

[成分分析]

生藤化学成分及其生物活性研究

俞 静¹, 马国需², 尹翠云¹, 邓招游¹, 李宜航^{1*}, 里 二^{1*}

(1. 中国医学科学院药用植物研究所云南分所, 云南省南药可持续利用研究重点实验室, 云南 景洪 666100; 2. 中国医学科学院, 北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193)

摘要: 目的 研究生藤 *Stelmatocryton khasianum* (Benth.) Baill. 的化学成分及其体外抗炎、细胞毒活性。方法 采用薄层色谱、硅胶、半制备 HPLC 及 Sephadex LH-20 进行分离纯化, 根据理化性质及波谱数据鉴定所得化合物的结构。采用 RAW264.7 模型评价其体外抗炎活性, CCK-8 法测定细胞毒活性。结果 从中分离得到 15 个化合物, 分别鉴定为 2 α , 3 β , 19 α , 23-tetrahydroxy-urs-12-en-28-oic acid-3-O- β -D-glucopyranosyl-28-O- β -D-glucopyranosyl ester (**1**)、dalzienoside (**2**)、benzyl-(6-O- α -L-rhamnopyranosyl) O- β -D-glucopyranoside (**3**)、corchorusoside C (**4**)、cyclo(Ala-Tyr) (**5**)、thymidine (**6**)、(4S, 5S)-5-hydroxy-4-hexanolide (**7**)、2-methylpyridin-3-ol (**8**)、butyl isobutyl phthalate (**9**)、bis-(2-ethylhexyl) terephthalate (**10**)、p-hydroxybenzaldehyde (**11**)、vanilic acid (**12**)、salicylic acid (**13**)、isovanilic acid (**14**)、3-hydroxy-p-anisaldehyde (**15**)。化合物 **1**、**2** 和 **4** 对 NO 的 IC₅₀ 值分别为 (27.69±5.51)、(25.82±3.58)、(23.35±7.09) μ mol/L; 化合物 **1** 对 MCF-7 细胞的 IC₅₀ 值为 (18.15±6.45) μ mol/L, 化合物 **4** 对 MCF-7、HCCC-9810 细胞的 IC₅₀ 值分别为 (19.43±2.66)、(21.76±5.81) μ mol/L。结论 化合物 **2~11** 为首次从生藤中分离得到。化合物 **1**、**2** 和 **4** 具有良好的体外抗炎活性, 化合物 **1** 和 **4** 具有细胞毒活性。

关键词: 生藤; 化学成分; 分离鉴定; 抗炎活性; 细胞毒活性

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2025)11-3645-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.11.017

Chemical constituents of *Stelmatocryton khasianum* and their biological activity

YU Jing¹, MA Guo-xu², YIN Cui-yun¹, DENG Zhao-you¹, LI Yi-hang^{1*}, LI Er^{1*}

(1. Yunnan Key Laboratory of Southern Medicine Utilization, Yunnan Branch Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Jinghong 666100, China; 2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China)

ABSTRACT: AIM To study the chemical constituents from *Stelmatocryton khasianum*. (Benth.) Baill. and their *in vitro* anti-inflammatory activity and cytotoxic activity. **METHODS** Separation and purification were performed using thin layer chromatography, silica gel, semi-preparative HPLC and Sephadex LH-20, then the structures of obtained compounds were identified by physicochemical properties and spectral data. The *in vitro* anti-inflammatory activity was evaluated by RAW264.7 model, and the cytotoxic activity was determined by CCK-8 method. **RESULTS** Fifteen compounds were isolated and identified as 2 α , 3 β , 19 α , 23-tetrahydroxy-urs-12-en-28-oic acid-3-O- β -D-glucopyranosyl-28-O- β -D-glucopyranosyl ester (**1**), dalzienoside (**2**), benzyl-(6-O- α -L-rhamnopyranosyl) O- β -D-glucopyranoside (**3**), corchorusoside C (**4**), cyclo(Ala-Tyr) (**5**), thymidine (**6**), (4S, 5S)-5-hydroxy-4-hexanolide (**7**), 2-methylpyridin-3-ol (**8**), butyl isobutyl phthalate (**9**), bis-(2-ethylhexyl) terephthalate (**10**), p-hydroxybenzaldehyde (**11**), vanilic acid (**12**), salicylic acid (**13**), isovanilic acid (**14**), 3-hydroxy-p-anisaldehyde (**15**). The IC₅₀ values of compounds **1**, **2** and **4** for NO were

收稿日期: 2025-04-23

基金项目: 云南省民族宗教事务委员会“民族文化保护传承工程-少数民族文化精品工程”(云政办发〔2023〕6号-1); 云南省创新引导与科技型企业培育计划(202404BI090001); 云南省高层次科技人才及创新团队选拔专项(202405AS350020)

作者简介: 俞 静(1992—), 女, 硕士, 助理研究员, 从事天然产物分离研究。Tel: 15210924546, E-mail: yujingynu1113@163.com

*通信作者: 李宜航(1983—), 男, 硕士, 副研究员, 从事药理学研究。Tel: 15087657871, E-mail: 48466685@qq.com

里 二(1966—), 男(哈尼族), 副研究员, 从事民族民间医药研究。E-mail: ynfssjb@163.com

(27.69 ± 5.51)、(25.82 ± 3.58) 和 (23.35 ± 7.09) $\mu\text{mol/L}$, 分别。The IC_{50} 值为化合物 **1** 在 MCF-7 细胞中的 IC_{50} 值为 (18.15 ± 6.45) $\mu\text{mol/L}$ 。The IC_{50} 值为化合物 **4** 在 MCF-7 和 HCCC-9810 细胞中的 IC_{50} 值分别为 (19.43 ± 2.66) 和 (21.76 ± 5.81) $\mu\text{mol/L}$, 分别。CONCLUSION 化合物 **2-11** 都是从 *S. khasianum* 中首次分离得到的。化合物 **1**、**2** 和 **4** 展示了良好的 *in vitro* 抗炎活性, 而且 **1**、**4** 具有细胞毒性。

KEY WORDS: *Stelmatocryton khasianum* (Benth.) Baill.; chemical constituents; isolation and identification; anti-inflammatory activity; cytotoxic activity

生藤 *Stelmatocryton khasianum* (Benth.) Baill. 为萝藦科须药藤属植物的藤或全草, 又名羊角藤、须药藤, 性温, 味甘、辛, 具有祛风通络、温中行气、解表、止痛的功效, 在云南民间常被用于治疗流感、头痛咳嗽、气管炎、胃痛等病症^[1]。研究发现, 生藤中含有皂苷类、萜类、木脂素类、多糖类、甾醇类等多种化学成分^[1-2], 但相关研究较少, 且未进一步对已发现化合物的生物活性进行探讨, 这可能会成为限制其开发利用的影响因素之一。课题组前期筛选发现, 生藤提取物的乙酸乙酯部位具有一定程度体外抗炎和细胞毒活性, 表明生藤具有作为活性成分来源的应用价值。因此, 本实验对生藤 85% 乙醇提取物进行分离纯化, 并分别采用脂多糖诱导的巨噬细胞 RAW264.7 模型和 CCK-8 法测定所得部分化合物体外抗炎活性和细胞毒活性, 以期丰富生藤的化学成分种类并明确其活性物质基础。

1 材料

AM-600 核磁共振波谱仪 (德国布鲁克公司); 半制备液相色谱仪, 配置 2707 自动进样器、2535 四元泵、2998 二极管阵列检测器 (美国沃特世公司); SCIEX X500B QTOF 高分辨质谱仪 (美国 AB SCIEX 公司); Shim-pack GIST C₁₈ 色谱柱 (10 mm×250 mm, 5 μm) (日本岛津公司); HDL 超净工作台 (北京东联哈尔仪器制造有限公司); CKX41-A32PH 倒置显微镜 (上海普赫光电科技有限公司); HF240 CO₂ 细胞孵育温箱 (美国赛默飞世尔科技公司); GL 60SA 立式压力蒸汽灭菌器 [致微(厦门) 仪器有限公司]; MIKRO 220R 高速冷冻离心机 (上海金畔生物科技有限公司); IC 1000 Countstar 自动细胞计数仪 [艾力特生物科技(上海) 有限公司]; SpectraMax i3 酶标仪 [美谷分子仪器(上海) 有限公司]。

青霉素/链霉素双抗、小鼠单核巨噬细胞系 RAW264.7 (武汉普诺赛生命科技有限公司); DMEM 培养基、胎牛血清 (南京森贝伽生物科技

有限公司); 脂多糖、葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 (北京索莱宝科技有限公司); 硅胶、GF254 薄层色谱硅胶 (青岛海洋化工有限公司); 顺铂 (批号 L9C0V33, 纯度 $\geq 98\%$, 北京百灵威科技有限公司); MCF-7、HepG2、HCCC-9810 细胞, CCK-8 试剂盒, 一氧化氮检测试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司); 其他试剂均为分析纯 (上海泰坦科技股份有限公司)。

生藤于 2024 年 5 月采自云南省普洱市, 经中国医学科学院药用植物研究所云南分所张丽霞研究员鉴定为萝藦科须药藤属植物生藤 *Stelmatocryton khasianum* (Benth.) Baill. 的地上部分, 凭证标本 (编号 ST-2024-3) 保存于中国医学科学院药用植物研究所云南分所南药重点研究实验室。

2 提取与分离

取 20 kg 生藤, 粉碎, 加入 6 倍量的 85% 乙醇, 加热回流提取 3 次, 每次 3 h, 合并提取液, 减压浓缩后用水分散, 再依次以石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇各萃取 3 次, 萃取液减压浓缩得各部位浸膏。乙酸乙酯部位 (70 g) 用硅胶柱分离, 以二氯甲烷-甲醇 (100 : 1~2 : 1) 梯度洗脱, 根据薄层色谱检测结果划段, 共得到 9 个组分 (Fr. 1~Fr. 9)。Fr. 2 (3.1 g) 经硅胶柱分离, 以石油醚-乙酸乙酯 (50 : 0~1 : 1) 梯度洗脱, 得到 Fr. 1-1~Fr. 1-4, 采用洗晶的方式从组分 Fr. 1-1 (220 mg) 中得到化合物 **12** (15 mg)、**13** (30 mg) 和 **14** (19 mg)。Fr. 1-2 (160 mg) 经硅胶柱分离, 以石油醚-乙酸乙酯 (30 : 0~15 : 1) 梯度洗脱, 再经半制备 HPLC 分离, 以甲醇-水 (50 : 50) 洗脱, 得到化合物 **11** (4.1 mg, $t_{\text{R}} = 9.4 \text{ min}$)、**15** (6.0 mg, $t_{\text{R}} = 13.8 \text{ min}$)。Fr. 1-3 (120 mg) 经硅胶柱分离, 以石油醚-乙酸乙酯 (15 : 1~5 : 1) 梯度洗脱, 再经半制备 HPLC 分离, 以甲醇-水 (30 : 70) 洗脱, 得到化合物 **9** (3.7 mg, $t_{\text{R}} = 17.1 \text{ min}$)、**10** (4.3 mg, $t_{\text{R}} = 22.9 \text{ min}$)。Fr. 1-4 (90 mg) 经 Sephadex LH-20 分离, 以石油醚-二氯甲烷-

甲醇(5:5:1)洗脱,再经半制备HPLC分离,以甲醇-水(25:75)洗脱,得到化合物7(6.5 mg, $t_R=11.8$ min)、5(15.4 mg, $t_R=19.4$ min)、6(11.2 mg, $t_R=21.1$ min)。Fr. 7(5.9 g)经硅胶柱分离,以二氯甲烷-甲醇(10:0~1:1)梯度洗脱,得到Fr. 7-1~Fr. 7-5。Fr. 7-1(530 mg)经Sephadex LH-20分离,以甲醇洗脱,再经半制备HPLC分离,以甲醇-水(48:52)洗脱,得到化合物2(10.4 mg, $t_R=16.6$ min)。Fr. 7-2(1.1 g)经Sephadex LH-20(流动相甲醇)分离,再经半制备HPLC分离,以甲醇-水(45:55)洗脱,得到化合物4(22.6 mg, $t_R=14.3$ min)、1(19.7 mg, $t_R=16.0$ min)。Fr. 7-3(420 mg)经Sephadex LH-20(流动相纯甲醇)分离,再经半制备HPLC分离,以甲醇-水(28:72)洗脱,得到化合物8(5.9 mg, $t_R=10.8$ min)、3(33.0 mg, $t_R=21.6$ min)。半制备HPLC的体积流量均为2.0 mL/min,检测波长均为210 nm。

3 结构鉴定

化合物1:白色固体, HR-ESI-MS m/z : 851.439 2 [$M+Na$]⁺。¹H-NMR [600 MHz, (CD_3)₂CO] δ : 5.18 (1H, m, H-1'), 5.15 (1H, d, $J=6.0$ Hz, H-1''), 5.05 (1H, t, $J=8.5$ Hz, H-2'), 5.03 (1H, m, H-3'), 5.00 (1H, m, H-4'), 4.97 (1H, m, H-6'b), 4.56 (1H, m, H-6'a), 4.54 (1H, m, H-6''b), 4.53 (1H, m, H-3''), 4.50 (1H, m, H-5'), 4.42 (1H, m, H-4''), 4.40 (1H, m, H-6'a), 4.37 (1H, d, $J=10.8$ Hz, H-23b), 4.18 (1H, d, $J=10.8$ Hz, H-23a), 4.16 (1H, m, H-5''), 4.14 (1H, m, H-2''), 3.89 (1H, m, H-2), 3.37 (1H, s, H-18), 3.18 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-3), 2.37 (1H, dd, $J=12.6, 4.8$ Hz, H-1b), 2.06 (1H, m, H-11b), 1.90 (1H, m, H-11a), 1.87 (1H, m, H-9), 1.85 (1H, m, H-6b), 1.65 (1H, m, H-7b), 1.62 (1H, m, H-5), 1.59 (1H, m, H-6a), 1.50 (1H, m, H-20), 1.48 (1H, m, H-7a), 1.47 (1H, m, H-1a), 1.45 (1H, m, H-21b), 1.36 (1H, m, H-21a), 1.28 (3H, s, 29-CH₃), 1.10 (3H, s, 24-CH₃), 1.05 (3H, s, 30-CH₃), 0.92 (3H, s, 25-CH₃), 0.80 (3H, s, 26-CH₃), 0.67 (3H, s, 27-CH₃); ¹³C-NMR [150 MHz, (CD_3)₂CO] δ : 175.6 (C-27), 138.3 (C-13), 127.0 (C-12), 104.9 (C-1''), 94.7 (C-1'), 94.1 (C-3), 77.7 (C-5'), 76.7 (C-3'), 76.7 (C-3''), 73.9 (C-5''), 72.5 (C-2''), 72.3 (C-

2'), 71.7 (C-19), 69.9 (C-4''), 69.5 (C-4'), 65.5 (C-2), 63.1 (C-24), 60.9 (C-6''), 60.6 (C-6'), 54.8 (C-18), 53.2 (C-17), 48.6 (C-9), 47.4 (C-1), 46.7 (C-5), 46.7 (C-4), 41.3 (C-20), 41.1 (C-14), 37.0 (C-8), 36.7 (C-10), 32.5 (C-22), 32.5 (C-7), 28.1 (C-15), 27.9 (C-29), 26.5 (C-21), 25.8 (C-16), 25.1 (C-27), 23.9 (C-11), 23.3 (C-6), 17.9 (C-25), 17.7 (C-26), 16.4 (C-30), 16.3 (C-24)。以上数据与文献[3]报道基本一致,故鉴定为2 α , 3 β , 19 α , 23-tetrahydroxy-urs-12-en-28-oic acid-3-O- β -D-glucopyranosyl-28-O- β -D-glucopyranosyl ester。

化合物2:白色固体, HR-ESI-MS m/z : 353.120 0 [$M+Na$]⁺。¹H-NMR [600 MHz, (CD_3)₂CO] δ : 7.18 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-3), 6.72 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-6), 6.56 (1H, dd, $J=8.4, 2.4$ Hz, H-4), 5.08 (1H, d, $J=5.4$ Hz, H-1'), 4.76 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-7a), 4.50 (1H, d, $J=4.8$ Hz, H-7b), 4.40 (1H, m, H-6'a), 4.37 (1H, m, H-6'b), 3.72 (3H, s, H-1''), 3.43 (1H, m, H-5'), 3.41 (1H, m, H-3'), 3.29 (1H, m, H-2'), 3.26 (1H, m, H-4'), 3.25 (3H, s, H-1''); ¹³C-NMR [150 MHz, (CD_3)₂CO] δ : 159.8 (C-5), 156.2 (C-1), 129.5 (C-3), 119.3 (C-2), 106.8 (C-4), 101.7 (C-1'), 101.3 (C-6), 77.2 (C-5'), 76.6 (C-3'), 73.4 (C-2'), 72.5 (C-4'), 69.9 (C-7), 68.0 (C-6'), 57.4 (C-1'), 55.1 (C-1'')。以上数据与文献[4]报道基本一致,故鉴定为dalzienoside。

化合物3:白色固体, HR-ESI-MS m/z : 415.161 3 [$M-H$]⁻。¹H-NMR [600 MHz, (CD_3)₂CO] δ : 7.39 (2H, m, H-3, 7), 7.34 (2H, m, H-4, 6), 7.28 (1H, m, H-5), 5.16 (1H, d, $J=4.8$ Hz, H-1'), 5.07 (1H, d, $J=10.8$ Hz, H-1a), 4.78 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H-1''), 4.76 (1H, d, $J=10.8$ Hz, H-1b), 4.63 (1H, m, H-2'), 4.61 (1H, dd, $J=10.8, 1.6$ Hz, H-6'a), 4.55 (1H, dd, $J=3.6, 1.6$ Hz, H-2''), 4.50 (1H, dd, $J=10.8, 3.0$ Hz, H-3''), 4.43 (1H, dd, $J=8.4, 5.4$ Hz, H-5''), 4.21 (1H, d, $J=7.2$ Hz, H-6'b), 3.49 (1H, m, H-3'), 3.40 (1H, m, H-5'), 3.28 (1H, m, H-3''), 3.03 (1H, m, H-4'), 1.13 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H-6''); ¹³C-NMR [150 MHz, (CD_3)₂CO] δ : 137.8 (C-2), 128.2 (C-4, 6), 127.9 (C-3, 7), 127.5 (C-5), 102.0 (C-1'), 101.0 (C-1''), 76.6 (C-3'), 75.5

(C-5') , 73.4 (C-2') , 72.5 (C-4'') , 72.0 (C-3'') , 70.7 (C-2'') , 70.5 (C-1) , 70.3 (C-4') , 68.4 (C-5'') , 67.1 (C-6') , 18.0 (C-6'') 。以上数据与文献 [5] 报道基本一致, 故鉴定为 benzyl- (6-O- α -L-rhamnopyranosyl) O- β -D-glucopyranoside)。

化合物 4: 白色固体, HR-ESI-MS m/z : 705.345 1 [$M+Na$]⁺。¹H-NMR [600 MHz, (CD_3)₂CO] δ : 4.88 (1H, dd, $J=18.0, 1.5$ Hz, H-21b), 4.84 (1H, m, H-21a), 4.52 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-1), 4.27 (1H, s, H-3'), 4.22 (1H, m, H-3), 3.83 (1H, m, H-6b), 3.60 (1H, m, H-6a), 1.20 (3H, d, $J=6.0$ Hz, 6'-CH₃), 0.81 (3H, s, 19-CH₃), 0.79 (3H, s, 18-CH₃); ¹³C-NMR [150 MHz, (CD_3)₂CO] δ : 173.9 (C-20), 172.5 (C-23), 119.0 (C-23), 101.8 (C-1''), 95.9 (C-1'), 82.8 (C-14), 82.1 (C-4'), 75.7 (C-3''), 74.5 (C-5''), 74.1 (C-3), 73.0 (C-5), 72.5 (C-21), 71.6 (C-2''), 70.7 (C-4''), 70.5 (C-5'), 68.0 (C-3'), 67.2 (C-6''), 61.3 (C-17), 57.9 (C-13), 49.4 (C-10), 48.6 (C-8), 43.2 (C-12), 40.3 (C-9), 40.2 (C-2''), 38.6 (C-6), 38.1 (C-4), 37.9 (C-15), 34.5 (C-16), 34.3 (C-2), 34.2 (C-1), 25.3 (C-7), 24.7 (C-11), 18.2 (C-6'), 16.8 (C-19), 16.3 (C-18)。以上数据与文献 [6] 报道基本一致, 故鉴定为 corchorusoside C。

化合物 5: 白色固体, HR-ESI-MS m/z : 235.107 0 [$M+H$]⁺。¹H-NMR [600 MHz, (CD_3)₂CO] δ : 9.36 (1H, brs, 11-OH), 8.06 (1H, d, $J=1.2$ Hz, 2-NH), 8.00 (1H, d, $J=1.8$ Hz, 5-NH), 6.93 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-9, 13), 6.66 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-10, 12), 4.07 (1H, s, H-6), 3.61 (1H, dd, $J=7.2, 1.4$ Hz, H-3), 3.02 (1H, dd, $J=13.8, 3.6$ Hz, H-7b), 2.74 (1H, dd, $J=13.8, 4.8$ Hz, H-7a), 0.52 (3H, d, $J=6.6$ Hz, 3-CH₃); ¹³C-NMR [150 MHz, (CD_3)₂CO] δ : 167.7 (C-1), 166.0 (C-4), 156.3 (C-11), 131.3 (C-9, 13), 125.9 (C-8), 114.9 (C-10, 12), 55.6 (C-6), 49.8 (C-3), 37.6 (C-7), 19.9 (3-CH₃)。以上数据与文献 [7] 报道基本一致, 故鉴定为 cyclo (Ala-Tyr)。

化合物 6: 白色固体, HR-ESI-MS m/z : 265.079 2 [$M+Na$]⁺。¹H-NMR [600 MHz, (CD_3)₂CO] δ : 11.31 (1H, brs, 3-NH), 7.71 (1H, s, H-6), 6.17 (1H, t, $J=6.6$ Hz, H-1'), 5.29 (1H, s, 3'-

OH), 5.09 (1H, s, 5'-OH), 4.23 (1H, m, H-3'), 3.75 (1H, dd, $J=6.6, 3.6$ Hz, H-4'), 3.57 (1H, d, $J=11.4$ Hz, H-5'a), 3.55 (1H, d, $J=11.4$ Hz, H-5'b), 2.06 (2H, m, H-2'), 1.77 (3H, s, 5-CH₃); ¹³C-NMR [150 MHz, (CD_3)₂CO] δ : 163.8 (C-4), 150.5 (C-2), 136.2 (C-6), 109.4 (C-5), 87.3 (C-4'), 83.7 (C-1'), 70.4 (C-3'), 61.3 (C-5'), 40.1 (C-2'), 12.3 (5-CH₃)。以上数据与文献 [8] 报道基本一致, 故鉴定为 thymidine。

化合物 7: 无色油状物, HR-ESI-MS m/z : 131.069 7 [$M+H$]⁺。¹H-NMR [600 MHz, (CD_3)₂CO] δ : 4.31 (1H, m, H-4), 3.63 (1H, m, H-5), 2.43~2.48 (2H, m, H-3), 1.94~2.14 (2H, m, H-2), 1.06 (3H, d, $J=6.6$ Hz, 5-CH₃); ¹³C-NMR [150 MHz, (CD_3)₂CO] δ : 178.8 (C-1), 84.4 (C-2), 70.0 (C-3), 29.4 (C-4), 24.9 (C-5), 18.6 (5-CH₃)。以上数据与文献 [9] 报道基本一致, 故鉴定为 (4S, 5S)-5-hydroxy-4-hexanolide。

化合物 8: 白色固体, HR-ESI-MS m/z : 108.045 9 [$M-H$]⁻, ¹H-NMR [600 MHz, (CD_3)₂CO] δ : 9.77 (1H, brs, 3-OH), 7.88 (1H, d, $J=3.6$ Hz, H-6), 7.09 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-4), 7.02 (1H, d, $J=4.2$ Hz, H-5), 2.30 (3H, s, 7-CH₃); ¹³C-NMR [150 MHz, (CD_3)₂CO] δ : 151.6 (C-3), 146.2 (C-2), 139.4 (C-6), 121.9 (C-5), 120.8 (C-4), 19.2 (C-7)。以上数据与文献 [10] 报道基本一致, 故鉴定为 2-methylpyridin-3-ol。

化合物 9: 无色油状物, HR-ESI-MS m/z : 301.140 8 [$M+Na$]⁺。¹H-NMR [600 MHz, (CD_3)₂CO] δ : 7.72 (2H, m, H-2, 5), 7.67 (2H, m, H-3, 4), 4.22 (2H, t, $J=6.6$ Hz, H-1'), 4.01 (2H, d, $J=6.6$ Hz, H-1''), 1.96 (1H, m, H-2''), 1.64 (2H, m, H-2'), 1.37 (2H, m, H-3'), 0.92 (6H, d, $J=6.6$ Hz, H-3'', 4''), 0.90 (3H, d, $J=7.2$ Hz, H-4'); ¹³C-NMR [150 MHz, (CD_3)₂CO] δ : 167.0 (C-1a), 167.0 (C-2a), 131.7 (C-1, 6), 131.6 (C-2, 5), 128.7 (C-3, 4), 71.2 (C-1'), 65.1 (C-1''), 30.0 (C-2'), 27.2 (C-2''), 18.9 (C-3''), 18.7 (C-4''), 13.6 (C-4')。以上数据与文献 [11] 报道基本一致, 故鉴定为 butyl-isobutyl-phthalate。

化合物 10: 白色油状物, HR-ESI-MS m/z : 391.284 9 [$M+H$]⁺。¹H-NMR [600 MHz, (CD_3)₂CO] δ : 8.08 (4H, s, H-2, 3, 5, 6), 4.24~4.22 (4H, m, H-2', 2''), 1.70 (2H, m, H-3', 3''), 1.42~

1.48 (12H, m, H-4' ~ 6', 4'' ~ 6''), 1.42 ~ 1.40 (4H, m, H-8', 8''), 0.93 ~ 0.83 (12H, m, H-7', 7'', 9', 9''); ^{13}C -NMR [150 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] δ : 165.1 (C-1', 1''), 133.8 (C-1, 4), 129.5 (C-2, 3, 5, 6), 67.1 (C-2', 2''), 38.3 (C-3', 3''), 29.9 (C-4', 4''), 28.4 (C-5', 5''), 23.4 (C-6', 6''), 22.5 (C-8', 8''), 14.0 (C-9', 9''), 11.0 (C-7', 7'')₂。以上数据与文献[12]报道基本一致, 故鉴定为 bis-(2-ethylhexyl) terephthalate。

化合物 11: 无色结晶, HR-ESI-MS m/z : 123.0437 [$\text{M}+\text{H}$]⁺。 ^1H -NMR [600 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] δ : 10.63 (1H, s, 1-CHO), 7.76 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-2, 6), 6.93 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-3, 5); ^{13}C -NMR [150 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] δ : 191.0 (1-CHO), 163.4 (C-4), 132.2 (C-2, 6), 128.4 (C-1), 115.9 (C-3, 5)。以上数据与文献[13]报道基本一致, 故鉴定为 *p*-hydroxy benzaldehyde。

化合物 12: 白色结晶, HR-ESI-MS m/z : 167.0348 [$\text{M}-\text{H}$]⁻。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 9.74 (1H, s, 4-OH), 7.07 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5), 7.30 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H-2), 7.42 (1H, dd, $J=8.4, 1.8$ Hz, H-6), 3.94 (3H, s, 3-OCH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 152.1 (C-1), 58.8 (3-OCH₃), 148.3 (C-3), 125.2 (C-4), 117.8 (C-5), 116.1 (C-2), 126.8 (C-6)。以上数据与文献[14]报道基本一致, 故鉴定为 vanilic acid。

化合物 13: 白色晶体, HR-ESI-MS m/z : 137.0237 [$\text{M}-\text{H}$]⁻。 ^1H -NMR [600 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] δ : 7.38 (1H, td, $J=7.8, 1.2$ Hz, H-4), 7.65 (1H, dd, $J=8.4, 1.2$ Hz, H-6), 6.78 (1H, brt, $J=8.5$ Hz, H-5), 6.75 (1H, dd, $J=8.4, 1.2$ Hz, H-3); ^{13}C -NMR [150 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] δ : 172.4 (C-7), 161.8 (C-2), 135.4 (C-4), 130.5 (C-6), 119.0 (C-5), 117.2 (C-3), 114.5 (C-1)。以上数据与文献[15]报道基本一致, 故鉴定为 salicylic acid。

化合物 14: 白色晶体, HR-ESI-MS m/z : 167.0340 [$\text{M}-\text{H}$]⁻。 ^1H -NMR [600 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] δ : 12.51 (1H, s, 1-COOH), 9.87 (1H, s, 3-OH), 7.45 (1H, m, H-2), 7.43 (1H, m, H-6), 6.84 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5), 3.80 (3H, s, 4-OCH₃); ^{13}C -NMR [150 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] δ : 176.0 (1-COOH), 152.6 (C-4), 148.8 (C-3), 125.4 (C-6), 56.7 (4-OCH₃), 116.1 (C-2), 116.0 (C-1),

114.0 (C-5)。以上数据与文献[16]报道基本一致, 故鉴定为 isovanilic acid。

化合物 15: 白色晶体, HR-ESI-MS m/z : 151.0402 [$\text{M}-\text{H}$]⁻。 ^1H -NMR [600 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] δ : 9.77 (1H, s, 1-CHO), 9.61 (1H, s, 3-OH), 7.41 (1H, dd, $J=8.4, 1.8$ Hz, H-6), 7.24 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-2), 7.12 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-5), 3.86 (3H, s, 4-OCH₃); ^{13}C -NMR [150 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] δ : 191.3 (1-CHO), 153.7 (C-4), 147.8 (C-3), 131.3 (C-1), 125.0 (C-6), 114.5 (C-2), 112.2 (C-5), 56.3 (4-OCH₃)。以上数据与文献[17]报道基本一致, 故鉴定为 3-hydroxy-*p*-anisaldehyde。

4 体外抗炎和细胞毒活性研究

采用 CCK-8 法测定化合物 1~6 对脂多糖诱导巨噬细胞 RAW264.7 模型正常增殖的影响性^[18-19], 结果在 50 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下, 细胞存活率均大于 90%, 无明显毒活。将对数生长期的 RAW264.7 细胞制成密度为 $3 \times 10^5/\text{mL}$ 的悬液, 接种于 96 孔板中。实验分为对照组、脂多糖组和给药组, 其中对照组加入 100 μL 含 0.1% DMSO 完全培养基; 脂多糖组加入 100 μL 1 $\mu\text{g/mL}$ 脂多糖溶液; 给药组加入脂多糖完全培养基和 100 μL 不同浓度 (100、50、25、12.5、6.25 $\mu\text{mol/L}$) 待测化合物, 阳性对照为地塞米松, 每组设置 3 个复孔, 置于 5% CO₂、37 °C 的培养箱中继续培养 24 h。吸取细胞上清液 50 μL , 在 540 nm 波长处测定吸光度, 计算 IC₅₀ 值, 结果见表 1。

采用 CCK-8 法对化合物 1~6 进行体外细胞毒活性评价^[20], 阳性对照为顺铂。分别采用 DMEM 培养基和 RPMI-1640 培养基培养 MCF-7、HepG2、HCCC-9810 细胞。用无血清培养基将对数生长期的细胞密度调整至 $3 \times 10^5/\text{mL}$, 接种于 96 孔板中, 每孔 200 μL 。置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 12 h, 吸出培养基后加入待测物并逐级稀释, 使终浓度分别为 100、50、25、12.5、6.25 $\mu\text{mol/L}$ 。继续孵育 24 h 后加入 CCK-8 溶液, 在 37 °C 条件下再孵育 4 h, 在 450 nm 波长处测定吸光度, 计算 IC₅₀ 值, 结果见表 1。

由此可知, 化合物 1、2 和 4 对 RAW264.7 细胞生成 NO 表现出抑制作用, 具有一定程度的抗炎活性; 化合物 1 和 4 对 MCF-7、HCCC-9810 细胞表现出中等强度毒活性。

表1 化合物1~6的体外抗炎和细胞毒活性 ($\bar{x} \pm s$, n=3)Tab. 1 Anti-inflammatory and cytotoxic activity of compounds 1-6 ($\bar{x} \pm s$, n=3)

化合物	抗炎活性 IC ₅₀ /($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	细胞毒活性 IC ₅₀ /($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)		
		MCF-7	HepG2	HCCC-9810
1	27.69±5.51 ^a	18.15±6.45 ^{ab}	29.33±8.87 ^b	27.64±4.05 ^{bc}
2	25.82±3.58 ^a	28.54±7.24 ^b	33.25±2.21 ^b	36.49±6.83 ^c
3	48.04±4.12 ^b	>50	44.81±6.59 ^c	>50
4	23.35±7.09 ^a	19.43±2.66 ^{ab}	26.07±4.90 ^b	21.76±5.81 ^{ab}
5	>50	>50	>50	>50
6	>50	>50	>50	>50
地塞米松	43.97±6.42 ^b	—	—	—
顺铂	—	15.14±3.90 ^a	10.98±2.03 ^a	12.06±5.67 ^a

注: 表中同列中不同小写字母表示差异具有统计学意义, P<0.05。

5 讨论

本研究从生藤药用部位分离得到15个化合物, 结构类型多样, 包括糖苷类、寡肽类、生物碱类、聚酮类、酚酸类等物质, 其中化合物2~11为首次从生藤中分离得到, 也是首次从须药藤属植物中分离得到。本实验通过测定化合物1~6对RAW264.7细胞NO释放的抑制作用, 发现化合物1、2和4均具有一定程度抗炎活性; 并采用CCK-8法评价化合物1~6的细胞毒活性, 结果化合物1对细胞MCF-7表现出中等强度毒活性, 化合物4对MCF-7和HCCC-9810细胞均表现出中等强度毒活性。本研究结果丰富了生藤化学成分的结构类型, 同时也为充分探究生藤药效物质基础提供科学基础。

参考文献:

- [1] 张庆英. 生藤和飞廉化学成分及生物活性研究[D]. 北京: 北京医科大学, 2000.
- [2] 莫小宇, 麦景标. 生藤正丁醇部位化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(22): 170-171.
- [3] Abe F, Yamauchi T. Trachelosperosides, glycosides of 19 α -hydroxyursane-type triterpenoids from *Trachelospermum asiaticum* (*Trachelospermum*. III) [J]. *Chem Pharm Bull*, 1987, 35(5): 1748-1754.
- [4] Tegnas C, Kapche G D W F, Mawabo I K, et al. Bioguided chemical study of *Boswellia dalzielii* Hutch. (Burseraceae) for antibacterial agents and a new glucopyranoxylmethoxybenzyle [J]. *Nat Prod Res*, 2021, 35(23): 5199-5208.
- [5] Nualkaew S, Thongpraditchote S, Wongkrajang Y, et al. Isolation of a new compound, 2-butanone 4-glucopyranoside 6'-O-gallate and other 8 compounds from the anti-inflammatory leave extracts of *Memecylon edule* Roxb[J]. *Nat Prod Res*, 2017, 31(12): 1370-1378.
- [6] Nakamura T, Goda Y, Sakai S, et al. Cardenolide glycosides from seeds of *Corchorus olitorius*[J]. *Phytochemistry*, 1998, 49(7): 2097-2101.
- [7] 张梦娇, 邝天浩, 赵金诺, 等. 华泽兰内生真菌 *Septoriella phragmitis* 次级代谢产物及其生物活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2024, 36(6): 986-992.
- [8] 武建发, 崔颖, 丁卫星, 等. 萝白不同极性部位的化学成分研究[J]. 中国药学杂志, 2025, 60(3): 223-233.
- [9] 王燕萍, 高颖瑞, 张乾年, 等. 新鲜党参酵母菌发酵产物95%乙醇提取物化学成分研究[J]. 兰州大学学报(医学版), 2022, 48(5): 45-50; 56.
- [10] 段晓燕, 阎慧, 陈贻芳, 等. 乌天麻二氯甲烷萃取部位化学成分及其胆碱酯酶抑制活性的研究[J]. 中草药, 2022, 53(23): 7324-7330.
- [11] 甘甜. 山兰化学成分及其体外抗氧化活性研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2017.
- [12] 刘永建, 刘浩, 李华爽, 等. 骆驼蓬子生物碱化学成分研究[J]. 中草药, 2024, 55(3): 705-710.
- [13] 尚莹, 朱一栋, 张慧, 等. 枸杞子乙酸乙酯提取部位化学成分及生物活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2025, 37(1): 57-64.
- [14] 施江. 遵义虾子镇辣椒根中的化学成分研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2023.
- [15] 唐凯俊. 马齿苋的化学成分及其活性研究[D]. 济南: 山东大学, 2022.
- [16] 李绍花, 陈宇凡, 钱海珊, 等. 白背叶根乙酸乙酯部位化学成分研究[J]. 云南中医药大学学报, 2024, 47(4): 61-65.
- [17] 蔡雨千. 九翅豆蔻的化学成分研究[D]. 昆明: 云南中医药大学, 2017.
- [18] 王娟, 袁圆, 尹莉, 等. 白背叶根乙酸乙酯部位化学成分及其实体外抗炎活性研究[J]. 中成药, 2025, 47(1): 101-107.
- [19] 刘雅清, 刘滨, 马旭冉, 等. 黄芩汤对LPS诱导的RAW264.7炎症细胞的抗炎作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(7): 20-28.
- [20] Hui Y L, Tang T, Wang J, et al. Fusaricide is a novel iron chelator that induces apoptosis through activating caspase-3[J]. *J Nat Prod*, 2021, 84(8): 2094-2103.