

山银花茎叶化学成分及其抗炎活性研究

蒋小华¹, 韦玉璐¹, 白 军², 颜小捷¹, 李典鹏¹, 卢凤来^{1*}

(1. 广西植物功能物质与资源持续利用重点实验, 广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所, 广西 桂林 541006; 2. 桂林华艺生物科技有限公司, 广西 桂林 541805)

摘要: **目的** 对山银花茎叶化学成分进行分离和结构鉴定, 并进行体外抗炎活性评价。**方法** 山银花茎叶 80% 甲醇提取物采用 Diaion HP20SS、Sephadex LH-20、高速逆流色谱、反相半制备液相色谱等进行分离纯化, 根据理化性质及波谱数据鉴定所得化合物的结构。通过测定单体化合物抑制 LPS 诱导小鼠巨噬细胞 RAW264.7 释放 NO 水平评价其抗炎活性。**结果** 从山银花茎叶中分离得到 13 个化合物, 分别鉴定为苄醇- O - β -D-吡喃葡萄糖- (1 $\rightarrow$ 6) - β -D-吡喃葡萄糖苷 (1)、獐牙菜苷 (2)、表断马钱子苷半缩醛内酯 (3)、马钱子苷半缩醛内酯 (4)、裂环马钱苷 (5)、断氧化马钱苷 (6)、裂马钱素二甲基乙缩醛 (7)、绿原酸甲酯 (8)、芹菜素-7- O - β -D-葡萄糖苷 (9)、木犀草素-7- O - β -D-葡萄糖苷 (10)、野漆树苷 (11)、木犀草素-7- O - α -L-吡喃阿拉伯糖 (1 $\rightarrow$ 6) - β -D-吡喃葡萄糖苷 (12)、忍冬苷 (13); 化合物 2~8、11~13 可抑制 LPS 诱导 RAW264.7 细胞释放 NO。**结论** 化合物 1 首次从忍冬属植物中分离得到, 化合物 3、5、7、9、11~12 首次从山银花茎叶中发现。化合物 2~8、11~13 具有一定的抗炎活性。

关键词: 山银花茎叶; 环烯醚萜苷; 黄酮; 抗炎活性

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2024)02-0484-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.02.022

Chemical constituents from stems and leaves of *Lonicera confusa* and their anti-inflammatory activities

JIANG Xiao-hua¹, WEI Yu-lu¹, BAI Jun², YAN Xiao-jie¹, LI Dian-peng¹, LU Feng-lai^{1*}

(1. Guangxi Key Laboratory of Plant Functional Phytochemicals and Sustainable Utilization, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, China; 2. Guilin Huayi Biotechnology Co., Ltd., Guilin 541805, China)

ABSTRACT: **AIM** To study the chemical constituents and their anti-inflammatory activities of stems and leaves of *Lonicera confusa* DC. **METHODS** The 80% methanol extract from stems and leaves of *L. confusa* DC was isolated and purified by Diaion HP20SS, Sephadex LH-20, HSCCC and preparative HPLC, then the structures of obtained compounds were identified by physicochemical properties and spectral data. Their anti-inflammatory activities were evaluated by measuring NO production of LPS-stimulated RAW264.7 cells *in vitro*. **RESULTS** Thirteen compounds were isolated and identified as benzyl alcohol- O - β -D-glucopyranosyl- (1 $\rightarrow$ 6) - β -D-glucopyranoside (1), sweroside (2), epi-vogeloside (3), vogeloside (4), secologanoside (5), secoxyloganin (6), secologanin dimethyl acetal (7), methyl chlorogenate (8), apigenin-7- O - β -D-glucopyranoside (9), luteolin-7- O - β -D-glucopyranoside (10), rhoifolin (11), luteolin-7- O - α -L-arabinopyranosyl (1 $\rightarrow$ 6) - β -D-glucopyranoside (12), and lonicerin (13). Compounds 2~8, 11~13 inhibited the NO production of LPS-induced cells. **CONCLUSION** Compound 1 is first isolated from family *Lonicera*, compounds 3, 5, 7, 9, 11, and 12 are obtained from the stems and leaves of this plant for the first time. Compounds 2~8, 11~13 exhibited anti-inflammatory activities.

收稿日期: 2023-02-15

基金项目: 广西科技重大专项 (桂科 AA22096020); 广东省重点领域研发计划项目 (2020B1111110003); 桂林市重点研发计划 (2020010404); 桂林市创新平台和人才计划 (20210102-3)

作者简介: 蒋小华 (1977—), 女, 助理研究员, 从事天然产物化学研究。E-mail: jxh0126@foxmail.com

* **通信作者:** 卢凤来 (1979—), 女, 博士, 副研究员, 从事天然产物的开发与利用研究。E-mail: lufenglai@gxib.cn

KEY WORDS: stems and leaves of *Lonicera confusa*; iridoid glycosides; flavonoid; anti-inflammatory activities

山银花为忍冬科植物华南忍冬 *Lonicera confusa* DC. 的干燥花蕾，主产于广西、广东、江西、海南、湖南等省区，为华南地区“金银花”中药材的主要品种，具有清热解毒、疏散风热的功效，被用作解毒剂和清热药，其藤和叶也入药^[1-2]。山银花作为历史悠久的传统中草药，许多学者对其进行化学成分、药理活性等方面的研究，结果表明，化学成分主要为环烯醚萜苷类、黄酮类、咖啡酸衍生物、三萜及三萜皂苷类、甾醇类、挥发油等^[3-8]，具有抗菌^[9]、抗炎^[9-11]、抗氧化^[10]、保肝^[12]、保护血管、免疫调节^[13-16]等作用，但对单体化合物的活性研究较少。为了来年花开得更好，山银花种植过程中需要进行整形修剪，修剪下大量茎叶常常被丢弃，造成极大的资源浪费。目前山银花的应用和研究都集中在山银花的花蕾上，而对茎叶的研究较少^[17]。本实验以山银花茎叶 80% 甲醇提取物为研究对象，进行化学成分研究及单体化合物体外抗炎活性评价，以期如山银花综合利用提供依据。结果从山银花茎叶分离得到 13 个化合物，主要为环烯醚萜苷类、黄酮类等，极大丰富了山银花的化学多样性。化合物 **1** 首次从忍冬属植物中分离得到，化合物 **3**、**5**、**7**、**9**、**11**、**12** 首次从山银花茎叶中发现，化合物 **2**~**8**，**11**~**13** 具有一定的抗炎活性。

1 材料

Avance 500 MHz 核磁共振波谱仪（德国 Bruker 公司）；TBE-300C 高速逆流色谱仪（上海同田生物技术有限公司）；Agilent1200 高效液相色谱仪、Agilent Zorbax SB-C18 色谱柱（美国 Agilent 公司）；LCMS-IT-TOF 液相色谱质谱联用仪、LC-2030C 高效液相色谱仪（日本岛津公司）；硅胶薄层板 F₂₅₄（德国 Merck KGaA 公司）；Diaion HP20SS（日本 Mitsubishi Chemical 公司）；Sephadex LH-20（瑞典 GE 公司）；Spark 多功能酶标仪（瑞士 Tecan 公司）；311 型二氧化碳培养箱（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）；XDS-100 倒置显微镜（上海光学仪器厂）。

小鼠巨噬细胞 RAW264.7（中国科学院上海细胞库）；胎牛血清（赛业生物科技发展有限公司）；高糖培养基（美国 Gibco 公司）；CCK-8 试剂盒（美国 MedChemExpress 公司）；脂多糖、吲哚美辛（美国 Sigma Aldrich 公司）；一氧化氮检测试剂盒（上海碧云天生物技术有限公司）。乙腈、甲醇（色

谱纯，美国 Thermo Fisher Scientific 公司）；CD₃OD、DMSO（美国 Cambridge Isotope Laboratories 公司）；其他试剂为分析纯；水为超纯水。

山银花茎叶采于广西桂林市资源县，经广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所卢凤来副研究员鉴定为忍冬科植物山银花 *Lonicera confusa* DC. 的茎叶。凭证标本（编号 LC202109-1）保存于广西植物功能物质与资源持续利用重点实验室。

2 提取与分离

取干燥山银花茎叶 5.0 kg，粉碎，过 80 目筛，用 10 倍量 80% 甲醇加热回流提取 3 次，每次 3 h，过滤，合并提取液，将提取液浓缩得浸膏 202.0 g。浸膏 150 g 经 HP20SS 大孔树脂柱色谱分离，以甲醇-水（0：1~1：0）梯度洗脱，经薄层色谱（TLC）检测合并得到 Fr. A~Fr. L。Fr. D（6.0 g）经 Sephadex LH-20 柱层析纯化，以 20% 甲醇等度洗脱，经 TLC 检测合并得到 Fr. D-1~Fr. D-5。Fr. D-2、Fr. D-4 经 Agilent 1200 半制备型 HPLC 纯化，以甲醇（A）-水（B）梯度洗脱（0~30 min，10%~40% A；30~50 min，40%~80% A；体积流量 3 mL/min），得到化合物 **1**（15.0 mg）、**2**（23.0 mg）、**3**（64.0 mg）、**4**（36.0 mg）、**5**（43.0 mg）。Fr. F 经高速逆流色谱纯化，以二氯甲烷-甲醇-水（10：7：3）为溶剂，上相为固定相，得到 Fr. F-1~Fr. F-9。Fr. F-7、Fr. F-8 分别经半制备 HPLC 纯化，以甲醇（A）-水（B）梯度洗脱（0~30 min，10%~30% A；30~50 min，30%~50% A；体积流量 3 mL/min）得到化合物 **6**（105.0 mg）、**8**（299.0 mg）。Fr. I（7.3 g）经 Sephadex LH-20 柱层析纯化，以甲醇洗脱，得到 Fr. I-1~Fr. I-6。Fr. I-5 析出沉淀，经 20%、100% 甲醇洗涤沉淀得化合物 **7**（126 mg）。Fr. I-4 再经 Sephadex LH-20 凝胶柱层析纯化，以 50% 甲醇洗脱，得到 Fr. I-4-1~Fr. I-4-7。Fr. I-4-4、Fr. I-4-5、Fr. I-4-7 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱纯化，以甲醇-水（1：1~1：0）梯度洗脱，再经重结晶及半制备 HPLC 纯化，以甲醇（A）-水（B）梯度洗脱（0~30 min，10%~30% A；30~50 min，30%~50% A），得到化合物 **9**（6.0 mg）、**10**（9.0 mg）、**11**（13.0 mg）、**12**（15.0 mg）、**13**（30.0 mg）。

3 结构鉴定

化合物 **1**：白色固体，分子式 C₁₉H₂₈O₁₁，HR-

ESI-MS m/z : 431.155 9 $[M - H]^-$ 。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 4.39 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-1''), 4.44 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-1'), 4.68 (1H, d, $J=11.8$ Hz, H-7b), 4.95 (1H, d, $J=11.8$ Hz, H-7a), 7.29 (1H, m, H-4), 7.35 (2H, t, $J=7.4$ Hz, H-3, 5), 7.45 (2H, d, $J=7.1$ Hz, H-2, 6); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 62.8 (C-6''), 69.8 (C-6'), 71.6 (C-4'), 71.6 (C-4''), 72.0 (C-7), 75.1 (C-2'), 75.1 (C-2''), 77.2 (C-3'), 77.9 (C-3''), 78.0 (C-5'), 78.1 (C-5''), 103.4 (C-1'), 104.9 (C-1''), 128.7 (C-4), 129.2 (C-3, 5), 129.3 (C-2, 6), 139.1 (C-1)。以上数据与文献 [18] 报道基本一致, 故鉴定为苜蓿醇-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖-(1 $\rightarrow$ 6)- β -*D*-吡喃葡萄糖苷。

化合物 2: 褐色油状物, 分子式 $C_{16}H_{22}O_9$, HR-ESI-MS m/z : 359.124 6 $[M + H]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 1.72 (1H, m, H-6b), 1.80 (1H, m, H-6a), 3.18 (1H, m, H-5), 4.40 (1H, td, $J=11.8, 2.5$ Hz, H-7b), 4.48 (1H, ddd, $J=11.0, 4.2, 2.1$ Hz, H-7a), 4.71 (1H, d, $J=7.9$ Hz, H-1'), 5.30 (1H, dd, $J=10.3, 1.8$ Hz, H-10b), 5.34 (1H, m, H-10a), 5.57 (1H, dd, $J=13.5, 5.9$ Hz, H-8), 5.59 (1H, dd, $J=13.6, 5.9$ Hz, H-1), 7.62 (1H, d, $J=2.5$ Hz, H-3); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 25.9 (C-6), 28.4 (C-5), 43.8 (C-9), 62.7 (C-6'), 69.7 (C-7), 71.5 (C-4'), 74.7 (C-2'), 77.9 (C-3'), 78.4 (C-5'), 98.0 (C-1), 99.7 (C-1'), 106.0 (C-4), 120.8 (C-10), 133.3 (C-8), 153.9 (C-3), 168.5 (C-11)。以上数据与文献 [19-21] 报道基本一致, 故鉴定为獐牙菜苷。

化合物 3: 白色粉末, 分子式 $C_{17}H_{24}O_{10}$, HR-ESI-MS m/z : 389.144 3 $[M + H]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 1.74 (1H, td, $J=13.7, 2.9$ Hz, H-6a), 1.89 (1H, ddd, $J=13.6, 4.9, 1.3$ Hz, H-6b), 3.54 (3H, s, $COOCH_3$), 3.90 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6'a), 3.92 (1H, d, $J=1.9$ Hz, H-6'b), 4.71 (1H, d, $J=7.9$ Hz, H-1'), 5.29 (1H, d, $J=1.9$ Hz, H-10a), 5.31 (1H, d, $J=1.9$ Hz, H-10b), 5.34 (1H, d, $J=1.5$ Hz, H-7), 5.54 (1H, dd, $J=13.6, 6.3$ Hz, H-8), 5.58 (1H, d, $J=1.7$ Hz, H-1), 7.64 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-3); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 22.9 (C-5), 30.2 (C-6), 43.6 (C-9), 57.0 ($-OCH_3$), 62.7 (C-6'),

71.5 (C-4'), 74.6 (C-2'), 78.1 (C-3'), 78.4 (C-5'), 98.6 (C-1), 100.3 (C-1'), 103.3 (C-7), 105.4 (C-4), 121.0 (C-10), 133.4 (C-8), 154.5 (C-3), 167.4 (C-11)。以上数据与文献 [20-22] 报道基本一致, 故鉴定为表断马钱子苷半缩醛内酯。

化合物 4: 白色粉末, 分子式 $C_{17}H_{24}O_{10}$, HR-ESI-MS m/z : 389.155 8 $[M + H]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 1.50 (1H, qd, $J=13.5, 9.2$ Hz, H-6b), 2.02 (1H, ddd, $J=13.2, 4.1, 2.6$ Hz, H-6a), 2.70 (1H, m, H-9), 3.58 (3H, s, $-OCH_3$), 5.30 (1H, m, H-10b), 4.70 (1H, d, $J=7.9$ Hz, H-7), 5.35 (1H, m, H-10a), 5.52 (1H, m, H-8), 5.58 (1H, d, $J=1.7$ Hz, H-1), 7.62 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-3); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 25.2 (C-5), 31.6 (C-6), 43.7 (C-9), 57.1 ($-OCH_3$), 62.7 (C-6'), 71.5 (C-4'), 74.7 (C-2'), 77.9 (C-3'), 78.3 (C-5'), 97.9 (C-1), 99.7 (C-1'), 105.1 (C-7), 105.4 (C-4), 121.1 (C-10), 133.0 (C-8), 154.1 (C-3), 167.6 (C-11)。以上数据与文献 [20-21] 报道基本一致, 故鉴定为马钱子苷半缩醛内酯。

化合物 5: 白色粉末, 分子式 $C_{16}H_{22}O_{11}$, HR-ESI-MS m/z : 389.106 9 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 2.26 (1H, dd, $J=16.7, 9.6$ Hz, H-6b), 2.85 (1H, ddd, $J=9.5, 5.6, 3.9$ Hz, H-9), 3.08 (1H, dd, $J=16.7, 4.5$ Hz, H-6a), 3.23 (1H, dt, $J=14.6, 7.3$ Hz, H-5), 4.68 (1H, d, $J=7.9$ Hz, H-1'), 5.25 (1H, m, H-10b), 5.29 (1H, d, $J=1.1$ Hz, H-10a), 5.49 (1H, d, $J=3.8$ Hz, H-1), 5.66 (1H, dt, $J=17.2, 10.0$ Hz, H-8), 7.51 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H-3); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 28.4 (C-5), 34.9 (C-6), 45.3 (C-9), 62.7 (C-6'), 71.5 (C-4'), 74.6 (C-2'), 78.0 (C-5'), 78.4 (C-3'), 97.5 (C-1), 99.9 (C-1'), 110.2 (C-4), 120.5 (C-10), 134.6 (C-8), 153.6 (C-3), 170.2 (C-11), 176.3 (C-7)。以上数据与文献 [19] 报道基本一致, 故鉴定为裂环马钱苷。

化合物 6: 白色固体, 分子式 $C_{17}H_{24}O_{11}$, HR-ESI-MS m/z : 403.123 0 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 2.26 (1H, dd, $J=16.6, 9.0$ Hz, H-6b), 2.81 (1H, m, H-9), 2.93 (1H, dd, $J=16.5, 5.0$ Hz, H-6a), 3.68 (3H, s, $-OCH_3$), 4.65

(1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-1'), 5.48 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H-1), 5.63 (1H, dt, $J = 17.2, 10.0$ Hz, H-8), 7.47 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-3); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 28.6 (C-5), 35.1 (C-6), 45.3 (C-9), 51.6 (-OCH₃), 62.7 (C-6'), 71.5 (C-4'), 74.6 (C-2'), 78.0 (C-3'), 78.4 (C-5'), 97.6 (C-1), 99.9 (C-1'), 110.1 (C-4), 120.5 (C-10), 134.5 (C-8), 153.6 (C-3), 168.9 (C-11), 176.3 (C-7)。以上数据与文献 [19] 报道基本一致, 故鉴定为断氧化马钱苷。

化合物 7: 淡黄色粉末, 分子式 $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{O}_{11}$, HR-ESI-MS m/z : 433.134 3 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 1.64 (1H, ddd, $J = 13.9, 8.0, 4.6$ Hz, H-6a), 2.07 (1H, dt, $J = 13.6, 6.6$ Hz, H-6b), 2.67 (1H, td, $J = 9.3, 4.7$ Hz, H-9), 2.91 (1H, dd, $J = 12.9, 6.2$ Hz, H-5), 3.28 (3H, s, -OCH₃), 3.30 (3H, s, -OCH₃), 3.66 (1H, dt, $J = 15.1, 7.6$ Hz, H-6'a), 3.70 (3H, s, COOCH₃), 3.90 (1H, dd, $J = 11.9, 1.8$ Hz, H-6'b), 4.49 (1H, dd, $J = 7.0, 4.6$ Hz, H-7), 4.67 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-1'), 5.27 (1H, d, $J = 10.5$ Hz, H-10a), 5.32 (1H, d, $J = 17.3$ Hz, H-10b), 5.50 (1H, t, $J = 5.8$ Hz, H-1), 5.73 (1H, ddd, $J = 17.4, 10.3, 8.9$ Hz, H-8), 7.43 (1H, t, $J = 1.8$ Hz, H-3); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 29.4 (C-5), 33.3 (C-6), 45.3 (C-9), 51.7 (11-OCH₃), 52.6 (-OCH₃), 53.9 (-OCH₃), 62.8 (C-6'), 71.6 (C-4'), 74.6 (C-2'), 78.0 (C-3'), 78.4 (C-5'), 97.8 (C-1), 100.1 (C-1'), 104.5 (C-7), 111.7 (C-4), 119.8 (C-10), 135.8 (C-8), 153.2 (C-3), 169.2 (C-11)。以上数据与文献 [22] 报道基本一致, 故鉴定为裂马钱素二甲基乙缩醛。

化合物 8: 淡黄色粉末, 分子式 $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_9$, HR-ESI-MS m/z : 367.101 4 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 2.01 (1H, dd, $J = 13.5, 7.0$ Hz, H-6'b), 2.18 (3H, m, H-4', 6'a), 3.69 (3H, s, -OCH₃), 3.73 (1H, dd, $J = 7.4, 3.1$ Hz, H-3'), 4.13 (1H, dt, $J = 6.8, 3.3$ Hz, H-2'), 5.27 (1H, m, H-1'), 6.22 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H- α), 6.95 (1H, dd, $J = 8.2, 1.9$ Hz, H-6), 6.78 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 7.04 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2), 7.53 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H- β); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 38.1 (C-4', 6'), 53.0 (C-7'

OCH₃), 70.3 (C-3'), 72.1 (C-1'), 72.6 (C-2'), 75.8 (C-5'), 115.1 (C-2), 115.1 (C- β), 116.6 (C-5), 123.0 (C-6), 127.7 (C-1), 146.9 (C-3), 147.2 (C- α), 149.7 (C-4), 168.3 (C- γ), 175.4 (C-7')。以上数据与文献 [23] 报道基本一致, 故鉴定为绿原酸甲酯。

化合物 9: 淡黄色粉末, 分子式 $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$, HR-ESI-MS m/z : 431.095 4 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, DMSO) δ : 5.06 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-1''), 6.44 (1H, s, H-3), 6.84 (2H, d, $J = 11.9$ Hz, H-6, 8), 6.91 (2H, t, $J = 5.8$ Hz, H-2', 6'), 7.93 (2H, t, $J = 9.3$ Hz, H-3', 5'), 12.99 (1H, s, H-5OH); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO) δ : 60.6 (C-6''), 69.6 (C-4''), 73.1 (C-2''), 76.4 (C-3''), 77.2 (C-5''), 94.8 (C-8), 99.5 (C-6), 99.9 (C-1''), 102.9 (C-3), 105.3 (C-10), 116.1 (C-3', 6'), 128.6 (C-2', 5'), 156.8 (C-4'), 161.1 (C-2, 9), 162.9 (C-5), 164.3 (C-7), 181.9 (C-4)。以上数据与文献 [24] 报道基本一致, 故鉴定为芹菜素-7- O - β - D -葡萄糖苷。

化合物 10: 淡黄色粉末, 分子式 $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$, HR-ESI-MS m/z : 447.090 6 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 5.41 (1H, d, $J = 4.7$ Hz, H-1''), 6.46 (1H, t, $J = 3.9$ Hz, H-6), 6.76 (1H, s, H-3), 6.80 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 6.92 (1H, t, $J = 7.4$ Hz, H-5'), 7.43 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-2'), 7.46 (1H, dd, $J = 8.3, 2.3$ Hz, H-6'), 9.41 (1H, s, H-4' OH), 10.00 (1H, s, H-3' OH), 12.99 (1H, s, H-5OH); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 60.6 (C-6''), 69.6 (C-4''), 73.1 (C-2''), 76.4 (C-3''), 77.2 (C-5''), 94.7 (C-8), 99.5 (C-6), 99.9 (C-1''), 103.2 (C-3), 105.3 (C-10), 113.6 (C-2'), 115.9 (C-5'), 119.2 (C-6'), 121.4 (C-1'), 145.8 (C-3'), 149.9 (C-4'), 156.9 (C-9), 161.1 (C-5), 162.9 (C-7), 164.5 (C-2), 181.9 (C-4)。以上数据与文献 [21-24] 报道基本一致, 故鉴定为木犀草素-7- O - β - D -葡萄糖苷。

化合物 11: 淡黄色粉末, 分子式 $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$, HR-ESI-MS m/z : 577.150 1 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 5.24 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1'''), 5.35 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-1''), 6.80 (1H, s, H-6), 6.38 (1H, s, H-3), 6.87 (1H, s, H-8), 6.94 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3', 5'), 7.94 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2', 6'), 12.99 (1H, s, H-

50H); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 18.0 (C-6'''), 60.5 (C-6''), 68.3 (C-5'''), 69.7 (C-4''), 70.4 (C-2'''), 70.5 (C-3'''), 71.9 (C-4'''), 76.3 (C-3''), 77.0 (C-2''), 77.2 (C-5''), 94.5 (C-8), 97.8 (C-1''), 99.3 (C-6), 100.4 (C-1'''), 103.0 (C-3), 105.4 (C-10), 116.1 (C-3', 5'), 120.6 (C-1'), 128.6 (C-2', 6'), 157.0 (C-9), 161.1 (C-5), 161.8 (C-4'), 162.5 (C-7), 164.3 (C-2), 181.9 (C-4)。以上数据与文献 [25] 报道基本一致, 故鉴定为野漆树苷。

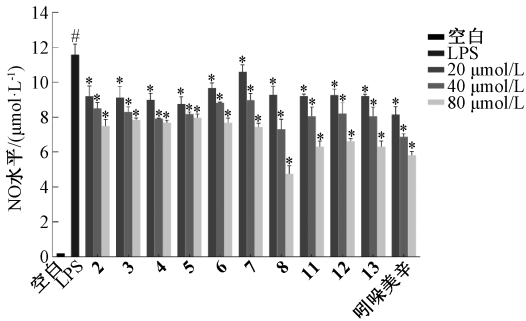
化合物 **12**: 淡黄色粉末, 分子式为 C₂₆H₂₈O₁₅, HR-ESI-MS *m/z*: 579.129 1 [M-H]⁻。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 3.96 (1H, d, *J*=9.8 Hz, H-6''), 4.19 (1H, d, *J*=6.2 Hz, H-1''), 5.10 (1H, d, *J*=7.4 Hz, H-1'), 6.92 (1H, d, *J*=8.4 Hz, H-5'), 7.45 (1H, d, *J*=2.1 Hz, H-2'), 6.46 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6), 6.75 (1H, s, H-3), 6.80 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), 7.49 (1H, dd, *J*=8.4, 2.1 Hz, H-6'), 13.02 (1H, s, H-OH); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 64.5 (C-5'''), 67.1 (C-4'''), 67.6 (C-6''), 69.4 (C-4''), 70.5 (C-3'''), 72.4 (C-2'''), 73.1 (C-2''), 75.6 (C-3''), 76.1 (C-5''), 94.7 (C-8), 99.6 (C-6), 99.9 (C-1''), 103.1 (C-1'''), 103.1 (C-3), 105.4 (C-10), 113.5 (C-2'), 116.0 (C-5'), 119.3 (C-6'), 121.2 (C-1'), 145.8 (C-3'), 150.0 (C-4'), 157.0 (C-8), 161.1 (C-5), 162.8 (C-7), 164.5 (C-2), 181.8 (C-4)。以上数据与文献 [21] 报道基本一致, 故鉴定为木犀草素-7-*O*-α-*L*-吡喃阿拉伯糖 (1→6)-β-*D*-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **13**: 黄色粉末, 分子式 C₂₇H₃₀O₁₅, HR-ESI-MS *m/z*: 593.151 2 [M-H]⁻。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.21 (3H, d, *J*=6.2 Hz, H-6'''), 5.14 (1H, d, *J*=1.0 Hz, H-1'''), 5.26 (1H, d, *J*=7.3 Hz, H-1''), 6.38 (1H, d, *J*=1.8 Hz, H-6), 6.75 (1H, d, *J*=1.8 Hz, H-8), 6.76 (1H, s, H-3), 6.91 (1H, d, *J*=8.3 Hz, H-3'), 7.41 (1H, d, *J*=2.1 Hz, H-2'), 7.44 (1H, dd, *J*=8.4, 2.2 Hz, H-6'), 13.02 (1H, s, H-OH); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 18.1 (C-6'''), 60.5 (C-6''), 68.3 (C-5'''), 69.7 (C-4''), 70.4 (C-2'''), 70.5 (C-3'''), 71.9 (C-4'''), 76.3 (C-5''), 77.0 (C-3''), 77.2 (C-2''), 94.4 (C-8), 97.8 (C-6), 99.3 (C-1''), 100.5 (C-1'''), 103.2 (C-3), 105.4 (C-10),

113.4 (C-2'), 116.0 (C-5'), 119.2 (C-6'), 121.2 (C-1'), 145.8 (C-3'), 150.2 (C-4'), 157.0 (C-9), 161.2 (C-5), 162.5 (C-7), 164.5 (C-2), 181.8 (C-4)。以上数据与文献 [21] 报道基本一致, 故鉴定为忍冬苷。

4 抗炎活性筛选

参考文献 [26-29] 报道, 利用脂多糖 (LPS) 诱导的 RAW264.7 巨噬细胞炎症模型对各化合物抑制 NO 生成作用进行测定, 评价其抗炎活性。结果发现阳性药吲哚美辛及化合物 **2~8**, **11~13** 在浓度为 80 μmol/L 时, 细胞存活率均大于 90%, 较空白对照组无明显差异, 表明吲哚美辛和化合物 **2~8**, **11~13** 在该浓度值下无明显细胞毒性。与 LPS 组相比, 各化合物在 20、40、80 μmol/L 浓度下, 均表现出不同程度的 NO 抑制活性 (图 1), 且呈现剂量依赖性。各化合物的抑制率在 (25.15±3.83)% ~ (62.89±0.55)% 范围内, 而吲哚美辛的抑制率分别为 (41.79±1.59)%、(51.19±1.94)%。



注: 与空白比较, #*P*<0.05; 与 LPS 比较, **P*<0.05。

图 1 化合物 **2~8**, **11~13** 对 NO 水平的影响

Fig. 1 Effects of compounds 2-8, 11-13 on the level of NO

5 讨论与结论

本实验从山银花茎叶 80% 甲醇提取物中共分离鉴定出 13 个化合物, 包括 6 个环烯醚萜苷类 (化合物 **2~7**)、5 个黄酮类 (化合物 **9~13**), 2 个其他类 (化合物 **1**、**8**)。獐牙菜苷 (**2**)、表断马钱子苷半缩醛内酯 (**3**) 和马钱子苷半缩醛内酯 (**4**) 等化合物在 C-7 和 C-11 之间以环氧的形式连接; 而裂环马钱苷 (**5**) 和断氧化马钱苷 (**6**) 在 C-7 位以羧酸的形式存在。裂马钱素二甲基乙缩醛 (**7**) 化合物的 C-7 位被 2 个甲氧基取代^[30]。其中, 化合物 **1** 首次从忍冬属植物中分离得到; 化合物 **3**、**5**、**7**、**9**、**11~12** 首次从山银花茎叶中发现。

炎症是机体对抗各种损伤性刺激所产生的一种防御反应, 作为临床常见的病理过程, 与关节炎、精神病、心脑血管病、肿瘤等诸多疾病的发生密切

相关^[31]。金银花主要抗炎指标成分除绿原酸和木犀草苷外，还有环烯醚萜类^[30]。体外抗炎活性实验表明，化合物 **2~8**，**11~13** 具有一定的抗炎活性，结合化合物结构类型，发现山银花中主要抗炎成分为裂环环烯醚萜苷类、黄酮类和绿原酸类化合物，此结果与文献报道一致。现代药理研究发现，已分离鉴定的环烯醚萜类化合物具有广泛的抗炎活性，并可通过多个靶点起到良好的抗炎效果。文献报道马钱苷可通过 NF-κB 依赖性炎症途径使 NF-κB 失活，进而减弱神经炎症反应^[32]；獐牙菜苦苷具有抗肝损伤和抗炎作用，对 caspase-3 具有抑制作用，部分是通过 Nrf2/HO-1 途径实现的，还可通过调节 NF-κB/IκB 信号通路传导抑制关节炎^[33]。此类化合物的深入研究将对传统中医药在抗炎方面研发具有长远的意义。

综上所述，本实验结果丰富了山银花茎叶的化学物质基础，可为该药材化学成分研究、生物活性筛选以及综合开发利用提供理论依据。

参考文献：

[1] 中国科学院《中国植物志》编委会. 中国植物志（第七十二卷）[M]. 北京：科学出版社，1988.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2020 年版一部[S]. 北京：中国医药科技出版社，2020.

[3] 姚桃女，吴 慧，何嘉娜. 山银花中化学成分的分离及鉴定[J]. 中国药师，2022，25(6)：1076-1081.

[4] 温建辉，倪付勇，赵祎武，等. 山银花化学成分研究[J]. 中草药，2015，46(13)：1883-1886.

[5] 柴兴云，李 萍，唐力英. 山银花化学成分研究[J]. 中国中药杂志，2004，29(9)：865-867.

[6] 柴兴云，窦 静，贺清辉，等. 山银花中酚酸类成分研究[J]. 中国天然药物，2004，2(6)：339-340.

[7] 张鹏云，管 维，李 蓉，等. 顶空-固相微萃取法与水蒸气蒸馏法提取山银花挥发性组分的比较[J]. 食品科学，2020，41(4)：178-184.

[8] Tang Y R, Zeng T, Salman Z, *et al.* *Lonicerae Flos*; a review of chemical constituents and biological activities[J]. *Digit Chin Med*, 2018，1(2)：173-188.

[9] 罗江南. 山银花总皂苷部位抗菌抗炎作用及挥发性成分研究[D]. 南昌：江西中医药大学，2021.

[10] 周 峰，颜扬礼，黄 凯，等. 山银花不同萃取部位抗炎、抗氧化体外活性评价及化学成分分析[J]. 食品工业科技，2021，42(8)：81-87.

[11] 曾安琪，华 桦，陈朝荣，等. 金银花、山银花抗炎药理作用研究[J]. 中国中药杂志，2020，45(16)：3938-3944.

[12] 何 云. 黔产金银花和山银花抗炎、免疫和保肝作用药效学对比研究[D]. 贵阳：贵州大学，2019.

[13] 李 荣，周玉生，匡双玉，等. 山银花提取物抗动脉粥样硬

化成分研究[J]. 中国现代应用药学，2011，28(2)：92-95.

[14] 徐望龙，李云贵，孙林军，等. 山银花黄酮类化合物药理作用的研究进展[J]. 广州化工，2014，42(6)：37-38；57.

[15] 李重莹，王定韦，刘宏伟，等. 山银花及其提取物的生物学功能和在畜禽养殖中的应用[J]. 中国畜牧杂志，2023，59(4)：7-11.

[16] 吕慧源，李 漠，王志明，等. 山银花和黄芩提取物对肉鸡生长性能、免疫器官发育及抗氧化机能的影响[J]. 中国畜牧杂志，2021，57(1)：175-179.

[17] 吴飞燕. 山银花枝叶和黄连须质量标准研究[D]. 长沙：湖南中医药大学，2014.

[18] 瞿 璐，刘艳霞，李建良，等. 祁菊叶化学成分的分离与结构鉴定[J]. 天津中医药大学学报，2017，36(1)：57-60.

[19] 李 畅，戴 毅，张金博，等. 金银花中 1 个新的环烯醚萜苷类化合物[J]. 中草药，2013，44(21)：2951-2954.

[20] 鲍学梅，乔金为，左亚峰. 金银花化学成分的研究[J]. 中成药，2022，44(5)：1501-1505.

[21] 王 凯，刘 双，李 蒙，等. 忍冬叶化学成分及其保肝活性研究[J]. 中草药，2022，53(8)：2285-2291.

[22] Lee E J, Lee J Y, Kim J S, *et al.* Phytochemical studies on *Lonicerae Flos* (1) - isolation of iridoid glycosides and other constituents[J]. *Nat Prod Sci*, 2010，16(1)：32-38.

[23] 梁秋明，顾爱彤，张 丽，等. 狗牙根化学成分的研究[J]. 中成药，2020，42(3)：657-661.

[24] 张 弓，黄剑林. 团状雪灵芝化学成分及其抑制 TGF-β1 活性[J]. 中成药，2021，43(4)：930-935.

[25] 雷海民，孙文基，林文翰. 化洲橘红的化学成分研究[J]. 西北药学杂志，2000，15(5)：203-204.

[26] 焦 兵，许承婷，黎 青，等. 油茶枯黄酮类化学成分及其体外抗炎活性[J]. 中成药，2019，41(2)：327-333.

[27] 童 鑫，洪吟秋，张 涛，等. 西红花柱头化学成分及其抗炎活性[J]. 中成药，2022，44(4)：1142-1147.

[28] 罗明楚，石小翠，孙 朋，等. 拔毒散的化学成分及其抗炎活性研究[J]. 广西植物，2022，42(9)：1522-1530.

[29] 刘 艳，荣晓惠，谭金燕，等. 洋金花叶化学成分及其抗炎活性研究[J]. 中成药，2022，44(6)：1829-1839.

[30] 杨 然，陆 远，郝 昊，等. 金银花环烯醚萜苷类化学成分和药理活性研究进展[J]. 中国中药杂志，2021，46(11)：2746-2752.

[31] Alexander A, Maurya J, Swarna S, *et al.* Various aspects of inflammation and the herbal drugs that are used for the treatment of inflammation: an overview[J]. *J Pharm Res*, 2011，4(6)：1598-1600.

[32] Hu J M, Zhou J Y, Wu J T, *et al.* Loganin ameliorates cartilage degeneration and osteoarthritis development in an osteoarthritis mouse model through inhibition of NF-κB activity and pyroptosis in chondrocytes[J]. *J Ethnopharmacol*, 2020，30(247)：112261.

[33] 王新强，吴良邦，章月红，等. 獐牙菜苦苷通过抑制 NF-κB、NLRP3 炎症小体信号通路发挥对佐剂性关节炎大鼠的保护作用[J]. 药物生物技术，2021，28(2)：123-128.