)。氢谱、碳谱数据与文献报道的数据一致^[17], 故鉴定化合物 **10** 为 3-*O*-阿魏酰基-5-*O*-咖啡酰奎宁酸甲酯。

化合物 **11**: 棕色无定型粉末。HR-ESI-MS 给出 m/z 531.150 7 [M+H]⁺ (计算值为 531.150 3), 确定分子式为 C₂₆H₂₆O₁₂, 计算不饱和度为 14。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.52 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-3''), 7.47 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-3'), 6.94 (1H, d, J = 1.7 Hz, H-5'), 6.89 (1H, d, J = 1.2 Hz, H-5''), 6.78 (1H, dd, J = 8.4, 1.2 Hz, H-9''), 6.75 (1H, dd, J = 8.4, 1.7 Hz, H-9'), 6.68 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-8'), 6.62 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-8''), 6.24 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-2'), 6.19 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-2''), 5.40 (1H, m, H-3), 4.25 (1H, td, J = 10.2, 4.3 Hz, H-5), 3.66 (1H, m, H-4), 3.67 (3H, s, 6''-OCH₃), 2.96 (1H, brd, J = 15.6 Hz, H-2a), 2.34 (1H, dd, J = 15.6, 2.4 Hz, H-2b), 2.51 (1H, brd, J = 12.7 Hz, H-6a), 1.90 (1H, m, H-6b); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 175.4 (C-7), 168.9 (C-1''), 168.0 (C-1'), 150.4 (C-7''), 149.6 (C-7'), 149.1 (C-6'), 147.2 (C-3''), 147.0 (C-3'), 146.7 (C-6''), 127.6 (C-4'), 127.5 (C-4''), 123.9 (C-9''), 122.9 (C-9'), 116.5 (C-8''), 116.4 (C-8'), 115.8 (C-2'), 115.7 (C-2''), 115.2 (C-5'), 111.5 (C-5''), 82.2 (C-1), 75.4 (C-4), 73.2 (C-3), 68.3 (C-5), 56.1 (6''-OCH₃), 41.7 (C-6), 33.0 (C-2)。氢谱、碳谱数据结合 2D-NMR 确定化合物 **11** 为 1-*O*-咖啡酰基-3-*O*-阿魏酰奎宁酸, 首次报道了其核磁数据, 化合物结构见图 2。

化合物 **12**: 棕色无定型粉末。HR-ESI-MS 给出 m/z 545.165 7 [M+H]⁺ (计算值为 545.165 9), 确定分子式为 C₂₇H₂₈O₁₂, 计算不饱和度为 14。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.55 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-3''), 7.52 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-3'), 6.94 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-5'), 6.89 (1H, dd, J = 8.1, 1.6 Hz, H-9''), 6.85 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-5''), 6.77 (1H, dd, J = 8.1, 1.6 Hz, H-9'), 6.68 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-8'), 6.58 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-8''), 6.27 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-2'), 6.17 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-2''), 5.35 (1H,

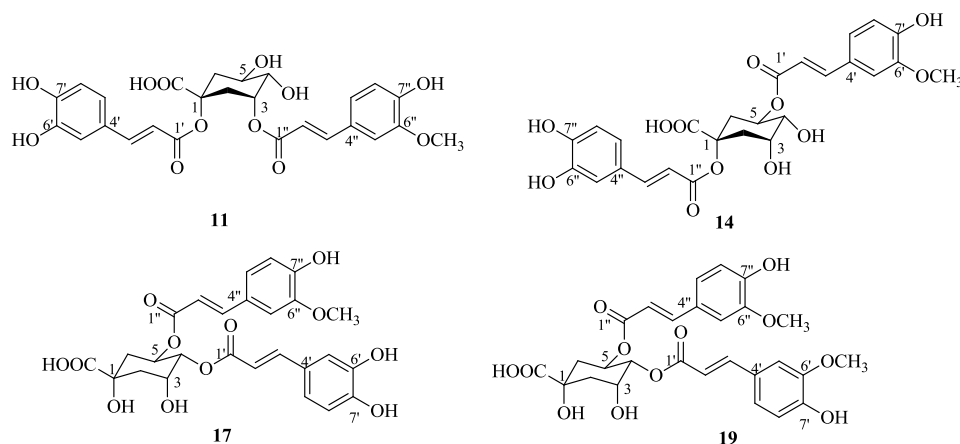


图 2 化合物 11、14、17 和 19 的结构

Fig. 2 Structures of compounds 11, 14, 17 and 19

m, H-3), 4.26 (1H, m, H-5), 3.64 (1H, dd, $J = 9.5, 3.5$ Hz, H-4), 3.69 (3H, s, 6'-OCH₃), 3.61 (3H, s, 6''-OCH₃), 2.98 (1H, brd, $J = 16.0$ Hz, H-2a), 2.31 (1H, dd, $J = 16.0, 2.8$ Hz, H-2b), 2.52 (1H, brd, $J = 13.3$ Hz, H-6a), 1.90 (1H, m, H-6b); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 175.3 (C-7), 168.8 (C-1'), 167.8 (C-1''), 150.6 (C-7'), 150.4 (C-7''), 149.2 (C-6'), 149.1 (C-6''), 147.2 (C-3'), 146.9 (C-3''), 127.5 (C-4', 4''), 124.1 (C-9'), 123.8 (C-9''), 116.4 (C-8'), 116.3 (C-8''), 115.9 (C-2'), 115.8 (C-2''), 111.6 (C-5'), 111.5 (C-5''), 81.7 (C-1), 75.3 (C-4), 73.3 (C-3), 68.0 (C-5), 56.2 (6'-OCH₃), 56.1 (6''-OCH₃), 41.5 (C-6), 32.8 (C-2)。氢谱、碳谱数据与文献报道的数据一致^[18], 故鉴定化合物 12 为 1,3-*O*-二阿魏酰奎宁酸。

化合物 13: 棕色无定型粉末。HR-ESI-MS 给出 m/z 517.134 5 [M+H]⁺ (计算值为 517.134 6), 确定分子式为 C₂₅H₂₄O₁₂, 计算不饱和度为 14。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.58 (2H, d, $J = 16.0$ Hz, H-3', 3''), 7.06 (2H, d, $J = 2.4$ Hz, H-5', 5''), 6.97 (2H, dd, $J = 8.1, 2.4$ Hz, H-9', 9''), 6.78 (2H, d, $J = 8.1$ Hz, H-8', 8''), 6.30 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-2'), 6.28 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-2''), 5.39 (1H, td, $J = 8.4, 3.6$ Hz, H-5), 4.28 (1H, m, H-3), 3.77 (1H, dd, $J = 8.2, 3.4$ Hz, H-4), 2.58 (1H, dd, $J = 13.8, 2.2$ Hz, H-6a), 2.49 (1H, dd, $J = 14.7, 4.2$ Hz, H-2a), 2.41 (1H, dd, $J = 14.5, 3.3$ Hz, H-2b), 2.06 (1H, m, H-6b); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 168.7 (C-1'), 168.0 (C-1''), 149.6 (C-7', 7''), 146.8 (C-6', 6''), 147.3 (C-3'), 147.2 (C-3''), 127.9 (C-4'), 127.8 (C-4''), 123.1 (C-9'), 123.0 (C-9''), 116.5 (C-8', 8''), 115.5 (C-2'), 115.2 (C-5', 5''),

115.1 (C-2''), 81.1 (C-1), 73.0 (C-4), 71.6 (C-5), 69.6 (C-3), 37.1 (C-6), 35.8 (C-2)。氢谱、碳谱数据与文献报道的数据一致^[19], 故鉴定化合物 13 为 1,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸。

化合物 14: 棕色无定型粉末。HR-ESI-MS 给出 m/z 531.150 0 [M+H]⁺ (计算值为 531.150 3), 确定分子式为 C₂₆H₂₆O₁₂, 计算不饱和度为 14。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.65 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-3''), 7.58 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-3'), 7.20 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-5''), 7.06 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-5'), 7.09 (1H, dd, $J = 8.2, 1.8$ Hz, H-9''), 6.96 (1H, dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, H-9'), 6.81 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-8'), 6.78 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-8''), 6.38 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-2''), 6.31 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-2'), 5.41 (1H, td, $J = 9.2, 4.1$ Hz, H-5), 4.27 (1H, m, H-3), 3.76 (1H, dd, $J = 8.5, 3.3$ Hz, H-4), 3.90 (3H, s, 6'-OCH₃), 2.61 (1H, brd, $J = 11.9$ Hz, H-2a), 2.55 (1H, dd, $J = 14.4, 3.0$ Hz, H-6a), 2.37 (1H, dd, $J = 12.4, 3.0$ Hz, H-2b), 2.05 (1H, m, H-6b); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 168.7 (C-1'), 168.1 (C-1''), 150.6 (C-7'), 149.5 (C-7''), 149.4 (C-6'), 146.8 (C-6''), 147.0 (C-3', 3''), 128.0 (C-4''), 127.8 (C-4'), 124.1 (C-9''), 123.0 (C-9'), 116.5 (C-8', 8''), 115.9 (C-2'), 115.7 (C-2''), 115.1 (C-5'), 111.8 (C-5''), 80.9 (C-1), 73.5 (C-4), 71.7 (C-5), 70.0 (C-3), 56.5 (6'-OCH₃), 37.5 (C-6), 36.1 (C-2)。氢谱、碳谱数据结合 2D-NMR, 确定化合物 14 为 1-*O*-咖啡酰基-5-*O*-阿魏酰奎宁酸, 并首次报道其核磁数据, 化合物结构见图 2。

化合物 15: 棕色无定型粉末。HR-ESI-MS 给出 m/z 517.134 7 [M+H]⁺ (计算值为 517.134 6),

确定分子式为 $C_{25}H_{24}O_{12}$ ，计算不饱和度为 14。¹H-NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.59 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-3''), 7.52 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-3'), 7.03 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-5''), 7.01 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-5'), 6.91 (1H, dd, $J = 8.2, 1.9$ Hz, H-9''), 6.90 (1H, dd, $J = 8.2, 1.8$ Hz, H-9'), 6.75 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-8''), 6.74 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-8'), 6.29 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-2''), 6.19 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-2'), 5.64 (1H, m, H-5), 5.13 (1H, dd, $J = 9.0, 2.4$ Hz, H-4), 4.38 (1H, m, H-3), 2.22~2.31 (4H, m, H-2, 6); ¹³C-NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 177.0 (C-7), 168.6 (C-1''), 168.3 (C-1'), 149.6 (C-7', 7''), 147.7 (C-3''), 147.6 (C-3'), 146.7 (C-6', 6''), 127.7 (C-4''), 127.6 (C-4'), 123.2 (C-9', 9''), 116.5 (C-8', 8''), 115.2 (C-5', 5''), 114.7 (C-2', 2''), 76.1 (C-1), 75.8 (C-4), 69.4 (C-3), 69.0 (C-5), 39.4 (C-6), 38.3 (C-2)。氢谱、碳谱数据与文献报道的数据一致^[14], 故鉴定化合物 **15** 为 4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸。

化合物 **16**: 棕色无定型粉末。HR-ESI-MS 给出 m/z 531.149 4 $[M+H]^+$ (计算值为 531.150 3), 确定分子式为 $C_{26}H_{26}O_{12}$ ，计算不饱和度为 14。¹H-NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.65 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-3''), 7.51 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-3'), 7.13 (1H, brs, H-5'), 6.99 (1H, brs, H-5''), 7.04 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-9'), 6.89 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-9''), 6.77 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-8'), 6.74 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-8''), 6.37 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-2''), 6.19 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-2''), 5.65 (1H, td, $J = 13.2, 4.2$ Hz, H-5), 5.13 (1H, dd, $J = 9.3, 2.8$ Hz, H-4), 4.37 (1H, m, H-3), 3.84 (3H, s, 6'-OCH₃), 2.20~2.31 (4H, m, H-2, 6); ¹³C-NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 178.0 (C-7), 168.6 (C-1'), 168.3 (C-1''), 150.7 (C-7'), 149.7 (C-7''), 147.5 (C-3', 3''), 147.3 (C-6'), 146.8 (C-6''), 127.7 (C-4'), 127.6 (C-4''), 124.2 (C-9''), 123.1 (C-9'), 116.5 (C-8'), 116.4 (C-8''), 115.2 (C-5'', 2'), 114.8 (C-2''), 111.7 (C-5'), 77.3 (C-1), 76.2 (C-4), 29.9 (C-5), 69.2 (C-3), 56.4 (6'-OCH₃), 39.8 (C-6), 38.6 (C-2)。氢谱、碳谱数据与文献报道的数据一致^[20], 故鉴定化合物 **16** 为 4-*O*-阿魏酰基-5-*O*-咖啡酰奎宁酸。

化合物 **17**: 棕色无定型粉末。HR-ESI-MS 给出 m/z 531.150 3 $[M+H]^+$ (计算值为 531.150 3), 确定分子式为 $C_{26}H_{26}O_{12}$ ，计算不饱和度为 14。¹H-NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.59 (1H, d, $J = 15.6$

Hz, H-3''), 7.56 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-3'), 7.10 (1H, s, H-5''), 7.01 (1H, s, H-5'), 7.00 (1H, m, H-9'), 6.91 (1H, brd, $J = 8.3$ Hz, H-9''), 6.76 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-8''), 6.74 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-8'), 6.29 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-2''), 6.27 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-2'), 5.68 (1H, m, H-5), 5.11 (1H, dd, $J = 9.4, 2.3$ Hz, H-4), 4.36 (1H, brs, H-3), 3.82 (3H, s, 6''-OCH₃), 2.18~2.31 (4H, m, H-2, 6); ¹³C-NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 177.3 (C-7), 168.6 (C-1'), 168.4 (C-1''), 150.6 (C-7''), 149.7 (C-7'), 147.7 (C-3''), 147.4 (C-3'), 146.8 (C-6'), 146.3 (C-6''), 127.7 (C-4', 4''), 124.2 (C-9''), 123.1 (C-9'), 116.5 (C-8''), 116.4 (C-8'), 115.2 (C-5', 2'), 114.8 (C-2'), 111.7 (C-5''), 77.1 (C-1), 76.4 (C-4), 70.0 (C-5), 69.2 (C-3), 56.4 (6''-OCH₃), 40.0 (C-6), 38.6 (C-2)。氢谱、碳谱数据结合 2D-NMR, 确定化合物 **17** 为 4-*O*-咖啡酰基-5-*O*-阿魏酰奎宁酸, 核磁数据为首次被报道, 化合物结构见图 2。

化合物 **18**: 棕色无定型粉末。HR-ESI-MS 给出 m/z 545.165 1 $[M+H]^+$ (计算值为 545.165 9), 确定分子式为 $C_{27}H_{28}O_{12}$ ，计算不饱和度为 14。¹H-NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.67 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-3''), 7.50 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-3'), 7.16 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-5'), 7.01 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-5''), 7.05 (1H, dd, $J = 8.2, 1.8$ Hz, H-9'), 6.92 (1H, brd, $J = 8.2, 1.9$ Hz, H-9''), 6.79 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-8'), 6.76 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-8''), 6.40 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-2'), 6.17 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-2''), 5.55 (1H, m, H-5), 5.13 (1H, dd, $J = 8.1, 3.1$ Hz, H-4), 4.36 (1H, m, H-3), 3.86 (3H, s, 6'-OCH₃), 3.73 (3H, s, 7-OCH₃), 2.23~2.27 (4H, m, H-2, 6); ¹³C-NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 175.2 (C-7), 168.9 (C-1'), 168.8 (C-1''), 150.6 (C-7', 7''), 149.4 (C-6'), 147.7 (C-3'), 147.5 (C-3''), 147.0 (C-6''), 127.9 (C-4'), 127.8 (C-4''), 124.1 (C-9''), 123.1 (C-9'), 116.5 (C-8', 8''), 115.8 (C-5'', 2'), 115.7 (C-2''), 111.6 (C-5'), 75.8 (C-1), 74.8 (C-4), 69.0 (C-5), 68.6 (C-3), 56.4 (6'-OCH₃), 53.0 (7-OCH₃), 38.8 (C-6), 38.3 (C-2)。氢谱、碳谱数据与文献报道的数据一致^[21], 故鉴定化合物 **18** 为 4-*O*-阿魏酰基-5-*O*-咖啡酰奎宁酸甲酯。

化合物 **19**: 棕色无定型粉末。HR-ESI-MS 给出 m/z 545.164 4 $[M+H]^+$ (计算值为 545.165 9), 确定分子式为 $C_{27}H_{28}O_{12}$ ，计算不饱和度为 14。¹H-NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.55 (1H, d, $J = 15.9$

Hz, H-3'), 7.50 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-3''), 7.28 (1H, d, $J = 1.4$ Hz, H-5'), 7.26 (1H, d, $J = 1.4$ Hz, H-5''), 7.07 (1H, m, H-9', 9''), 6.77 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, H-8', 8''), 6.46 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-2'), 6.37 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-2''), 5.42 (1H, m, H-5), 4.99 (1H, dd, $J = 8.1, 2.1$ Hz, H-4), 4.20 (1H, brs, H-3), 3.79 (3H, m, 6'-OCH₃), 3.78 (3H, s, 6''-OCH₃), 2.08~2.15 (4H, m, H-2, 6); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 175.0 (C-7), 166.3 (C-1'), 165.9 (C-1''), 149.5 (C-7', 7''), 148.1 (C-6'), 148.0 (C-6''), 145.6 (C-3', 3''), 125.6 (C-4', 4''), 123.5 (C-9', 9''), 115.6 (C-8', 8''), 114.4 (C-2'), 114.2 (C-2''), 111.2 (C-5'), 111.0 (C-5''), 76.0 (C-1), 73.7 (C-4), 67.8 (C-5), 66.8 (C-3), 55.8 (6'-OCH₃), 55.7 (6''-OCH₃), 37.8 (C-6), 37.5 (C-2)。氢谱、碳谱数据结合 2D-NMR, 确定化合物 **19** 为 4,5-*O*-二阿魏酰奎宁酸, 核磁数据为首次被报道, 化合物结构见图 2。

化合物 **20**: 棕色无定型粉末。HR-ESI-MS 给出 m/z 679.166 8 [M+H]⁺ (计算值为 679.166 3), 确定分子式为 C₃₄H₃₀O₁₅, 计算不饱和度为 20。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.61 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-3'''), 7.53 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-3''), 7.52 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-3'), 7.07 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-5'''), 7.01 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-5''), 6.99 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-5'), 6.94 (1H, dd, $J = 8.2, 1.9$ Hz, H-9'''), 6.92 (1H, dd, $J = 8.2, 1.9$ Hz, H-9''), 6.84 (1H, dd, $J = 8.2, 1.9$ Hz, H-9'), 6.77 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-8'''), 6.72 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, H-8', 8''), 6.33 (1H, d, $J = 15.9$ Hz,

H-2'''), 6.22 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-2''), 6.21 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-2'), 5.68 (2H, m, H-3, 5), 5.33 (1H, dd, $J = 8.4, 3.3$ Hz, H-4), 2.46 (1H, dd, $J = 14.4, 2.4$ Hz, H-2a), 2.36 (1H, m, H-6a), 2.29 (1H, m, H-6b), 2.19 (1H, dd, $J = 14.4, 4.8$ Hz, H-2b); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 177.5 (C-7), 168.5 (C-1'''), 168.1 (C-1', 1''), 149.7 (C-7', 7''), 149.6 (C-7'''), 147.9 (C-3'), 147.7 (C-3''), 147.6 (C-3'''), 146.8 (C-6'), 146.7 (C-6'', 6'''), 127.8 (C-4'''), 127.6 (C-4'), 127.5 (C-4''), 123.4 (C-9'), 123.2 (C-9'', 9'''), 116.5 (C-8', 8'', 8'''), 115.2 (C-5''), 115.1 (C-5''', 2''), 115.0 (C-5'), 114.6 (C-2''), 114.3 (C-2'), 74.8 (C-1), 72.8 (C-4), 70.0 (C-3), 69.1 (C-5), 38.8 (C-6), 36.7 (C-2)。氢谱、碳谱数据与文献报道的数据一致^[22], 故鉴定化合物 **20** 为 3,4,5-*O*-三咖啡酰取代奎宁酸。

3.2 咖啡酰奎宁酸类成分的靶向活性研究结果

咖啡酰取代的化合物与磷酸二酯酶 (phosphodiesterase, PDE) 家族蛋白靶标存在抑制活性已有报道^[23]。本实验进一步采用分子对接技术分析得到的咖啡酰奎宁酸类化合物与 PDE 家族蛋白的结合潜力。由于 PDE 家族存在较多的蛋白亚型, 选择了 PDE 家族的 11 个亚型蛋白 (PDE1B、PDE2A、PDE3B、PDE4A、PDE4B、PDE4D、PDE5A、PDE7A、PDE8A、PDE9A、PDE10A), 与本实验中的 20 个咖啡酰奎宁酸类分子进行亲合力预测。如图 3 所示, 20 个咖啡酰奎宁酸类化合物与 PDE 家族的 11 个亚型蛋白靶标间具有较好的亲合力预测结果。除少数靶标

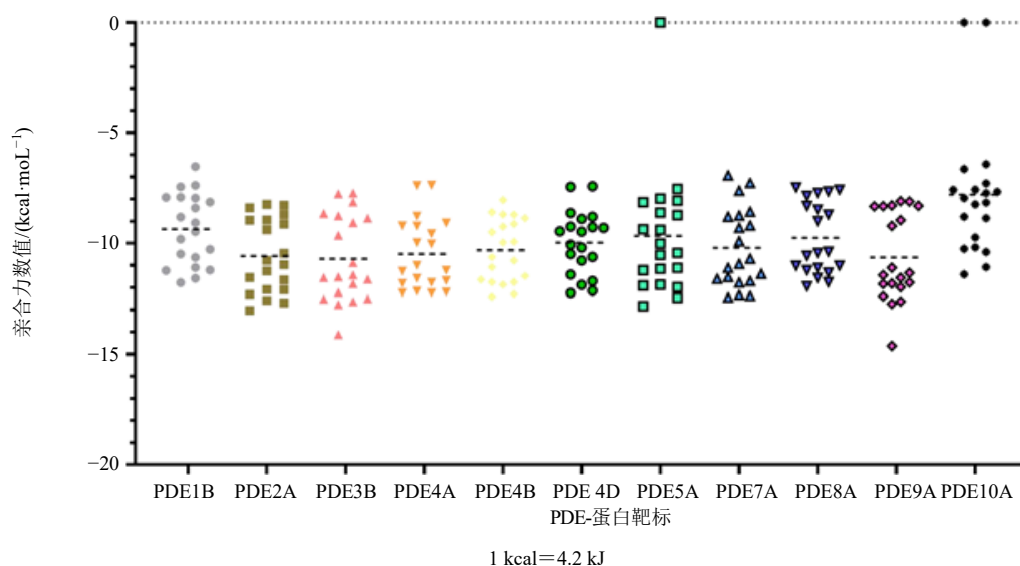


图 3 PDE 家族亚型蛋白与 20 个咖啡酰奎宁酸类化合物的对接打分情况分析

Fig. 3 Docking scores between 20 caffeoylquinic acids and isoform proteins from PDE family

(PDE5A 和 PDE10A) 出现小分子结合不上口袋的情况 (对接打分数值为 0 kcal/mol), 绝大多数小分子均与 PDE 类蛋白靶标结合较好, 亲合力数值分布在 -6 ~ -15 kcal/mol。除 PDE10A 之外, 所有蛋白靶标与小分子的平均亲合力在 -9 kcal/mol 以下, 证明该类小分子可能对 PDE 的亚型蛋白具有较好的抑制活性。

磷酸二酯酶在动态调节 cAMP 和 cGMP 信号传导中发挥重要作用, 其选择性抑制剂目前正在临床试验, 用于治疗与炎症性疾病相关的疾病^[24]。已有文献报道咖啡酰取代的化合物靶向磷酸二酯酶的 IC₅₀ 值低于 20 μmol/L^[23], 本实验检测了 20 个咖啡酰奎宁酸类成分在 20 μmol/L 下对 PDE4B 活性的抑制率, 结果见表 2。20 个化合物均以奎宁酸为基本骨架, 在咖啡酰基和甲氧基的取代数目和取代位点上存在结构差异。从单浓度活性检测结果来看, 所有分离的化合物均被检测出对 PDE4B 的抑制活性, 且以化合物 9 的抑制活性最优。9 中奎宁酸骨架的 3 位和 5 位羟基被咖啡酰基取代, 且羟基和羧基均处于游离状态 (即未被甲氧基所取代)。化合物 6、13、15 是 9 的同分异构体, 其奎宁酸骨架上的两个羟基均被咖啡酰基取代, 但取代位置存在差异。比较发现, 奎宁酸骨架上 5 位羟基被取代时抑制活性优于其他取代情况。2、9、20 的奎宁酸骨架分别被 1、2 和 3 个咖啡酰基取代, 对比发现, 2 或 3 个咖啡酰基取代的抑制活性优于 1 个取代的情况。总体分析, 高抑制率 (>80%) 的 9、11、13、16 和 20 中均包含游离的羧基 (即羧基未被甲氧基取代), 游离羧基可能是影响该类化合物抑制活性的关键因素。进一步对单浓度下活性最好的 9 进行 IC₅₀ 检测, 显示 9 的 IC₅₀ 数值在 0.36 μmol/L 左右 (图 4-A)。

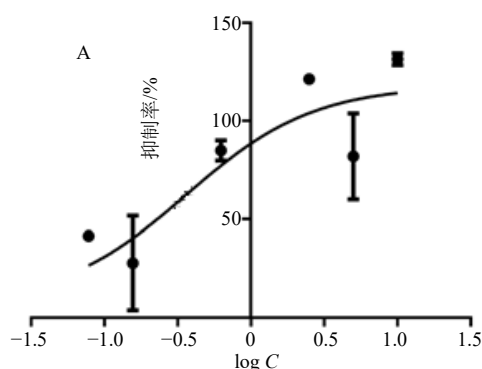


表 2 咖啡酰奎宁酸类化合物在对 PDE4B 活性的抑制率

Table 2 Inhibition rate of caffeoylquinic acids on PDE4B

化合物	抑制率/%	化合物	抑制率/%
1	74.23	12	12.69
2	34.19	13	80.96
3	73.36	14	70.19
4	— ^a	15	57.12
5	15.53	16	89.04
6	45.16	17	78.85
7	75.64	18	64.81
8	66.52	19	15.96
9	124.22	20	85.38
10	—	apremilast	117.24 ^b
11	102.28		

^a 由于 3 次测试误差波动数据不可用; ^b 与样品无关的背景信号或部分消除干扰因素, 导致抑制率超过 100%。

^aNot applicable due to error fluctuations in three tests; ^bBackground signals unrelated to sample itself, or partially eliminated interfering factors, resulting in inhibition ratio exceeding 100%.

结合模式分析结果 (图 4-B) 显示, 9 与 PDE4B 晶体结构活性口袋的 Glu304, Asn395, Pro430, Phe446, Mg²⁺, Mn²⁺ 发生相互作用, 其中 Glu304, Asn395, Pro430 与 9 的羟基之间形成氢键作用, Phe446 与 9 的苯环间形成 π - π 堆积作用, Mg²⁺ 和 Mn²⁺ 与 9 的羧基间形成静电相互作用。9 的作用模式与文献报道的 PDE4B 抑制剂作用模式相一致^[25]。

4 讨论

在前期研究的基础上本研究对青蒿水提取物经 HP-20 大孔吸附树脂 50%乙醇洗脱部位 (AA-2) 继续进行系统的化学成分研究, 综合应用各种色谱分离手段分离鉴定了 20 个咖啡酰奎宁酸类化合物。其

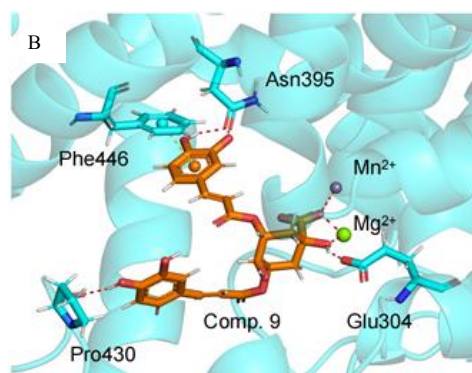


图 4 化合物 9 靶向 PDE4B 的抑制活性以及与 PDE4B 晶体结构中活性位点的结合模式

Fig. 4 Inhibitory activity of compound 9 targeting on PDE4B and binding mode between compound 9 and active site of PDE4B in crystal structure

中化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **3~5**、**8**、**10~12**、**14**、**18** 为首次从蒿属植物中分离得到, 并采用分子对接技术和酶活性检测的方法, 对分离得到的咖啡酰奎宁酸类化合物进行了靶向磷酸二酯酶的抑制作用研究, 结果显示该类化合物具有抑制磷酸二酯酶活性的潜力, 其中化合物 **9** 对磷酸二酯酶亚型蛋白 PDE4B 抑制活性最佳, IC₅₀ 在 0.36 μmol/L。鉴于磷酸二酯酶常作为蛋白靶标与炎症性疾病治疗相关, 这在一定程度上揭示了青蒿发挥抗炎作用的物质基础, 为探讨青蒿中化学成分在中药方剂中的药效贡献提供了依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 207.
- [2] 中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1991: 76(2): 62-63.
- [3] 张小波, 赵宇平, 黄晓巍, 等. 青蒿道地药材研究综述 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(11): 2015-2018.
- [4] 李海波, 秦大鹏, 姚新生, 等. 青蒿的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2019, 50(14): 3461-3470.
- [5] Qin D P, Pan D B, Xiao W, et al. Dimeric cadinane sesquiterpenoid derivatives from *Artemisia annua* [J]. *Org Lett*, 2018, 20(2): 453-456.
- [6] Qin D P, Li H B, Pang Q Q, et al. Structurally diverse sesquiterpenoids from the aerial parts of *Artemisia annua* (Qinghao) and their striking systemically anti-inflammatory activities [J]. *Bioorg Chem*, 2020, 103: 104221.
- [7] Qin D P, Li T, Shao J R, et al. Arteannoides U-Z: Six undescribed sesquiterpenoids with anti-inflammatory activities from the aerial parts of *Artemisia annua* (Qinghao) [J]. *Fitoterapia*, 2021, 154: 105002.
- [8] 李海波, 黄玉欣, 秦大鹏, 等. 青蒿中 1 个新的生物碱类化合物 [J]. 中草药, 2021, 52(2): 327-330.
- [9] 肖立皓, 李海波, 黄玉欣, 等. 青蒿的化学成分研究 I [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(5): 1160-1167.
- [10] Kitchen D B, Decornez H, Furr J R, et al. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: Methods and applications [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2004, 3(11): 935-949.
- [11] 李勇, 马双刚. 刺五加水溶性成分研究 [J]. 中国当代医药, 2013, 20(18): 71-72.
- [12] Ida Y, Satoh Y, Ohtsuka M, et al. Phenolic constituents of phellodendron amurense bark [J]. *Phytochemistry*, 1993, 35(1): 209-215.
- [13] 李艳萍, 李丹丹, 丁丽琴, 等. 黄柏非生物碱化学成分研究 [J]. 中草药, 2016, 47(15): 2621-2626.
- [14] 黄玉欣, 赫志强, 柳祯, 等. 四妙勇安汤中的化学成分 [J]. 沈阳药科大学学报, 2018, 35(12): 1007-1015.
- [15] Morishita H, Iwahashi H, Kido R. 3-O-caffeoyl-4-O-feruloylquinic acid from green robusta coffee beans [J]. *Phytochemistry*, 1986, 25(11): 2679-2680.
- [16] Mohammadi-Liri A, Parsa-Khankandi H, Dehnoee A, et al. α-Glucosidase inhibitors from the aerial part of *Thymus fedtschenkoi*: Isolation, kinetic and molecular docking study [J]. *Chem Pap*, 2023, 77(1): 571-581.
- [17] Huu T N, Takuhiro U, Osamu M, et al. Chemical constituents from the aerial parts of *Bupleurum falcatum* L. and biological evidences [J]. *Nat Prod Sci*, 2015, 21: 71-75.
- [18] Park H J. Chemistry and pharmacological action of caffeoylquinic acid derivatives and pharmaceutical utilization of chwinamul (Korean Mountainous vegetable) [J]. *Arch Pharm Res*, 2010, 33(11): 1703-1720.
- [19] 关焕玉, 兰燕宇, 廖尚高, 等. 羊耳菊中咖啡酰基奎宁酸类化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(12): 1948-1952.
- [20] Nogata Y. Studies on biologically active compounds in citrus fruits and their effective utilization [J]. *Bull National Agric Res Center Western Region*, 2005, 5: 142.
- [21] 梅玉丹. 山银花的化学成分研究及其化学对照品的制备 [D]. 广州: 暨南大学, 2017.
- [22] Dahmani-Hamzaoui N, Salido S, Linares-Palomino P J, et al. On-line radical scavenging detection and characterization of antioxidants from *Artemisia herba-alba* [J]. *Helv Chim Acta*, 2012, 95(4): 564-576.
- [23] Cai Y H, Guo Y Q, Li Z, et al. Discovery and modelling studies of natural ingredients from *Gaultheria yunnanensis* (Franch.) against phosphodiesterase-4 [J]. *Eur J Med Chem*, 2016, 114: 134-140.
- [24] Maurice D H, Ke H M, Ahmad F, et al. Advances in targeting cyclic nucleotide phosphodiesterases [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2014, 13(4): 290-314.
- [25] Gewald R, Grunwald C, Egerland U. Discovery of triazines as potent, selective and orally active PDE4 inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23: 4308-4314.

[责任编辑 王文倩]