

女娄菜黄酮类成分及抗炎活性研究

王洁雪^{1,3}, 彭思蓉², 李月², 陈君兰¹, 吉作小梅², 黄艳菲², 张志锋^{2*}

1. 成都师范学院化学与生命科学学院, 四川 成都 611130

2. 青藏高原研究院, 青藏高原民族药用资源保护与利用国家民委重点实验室, 四川 成都 610041

3. 农林废弃物资源化利用四川省工程研究中心, 四川 成都 611130

摘要: 目的 研究女娄菜 *Silene aprica* 中黄酮类化学成分及其抗炎活性。方法 用 80%乙醇提取药材, 聚酰胺富集总黄酮, 利用常压柱色谱及高压制备液相色谱进行分离, 通过化合物的理化性质及现代波谱技术对相关化合物进行结构表征, 采用 CCK-8 法评价化合物的细胞毒性, 并利用脂多糖诱导 RAW 264.7 小鼠单核巨噬细胞体外炎症模型进行抗炎活性评价。结果 从女娄菜总黄酮部分分离得到 11 个黄酮类化合物, 分别为 herbacetin-3-*O*- β -D-(2-*O*- β -D-glucopyranoside)-7-*O*- β -D-glucopyranoside (1)、草质素-3-槐二糖-8-葡萄糖苷 (2)、棉花皮素-3-槐二糖-8-葡萄糖苷 (3)、槲皮素-3-槐二糖-7-葡萄糖苷 (4)、草质素苷 (5)、肥皂草苷 (6)、夏佛塔苷 (7)、异荭草苷 (8)、异牡荆苷 (9)、异金雀花素 (10)、槲皮素 (11)。体外抗炎活性评价中, 化合物 1~9 均对 NO 生成有一定的抑制作用。结论 化合物 1 为新的黄酮苷类化合物, 命名为女娄菜苷 M; 化合物 2~6 为首次从该植物中分离得到; 药理活性表明, 化合物 1~3 能显著的降低脂多糖诱导 RAW264.7 小鼠单核巨噬细胞 NO 的释放, 其半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 在 4.15~10.82 μ mol/L。

关键词: 女娄菜; 黄酮苷; 抗炎活性; 女娄菜苷 M; 草质素-3-槐二糖-8-葡萄糖苷; 棉花皮素-3-槐二糖-8-葡萄糖苷

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)16-5731-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.16.003

Investigation of flavonoids composition and anti-inflammatory activity of *Silene aprica*

WANG Jiexue^{1,3}, PENG Sirong², LI Yue², CHEN Junlan¹, JIKA Xiaomei², HUANG Yanfei², ZHANG Zhifeng²

1. College of Chemistry and Life Science, Chengdu Normal University, Chengdu 611130, China

2. Institute of Qinghai-Tibetan Plateau, Tibetan Plateau Ethnic Medicinal Resources Protection and Utilization Key Laboratory of National Ethnic Affairs Commission, 610041, China;

3. Sichuan Provincial Engineering Research Center of Resource Utilization for Agricultural and Forestry Wastes, Chengdu 611130, China

Abstract: Objective To investigate of the flavonoids components and anti-inflammatory activity of *Silene aprica*. **Methods** The medicinal materials were extracted with 80% ethanol and enrich total flavonoids with polyamide. Silica gel, Sephadex LH-20 and Pre-HPLC were used to isolate and purify these compounds. The structures of the related compounds were characterized based on their physicochemical properties and modern spectroscopic techniques such as NMR, MS, and so on. The cytotoxicity of the obtained compounds was screened using the CCK-8 method, and evaluating the anti-inflammatory activity through the RAW264.7 mouse mononuclear macrophages induced by lipopolysaccharide (LPS). **Results** A total of 11 flavonoids compounds were isolated and identified as herbacetin-3-*O*- β -D-(2-*O*- β -D-glucopyranoside)-7-*O*- β -D-glucopyranoside (1), herbacetin-3- β -D-(2-*O*- β -D-glucopyranosidoglucopyranoside)-8- β -D-glucopyranoside (2), gossypetin-3- β -D-(2-*O*- β -D-glucopyranosidoglucopyranoside)-8- β -D-glucopyranoside (3), quercetin-3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranosyl-7-*O*- β -D-glucopyranoside (4), herbacetin 7-rhamnoside (5), saponarin (6), schaftoside (7), isoorientin (8), isovitexin (9), isoscoparin (10), quercetin (11), respectively. In the experiment of

收稿日期: 2025-05-17

基金项目: 四川省自然科学基金项目 (2023NSFSC1274); 国家重点研发计划课题 (2019YFC1712503); 西南民族大学青藏高原研究科技创新团队 (2024CXTD22); 四川省大学生创新训练计划 (S202414389077)

作者简介: 王洁雪, 女, 副教授, 研究方向为天然产物化学。E-mail: xueer0702@163.com

*通信作者: 张志锋, 教授, 研究方向为植物资源保护与利用。E-mail: zfzhang@swun.edu.cn

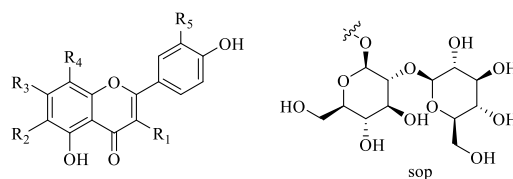
anti-inflammatory activities evaluation, all compounds had inhibitory effect on NO production. **Conclusion** Compound **1** is a new flavonoid glycoside compound named silenese M, and **2—6** were isolated from this plant for the first time. In addition, the *in vitro* activities of the compounds were determined by using the LPS induced RAW264.7 cell inflammation model, with Dexamethasone as the positive control. The bioactivity results showed that compounds **1—3** have significant anti-inflammatory activity, with IC₅₀ values of 4.15—10.82 μmol/L.

Key words: *Silene aprica* Turcz.; flavonol-glycoside; anti-inflammatory activity; silenese M; herbacetin-3-β-D-(2-O-β-D-glucopyranosidoglucopyranoside)-8-β-D-glucopyranoside; gossypetin-3-β-D-(2-O-β-D-glucopyranosidoglucopyranoside)-8-β-D-glucopyranoside

石竹科蝇子草属 *Silene* L. 植物是世界上最大属之一, 包括 700 多种植物。女娄菜 *Silene aprica* Turcz. 是蝇子草属一年生或二年生草本植物^[1-3]。全草可入药, 在西藏、新疆、内蒙古等地民间具有悠久用药历史^[4], 据《中华本草藏药卷》《全国中草药汇编》《宁夏中草药手册》等记载^[5], 其味苦、甘, 性平, 主要用于治疗月经不调、乳少、小儿疳积、脾虚浮肿、疮痈肿毒等症状^[6-8]。目前, 国内外对该属植物的药用物质基础还是比较少^[9], 主要有黄酮、甾体、三萜皂苷和生物碱^[10-11]。国内目前还未见该植物化学成分和药理活性研究的相关报道, 本实验对西藏产的女娄菜黄酮类成分进行系统研究, 共分离得到 11 个化合物, 分别鉴定为 herbacetin-3-O-β-D-(2-O-β-D-glucopyranoside)-7-O-β-D-glucopyranoside (**1**)、草质素-3-槐二糖-8-葡萄糖苷 [herbacetin-3-β-D-(2-O-β-D-glucopyranosidoglucopyranosid)-8-β-D-glucopyranoside, **2**]、棉花皮素-3-槐二糖-8-葡萄糖苷 [gossypetin-3-β-D-(2-O-β-D-glucopyranosidoglucopyranoside)-8-β-D-glucopyranoside, **3**]、槲皮素-3-槐二糖-7-葡萄糖苷 [quercetin-3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl-7-O-β-D-glucopyranoside, **4**]、草质素苷 (herbacetin 7-rhamnoside, **5**)、肥皂草苷 (saponarin, **6**)、夏佛塔苷 (schaftoside, **7**)、异荭草苷 (isorientin, **8**)、异牡荊苷 (isovitexin, **9**)、异金雀花素 (isoscoparin, **10**)、槲皮素 (quercetin, **11**), 结构见图 1。化合物 **1** 为新的黄酮苷类化合物, 命名为女娄菜苷 M; 化合物 **2—6** 为首次从该植物中分离得到。对化合物 **1—10** 进行细胞毒性及体外抗炎活性研究, 与阳性对照地塞米松相比, 化合物 **1—3** 具有显著抗炎活性, 其半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 在 4.15~10.82 μmol/L, 为该药用资源充分利用提供了理论依据。

1 仪器与材料

AB SCIEX Triple TOF 5600⁺ 型高分辨质谱仪,



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
1	O-sop	H	O-glu	OH	H
2	O-sop	H	OH	O-glu	H
3	O-sop	H	OH	O-glu	OH
4	O-sop	H	O-glu	H	OH
5	OH	H	O-glu	OH	H
6	H	glu	O-glu	H	H
7	H	glu	OH	glu	H
8	H	glu	OH	H	OH
9	H	glu	OH	H	H
10	H	glu	OH	H	OCH ₃
11	OH	H	OH	H	OH

图 1 化合物 **1—11** 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds **1—11**

Bruker AV 500 型核磁共振波谱仪 (TMS 为内标), 中压制备色谱仪 (MPLC) FS-9200T (天津博纳艾杰尔科技有限公司), 检测波长 λ 为 254 nm, 半制备型高压液相色谱仪 Waters 2545, 2487 检测器 (美国 Waters 公司), 奥泰蒸发光散射检测器 2000ES (美国奥泰公司), 柱色谱硅胶、薄层色谱硅胶 (青岛海洋化工), 乙腈、甲醇 (色谱纯), 其余试剂为国产分析纯。DEME 培养基、脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS, 北京索莱宝科技有限公司), NO 含量检测试剂盒、RAW264.7 小鼠巨噬细胞、CCK-8 试剂盒 (碧云天生物技术有限公司), 地塞米松 (dexamethasone, DXMS, 广东南国药业有限公司), D-葡萄糖标准品 (批号 24122701), 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS, 批号 24081601, 成都康邦生物科技有限公司)。

女娄菜药材 2023 年 10 月购自西藏拉萨, 经西南民族大学张志锋教授鉴定为女娄菜 *S. aprica* Turcz. 的干燥全草, 标本 (CN20231023) 保存于成都师范学院化学与生命科学学院标本室。

2 方法

2.1 提取与分离

将女娄菜 10 kg 粗粉, 加入 8 倍体积的 80% 乙醇。加热回流提取 3 次, 每次 2 h。将提取液合并, 减压回收至基本无醇味, 再加等体积的水进行分散稀释。用石油醚萃取至溶液颜色变淡, 除去叶绿素。还有少量不溶固体, 滤纸滤过, 滤渣用 20% 乙醇洗涤 2 次, 合并所有滤液。将滤液上预处理好的聚酰胺 (60~80 目) 柱, 体积流量 5 mL/min, 待滤液全部吸附, 用水洗至流出液基本无颜色后, 依次用 30%、70%、95% 乙醇洗脱。收集洗脱液, 减压回收乙醇, 浓缩至干, 30% 乙醇洗脱部分得到 15.6 g、70% 洗脱部分 13.9 g、95% 乙醇洗脱部分得到 5.3 g。用 HPLC 进行初步分析, 70% 乙醇洗脱部分在波长 254 nm 吸收峰较多, 且 DAD 扫描与黄酮的紫外吸收基本一致, 推断 70% 乙醇洗脱得到的主要是黄酮化合物。取样品 13.5 g, 经甲醇溶解, 取 50 g 硅胶 (60~80 目) 拌样。湿法装柱, 以二氯甲烷-甲醇-冰乙酸为洗脱剂 (20:1:0.5→2:1:0.5), 梯度洗脱。每 350 mL 收集 1 瓶, 共收集 40 瓶。TLC 对各部分进行初步判断, 合并相同部分, 共分 6 个部分 Fr. A~F。Fr. A (0.5 g), 在 TLC 上显示主要 2 个成分, 再次硅胶柱色谱, 洗脱剂为石油醚-醋酸乙酯 (3:1), 得到 2 个部分, 通过醋酸乙酯重结晶得到化合物 10 (33 mg)、11 (17 mg); Fr. B (0.4 g) TLC 上显示主要为 1 个成分, 用半制备反相色谱进行分离 (流动相为乙腈-0.1% 水 60:40, 5 mL/min, t_R = 36 min), 得到化合物 6 (22 mg); Fr. C (1.2 g) 再次用硅胶柱色谱进行分离, 流动相为醋酸乙酯-甲醇, 得到 4 个部分 Fr. C1~C4, Fr. C1 通过半制备液相色谱进行分离 (流动相为乙腈-0.1% 磷酸水 47:53, 5 mL/min, t_R = 45 min, 检测波长 254 nm), 得到化合物 7 (8 mg); Fr. C3 用半制备进行分离 [流动相为乙腈-0.1% 磷酸水 (40:60→45:55), 5 mL/min, t_R = 27、36、45、58 min, 检测波长 254 nm], 得到化合物 5 (12 mg)、8 (23 mg)、9 (7 mg); Fr. D (0.28 g) 上预处理好的凝胶柱色谱 sephadex LH-20, 甲醇作为洗脱剂, 收集主要成分, 然后用高压液相色谱进行分离 (流动相为乙腈-0.1% 磷酸水 38:62, 5 mL/min, t_R = 32、38 min, 波长 254 nm), 得到化合物 1 (9 mg)、3 (11 mg); Fr. E 用高压液相色谱进行分离 (流动相为乙腈-0.1% 磷酸水 35:65, 5 mL/min, t_R = 25、31 min, 波长 254 nm), 得

到化合物 2 (15 mg)、4 (38 mg)。

2.2 糖的鉴定

2.2.1 化合物 1 酸水解 称取 2 mg 化合物 1 于 10 mL 圆底烧瓶中, 加入 2 mol/L 盐酸 4 mL, 85 °C 水浴加热 2 h。冷却室温, 用醋酸乙酯萃取 2 次, 每次 4 mL, 水相浓缩至干, 加 1 mL 超纯水溶解, 0.22 μ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液得供试品。精密称取 *D*-葡萄糖对照品 2 mg, 加超纯水溶解, 定容至 5 mL 量瓶, 0.22 μ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液得 *D*-葡萄糖对照品溶液。

2.2.2 HPLC 分析 分别精密吸取上述对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L, 注入液相色谱仪, 测定。色谱柱为 Bio-Rad Aminex HPX-87C (300 mm×7.8 mm, 9 μ m); 流动相: 超纯水; 体积流量 0.6 mL/min; 蒸发光散射检测器: 漂移管温度 105 °C, 氮气流量 3.0 L/min。供试品与对照品在液相中具有相同的保留时间, 推断化合物 1 的糖单元为 *D*-葡萄糖 (图 2)。

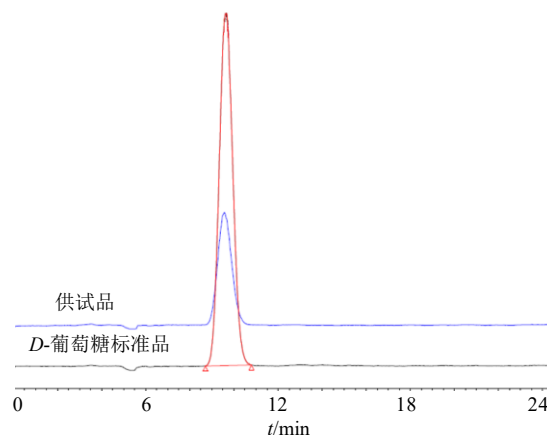


图 2 化合物 1 水解产物与对照品色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of compound 1's hydrolysate and *D*-glucose

2.3 细胞毒性检测

本研究在检测化合物抗炎活性前, 为避免出现假阳性结果, 采用 CCK-8 (cell counting kit-8) 法评估检测化合物对小鼠巨噬细胞 RAW264.7 的细胞毒性^[12-13]。用 10% 灭活胎牛血清为培养基, 配制的细胞悬液密度为 5 000 个/mL, 接种在 96 孔板中, 并在 5% CO₂、37 °C 的湿润培养箱中培养 24 h。待测化合物的初筛质量浓度为 100 μ g/mL, 每孔体积为 150 μ L, 设 3 个复孔, 同时设置空白对照 (培养基)、溶剂对照 (二甲基亚砜) 复孔 3 个。培养箱中继续培养 24 h 后, 离心, 弃去培养液, 加入 CCK-8 试剂 10 μ L, 孵育 30 min。用酶标仪在 450 nm 波长下

测定吸光度 (A) 值, 计算细胞存活率。

$$\text{细胞存活率} = (A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{溶剂对照}} - A_{\text{空白}})$$

2.4 抗炎活性测试

根据文献方法^[14], 通过 LPS 诱导小鼠巨噬细胞 RAW264.7 体外炎症模型进行抗炎活性测试, 采用 Griess 测定法检测各样品组对 NO 释放量的影响。取对数生长期的 RAW264.7 以 2×10^5 个/mL 接种到 96 孔板中, 每孔 100 μL , 培养 24 h。随机分为空白组 (培养基 100 μL)、模型组 (1 $\mu\text{g/mL}$ 的 LPS50 μL 和培养基 50 μL)、阳性对照组 (1 $\mu\text{g/mL}$ 的 LPS50 μL 和 1 $\mu\text{g/mL}$ 地塞米松 50 μL) 和样品组 (1 $\mu\text{g/mL}$ 的 LPS 50 μL 和质量浓度分别为 1、5、10、15、20 $\mu\text{g/mL}$ 的化合物 50 μL), 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的培养箱内培养 24 h。各组培养结束后, 离心, 取上清液 50 μL , 依次加入 Griess I 试剂和 Griess II 试剂各 50 μL , 混合均匀后在暗室放置 10 min, 测定其在 540 nm 的 A 值, 根据以下公式计算其 NO 抑制率, 并通过 GraphPad Prism Version 9.0 软件计算 IC_{50} 。

$$\text{NO 抑制率} = (A_{\text{模型}} - A_{\text{样品}}) / (A_{\text{模型}} - A_{\text{空白}})$$

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 1: 淡黄色粉末, FeCl_3 反应显色呈阳性, 推测其可能为黄酮类化合物。ESI-MS m/z : 811 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 787 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 提示该化合物相对分子质量为

788, HR-ESI-MS m/z : 811.204 7 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, (计算值 $\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_{22}\text{Na}$, 811.201 1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$), 确定该化合物的分子式为 $\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_{22}$, 不饱和度为 14; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -35.6^{\circ}$ (c 0.1, MeOH); UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 220 (3.45), 265 (3.20), 335 (3.25); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 313, 2 962, 1 721, 1 640, 1 391, 831, 提示该化合物具有羟基和苯环结构。 ^1H -NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 谱图 (表 1) 中, 低场区域显示有 5 个苯环的质子信号 δ_{H} 8.13 (2H, d, $J = 9.0$ Hz), 6.94 (2H, d, $J = 9.0$ Hz), 6.64 (1H, s), 提示 1 个苯环为对位取代; 在中间场区域, 可以看到 3 个糖端基氢信号 δ_{H} 5.71 (1H, d, $J = 7.6$ Hz), 4.94 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 4.64 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 根据偶合常数, 推测为 β 构型^[15], 同时在 3.0~4.0 显示多个糖质子氢信号。结合 ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 和 DEPT 135, 在低场区出现黄酮 4 位酮羰基碳信号 δ_{C} 178.0 (s), 还有黄酮苯环的碳信号 δ_{C} 160.1 (C), 156.0 (C), 152.1 (C), 150.8 (C), 143.6 (C), 132.9 (C), 131.1 (CH), 126.8 (C), 121.0 (C), 115.3 (CH), 105.5 (C), 98.5 (CH), 同时还显示有 3 个糖的端基碳信号 δ_{C} 104.1 (CH), 101.3 (CH), 97.9 (CH), 以及在 δ_{C} 60~83 显示多个糖上的碳信号 δ_{C} 82.4 (CH), 77.5 (CH), 77.3 (CH), 77.0 (CH), 76.6 (CH), 75.8 (CH), 74.4 (CH), 73.2 (CH), 69.7 (CH), 69.7 (CH), 69.6 (CH), 60.8 (CH), 60.7 (CH), 60.5 (CH)。核磁数据与文献报

表 1 化合物 1 的 ^1H -NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)、 ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 波谱数据

Table 1 ^1H -NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) data compound 1

碳位	δ_{H}	δ_{C}	碳位	δ_{H}	δ_{C}
2		156.0, C	3''	3.41 (m)	76.7, CH
3		132.9, C	4''	3.15 (m)	69.7, CH
4		178.0, C	5''	3.41 (m)	77.3, CH
5		152.1, C	6''	3.48 (m), 3.25 (m)	60.7, CH_2
6	6.64 (s)	98.5, CH	1'''	4.64 (d, $J = 8.0$ Hz)	104.1, CH
7		150.8, C	2'''	3.33 (m)	73.2, CH
8		126.8, C	3'''	3.16 (m)	76.6, CH
9		143.6, C	4'''	3.15 (m)	69.7, CH
10		105.5, C	5'''	3.08 (m)	77.5, CH
1'		121.0, C	6'''	3.72 (d, $J = 10.0$ Hz), 3.48 (m)	60.8, CH_2
2'	8.12 (d, $J = 9.0$ Hz)	131.1, CH	1''''	4.94 (d, $J = 9.0$ Hz)	101.3, CH
3'	6.94 (d, $J = 9.0$ Hz)	115.3, CH	2''''	3.06 (m)	74.4, CH
4'		160.1, C	3''''	3.29 (m)	75.8, CH
5'	6.94 (d, $J = 9.0$ Hz)	115.3, CH	4''''	3.09 (m)	69.6, CH
6'	8.12 (d, $J = 9.0$ Hz)	131.1, CH	5''''	3.16 (m)	77.0, CH
1''	5.71 (d, $J = 7.0$ Hz)	97.9, CH	6''''	3.62 (d, $J = 10.0$ Hz), 3.46 (m)	60.5, CH_2
2''	3.46 (m)	82.4, CH			

道的 herbcetin-3-*O*- β -D-(2-*O*- β -D-glucopyranoside)-8-*O*- β -D-glucopyranoside 比较接近, 发现 C-7 (δ_c 156.8) 向高场移动 6.0 (δ_c 150.8), 同时 C-9 (δ_c 148.3) 也向高场移动了 4.7 (δ_c 143.6), 而 C-8 (δ_c 124.9) 则向低场移动了 1.9 (δ_c 126.8), 提示化合物 1 结构可能这几个位置发生了变化。

对化合物 1 进行酸水解, 并进行分析检测, 该化合物只含有 D-葡萄糖, 提示该化合物结构含有 3 个葡萄糖单元。通过 DEPT 135 和 HSQC 对化合物碳氢进行全归属, 利用 HMBC 碳氢远程相关确定各结构单元的连接顺序: δ_H 5.71 (H-1'') 与 δ_C 132.9 (C-3) 相关, 说明有糖单元连接在母核的 3 位上; δ_H 4.64 (H-1''') 与 δ_C 82.4 (C-2') 相关, 同时 δ_H 3.46 (H-2'') 与 δ_C 104.1 (C-1'') 在谱图上显示明显的相关性, 提示第 2 个糖单元与第 1 个糖的 2 位相连; δ_H 4.94 (H-1''') 与 δ_C 150.8 (C-7) 相关, 说明第 3 个糖结构单元与母核 7 位相连 (图 3)。综上所述, 该化合物结构表征为 herbcetin-3-*O*- β -D-(2-*O*- β -D-glucopyranoside)-7-*O*- β -D-glucopyranoside, 通过 Scifinder 检索, 尚未见该结构的报道, 为新化合物, 命名为女娄菜苷 M。

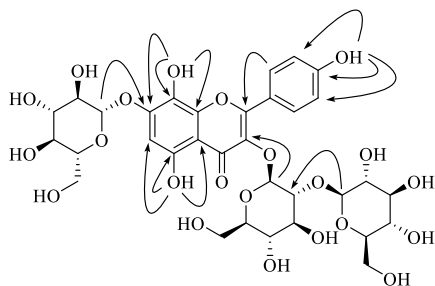


图 3 化合物 1 主要 HMBC 相关图

Fig. 3 Key HMBC correlations of compound 1

化合物 2: 淡黄色粉末 (甲醇-水), ESI-MS m/z : 789 $[M+H]^+$, 结合该化合物的核磁数据, 得出化合物的分子式为: $C_{33}H_{40}O_{22}$; 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.52 (1H, s, 5-OH), 10.15 (1H, s, 4'-OH), 8.34 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-2', 6'), 6.92 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-3', 5'), 6.28 (1H, s, H-6), 5.65 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-1''), 5.07 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-1'''), 4.68 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-1'''); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 155.7 (C-2), 132.9 (C-3), 177.6 (C-4), 156.8 (C-5), 98.8 (C-6), 156.6 (C-7), 125.0 (C-8), 148.3 (C-9), 103.8 (C-10), 120.7 (C-1'), 131.6 (C-2'), 115.2 (C-3'), 160.1 (C-4'), 115.2 (C-5'), 131.6 (C-6'), 98.3 (C-1''), 82.1 (C-2''), 76.5 (C-3''), 69.6 (C-4''), 77.3 (C-5''), 60.6 (C-6''),

103.8 (C-1'''), 74.0 (C-2'''), 76.5 (C-3'''), 69.2 (C-4'''), 76.8 (C-5'''), 60.6 (C-6'''), 106.2 (C-1'''), 74.3 (C-2'''), 75.9 (C-3'''), 69.5 (C-4'''), 77.5 (C-5'''), 60.8 (C-6'''). 数据与文献报道基本一致^[15], 确定化合物 2 为草质素-3-槐二糖-8-葡萄糖苷。

化合物 3: 淡黄色粉末 (甲醇), ESI-MS m/z : 805 $[M+H]^+$, 结合该化合物的核磁数据, 得出化合物的分子式为 $C_{33}H_{40}O_{23}$; 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.55 (1H, s, 5-OH), 9.17 (1H, s, 4'-OH), 7.85 (1H, dd, $J=8.5, 2.0$ Hz, H-2'), 7.83 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6'), 6.89 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-3'), 6.27 (1H, s, H-6), 5.63 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-1''), 5.08 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-1'''), 4.68 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-1'''); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 155.7 (C-2), 133.1 (C-3), 177.6 (C-4), 156.5 (C-5), 98.5 (C-6), 156.9 (C-7), 125.1 (C-8), 148.7 (C-9), 104.0 (C-10), 122.5 (C-1'), 116.5 (C-2'), 144.5 (C-3'), 148.3 (C-4'), 115.4 (C-5'), 120.9 (C-6'), 98.8 (C-1''), 82.5 (C-2''), 76.5 (C-3''), 69.1 (C-4''), 77.0 (C-5''), 60.5 (C-6''), 103.8 (C-1'''), 75.9 (C-2'''), 76.5 (C-3'''), 69.1 (C-4'''), 76.6 (C-5'''), 60.5 (C-6'''), 106.3 (C-1'''), 74.0 (C-2'''), 75.9 (C-3'''), 69.5 (C-4'''), 77.5 (C-5'''), 60.7 (C-6'''). 数据与文献报道基本一致^[15], 确定化合物 3 为棉花皮素-3-槐二糖-8-葡萄糖苷。

化合物 4: 淡黄色粉末 (甲醇-水), ESI-MS m/z : 789 $[M+H]^+$, 结合该化合物的核磁数据, 得出化合物的分子式为 $C_{33}H_{40}O_{22}$; 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.61 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-6'), 7.58 (1H, s, H-2'), 6.89 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-5'), 6.75 (1H, s, H-8), 6.42 (1H, s, H-6), 5.69 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-1''), 5.06 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-1'''), 4.60 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-1'''); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 156.2 (C-2), 133.3 (C-3), 177.6 (C-4), 162.8 (C-5), 99.8 (C-6), 160.9 (C-7), 94.3 (C-8), 156.2 (C-9), 105.6 (C-10), 121.1 (C-1'), 115.4 (C-2'), 144.9 (C-3'), 148.8 (C-4'), 116.4 (C-5'), 122.0 (C-6'), 98.0 (C-1''), 82.9 (C-2''), 76.8 (C-3''), 69.6 (C-4''), 77.6 (C-5''), 60.9 (C-6''), 104.4 (C-1'''), 74.5 (C-2'''), 76.8 (C-3'''), 69.6 (C-4'''), 76.6 (C-5'''), 60.9 (C-6'''), 99.8 (C-1'''), 73.2 (C-2'''), 76.8 (C-3'''), 69.6 (C-4'''), 77.2 (C-5'''), 60.9 (C-6'''). 核磁数据与文献报道基本一致^[16], 确定化合物 4 为槲皮素-3-槐二糖-7-葡萄糖苷。

化合物 5: 黄色无定型粉末 (甲醇), ESI-MS m/z : 449 $[M+H]^+$, 结合该化合物的核磁数据, 得出

化合物的分子式为 $C_{21}H_{20}O_{11}$; 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.92 (1H, s, 5-OH), 10.16 (1H, s, 4'-OH), 9.49 (1H, s, 3-OH), 8.82 (1H, s, 8-OH), 8.17 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2', 6'), 6.97 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3', 5'), 6.61 (1H, s, H-6), 5.50 (1H, brs, H-1''), 1.14 (3H, d, $J = 4.0$ Hz, 6''-CH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 147.8 (C-2), 136.2 (C-3), 176.8 (C-4), 150.5 (C-5), 98.7 (C-6), 152.0 (C-7), 130.2 (C-8), 144.9 (C-9), 105.3 (C-10), 122.2 (C-1'), 127.5 (C-2', 6'), 115.9 (C-3', 5'), 159.8 (C-4'), 99.9 (C-1''), 70.5 (C-2''), 70.3 (C-3''), 72.2 (C-4''), 70.3 (C-5''), 18.3 (C-6''). 数据与文献报道一致^[17], 确定化合物 **5** 为草质素苷。

化合物 **6**: 淡黄色粉末 (甲醇), ESI-MS m/z : 595 $[M+H]^+$, 结合该化合物的核磁数据, 得出化合物的分子式为 $C_{27}H_{30}O_{15}$; 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 13.54 (1H, s, 5-OH), 7.98 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2', 6'), 6.96 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3', 5'), 6.91 (1H, s, H-8), 6.89 (1H, s, H-3), 4.98 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1'''), 4.65 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-1''); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.9 (C-2), 105.3 (C-3), 182.5 (C-4), 156.9 (C-5), 111.0 (C-6), 164.6 (C-7), 94.2 (C-8), 161.8 (C-9), 103.6 (C-10), 121.4 (C-1'), 129.0 (C-2', 6'), 116.4 (C-3', 5'), 159.8 (C-4'), 74.2 (C-1''), 71.3 (C-2''), 79.3 (C-3''), 69.7 (C-4''), 81.4 (C-5''), 61.1 (C-6''), 101.6 (C-1'''), 73.1 (C-2'''), 76.2 (C-3'''), 69.7 (C-4'''), 77.6 (C-5'''), 60.7 (C-6'''). 核磁数据与文献报道基本一致^[18], 确定化合物 **6** 为肥皂草苷。

化合物 **7**: 黄色粉末 (甲醇), ESI-MS m/z : 565 $[M+H]^+$, 结合该化合物的核磁数据, 得出化合物的分子式为 $C_{26}H_{28}O_{14}$; 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.95 (2H, d, $J = 8.3$ Hz, H-3', 5'), 8.08 (2H, d, $J = 8.3$ Hz, H-2', 6'), 13.74 (1H, brs, 5-OH), 6.73 (1H, s, H-3); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 164.4 (C-2), 104.1 (C-3), 182.8 (C-4), 160.1 (C-5), 109.0 (C-6), 161.6 (C-7), 104.8 (C-8), 154.9 (C-9), 103.0 (C-10), 122.0 (C-1'), 129.5 (C-2', 6'), 116.5 (C-3', 5'), 162.0 (C-4'), 75.6 (C-1''), 69.7 (C-2''), 74.1 (C-3''), 67.6 (C-4''), 69.3 (C-5''), 75.1 (C-1'''), 69.7 (C-2'''), 79.3 (C-3'''), 71.3 (C-4'''), 81.8 (C-5'''), 61.6 (C-6'''). 核磁数据与文献报道基本一致^[19], 确定化合物 **7** 为夏佛塔苷。

化合物 **8**: 淡黄色粉末 (甲醇-水), ESI-MS m/z : 449 $[M+H]^+$, 结合该化合物的核磁数据, 得出化合物的分子式为 $C_{21}H_{20}O_{11}$; 1H -NMR (500 MHz,

DMSO- d_6) δ : 6.68 (1H, s, H-3), 7.44 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-2'), 6.90 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5'), 7.41 (1H, dd, $J = 8.2, 2.2$ Hz, H-6'), 6.48 (1H, s, H-8), 4.58 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, H-1''); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 181.8 (C-4), 163.6 (C-2), 163.2 (C-7), 160.6 (C-9), 156.1 (C-5), 149.6 (C-4'), 145.7 (C-3'), 121.3 (C-6'), 118.9 (C-1'), 116.0 (C-5'), 113.7 (C-2'), 108.8 (C-6), 103.3 (C-10), 102.7 (C-3), 93.4 (C-8), 73.0 (C-1''), 78.9 (C-3''), 70.5 (C-2''), 81.5 (C-5''), 70.1 (C-4''), 61.6 (C-6''). 核磁数据与文献报道基本一致^[20], 确定化合物 **8** 为异荳蔻苷。

化合物 **9**: 淡黄色针状结晶 (甲醇), ESI-MS m/z : 433 $[M+H]^+$, 结合该化合物的核磁数据, 得出化合物的分子式为 $C_{21}H_{20}O_{10}$; 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.94 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3', 5'), 4.89 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-1''), 13.57 (1H, s, 5-OH), 6.80 (1H, s, H-3), 7.95 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2', 6'), 10.59 (1H, s, 7-OH), 6.52 (1H, s, H-8), 10.38 (1H, s, 4'-OH); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 163.4 (C-2), 102.7 (C-3, 10), 181.9 (C-4), 163.2 (C-5), 160.6 (C-7), 108.8 (C-6), 103.3 (C-8), 156.1 (C-9), 121.0 (C-1'), 128.4 (C-2', 6'), 115.9 (C-3', 5'), 161.1 (C-4'), 73.0 (C-1''), 70.5 (C-2''), 61.4 (C-6''), 78.9 (C-3''), 70.1 (C-4''), 81.5 (C-5''). 核磁数据与文献报道基本一致^[21], 确定化合物 **9** 为异牡荆苷。

化合物 **10**: 黄色粉末 (甲醇), ESI-MS m/z : 463 $[M-H]^-$, 结合该化合物的核磁数据, 得出化合物的分子式为 $C_{22}H_{22}O_{11}$; 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 13.57 (1H, s, 5-OH), 7.58 (1H, overlapped, H-6'), 7.56 (1H, s, H-2'), 6.96 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.90 (1H, s, H-8), 6.55 (1H, s, H-3), 4.63 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1''), 4.07 (1H, m, H-4''), 3.90 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.72 (1H, d, $J = 12$ Hz, H-6''), 3.46 (1H, dd, $J = 12.0, 8.0$ Hz, H-6''), 3.21 (1H, m, H-5''), 3.19 (1H, m, H-3''), 3.13 (1H, m, H-2''); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 163.4 (C-2), 103.4 (C-3), 182.0 (C-4), 160.6 (C-5), 108.8 (C-6), 163.3 (C-7), 93.7 (C-8), 156.2 (C-9), 103.2 (C-10), 121.5 (C-1'), 110.2 (C-2'), 148.0 (C-3'), 150.7 (C-4'), 115.8 (C-5'), 120.3 (C-6'), 73.0 (C-1''), 70.6 (C-2''), 78.4 (C-3''), 70.3 (C-4''), 81.5 (C-5''), 61.4 (C-6''), 56.0 (3'-OCH₃). 核磁数据与文献报道基本一致^[22], 确定化合物 **10** 为异金雀花素。

化合物 **11**: 黄色粉末 (甲醇), ESI-MS m/z : 303

[M+H]⁺, 结合该化合物的核磁数据, 得出化合物的分子式为 C₁₅H₁₀O₇; ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.48 (1H, s, 5-OH), 10.76 (1H, s, 7-OH), 7.68 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-2'), 7.55 (1H, dd, *J* = 8.0, 4.0 Hz, H-6'), 6.90 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5'), 6.41 (1H, s, H-8), 6.19 (1H, s, H-6); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 148.1 (C-2), 136.1 (C-3), 176.3 (C-4), 156.6 (C-5), 98.6 (C-6), 164.3 (C-7), 93.8 (C-8), 161.2 (C-9), 103.5 (C-10), 122.4 (C-1'), 115.5 (C-2'), 145.5 (C-3'), 147.3 (C-4'), 116.0 (C-5'), 120.4 (C-6')。核磁数据与文献报道基本一致^[23], 确定化合物 **11** 为槲皮素。

3.2 细胞毒性

化合物 **1~10** 的体外细胞毒性检测结果显示, 在 100~1 000 μg/mL, 10 个化合物对小鼠巨噬细胞 RAW264.7 细胞活力没有显著的抑制作用, 无细胞毒性作用, 且能显著刺激细胞增殖。

3.3 抗炎活性评价

利用 LPS 诱导 RAW264.7 小鼠单核巨噬细胞体外炎症模型, 以地塞米松作为阳性对照, 对分离得到的化合物 **1~10** 进行体外抗炎活性研究, 结果表明所有化合物均具有一定的抗炎活性, 与阳性对照地塞米松相比, 化合物 **1~3** 具有显著的抗炎活性, 其 IC₅₀ 分别为 4.15、5.68、10.82 μmol/L。见表 2。

表 2 化合物 **1~10** 对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞中 NO 生成的抑制结果 ($\bar{x} \pm s$, *n* = 6)

Table 2 Inhibitory activity results of compounds **1—10** in LPS-induced RAW264.7 cells ($\bar{x} \pm s$, *n* = 6)

化合物	IC ₅₀ /(μmol·L ⁻¹)
1	4.15 ± 0.06
2	5.68 ± 0.21
3	10.82 ± 0.34
4	35.32 ± 0.96
5	21.45 ± 0.63
6	18.34 ± 0.33
7	46.23 ± 0.57
8	24.50 ± 0.13
9	30.60 ± 0.67
10	19.50 ± 0.32
地塞米松	3.85 ± 0.16

4 讨论

女娄菜作为蝇子草属植物中的一种药食同源资源, 其新鲜嫩叶可以直接食用, 具有很高的经济价值和广阔的市场前景。目前国内尚未见有该植物的化学成分研究, 本研究对西藏产的女娄菜中的黄

酮类成分进行系统研究, 共分离得到 11 个化合物, 其中化合物 **1** 为新的黄酮苷类化合物, **2~6** 首次从该植物中分离得到。同时对化合物 **1~10** 进行细胞毒性及体外抗炎活性的研究, 其 IC₅₀ 在 4.15~10.82 μmol/L, 与阳性对照地塞米松相比, 结果表明化合物 **1~3** 具有显著的抗炎活性。该研究拓展和深化了对女娄菜所含化学成分的认识, 为该植物在民间的用药提供了理论基础, 同时化合物的抗炎活性研究为进一步探索和开发女娄菜的药用价值提供了科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Frodin D G. History and concepts of big plant Genera [J]. *Taxon*, 2004, 53(3): 753-776.
- [2] 潘晓玲, 皮锡铭. 新疆石竹科蝇子草属和女娄菜属数值分类研究初探 [J]. 新疆大学学报: 自然科学版, 1992, 9(1): 62-67.
- [3] 潘晓玲, 皮锡铭. 蝇子草属和女娄菜属分合问题的研究 [J]. 新疆大学学报: 自然科学版, 1993, 10(2): 86-94.
- [4] 底远哲, 胡伸萌, 王海霞, 等. 青藏高原 3 种蝇子草属植物的核型研究 [J]. 植物遗传资源学报, 2019, 20(4): 1074-1079.
- [5] 国家中医药管理局《中华本草》中华本草编委会. 中华本草: 藏药卷 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2002: 89.
- [6] 刘杰, 刘芳. 女娄菜的开发利用价值与路径探索 [J]. 中国果菜, 2019, 39(2): 59-61.
- [7] 乔娣. 横断山—云南高原地区蝇子草属的分类研究 [D]. 昆明: 云南大学, 2018.
- [8] 徐富一, 池鲜漠, 李恩淑, 等. 硬叶女娄菜止痛、消炎及对关节炎效能的研究 [J]. 河南中医学院学报, 2003, 18(1): 31-32.
- [9] Zibareva L N, Filonenko E S, Chernyak E I, *et al.* Flavonoids of some plant species of the genus *Silene* [J]. *Russ J Bioorg Chem*, 2023, 49(7): 1714-1722.
- [10] 梁卓菲, 梁小飞, 吴国庆, 等. 蝇子草属植物化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(7): 2184-2198.
- [11] 王纪明. 藏药“苏巴”中化学成分及其应用的研究 [D]. 成都: 西南交通大学, 2008.
- [12] 周静, 徐世友, 王玢, 等. CCK-8 法检测悬浮 MDCK-siat7e 细胞活力方法的建立 [J]. 微生物学免疫学进展, 2024, 52(6): 27-33.
- [13] Kim E H, Kwon H I, Park S J, *et al.* Generation of a high-growth influenza vaccine strain in MDCK cells for vaccine preparedness [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2018, 28(6): 997-1006.

- [14] 赵鹏安, 力瓦衣丁·买合苏提, 马国需, 等. 大苞荆芥化学成分及其抗炎活性研究 [J]. 中草药, 2023, 54(22): 7342-7350.
- [15] Geiger H, Reichert S, Markham K R. Herbacetin-3- β -D-(2-O- β -D-glucopyranosidoglucopyranoside)-8- β -D-glucopyranoside and gossypetin-3- β -D-(2-O- β -D-glucopyranosidoglucopyranoside)-8- β -D-glucopyranoside, two new flavonol-glycosides from *Equisetum hyemale* L. (Equisetaceae) [J]. *Z. Naturforsch*, 1982, 37(4): 504-507.
- [16] Whang W K, Lee M T. New flavonol glycosides from leaves of *Symplocarpus renifolius* [J]. *Arch Pharmacol Res*, 1999, 22(4): 423-427.
- [17] 章娟. 大花红景天质量控制和相关成分药代动力学研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2008.
- [18] 左月明, 徐元利, 张忠立, 等. 肺形草化学成分研究 (II) [J]. 中药材, 2016, 39(3): 552-554.
- [19] 唐海明, 陈建南, 徐香琴, 等. 狭基线纹香茶菜水溶性成分及其抗肿瘤活性研究 [J]. 中草药, 2014, 45(22): 3219-3223.
- [20] 王秋红, 刘玉婕, 苏阳, 等. 线叶菊抗感染有效部位化学成分的研究 (I) [J]. 中草药, 2012, 43(1): 43-46.
- [21] 刘坤, 黄智霖, 陈鸿庚, 等. 莲子心中黄酮苷类化合物分离鉴定及其抗氧化活性研究 [J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(2): 97-100.
- [22] 高桂花. 大青叶黄酮化合物的分离鉴定和含量测定方法研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2008.
- [23] 魏志文, 宛晓春, 李大祥, 等. 茶叶中槲皮素单体的分离与制备 [J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(3): 187-190.

[责任编辑 王文倩]