

• 化学成分 •

裸花紫珠正丁醇部位抗炎活性成分研究

陈斯淇^{1,2}, 胡云霜², 刘中秋^{2,3}, 吴 鹏^{2,3}, 刘翠玲^{3*}, 吴 春^{1*}

1. 厦门医学院, 机能与临床转化福建省高校重点实验室, 福建 厦门 361023

2. 广州中医药大学, 中药学院国际中医药转化医学研究所, 教育部中医药防治肿瘤转化医学研究国际合作联合实验室, 广东 广州 510006

3. 深圳市宝安区中医院, 广州中医药大学第七临床医学院, 广东 深圳 518133

摘要: 目的 研究裸花紫珠 *Callicarpa nudiflora* 地上部分 95%乙醇提取物正丁醇部位的化学成分及其体外抗炎活性。方法 采用硅胶、ODS、Sephadex LH-20 和高效液相等多种色谱分离技术进行分离纯化, 通过理化性质和波谱数据鉴定化合物结构, 新化合物的绝对构型则采用电子圆二色谱 (electronic circular dichroism, ECD) 确定。结果 从裸花紫珠正丁醇部位分离得到 9 个化合物, 分别鉴定为 (3*S*,7*S*)-*n*-butyl tuberonate-12-*O*-[6'-*O*-(*E*)-feruloyl]-β-*D*-glucopyranoside (1)、syringaresinol-4'-*O*-*D*-monoglucopyranoside (2)、杜仲脂素 A (3)、毛蕊花糖苷 (4)、异毛蕊花糖苷 (5)、木犀草素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷 (6)、木犀草素-4'-*O*-β-*D*-葡萄糖苷 (7)、(7*R*)-hydroxyeucommic acid *n*-butyl ester (8)、2-phenylethyl-β-*D*-glucopyranoside (9)。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为裸花紫珠苷 E; 化合物 8 为首次从裸花紫珠分离得到。体外抗炎实验表明, 化合物 1、3~5、7~9 均有不同程度的抗炎活性。

关键词: 裸花紫珠; 苯丙素; 裸花紫珠苷 E; 毛蕊花糖苷; 异毛蕊花糖苷; 抗炎活性

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2025)13-4549-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.13.001

Anti-inflammatory constituents from *n*-butanol fraction of *Callicarpa nudiflora*

CHEN Siqui^{1,2}, HU Yunshuang², LIU Zhongqiu^{2,3}, WU Peng^{2,3}, LIU Cuiling³, WU Chun¹

1. Xiamen Medical College, Key Laboratory of Functional and Clinical Translational Medicine, Fujian Province University, Xiamen 361023, China

2. Guangzhou University of Chinese Medicine, International Institute for Translational Chinese Medicine, School of Pharmaceutical Sciences, Joint International Research Laboratory of Translational Cancer Research of Chinese Medicines, Guangzhou 510006, China

3. Shenzhen Bao'an District Traditional Chinese Medicine Hospital, The Seventh Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Shenzhen 518133, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents of the *n*-butanol fraction from the 95% ethanol extracts of *Callicarpa nudiflora* and evaluate their *in vitro* anti-inflammatory activity. **Methods** A variety of chromatographic techniques, including silica gel column chromatography, ODS, Sephadex LH-20, and HPLC, were employed for the isolation and purification of the compounds. Their structures were elucidated based on spectroscopic data and physicochemical properties, while the absolute configurations of the new compound was determined using electronic circular dichroism (ECD). **Results** A total of nine compounds were isolated from the *n*-butanol fraction of *C. nudiflora*, which were identified as (3*S*,7*S*)-*n*-butyl tuberonate-12-*O*-[6'-*O*-(*E*)-feruloyl]-β-*D*-glucopyranoside (1), syringaresinol-4'-*O*-*D*-monoglucopyranoside (2), eucommin A (3), verbascoside (4), isoverbascoside (5), luteolin

收稿日期: 2025-04-21

基金项目: 福建省自然科学基金项目 (2022J05326); 广东省自然科学基金项目 (2023A1515011761); 深圳市“医疗卫生三名工程”项目资助 (SZZYSM202206005)

作者简介: 陈斯淇 (1998—), 硕士研究生, 研究方向为天然药物化学。E-mail: 2210415422@qq.com

*通信作者: 刘翠玲, 副主任中药师, 从事中药药理学研究。E-mail: liucuilin84@gzucm.edu.cn

吴 春, 副教授, 从事中药化学研究。E-mail: wchun@xmmmc.edu.cn

7-*O*- β -*D*-glucoside (6)、luteolin-4'-*O*- β -*D*-glucopyranoside (7)、(7*R*)-hydroxyeucommic acid *n*-butyl ester (8)、2-phenylethyl- β -*D*-glucopyranoside (9)。 **Conclusion** Compound 1 is a new compound named nudifloside E. Compound 8 was isolated from *C. nudiflora* for the first time. *In vitro* anti-inflammatory assays demonstrated that compounds 1, 3—5, 7—9 had anti-inflammatory activities in varying degrees.

Key words: *Callicarpa nudiflora* Hook. et Arn.; phenylpropanoid; nudifloside; verbascoside; isoverbascoside; anti-inflammatory activity

裸花紫珠 *Callicarpa nudiflora* Hook. et Arn. 是马鞭草科 (Verbenaceae) 紫珠属植物的干燥地上部分, 药用部位多为茎枝, 在我国是一种常用的海南传统民族药材, 具有散瘀止血、解毒消炎、祛风除湿等功效^[1]。裸花紫珠广泛分布于我国华南、华中等地, 国外主要分布于马来西亚、中南半岛、印度等, 植物资源丰富^[2]。随着对裸花紫珠化学成分研究的增加, 发现其化学成分种类多样, 主要分为黄酮类、二萜类、三萜类、环烯醚萜苷类、苯丙素类、苯乙醇苷类及挥发油类等^[3], 具有抑菌止血、抗癌、抗衰老、保肝、增强免疫、促进伤口愈合等现代药理活性, 用来治疗消化道及呼吸系统的各种出血、急性发现肝炎、脓疱烫伤、各类型感染等^[4-5]。裸花紫珠收录于《中国药典》2020 年版, 临床应用的剂型包括了片剂、栓剂、颗粒剂和胶囊, 其药效得到了充分认可。为进一步深入阐明裸花紫珠的药效基础, 丰富其化学结构库, 本研究对裸花紫珠的 95% 乙醇提取物的正丁醇部位进行系统分离及抗炎活性筛选, 最终分离得到 9 个化合物, 分别鉴定为 (3*S*,7*S*)-tuberonic-*n*-butanol ester-12-*O*-[6'-*O*-(*E*)-feruloyl]- β -*D*-glucopyranoside (1)、syringaresinol-4'-*O*-*D*-monoglucopyranoside (2)、杜仲脂素 A (eucommin A, 3)、毛蕊花糖苷 (verbascoside, 4)、异毛蕊花糖苷 (isoverbascoside, 5)、木犀草素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 (luteolin 7-*O*- β -*D*-glucoside, 6)、木犀草素-4'-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 (luteolin-4'-*O*- β -*D*-glucopyranoside, 7)、(7*R*)-hydroxyeucommic acid *n*-butyl ester (8)、2-phenylethyl- β -*D*-glucopyranoside (9)。其中, 化合物 1 为新化合物, 命名为裸花紫珠苷 E; 化合物 8 为首次从裸花紫珠分离得到。

1 仪器与材料

AVANCE-400 型 400 MHz 核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); 6540 Q-TOF 液质联用仪 (美国 Agilent 公司); Triple TOF 5600 型高分辨液质联用仪 (美国 AB Sciex 公司); FI/IR-480 Plus Fourier Transform 红外光谱仪 (日本 JASCO 公司); Agilent 1640 分析型 HPLC 仪 (美国 Agilent 公司); LC-20 AT 制备型 HPLC 仪 (日本岛津公司); COSMOSIL Packed

Column 分析柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); Inertsil PREP-ODS 制备柱 (250 mm $\times$ 20 mm, 10 μ m); 柱色谱硅胶 (60~80、100~200 目, 青岛海洋化工厂); ODS 填料 (日本 YMC 公司); Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶 (瑞士 Fluka 公司); 高效液相试剂均为色谱纯 (德国 Merck 公司); 其他化学试剂为分析纯 (天津大茂公司); FreeZol 试剂、HiScript[®] II Q RT SuperMix 试剂盒、SYBR Premix Ex Taq[™] II PCR 试剂盒 [诺唯赞生物技术 (南京) 有限公司]; 基因特异性引物 [生工生物工程 (上海) 股份有限公司]; 小鼠单核巨噬细胞 (RAW264.7, 美国 ATCC 公司); 地塞米松 (dexamethasone, DEX)、脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 购自美国 Sigma-Aldrich 公司。

裸花紫珠药材于 2021 年 10 月采自海南省九芝堂种植基地, 经暨南大学周光雄教授鉴定为裸花紫珠 *C. nudiflora* Hook. et Arn., 样本 (标本号 20211010201) 保存于广州中医药大学国际中医药转化医学研究所。

2 提取与分离

取裸花紫珠地上部分 33.5 kg 干燥粉碎, 95% 乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h, 减压浓缩至无醇味, 得到总浸膏约 2.5 kg。采用溶剂萃取法, 将总浸膏按照极性从小到大依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇进行萃取各 4 次, 合并萃取溶液, 减压浓缩后分别获得石油醚部位 56 g、醋酸乙酯部位 210 g、正丁醇部位约 600 g。

将 600 g 正丁醇部位用甲醇充分溶解后, 称取 930 g 硅胶 (60~80 目) 拌样, 充分挥干后备用。称取 3.0 kg 硅胶 (100~200 目) 装柱, 湿法装柱, 干法上样, 二氯甲烷-甲醇 (100:0、98:2、96:4、94:6、92:8、90:10、87:13、85:15、83:17、80:20、75:25、50:50) 为流动相, 每个梯度洗脱 4~5 个柱体积, 同时用 TLC 检测所收集的流分, 合并具有相似斑点的流分, 最终得到 9 个部分 (Fr. A~I)。根据 TLC 检识结果选取样品 Fr. D 和 Fr. F 进一步分离。

Fr. D (30.0 g, 二氯甲烷-甲醇 94:6~92:8 洗

脱), 采用硅胶色谱柱进行分离, 以二氯甲烷-甲醇 (100:0、98:2、97:3、96:4、95:5、94:6、92:8、90:10、87:13、83:17、80:20、75:25、0:100) 进行梯度洗脱, TLC 检识后合并具有相同斑点的流分, 得到 8 个流分 Fr. D1~D8。Fr. D52 (3.0 g, 二氯甲烷-甲醇 95:5 洗脱物), 采用硅胶色谱柱进行分离, 以二氯甲烷-甲醇 (100:0、98:2、97:3、96:4、95:5、94:6) 进行梯度洗脱, TLC 检识后合并具有相同斑点的流分, 得到 2 个流分 Fr. D5A 和 Fr. D5B。Fr. D5B (1.3 g, 二氯甲烷-甲醇 94:6 洗脱物), 采用 ODS 柱分离, 以甲醇-水 (20%、25%、30%、40%、50%、60%) 梯度洗脱, TLC 检识后合并具有相同斑点的流分, 得到 13 个流分 Fr. D5B1~D5B13。采用制备型高效液相对 Fr. D5B3、Fr. D5B5、Fr. D5B12 进行纯化, 从 Fr. D5B3 获得化合物 **8** (15.8 mg, t_R =65 min, 30%甲醇) 和 **9** (9.1 mg, t_R =60 min, 30%甲醇), Fr. D5B5 获得化合物 **2** (7.6 mg, t_R =60 min, 18%乙腈) 和 **3** (5.1 mg, t_R =65 min, 18%乙腈), Fr. D5B12 获得化合物 **1** (12.0 mg, t_R =16 min, 60%甲醇)。

Fr. F (79.1 g, 二氯甲烷-甲醇 87:13~85:15 洗脱物), 采用硅胶色谱柱进行分离, 二氯甲烷-甲醇 (100:0、96:4、94:6、92:8、90:10、87:13、85:15、80:20、75:25) 梯度洗脱, TLC 检识后合并具有相同斑点的流分。采用制备型高效液相对 Fr. F9 (二氯甲烷-甲醇 80:20 洗脱物) 进行纯化, 获得化合物 **4** (30.7 mg, t_R =25 min, 20%乙腈)、**5** (10.2 mg, t_R =35 min, 20%乙腈)、**6** (5.2 mg, t_R =32 min, 20%乙腈)、**7** (6.8 mg, t_R =60 min, 20%乙腈)。

3 糖构型的确定

3.1 酸水解

精密称取 3 mg 化合物 **1** 于反应瓶中, 加 2 mol/L 的盐酸 (取浓盐酸 1 mL 加水稀释至 6 mL) 5 mL, 水浴加热 2 h。产物用醋酸乙酯-水萃取, 取下层液浓缩至干得残渣。精密称取标准糖 *D*-葡萄糖和 *L*-葡萄糖各 3 mg, 残渣、*D*-葡萄糖和 *L*-葡萄糖各加 2 mL 吡啶溶解, 并加入 2 mg *L*-半胱氨酸甲酯盐酸酯, 60 °C 水浴加热 1 h, 待反应结束后再加入 5 μ L 邻甲苯异硫氰酸酯, 60 °C 水浴加热 1 h。

3.2 HPLC 分析

反应产物经高效液相分析, 色谱柱为: Welch Materials XB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μ m), 流动相为乙腈-0.1%甲酸水 (25:75) 等度洗脱, 体积分

量 1.0 mL/min, 检测波长 270 nm。与标准糖衍生物的液相保留时间进行比较, 从而确定化合物 **1** 糖的绝对构型为 *D*-葡萄糖。

4 抗炎活性研究

4.1 细胞培养及毒性评价

RAW264.7 细胞来源于 ATCC, 在 37 °C、5% CO₂ 条件下, 置于含 10%胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 和 1%青霉素/链霉素 (Invitrogen, Carlsbad, CA, 美国) 的 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) 中培养。培养 24 h 后取对数生长期细胞, 细胞浓度为 1×10^4 个/mL, 每孔 100 μ L 接种于 96 孔板, 细胞贴壁后, 分为对照组、阳性对照 DEX 组 (20 μ mol/L)、给药组 (待测化合物 20 μ mol/L), 每组 3 个复孔, 培养 24 h。加入 10% CCK-8 溶液, 继续培养 4 h, 在 450 nm 处测定吸光度 (*A*) 值。

4.2 实时定量 PCR (RT-qPCR) 分析

阳性对照组和给药组用 20 μ mol/L 化合物预处理 1 h, 然后除对照组外加入 1 μ g/mL LPS, 培养 24 h。药物处理后, 按照说明书使用 FreeZol 试剂提取总 RNAs, 使用 HiScript[®]II Q RT SuperMix (含 gDNA 清除剂) 试剂盒转化为 cDNA。使用 BGI 公司提供的基因特异性引物和 SYBR Premix Ex Taq[™]II PCR 试剂盒检测肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , *TNF- α*)、白细胞介素-6 (interleukin-6, *IL-6*)、*IL-1 β* 以及 *ACTB* 的 mRNA 表达水平。最后, 将目标 mRNA 水平归一化为 *ACTB* mRNA 水平的几何平均值 (表 1)。

5 结果

5.1 结构鉴定

化合物 **1**: 黄色油状物, $[\alpha]_D^{20}$ -34.5 (*c* 1.00 CH₃OH), HR-ESI-MS m/z 629.257 4 [*M* + Na]⁺ (计算值 629.256 8), 结合 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据化合物

表 1 RT-qPCR 引物序列

Table 1 Primer sequence of RT-qPCR

引物名称	引物序列
GAPDH	正向:
	GTGAACCACGAGAAATATGACAAC
TNF- α	反向: AGTGATGGCATGGACTGTG
	正向: CAGGCGGTGCCTATGTCTC
IL-1 β	反向: CGATCACCCGAAGTTCAGTAG
	正向: TTCAGGCAGGCAGTATCACTC
IL-6	反向: GAAGGTCCACGGGAAAGACAC
	正向: TAGTCCTTCCTACCCCAATTTC
	反向: TTGGTCCTTAGCCACTCCTTC

1 分子式为 $C_{31}H_{42}O_{12}$, 不饱和度 11。IR 谱提示有羟基 ($3\,427\text{ cm}^{-1}$)、双键 ($1\,625, 1\,508\text{ cm}^{-1}$) 等特征吸收峰。

$^1\text{H-NMR}$ (表 2) 显示有 1 个苯环的 ABX 偶合系统 $\delta_{\text{H}}\,7.04$ (1H, d, $J = 2.0\text{ Hz}$, H-2''), 6.78 (1H, d, $J = 8.2\text{ Hz}$, H-5''), 6.94 (1H, dd, $J = 8.2, 2.0\text{ Hz}$, H-6''), 1 组反式双键氢信号 $\delta_{\text{H}}\,7.57$ (1H, d, $J = 15.9\text{ Hz}$, H-7''), 6.29 (1H, d, $J = 15.9\text{ Hz}$, H-8''), 1 对顺式烯烃氢信号 $\delta_{\text{H}}\,5.49$ (1H, dt, $J = 11.0, 7.2\text{ Hz}$, H-9)、 5.37 (1H, dt, $J = 11.0, 6.7\text{ Hz}$, H-10), 1 个 β -D-葡萄糖端基氢信号 $\delta_{\text{H}}\,4.31$ (d, $J = 8.0\text{ Hz}$, H-1'), 1 个连氧亚甲基氢信号 $\delta_{\text{H}}\,3.80$ (1H, dt, $J = 9.8, 7.0\text{ Hz}$, H-12a)、 3.60 (1H, dt, $J = 9.7, 7.1\text{ Hz}$, H-12b)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (表 1) 和 DEPT-135 显示共有 31 个碳信号, 包括 6 个季碳、14 个次甲基、10 个亚甲基和 1 个甲基。其中有 1 个酮羰基 $\delta_{\text{C}}\,221.5$, 2 个酯羰基 $\delta_{\text{C}}\,174.1, 169.1$, 1 个葡萄糖端基碳 $\delta_{\text{C}}\,104.6$ 。化合物 **1** 的波谱数据与已知化合物 (3*R*,7*R*)-tuberonic-acid-12-*O*-[6'-*O*-(*E*)-feruloyl]- β -D-glucopyranoside^[6] 的波谱数据非常相似, 区别在于化合物 **1** 的 C-1 发生酯化, 连接了 1 个正丁基, HMBC 谱 (图 1) 中, $\delta_{\text{H}}\,4.80$ (H₂-1'') 与 $\delta_{\text{C}}\,174.1$ (C-1) 有远程相关, $\delta_{\text{H}}\,1.36$ (H₂-3'') 与 $\delta_{\text{C}}\,65.5$ (C-1'')、 31.8 (C-2'')、 14.1 (C-4'') 均有远程相关, 表明 C-1 位的羧基发生丁酯化。综上分析, 确定了化合物 **1** 的平面结构 (图 2)。

通过化学位移的比较, H-3 ($\delta_{\text{H}}\,2.30$) 和 H-7 ($\delta_{\text{H}}\,1.94$) 以及 NOESY 谱图中 H-3/H-8 相关和 H-2/H-7 相关可知, H-3/H-7 相对构型为反式构型 [*trans* isomer: $\delta_{\text{H}}\,2.24$ (H-3)、 $\delta_{\text{H}}\,1.91$ (H-7); *cis* isomer: $\delta_{\text{H}}\,2.80$ (H-3)、 $\delta_{\text{H}}\,2.35\text{--}2.45$ (H-7)^[6]]。通过 ECD 计算得出, 化合物 **1** 的 CD 谱与 3*S*,7*S* 构型的理论计算 ECD 谱拟合度良好 (图 3), 故确定化合物 **1** 的绝对构型为 3*S*,7*S*。经 SciFinder 检索可知, 化合物 **1** 为新化合物, 命名为裸花紫珠苷 E。

化合物 **2**: 白色粉末, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -5.3$ (c 0.1, MeOH), HR-ESI-MS $m/z\,579.209\,5$ [$\text{M}-\text{H}$]⁻ (calcd. for 579.207 2), 分子式为 $C_{28}H_{36}O_{13}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 6.72 (2H, s, H-2', 6'), 6.66 (2H, s, H-2, 6), 4.87 (1H, d, $J = 7.3\text{ Hz}$, H-1''), 4.77 (1H, d, $J = 3.9\text{ Hz}$, H-7'), 4.72 (1H, d, $J = 4.3\text{ Hz}$, H-7), 4.29 (1H, m, H-9b), 4.26 (1H, m, H-9b), 3.92 (1H, m, H-9'a), 3.90 (1H, m, H-9a), 3.86 (6H, s, 3, 5-OCH₃), 3.84 (6H, s, 3', 5'-OCH₃), 3.11 (2H, m, H-8, 8'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz,

表 2 化合物 **1** 的 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据 (400/100 MHz, CD_3OD)

Table 2 $^1\text{H-NMR}$ and $^{13}\text{C-NMR}$ data for compound **1** (400/100 MHz, CD_3OD)

碳位	δ_{H}	δ_{C}
1		174.1
2	2.67 (1H, m), 2.27 (1H, m)	39.8
3	2.30 (1H, m)	39.2
4	1.48 (1H, m), 2.15 (1H, m)	28.1
5	2.07 (2H, m)	38.6
6		221.5
7	1.94 (1H, m)	55.0
8	2.35 (2H, m)	26.3
9	5.49 (1H, dt, $J = 11.0, 7.2\text{ Hz}$)	129.0
10	5.37 (1H, dt, $J = 11.0, 6.7\text{ Hz}$)	128.9
11	2.40 (2H, m)	29.2
12	3.80 (1H, dt, $J = 9.8, 7.0\text{ Hz}$)	70.5
	3.60 (1H, dt, $J = 9.7, 7.1\text{ Hz}$)	
glc-1'	4.31 (d, $J = 8.0\text{ Hz}$)	104.6
glc-2'	3.21 (m)	75.0
glc-3'	3.38 (m)	77.9
glc-4'	3.35 (m)	71.8
glc-5'	3.54 (m)	75.4
glc-6'	4.49, 4.34 (m)	64.7
1''		127.7
2''	7.04 (1H, d, $J = 2.0\text{ Hz}$)	115.2
3''		146.8
4''		149.7
5''	6.78 (1H, d, $J = 8.2\text{ Hz}$)	116.5
6''	6.94 (1H, dd, $J = 8.2, 2.0\text{ Hz}$)	123.0
7''	7.57 (1H, d, $J = 15.9\text{ Hz}$)	147.2
8''	6.29 (1H, d, $J = 15.9\text{ Hz}$)	114.9
9''		169.1
1'''	4.08 (2H, t, $J = 6.6\text{ Hz}$)	65.5
2'''	1.60 (2H, m)	31.8
3'''	1.38 (2H, m)	20.2
4'''	0.93 (3H, t, $J = 7.4\text{ Hz}$)	14.1

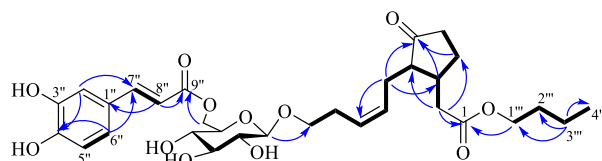


图 1 化合物 **1** 的 $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY (—) 相关和 HMBC ($\text{H} \rightarrow \text{C}$) 相关

Fig. 1 $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY (—) and HMBC ($\text{H} \rightarrow \text{C}$) correlations of compound **1**

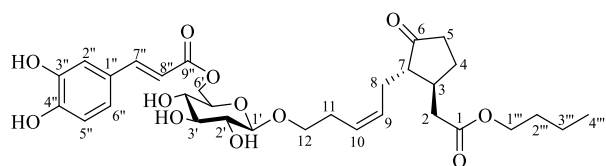


图 2 化合物 1 的结构

Fig. 2 Structures of compound 1

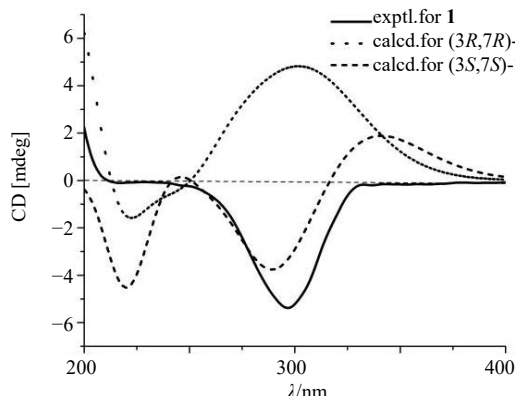


图 3 化合物 1 的 ECD 谱图

Fig. 3 ECD spectra of compound 1

CD₃OD) δ : 154.4 (C-3', 5'), 149.4 (C-3), 149.4 (C-5), 139.5 (C-1'), 136.2 (C-4), 135.6 (C-4'), 133.1 (C-1), 105.3 (C-1'), 104.8 (C-2), 104.8 (C-6), 104.5 (C-2', 6'), 87.6 (C-7'), 87.2 (C-7), 78.3 (C-3''), 77.8 (C-5''), 75.7 (C-2''), 72.9 (C-9), 72.9 (C-9'), 71.3 (C-4''), 62.6 (C-6''), 57.1 (3', 5'-OCH₃), 56.8 (3, 5-OCH₃), 55.7 (C-8), 55.5 (C-8'). 以上数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物 2 为 syringaresinol-4'-O-D-monoglucopyranoside。

化合物 3: 白色粉末, $[\alpha]_D^{25}$ -8.6 (c 0.1, MeOH), HR-ESI-MS m/z 549.198 5 $[M-H]^-$ (calcd. for 549.196 7), 分子式为 C₂₇H₃₄O₁₂。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 6.95 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-2), 6.83 (1H, dd, J = 8.1, 1.9 Hz, H-6), 6.77 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-5), 6.72 (2H, s, H-2', 6'), 4.87 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-1'), 4.76 (1H, d, J = 3.9 Hz, H-7'), 4.72 (1H, d, J = 4.4 Hz, H-7), 4.28 (1H, m, H-9b), 4.25 (1H, m, H-9'b), 3.90 (1H, m, H-9'a), 3.88 (1H, m, H-9a), 3.86 (9H, s, 3, 3', 5'-OCH₃), 3.14 (2H, m, H-8, 8'); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 154.4 (C-3', 5'), 149.3 (C-3), 147.4 (C-4), 139.6 (C-4'), 135.6 (C-1'), 133.8 (C-1), 120.1 (C-6), 116.1 (C-5), 111.0 (C-2), 105.3 (C-1'), 104.8 (C-2', 6'), 87.5 (C-7), 87.2 (C-7'), 78.3 (C-5''), 77.8 (C-3''), 75.7

(C-2''), 72.9 (C-9), 72.7 (C-9'), 71.3 (C-4''), 62.6 (C-6''), 57.1 (3', 5'-OCH₃), 56.4 (3-OCH₃), 55.8 (C-8), 55.3 (C-8)。以上数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 3 为杜仲脂素 A。

化合物 4: 绿色油状物, HR-ESI-MS m/z 623.199 8 $[M-H]^-$ (calcd. for 623.197 1), 分子式为 C₂₉H₃₆O₁₅。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.61 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-8''), 6.97 (1H, dd, J = 8.2, 2.0 Hz, H-6''), 6.80 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-2), 6.71 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-5''), 6.69 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-2''), 6.58 (1H, dd, J = 8.0, 2.0 Hz, H-6), 6.56 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-5), 6.29 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-7''), 5.21 (1H, d, J = 3.9 Hz, H-1'), 4.40 (1H, d, J = 7.9 Hz, H-1'), 3.70 (2H, m, H-7), 2.81 (2H, t, J = 7.4 Hz, H-8), 1.11 (3H, d, J = 6.1 Hz, H-6''); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 168.3 (C=O), 149.8 (C-3''), 148.0 (C-8''), 146.8 (C-4''), 146.1 (C-4), 144.7 (C-3), 131.4 (C-1), 127.6 (C-1''), 123.2 (C-6''), 121.3 (C-6), 117.2 (C-2), 116.5 (C-5''), 116.3 (C-5), 115.2 (C-2''), 114.7 (C-7''), 104.2 (C-1'), 103.0 (C-1'), 81.6 (C-3'), 76.2 (C-2'), 76.0 (C-5'), 73.8 (C-4''), 72.3 (C-2''), 72.2 (C-7), 72.0 (C-3'), 70.6 (C-5''), 70.4 (C-4'), 62.3 (C-6'), 36.5 (C-8), 18.4 (C-6'')。以上数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 4 为毛蕊花糖苷。

化合物 5: 绿色油状物, HR-ESI-MS m/z 623.198 3 $[M-H]^-$ (calcd. for 623.197 1), 分子式为 C₂₉H₃₆O₁₅。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.58 (1H, d, J = 15.8 Hz, H-8''), 7.05 (1H, dd, J = 8.0, 2.1 Hz, H-6''), 6.90 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-5''), 6.79 (1H, d, J = 8.7 Hz, H-2''), 6.70 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-2), 6.65 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-5), 6.55 (1H, dd, J = 8.1, 2.2 Hz, H-6), 6.30 (1H, d, J = 15.8 Hz, H-7''), 5.20 (1H, d, J = 3.9 Hz, H-1'), 4.51 (1H, d, J = 7.2 Hz, H-1'), 3.73 (2H, m, H-7), 2.79 (2H, t, J = 7.4 Hz, H-8), 1.27 (3H, d, J = 6.2 Hz, H-6''); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 169.1 (C=O), 149.6 (C-4''), 147.2 (C-8''), 146.7 (C-3''), 146.1 (C-4), 144.6 (C-3), 131.3 (C-1), 127.6 (C-1''), 123.2 (C-6''), 121.3 (C-6), 117.0 (C-2), 116.5 (C-5''), 116.3 (C-5), 115.1 (C-2''), 114.8 (C-7''), 104.3 (C-1'), 102.7 (C-1'), 83.9 (C-3'), 75.6 (C-5'), 75.3 (C-2'), 74.0 (C-4'), 72.4 (C-3''), 72.3 (C-7), 72.2 (C-2''), 70.3 (C-5''), 70.0 (C-4'), 64.6 (C-6'), 36.6 (C-8), 17.9 (C-6'')。以上数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 5 为异

毛蕊花糖苷。

化合物 **6**: 淡黄色粉末, HR-ESI-MS m/z 447.093 7 $[M-H]^-$ (calcd. for 447.092 2), 分子式为 $C_{21}H_{20}O_{11}$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.99 (1H, s, 5-OH), 7.45 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2'), 7.44 (1H, dd, $J = 2.4, 8.4$ Hz, H-6'), 6.90 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5'), 6.79 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 6.75 (1H, s, H-3), 6.44 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-6), 5.08 (1H, d, $J = 7.1$ Hz, H-1'); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 181.9 (C-4), 164.5 (C-7), 163.0 (C-2), 161.2 (C-5), 157.0 (C-9), 150.0 (C-4'), 145.8 (C-3'), 121.4 (C-1'), 119.2 (C-6'), 116.0 (C-5'), 113.6 (C-2'), 105.4 (C-3), 103.2 (C-10), 99.9 (C-1'), 99.6 (C-6), 94.7 (C-8), 77.2 (C-5''), 76.4 (C-3''), 73.1 (C-2''), 69.6 (C-4''), 60.6 (C-6'')。以上数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **6** 为木犀草素-7-*O*- β -D-葡萄糖苷。

化合物 **7**: 黄色粉末, HR-ESI-MS m/z 447.093 4 $[M-H]^-$ (calcd. for 447.092 2), 分子式为 $C_{21}H_{20}O_{11}$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.44 (1H, dd, $J = 2.1, 8.1$ Hz, H-6'), 7.42 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 7.30 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5'), 6.58 (1H, s, H-3), 6.43 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 6.20 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6), 4.94 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-1'); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 183.8 (C-4), 166.2 (C-2), 165.4 (C-7), 163.2 (C-5), 159.4 (C-9), 150.0 (C-4'), 148.6 (C-3'), 127.2 (C-1'), 119.8 (C-6'), 117.9 (C-5'), 114.8 (C-2'), 105.4 (C-10), 105.0 (C-3), 103.2 (C-1'), 100.3 (C-6), 95.1 (C-8), 78.5 (C-5''), 77.55 (C-3''), 74.8 (C-2''), 71.3 (C-4''), 62.4 (C-6'')。以上数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 **7** 为木犀草素-4'-*O*- β -D-葡萄糖苷。

化合物 **8**: 棕色油状物, HR-ESI-MS m/z 273.135 3 $[M-H]^-$ (calcd. for 273.133 3), 分子式为 $C_{13}H_{22}O_6$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 4.67 (1H, d, $J = 5.6$ Hz, H-8), 4.28 (2H, dd, $J = 12.9, 7.8$ Hz, H-10), 4.14 (2H, m, H-1), 4.10 (2H, t, $J = 6.6$ Hz, H-1'), 3.88 (1H, dd, $J = 5.6, 4.6$ Hz, H-9), 3.10 (1H, m, H-5), 2.67 (1H, q, $J = 15.6$ Hz, H-4b), 2.40 (1H, q, $J = 15.6$ Hz, H-4a), 1.63 (2H, m, H-2'), 1.41 (2H, m, H-3'), 0.95 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, H-4'); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 174.7 (C-3), 142.6 (C-9), 139.9 (C-8), 76.6 (C-6), 75.8 (C-7), 65.6 (C-1'), 57.4 (C-10), 56.8 (C-1), 49.5 (C-5), 36.3 (C-4), 31.8 (C-2'), 20.2 (C-3'), 14.0 (C-4')。以上数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 **8** 为

(7*R*)-hydroxyeucommic acid *n*-butyl ester。

化合物 **9**: 黄色油状物, HR-ESI-MS m/z 283.119 6 $[M-H]^-$ (calcd. for 283.117 6), 分子式为 $C_{14}H_{20}O_6$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.26 (2H, s, H-2,6), 7.25 (2H, s, H-3, 5), 7.17 (1H, m, H-4), 4.30 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 4.10 (1H, m, H-8a), 3.74 (1H, m, H-8b), 2.94 (2H, m, H-7); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 140.1 (C-1), 130.0 (C-2, 6), 129.3 (C-3, 5), 127.2 (C-4), 104.4 (C-1'), 78.1 (C-3'), 78.0 (C-5'), 75.1 (C-2'), 71.7 (C-8), 71.6 (C-4'), 62.7 (C-6'), 37.2 (C-7)。以上数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 **9** 为 2-phenylethyl- β -D-glucopyranoside。

5.2 体外抗炎活性评价

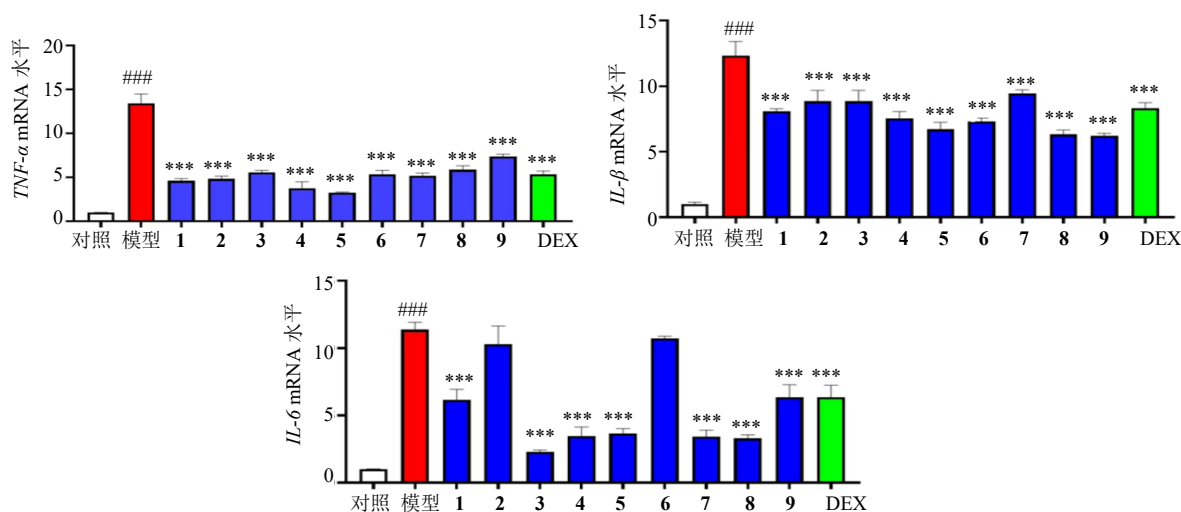
对所分离的化合物进行体外抗炎活性筛选, 寻找具有良好抗炎活性的化合物。采用 CCK-8 法测定化合物是否具有细胞毒性, 实验结果表明, 当化合物浓度为 20 μ mol/L 时, 所有化合物对 RAW264.7 细胞存活率均高于 85%。然后采用 LPS 刺激小鼠 RAW264.7 巨噬细胞作为体外炎症细胞模型, DEX 为阳性药, 通过检测 LPS 诱导的炎症因子 *TNF- α* 、*IL-1 β* 和 *IL-6* 的 mRNA 表达水平, 评估化合物的抗炎作用。采用 Bonferroni 检验进行单因素方差分析。如图 4 所示, 化合物 **1**、**3**~**5**、**7**~**9** 均能不同程度抑制 *TNF- α* 、*IL-1 β* 和 *IL-6* 的 mRNA 表达。其中化合物 **4** 和 **5** 表现出显著的抗炎效果。

6 讨论

裸花紫珠的化学成分种类相对多样, 主要分为二萜、三萜、黄酮、苯丙素、环烯醚萜等, 本实验通过对裸花紫珠 95%乙醇提取物正丁醇部位进行分离和鉴定, 得到 9 个单体化合物, 其中化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **8** 为裸花紫珠中首次分离得到。值得注意的是, 新化合物 **1** 在 C-1 位发生丁酯化, 考虑到本研究在分离过程中使用了正丁醇作为溶剂, 且部分步骤可能涉及加热条件, 因此不排除该酯化基团是在提取过程中由 C-1 位羧基与正丁醇发生 Fischer 酯化反应所形成的可能性。

鉴于此, 推测化合物 **1** 可能为提取过程中生成的半人工产物。尽管如此, 其结构的新颖性仍具有一定研究价值, 并可为该类天然产物结构多样性和人工修饰提供参考。

另外, 多个化合物包括化合物 **1** 均能抑制炎症因子 *TNF- α* 、*IL-1 β* 和 *IL-6* 的 mRNA 表达水平, 本课题不仅丰富了裸花紫珠的化学结构库, 也为其进



与对照组比较: ### $P < 0.001$; 与模型组比较: *** $P < 0.001$ 。
$P < 0.001$ vs control group; *** $P < 0.001$ vs model group.

图 4 9 个化合物对 LPS 刺激 RAW264.7 细胞炎症介质诱导的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Effects of nine compounds on LPS-induced production of inflammatory mediators in RAW264.7 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

一步的药理研究奠定物质基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 海南省中药材标准 (第一册) [M]. 海南: 南海出版社, 2011: 147-154.
- [2] 裴鉴, 陈守良. 中国植物志 [第 65(1) 卷] [M]. 北京: 科学出版社, 1982: 37.
- [3] Yang Y, Li Z Y, Shao J J, et al. *Callicarpa nudiflora* Hook. & Arn.: A comprehensive review of its phytochemistry and pharmacology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 264: 113123.
- [4] 陈倩倩, 邹献亮, 俞桂新. 裸花紫珠的化学成分研究 [J]. 中草药, 2023, 54(1): 15-28.
- [5] 康兴东, 叶阳. 裸花紫珠化学成分、药理活性及临床应用研究进展 [J]. 特产研究, 2021, 43(4): 95-101.
- [6] Seo Y H, Kang S Y, Shin J S, et al. Chemical constituents from the aerial parts of *Agastache rugosa* and their inhibitory activities on prostaglandin E_2 production in lipopolysaccharide-treated RAW264.7 macrophages [J]. *J Nat Prod*, 2019, 82(12): 3379-3385.
- [7] 陈伊蕾, 谭俊杰, 陆露璐, 等. 肾茶水溶性成分的研究 [J]. 中草药, 2009, 40(5): 689-693.
- [8] 南泽东, 赵明波, 姜勇, 等. 塔中栽培荒漠肉苁蓉中的木脂素类成分 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(3): 463-468.
- [9] 杨国栋, 刘昱甫, 刘永林, 等. 裸花紫珠醋酸乙酯部位化学成分及抗炎活性研究 [J]. 中草药, 2023, 54(16): 5146-5153.
- [10] 邓芳叶, 王国才, 王春华, 等. 理肺散化学成分研究 [J]. 中草药, 2012, 43(5): 861-865.
- [11] Krenn L, Miron A, Pemp E, et al. Flavonoids from *Achillea nobilis* L. [J]. *Z Naturforsch C J Biosci*, 2003, 58(1/2): 11-16.
- [12] Machida K, Ando M, Yaoita Y, et al. Studies on the constituents of *Catalpa* species. VI. Monoterpene glycosides from the fallen leaves of *Catalpa ovata* G. Don [J]. *Chem Pharm Bull*, 2001, 49(6): 732-736.
- [13] 严岚, 金慧子, 聂利月, 等. 显脉旋覆花化学成分的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2011, 23(2): 258-261.

[责任编辑 王文倩]