

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.01221

芫花条中抗炎活性成分

和 蕾, 史琪荣, 柳润辉, 徐希科, 沈云亨, 李慧梁, 张卫东*

第二军医大学药学院天然药物化学教研室, 上海 200433

[摘要] 目的:对芫花条的抗炎活性成分进行研究。方法:采用药理活性追踪下的化学成分分离手段,从芫花条中发现抗炎活性成分。药理实验采用二甲苯致小鼠耳肿胀药理模型。运用硅胶、Sephadex LH-20 柱色谱等方法对芫花乙醇提取物的石油醚及氯仿萃取部分进行化学成分研究,并利用 UV、IR、¹H-NMR、¹³C-NMR、MS 等光谱技术鉴定其化学结构。结果:从芫花条中分离得到了 19 个化合物,分别鉴定为十六烷酸 1-甘油酯(1)、β-谷甾醇(2)、咖啡酸正二十烷酯(3)、咖啡酸正二十二烷酯(4)、咖啡酸正十八烷酯(5)、胡萝卜苷(6)、芫花素(7)、木犀草素(8)、(+)-落叶松脂醇(9)、芹菜素(10)、山柰酚(11)、瑞香黄烷素 B(12)、染料木素(13)、二氢山柰酚(14)、对羟基苯甲酸(15)、槲皮素(16)、丁香苷(17)、丁香醛(18)、对羟基苯甲酸乙酯(19)。结论:化合物 1、3~5、7、15、17~19 为首次从芫花条中分离得到。芫花条乙醇提物的石油醚萃取部位高剂量组(400 mg/kg)、氯仿萃取部位高剂量组(200 mg/kg)及咖啡酸正二十二烷酯对二甲苯致小鼠耳肿胀有显著的抑制作用。

[关键词] 芫花;黄酮;木脂素类;抗炎活性**[中图分类号]** R 931.7**[文献标志码]** A**[文章编号]** 0258-879X(2008)10-1221-06

Anti-inflammatory constituents from the stems of *Daphne genkwa*

HE Lei, SHI Qi-rong, LIU Run-hui, XU Xi-ke, SHEN Yun-heng, LI Hui-liang, ZHANG Wei-dong*

Department of Natural Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[ABSTRACT] **Objective:** To study the anti-inflammation contents in the stems of *Daphne genkwa*. **Methods:** The anti-inflammation contents were obtained from *Daphne genkwa* by bio-assay guide isolating method. The pharmacological model of dimethylbenzene-induced ear swelling was used for pharmacological study. The fractions of Ligroine and chloroform part of the the EtOH extraction were isolated and purified by column chromatography on silica gel and Sephadex LH-20 and recrystallization. Their structures were studied by using UV, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, and MS, techniques. **Results:** Nineteen compounds were isolated from the stems of *Daphne genkwa* and were identified as 2,3-dihydroxypropyl hexadecanoate(1), β-sitosterol(2), daucosanyl caffeate(3), docosyl caffeate(4), octadecyl caffeate(5), daucosterol(6), genkwanin(7), luteolin(8), (+)-lariciresinol(9), apigenin(10), kaempferol(11), daphnodorin B(12), genistein(13), dihydrokaempferol(14), p-hydroxybenzoic acid(15), quercetin(16), syringin(17), syringaldehyde(18), ethyl 4-hydroxybenzoate(19). **Conclusion:** Compounds 1, 3-5, 7, 15, 17-19 have been isolated from the stems of *Daphne genkwa* for the first time. The high dosage of petroleum ether extract, chloroform extract and compound 4 have significant anti-inflammation activity in mice with ear swelling.

[KEY WORDS] *Daphne genkwa*; flavone; lignans; anti-inflammatory activity

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(10):1221-1226]

芫花(*Daphne genkwa* Sieb. et Zucc.)为瑞香科(Thymelaeaceae)落叶灌木,生于路旁、山坡或栽培于庭园,分布于华东及河北、陕西、河南、湖北、湖南、四川、贵州、江西等地。《说文》:“元,始也。”该植物的花先于叶开放,簇生枝顶,为小灌木,故名芫

花^[1]。芫花枝条俗称“芫花条”,辛温有毒,可杀虫鱼,疗疥癣,治恶疮风湿痹及一切毒风、菌毒,和辣蓼制成制剂,浸泡可以用来治疗手足癣^[2]。芫花条与绿豆为主组成抗风湿疼痛中成药“消络痛”对某些因风湿而引起的关节疼痛具有一定的疗效^[3]。目前对

[收稿日期] 2008-03-25**[接受日期]** 2008-06-10**[基金项目]** 上海市科技发展基金(04DZ19842). Supported by Foundation for Science and Technology Development of Shanghai Municipal Government(04DZ19842).**[作者简介]** 和 蕾, 硕士, 助教. E-mail: huijiang76@tom.com

* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 021-25070386, E-mail: wdzhangY@hotmail.com

于芫花条化学成分的研究仅马天波等^[3]报道从中分离得到3种化合物。为进一步寻找芫花条抗炎镇痛活性成分,扩大芫花的药用资源,本研究采用药理活性追踪的分离方法对芫花条的化学成分进行了系统的研究。

本研究采用二甲苯致小鼠耳肿胀药理模型对芫花条乙醇提取物及不同萃取部位进行药理活性筛选,从芫花条乙醇提取物的石油醚及氯仿萃取部位分离得到了19个化合物,分别鉴定为十六烷酸1-甘油酯(1)、 β -谷甾醇(2)、咖啡酸正二十烷酯(3)、咖啡酸正二十二烷酯(4)、咖啡酸正十八烷酯(5)、胡萝卜苷(6)、芫花素(7)、木犀草素(8)、(+)-落叶松脂醇(9)、芹菜素(10)、山柰酚(11)、瑞香黄烷素 B(12)、染料木素(13)、二氢山柰酚(14)、对羟基苯甲酸(15)、槲皮素(16)、丁香苷(17)、丁香醛(18)、对羟基苯甲酸乙酯(19)。其中,化合物1、3~5、7、15、17~19为首次从芫花条中分离得到。

1 材料和方法

1.1 药材、仪器及试剂 药材于2005年5月采自江西省九江县岷山乡大塘村,经江西省科学院生物资源研究所九江森林植物研究所谭策铭教授鉴定为瑞香科瑞香属植物芫花 *Daphne genkwa* Sieb. et Zucc. 的枝条。RY-2型电热熔点测定仪(温度未经校正)为天津分析仪器厂生产;Bruker Vector 22型红外分析仪;Bruker DRX-500型磁共振仪(TMS为内标);Varian MAT-212质谱仪;薄层色谱用硅胶(300~400目)及柱色谱用硅胶(200~300目)均为中国青岛海洋化工集团公司生产,Sephadex LH-20凝胶为Pharmacia公司生产;高效薄层预制板为烟台化学工业研究所烟台化工科技开发实验厂产品;所用试剂均为分析纯。

芫花条乙醇总提物及其石油醚萃取部位、氯仿萃取部位、乙酸乙酯萃取部位和正丁醇萃取部位浸膏均分别用2%吐温水溶液配制成所需浓度的混悬液,备用;咖啡酸正二十二烷酯以2%吐温水溶液配制成所需浓度的混悬液,备用。

阳性对照药阿司匹林片(石家庄制药集团),临用前配制成300 mg/kg混悬液。

各组的给药体积均为20 ml/kg。

1.2 化学成分提取分离 芫花干燥枝条9 kg,经粉碎后以95%乙醇渗漉提取,提取液减压浓缩得浸膏(700 g)。将浸膏均匀分散于水(10 L)中,分别用石油醚(10 L×3)、氯仿(10 L×3)、乙酸乙酯(10 L×3)、水饱和正丁醇(10 L×3)萃取,得到石油醚萃取

物(120 g)、氯仿萃取物(150 g)、乙酸乙酯萃取物(160 g)和正丁醇萃取物(100 g)。石油醚萃取物(60 g)进行硅胶柱色谱,石油醚-乙酸乙酯(1:0~1:1)梯度洗脱,分为I~X 10个部分,部分II进一步进行硅胶柱色谱,石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱,石油醚-乙酸乙酯10:1洗脱部分析出晶体,经重结晶得到化合物1;石油醚-乙酸乙酯5:1洗脱部分析出晶体,经重结晶得到化合物2。部分III进一步进行硅胶柱色谱,石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱,石油醚-乙酸乙酯5:1洗脱部分析出晶体,经重结晶得到化合物3;石油醚-乙酸乙酯4:1洗脱部分析出晶体,经重结晶得到化合物4。部分IV进一步进行硅胶柱色谱,石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱,石油醚-乙酸乙酯5:1洗脱部分析出晶体,经重结晶得到化合物5;石油醚-乙酸乙酯5:2洗脱部分析出晶体,经重结晶得到化合物6。氯仿萃取物(100 g)进行硅胶柱色谱,以石油醚-丙酮(1:0~1:1)、氯仿-甲醇(1:0~0:1)梯度洗脱,分为I~X 10个部分,部分II进一步进行硅胶柱色谱,以石油醚-丙酮梯度洗脱,5:1洗脱部分进一步进行Sephadex LH-20凝胶柱色谱进行纯化,经重结晶得化合物18和19;5:2洗脱部分进一步进行Sephadex LH-20凝胶柱色谱进行纯化,经重结晶得化合物7和8;部分III进一步进行硅胶柱色谱,以氯仿-甲醇梯度洗脱,5:1洗脱部分进一步进行Sephadex LH-20凝胶柱色谱进行纯化,经重结晶得化合物11;4:1洗脱部分进一步进行Sephadex LH-20凝胶柱色谱进行纯化,经重结晶得化合物9;5:2洗脱部分进一步进行Sephadex LH-20凝胶柱色谱进行纯化,经重结晶得化合物13;部分IV进一步进行硅胶柱色谱,以氯仿-甲醇梯度洗脱,4:1洗脱部分进一步进行Sephadex LH-20凝胶柱色谱进行纯化,经重结晶得化合物14和15;5:2洗脱部分进一步进行Sephadex LH-20凝胶柱色谱进行纯化,经重结晶得化合物16和17;部分V进一步进行硅胶柱色谱,以氯仿-甲醇梯度洗脱,4:1洗脱部分进一步进行Sephadex LH-20凝胶柱色谱进行纯化,经重结晶得化合物10;3:1洗脱部分进一步进行Sephadex LH-20凝胶柱色谱进行纯化,经重结晶得化合物12。

1.3 抗炎活性筛选

1.3.1 总提取物及各萃取部位抗炎活性试验方法 雄性ICR小鼠(购自第二军医大学实验动物中心,清洁级)120只,体质量为18~20 g,随机分作12组,每组10只,其中一组空白对照,一组阳性对照,正常进水进食,室温(24±4)℃,湿度40%~

70%,保持昼夜节律,饲养1周适应环境。连续给药5 d,空白组灌胃2%吐温水溶液,阳性对照组前4 d灌胃与空白组相同,第5日给300 mg/kg剂量的阿司匹林悬液,治疗组分别灌胃给药。小鼠末次给药30 min后,右耳两面涂二甲苯0.05 ml/只致肿,左耳不涂,60 min后处死,用7 mm打孔器取左右耳同一部位圆片,用扭力天平精确称量两耳质量。

1.3.2 单体化合物的抗炎活性试验方法 雄性ICR小鼠(购自第二军医大学实验动物中心,清洁级)60只,18~22 g,随机分作6组,每组10只。设一组空白对照、一组阳性对照和4组治疗组。小鼠购入适应环境1周后,开始给药。给药方法为:一次给药,阳性组腹腔注射阿司匹林的混悬液;受试组腹腔注射受试药物;空白组腹腔注射空白溶剂。小鼠给药后30 min,右耳两面涂二甲苯0.05 ml/只致肿,左耳不涂,60 min后处死,用6 mm打孔器取左右耳同一部位圆片,精密称量两耳质量。

1.3.3 评价标准及统计方法 以右耳和左耳质量之差代表肿胀程度。各组实验结果以SPSS软件ONE WAY ANNOVA方法进行统计分析。全部实验结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 化合物结构鉴定 化合物1:白色粉末,m. p. 280~282°C,TLC分析与十六烷酸1-甘油酯对照品 R_f 值一致,混合熔点不下降,鉴定化合物为十六烷酸1-甘油酯,为首次从芫花条中分离得到。

化合物2:无色针晶,m. p. 140~141°C,Liebermann-Burchard反应阳性。TLC分析与 β -谷甾醇对照品 R_f 值一致,且混合熔点不下降,鉴定化合物为 β -谷甾醇。

化合物3:白色粉末($C_{29}H_{48}O_4$), $FeCl_3$ 反应阳性。IR(KBr) ν_{max} :3 483,3 327,2 919,2 849,1 686,1 603,1 533,1 471,1 442,1 278,1 181 cm^{-1} 。 1H -NMR(DMSO- d_6 ,500 MHz) δ :0.88(3H,t, $J=6.5$ Hz,H-20''),1.27(34H,m,H-3''~H-19''),1.70(2H,m,H-2''),4.20(2H,t, $J=7$ Hz,H-1''),6.28(1H,d, $J=16.0$ Hz,H-2),6.88(1H,d, $J=8.0$ Hz,H-5'),7.01(1H,dd, $J=8.0,1.0$ Hz,H-6'),7.09(1H,d, $J=1.0$ Hz,H-2'),7.59(1H,d, $J=16.0$ Hz,H-3)。 ^{13}C NMR(DMSO- d_6 ,125 MHz) δ :14.0(C-20''),21.9~31.9(C-3''~C-19''),64.9(C-1''),115.6(C-2'),116.1(C-5'),122.4(C-6'),127.9(C-1'),141.6(C-2),144.0(C-3),144.8(C-4'),

146.4(C-3'),167.9(C-1)。ESI-MS: m/z 459[M-H] $^-$ 。上述光谱数据与文献^[4]基本一致,鉴定该化合物为咖啡酸正二十烷酯,为首次从芫花条中分离得到。

化合物4:白色粉末($C_{31}H_{52}O_4$), $FeCl_3$ 反应阳性。IR(KBr) ν_{max} :3 480,3 327,2 923,2 856,1 686,1 609,1 533,1 471,1 447,1 280,1 181 cm^{-1} 。 1H -NMR(DMSO- d_6 ,500 MHz) δ :0.88(3H,t, $J=6.7$ Hz,H-22''),1.26(38H,m,H-3''~H-21''),1.69(2H,m,H-2''),4.22(2H,t, $J=7.1$ Hz,H-1''),6.28(1H,d, $J=15.8$ Hz,H-2),6.86(1H,d, $J=8.3$ Hz,H-5'),7.03(1H,dd, $J=8.3,1.5$ Hz,H-6'),7.10(1H,d, $J=1.5$ Hz,H-2'),7.60(1H,d, $J=15.8$ Hz,H-3)。 ^{13}C NMR(DMSO- d_6 ,125 MHz) δ :13.9(C-20''),22.0~32.3(C-3''~C-21''),65.1(C-1''),115.5(C-2'),116.2(C-5'),122.3(C-6'),127.8(C-1'),141.9(C-2),144.2(C-3),145.0(C-4'),146.4(C-3'),167.9(C-1)。ESI-MS: m/z 487[M-H] $^-$ 。上述光谱数据与文献^[5]基本一致,鉴定该化合物为咖啡酸正二十二烷酯,此化合物为首次从芫花条中分离得到。

化合物5:白色粉末($C_{27}H_{44}O_4$),m. p. 92~93°C。 $FeCl_3$ 反应阳性。IR(KBr) ν_{max} :3 476,2 925,2 849,2 360,1 680,1 611,1 285,1 181 cm^{-1} 。 1H -NMR(DMSO- d_6 ,500 MHz) δ :0.89(3H,t, $J=6.3$ Hz,H-18''),1.26(30H,m,H-3''~H-17''),1.70(2H,m,H-2''),4.20(2H,t, $J=6.9$ Hz,H-1''),6.27(1H,d, $J=15.9$ Hz,H-2),6.88(1H,d, $J=8.1$ Hz,H-5'),7.02(1H,dd, $J=8.1,1.0$ Hz,H-6'),7.10(1H,d, $J=1.0$ Hz,H-2'),7.59(1H,d, $J=15.9$ Hz,H-3)。 ^{13}C NMR(DMSO- d_6 ,125 MHz) δ :14.0(C-18''),21.9~31.9(C-3''~C-17''),64.9(C-1''),115.8(C-2'),116.5(C-5'),122.6(C-6'),128.9(C-1'),142.5(C-2),144.0(C-3),145.4(C-4'),146.9(C-3'),168.2(C-1)。ESI-MS: m/z 431[M-H] $^-$ 。其波谱数据与文献^[6]基本一致,鉴定该化合物为咖啡酸正十八烷酯,此化合物为首次从芫花条中分离得到。

化合物6:白色粉末,m. p. 287~289°C。Molish反应和 Liebermann-Burchard 反应呈阳性。TLC分析与胡萝卜苷对照品 R_f 值一致,混合熔点不下降,鉴定该化合物为胡萝卜苷。

化合物7:黄色粉末($C_{16}H_{12}O_5$),m. p. 275~277°C。UV(MeOH) λ_{max} :266,333 nm。IR(KBr) ν_{max} :3 390,2 924,2 852,1 666,1 606,1 503,1 455,

1 376, 1 342, 1 292, 832 cm^{-1} 。 $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 3.91(3H, s, -OCH₃), 6.37(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 6.74(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 6.78(1H, s, H-3), 6.96(2H, d, $J=9.0$ Hz, H-3', 5'), 7.95(2H, d, $J=8.0$ Hz, H-2', 6'), 12.92(5-OH)。 $^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ : 56.0(-OCH₃), 92.7(C-8), 97.9(C-6), 103.1(C-3), 104.7(C-10), 116.0(C-3', 5'), 121.2(C-1'), 128.5(C-2', 6'), 157.3(C-5), 161.3(C-9), 161.3(C-4'), 164.2(C-2), 165.2(C-7), 181.9(C-4)。ESI-MS: m/z 285[M+H]⁺。以上光谱数据与文献^[7]一致, 鉴定该化合物为芫花素。

化合物 8: 黄色粉末(C₁₅H₁₀O₆), m. p. 328~330°C。 $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 6.20(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 6.45(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 6.67(1H, s, H-3), 6.91(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-5'), 7.43(1H, dd, $J=8.0, 2.0$ Hz, H-6'), 7.41(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2'), 12.98(1H, s, OH-5)。 $^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ : 93.8(C-8), 98.8(C-6), 102.9(C-3), 103.7(C-10), 113.4(C-2'), 116.0(C-5'), 119.0(C-6'), 121.5(C-1'), 145.7(C-3'), 149.7(C-4'), 157.3(C-9), 161.5(C-5), 163.9(C-2), 164.1(C-7), 181.6(C-4)。ESI-MS: m/z 287[M+H]⁺。以上光谱数据与文献^[8]报道一致, 因此鉴定为木犀草素。

化合物 9: 白色粉末(C₂₀H₂₄O₆), m. p. 120~121°C, $[\alpha]_D^{20} + 32.8^\circ$ (c 0.29, MeOH)。IR(KBr) ν_{max} : 3 520, 2 950, 2 880, 1 615, 1 520, 1 460, 1 365, 1 270, 1 240, 1 020, 810 cm^{-1} 。 $^1\text{H NMR}$ (CDCl₃, 500 MHz) δ : 2.38(1H, m, H-8'), 2.49(1H, dd, $J=13.8, 3$ Hz, H-7), 2.73(1H, m, H-8), 2.93(1H, dd, $J=13.8, 5.4$ Hz, H-7), 3.63(1H, dd, $J=11.2, 6.6$ Hz, H-9), 3.71(1H, dd, $J=8.4, 6.0$ Hz, H-9'), 3.84, 3.82(2(OCH₃)), 3.83(1H, dd, $J=10.8, 3.6$ Hz, H-9), 3.97(1H, dd, $J=14.4, 6.6$ Hz, H-9'), 4.75(1H, d, $J=6.0$ Hz, H-7'), 6.70~6.90(6H, m, H-2, 2', 3, 5', 6, 6')。 $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl₃, 125 MHz) δ : 33.7(C-7), 43.9(C-8), 54.0(C-8'), 56.5(OCH₃), 60.6(C-9'), 73.6(C-9), 84.1(C-7'), 110.9(C-2'), 113.6(C-2), 116.1(C-5, 5'), 120.0(C-6'), 122.2(C-6), 133.6(C-1), 135.9(C-1'), 145.9(C-4), 147.1(C-4'), 149.1(C-3, 3')。ESI-MS: m/z 361[M+H]⁺。以上光谱数据与文献^[9-10]对照, 确定该化合物为(+)-落叶松脂醇。

化合物 10: 橘红色粉末(C₁₅H₁₀O₅), m. p. 352~

354°C。IR(KBr) ν_{max} : 3 300, 2 950, 2 600, 1 650, 1 600, 1 580, 1 550, 1 500, 1 440, 1 400, 1 350, 1 300, 1 270, 1 180, 1 160, 1 030, 900, 800, 680 cm^{-1} 。 $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 6.04(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 6.20(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 6.53(1H, s, H-3), 6.87(2H, d, $J=9$ Hz, H-3', 5'), 7.76(2H, d, $J=9$ Hz, H-2', 6'), 12.92(5-OH)。 $^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ : 90.4(C-6), 97.6(C-8), 102.8(C-3), 1 008.9(C-10), 115.9(C-3', 5'), 123.2(C-1'), 132.7(C-2', 6'), 145.9(C-5), 158.1(C-9), 158.7(C-4'), 166.9(C-7), 167.5(C-2), 179.0(C-4)。ESI-MS: m/z 271[M+H]⁺。以上光谱数据与文献^[11]对照一致, 因此鉴定该化合物为芹菜素。

化合物 11: 黄色针晶(C₁₅H₁₀O₆), m. p. 292~293°C。IR(KBr) ν_{max} : 3 320, 1 660, 1 613, 1 570, 1 511 cm^{-1} 。 $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 6.20(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 6.44(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 6.94(2H, d, $J=9.0$ Hz, H-3', 5'), 8.06(2H, d, $J=9.0$ Hz, H-2', 6')。 $^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ : 93.4(C-8), 98.2(C-6), 103.0(C-10), 115.4(C-3', 5'), 121.6(C-1'), 129.4(C-2', 6'), 133.6(C-3), 146.8(C-2), 156.1(C-5), 159.1(C-4'), 160.6(C-9), 163.9(C-7), 175.8(C-4)。ESI-MS: m/z 287[M+H]⁺。以上数据与文献^[12]一致, 鉴定该化合物为山柰酚。

化合物 12: 黄色粉末(C₃₀H₂₂O₁₀), m. p. 185~186°C。 $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 2.54(1H, dd, $J=17, 8$ Hz, H-4a), 2.78(1H, dd, $J=17, 5$ Hz, H-4b), 3.77(1H, m, H-3), 4.58(1H, d, $J=8$ Hz, H-2), 5.02(1H, d, $J=5$ Hz, 3-OH), 5.71(2H, s, H-7'', 9''), 6.59(1H, s), 6.59(2H, d, $J=9$ Hz, H-13'', 15''), 6.87(2H, d, $J=8$ Hz, H-12'', 16''), 6.79(2H, d, $J=9$ Hz, H-3', 5'), 7.40(2H, d, $J=9$ Hz, H-2', 6'), 9.23(1H, s, 5-OH), 9.60(1H, s, 4'-OH), 9.73(1H, s, 6''-OH), 10.46(1H, s, 6''-OH), 11.30(1H, s, 8''-OH), 12.50(1H, s, 14''-OH)。 $^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ : 28.5(C-4), 66.3(C-3), 80.4(C-2), 89.5(C-6), 94.5(C-7''), 94.5(C-9''), 103.3(C-4a), 105.8(C-9''), 109.6(C-8), 114.4(C-3'), 114.4(C-5'), 115.6(C-13''), 115.6(C-15''), 117.1(C-3''), 121.2(C-11''), 126.6(C-12''), 126.6(C-16''), 127.3(C-2'), 127.3(C-2''), 129.0(C-1'), 146.6(C-2''), 147.4(C-7), 152.4(C-8a), 153.6(C-5), 156.3(C-14''), 157.4(C-4'), 165.8(C-6''), 165.8

(C-8''), 165.8 (C-10''), 194.4 (C-4'')。ESI-MS: m/z 543[M+1]⁺。以上数据与文献^[13]一致, 鉴定该化合物为瑞香黄烷素 B, 该化合物为首次从该植物中分离得到。

化合物 **13**: 淡黄色粉末 (C₁₅H₁₀O₅), m. p. 265~267°C。UV(MeOH) λ_{\max} : 262, 331(sh) nm。¹HNMR(Aceton-d₆, 500 MHz) δ : 8.16(1H, s, H-2), 7.43(1H, d, $J=8.5$ Hz, H-2'), 6.94(1H, dd, $J=8.2, 1.8$ Hz, H-6'), 6.89(1H, d, $J=8.2$ Hz, H-5'), 6.42(1H, d, $J=2.5$ Hz, H-8), 6.30(1H, d, $J=2.5$ Hz, H-6)。¹³CNMR(Aceton-d₆, 125 MHz) δ : 181.7(C-4), 165.4(C-7), 159.2(C-9), 163.6(C-5), 146.4(C-4'), 154.4(C-2), 145.8(C-3'), 124.3(C-3), 123.6(C-1'), 121.6(C-6'), 117.2(C-5'), 116.0(C-2'), 106.0(C-10), 99.9(C-6), 94.6(C-8)。ESI-MS: m/z : 269[M-H]⁻。以上光谱数据与文献^[14]报道基本一致, 故鉴定该化合物为染料木素。

化合物 **14**: 淡黄色粉末 (C₁₅H₁₂O₅), m. p. 204~207 °C。UV(MeOH) λ_{\max} : 292, 330(sh) nm。IR(KBr) ν_{\max} : 3 534, 3 354, 3 167, 1 640, 1 599, 1 520, 1 473 cm⁻¹。¹HNMR(Aceton-d₆, 500 MHz) δ : 4.65(1H, d, $J=11.6$ Hz, H-2), 5.10(1H, d, $J=11.6$ Hz, H-2), 5.95(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 6.00(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 6.91(2H, d, $J=8.5$ Hz, H-3', 5'), 7.41(2H, d, $J=8.5$ Hz, H-2', 6')。¹³CNMR(Aceton-d₆, 500 MHz) δ : 96.1(C-8), 97.1(C-6), 101.5(C-10), 116.0(C-3', 5'), 129.0(C-1'), 130.3(C-2', 6'), 73.1(C-3), 84.4(C-2), 164.8(C-5), 159.0(C-4'), 164.3(C-9), 168.2(C-7), 198.3(C-4)。ESI-MS: m/z 287[M-H]⁻。以上光谱数据与文献^[15]报道基本一致, 故鉴定该化合物为二氢山柰酚。

化合物 **15**: 无色方晶 (C₇H₆O₃)。¹HNMR(DMSO-d₆, 500 MHz) δ : 12.37(-COOH), 10.18(-OH), 7.80(2H, d, $J=8.0$ Hz, H-2, 6), 6.84(2H, d, $J=8.0$ Hz, H-3, 5)。¹³CNMR(DMSO-d₆, 125 Hz) δ : 167.1(COOH), 161.5(C-3), 131.4(C-2, 6), 121.3(C-1), 115.0(C-3, 5)。ESI-MS: m/z 139[M+H]⁺。以上光谱数据与文献^[16]对照一致, 鉴定此化合物为对羟基苯甲酸, 为首次从芫花条中分离得到。

化合物 **16**: 黄色粉末 (C₁₅H₁₀O₇), m. p. 234~241 °C。UV(MeOH) λ_{\max} : 256, 373 nm。IR(KBr) ν_{\max} : 3 380, 1 654, 1 614, 1 558, 1 512, 1 365 cm⁻¹。¹HNMR(Aceton-d₆, 500 MHz) δ : 7.80(1H, d, $J=$

2 Hz, H-2'), 7.70(1H, dd, $J=8, 2$ Hz, H-6'), 7.01(1H, d, $J=8.5$ Hz, H-5'), 6.53(1H, d, $J=1.8$ Hz, H-8), 6.28(1H, d, $J=1.8$ Hz, H-6)。¹³CNMR(Aceton-d₆, 125 MHz) δ : 176.7(C-4), 165.2(C-7), 161.9(C-9), 157.8(C-5), 148.4(C-4'), 147.1(C-2), 145.9(C-3'), 136.7(C-3), 123.6(C-1'), 121.4(C-6'), 116.1(C-5'), 115.6(C-2'), 104.0(C-10), 99.1(C-6), 94.5(C-8)。ESI-MS: m/z : 301[M-H]⁻。以上光谱数据与文献^[17]报道一致, 故鉴定为槲皮素。

化合物 **17**: 白色羽毛状结晶 (C₁₇H₂₄O₉), m. p. 191~192°C。UV(MeOH) λ_{\max} : 222, 265 nm。IR(KBr) ν_{\max} : 3 420, 2 910, 1 635, 1 590, 1 510, 1 460, 1 420, 1 338, 1 245, 1 132 cm⁻¹。¹HNMR(CD₃OD, 500 MHz) δ : 3.30(1H, m, glu-H-5), 3.47(1H, m, glu-C-2 or C-5), 3.66(1H, m, glu-H-4), 3.77(1H, m, glu-H-6), 3.85(6H, s, 2×OCH₃), 4.22(1H, m, H-9), 4.85(1H, d, $J=7.0$ Hz, glu-H-1), 6.32(1H, dt, $J=16.0, 6.0$ Hz, H-8), 6.55(1H, d, $J=16.0$ Hz, H-7), 6.74(2H, s, H-3, 5)。¹³CNMR(CD₃OD, 500 MHz) δ : 57.1(2×OCH₃), 62.7(glu-CH₂), 63.6(C-9), 71.4(glu-C-4), 75.8(glu-C-2), 77.9(glu-C-5), 78.4(glu-C-3), 105.4(glu-C-1), 105.6(C-3, 5), 130.1(C-8), 131.3(C-7), 135.3(C-4), 136.0(C-1), 154.4(C-2, 6)。ESI-MS: m/z 395[M+Na]⁺, 373[M+H]⁺。以上光谱数据与文献^[18]数据一致, 可确定该化合物为丁香苷, 为首次从芫花条中分离得到。

化合物 **18**: 黄色粉末 (C₉H₁₀O₄), m. p. 113~114°C。¹HNMR(CDCl₃, 500 MHz) δ : 3.91(6H, s, 2×OCH₃), 7.22(2H, s, H-2, 6), 9.74(1H, s, -CHO)。¹³CNMR(CDCl₃, 125 MHz) δ : 56.7(OCH₃), 56.8(OCH₃), 108.3(C-2, 6), 129.2(C-1), 143.7(C-4), 149.6(C-3, 5), 192.9(CHO)。EI-MS: m/z 182[M]⁺, 167, 151, 139, 135, 123, 111, 96, 93, 81, 55。以上光谱数据与文献^[19]对照一致, 鉴定此化合物为丁香醛, 为首次从芫花条中分离得到。

化合物 **19**: 淡黄色雪花状结晶 (C₉H₁₀O₃), m. p. 114~116°C。¹HNMR(CDCl₃, 500 MHz) δ : 1.38(3H, t, $J=7.1$ Hz, CH₃), 4.36(2H, q, $J=7.1$ Hz, -CH₂-), 6.88(2H, dd, $J=6.9, 1.9$ Hz, H-2, 6), 7.96(2H, dd, $J=6.9, 1.9$ Hz, H-3, 5)。¹³CNMR(CDCl₃, 125 MHz) δ : 14.3(-CH₃), 60.9(-OCH₂-), 115.3(C-3, 5), 123.4(C-1), 131.9(C-2, 6), 160.5(C-4), 167.2(-C=O)。EI-MS: m/z 166

[M]⁺,138,121,93,65。以上光谱数据与文献^[20]对照一致,鉴定此化合物为对羟基苯甲酸乙酯,为首次从芫花条中分离得到。

2.2 抗炎实验结果 实验结果(表1和2)显示,芫花条乙醇提取物及4个萃取部位中,石油醚部位高剂量组(400 mg/kg)、氯仿部位高剂量组(200 mg/kg)对二甲苯引起的小鼠耳肿胀有较好的抑制作用($P<0.01, P<0.05$)。进一步对单体化合物的抗炎活性筛选发现,咖啡酸正二十二烷酯低剂量组(14 mg/kg)、高剂量组(56 mg/kg)对二甲苯引起的小鼠耳肿胀有较好的抑制作用($P<0.01, P<0.05$)。

表1 芫花条乙醇提取物及各萃取部位对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响

Tab 1 Effects of total extract and each fraction on dimethylbenzene-induced ear swelling in mice

($n=10, \bar{x} \pm s_x$)

Treatment	Dose(g · kg ⁻¹)	Ear swelling m/mg
Control	-	15.6 ± 1.5
Aspirin	0.3	7.4 ± 1.3**
Ethanol extract	1	14.8 ± 0.9
	2	10.8 ± 0.7*
Petroleum ether	0.2	17.6 ± 1.5
	0.4	3.6 ± 0.7**
Chloroform fraction	0.1	11.4 ± 1.4
	0.2	10.0 ± 1.1*
Acetic ether	1	15.3 ± 1.7
	2	11.5 ± 1.3
N-butanol fraction	1	13.3 ± 2.2
	2	11.2 ± 1.7

* $P<0.05, ** P<0.01$ vs control

表2 芫花中部分单体对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响

Tab 2 Effects of compounds on dimethylbenzene-induced ear swelling in mice

($n=10, \bar{x} \pm s_x$)

Treatment	Does(g · kg ⁻¹)	Ear swelling m/mg
Control	-	20.0 ± 0.4
Aspirin	300	15.8 ± 0.6
Daphnodorin B	50	18.4 ± 0.8
	100	19.7 ± 1.2
Dueicosanyl caffeate	14	16.4 ± 0.9*
	56	10.5 ± 1.2**

* $P<0.05, ** P<0.01$ vs control

3 讨论

本研究采用药理活性追踪的化学成分分离方法,对芫花条的抗炎活性成分进行了深入研究。研究表明,芫花条的石油醚及乙酸乙酯萃取部位为芫花条抗炎活性的有效部位,咖啡酸正二十二烷

酯为芫花条的抗炎有效成分之一。本研究结果初步阐明了芫花条抗炎作用的药效物质基础,为芫花条的进一步开发利用提供了科学依据。

[参考文献]

[1] 《中华本草》编委会.《中华本草》(第5分册)[M].上海:上海科学技术出版社,1999:402-407.

[2] 赵成春,邱士岭.辣蓼芫花枝条制剂治疗手足癣83例[J].中国民族民间医药杂志,2000(2):81-82.

[3] 马天波,刘思贞,徐国永,李孟广.芫花条化学成分的研究[J].中草药,1994,25:7-9,53.

[4] 冯宝民,裴月湖,华会明.瑞香狼毒中化学成分的结构鉴定[J].中国药物化学杂志,2001,11:112-114.

[5] Del Rio J A, Benavente O, Castillo J, Borrego F. Neodiosmin, a flavone glycoside of *Citrus aurantium* [J]. Phytochemistry, 1992,31:723-724.

[6] Likhitwitayawuid K, Kaewamatawong R, Ruangrunsi N, Krungkrai J. Antimalarial naphthoquinones from *Nepenthes thorelii* [J]. Planta Med, 1998,64:237-241.

[7] 冀春茹,刘延泽,冯卫生.芫花叶黄酮化合物的研究[J].药学通报,1983,18:61-63.

[8] 沈进,梁健,彭树林,丁立生.星状凤毛菊的化学成分研究[J].天然产物研究与开发,2004,16:391-394.

[9] 庄林根.矮陀陀中木脂素化合物的¹³C核磁共振研究[J].中草药,1983,14:3-6.

[10] Zhuang L G, Seligmann O, Jurcic K, Wagner H. Inhaltsstoffe von *Daphne genkwa* (Constituents of *Daphne genkwa*) [J]. Planta Medica, 1982,45:172-176.

[11] 王明时,刘卫国,忻莉娟.唐古特瑞香化学成分的研究[J].南京药学院学报,1984,15:1-5.

[12] 罗建光,孔令义.巴西甘薯叶黄酮类成分的研究[J].中国中药杂志,2005,30:516-518.

[13] Baba K, Takeuchi K, Hamasaki F, Kozawa M. Chemical studies on the constituents of the Thymelaeaceae plants. I. structures of two new flavans from *Daphne genkwa* Thunb [J]. Chem Pharm Bull, 1986,34:595-602.

[14] Kinjo J E, Furusawa J I, Haba J. Studies on the constituents of *Puglaria lobata* II. Isoflavonoids and related compounds in the roots and the vatable stems [J]. Chem Pharm Bull, 1987,35:4846.

[15] 冯锋,柳文媛,陈优生,刘静函,赵守训.菝葜中黄酮和芪类成分的研究[J].中国药科大学学报,2003,34:119-121.

[16] 何乐,王大成,吴立军,邓旭明.苦味西葫芦化学成分研究[J].中国现代中药,2007,9:10-12.

[17] 张旭,及元乔,李萍,万德光,邓世蓉,陈海洪,等.松针的化学成分研究[J].天然产物研究与开发,2006,18:621-623.

[18] 吴立军,沈燕,郑健,吴斌,郑璐.丁香苷的核磁共振研究[J].波谱学杂志,1999,16:465-467.

[19] 刘江云,杨学东,徐丽珍,杨世林.桂枝的化学成分研究[J].中草药,2002,33:681-683.

[20] 张薇,张卫东,李廷钊,张川,柳润辉,周耘,等.毛瑞香化学成分研究[J].中国中药杂志,2005,30:513-515.

[本文编辑] 尹茶