

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202006035

刘华, 靳永亮, 张纪越, 等. 毛梗豨莶乙酸乙酯部位化学成分及生物活性研究 [J]. 广西植物, 2020, 40(12): 1699–1705.  
LIU H, JIN YL, ZHANG JY, et al. Chemical components and bioactivity from the ethyl acetate of *Siegesbeckia glabresce* [J]. *Guihaia*, 2020, 40(12): 1699–1705.

# 毛梗豨莶乙酸乙酯部位化学成分及生物活性研究

刘 华<sup>1</sup>, 靳永亮<sup>1</sup>, 张纪越<sup>1</sup>, 朱伶俐<sup>1</sup>, 盛天露<sup>1</sup>, 刘 峰<sup>2\*</sup>

( 1. 江西中医药大学 药学院, 南昌 330004; 2. 江西中医药大学附属医院, 南昌 330006 )

**摘 要:** 毛梗豨莶草 (*Siegesbeckia glabresce*) 的乙酸乙酯萃取部位具有显著的抑制细胞坏死性凋亡 (necroptosis) 的活性。为明确毛梗豨莶草的活性成分, 该研究采用正相硅胶柱色谱谱 (二氯甲烷: 甲醇 20: 1~0: 1)、反相 ODS 柱色谱 (30%~100% 甲醇)、Sephadex LH-20 柱色谱、重结晶等方法对毛梗豨莶草乙酸乙酯萃取部位进行了化学成分分离和纯化, 并根据理化性质和波谱数据进行了结构鉴定。结果表明: 从毛梗豨莶草乙酸乙酯部位分离并鉴定了 9 个化合物, 分别为 3,7-二甲氧基槲皮素 (1)、芹菜素 (2)、奥卡宁 (3)、okanin-4'-O-β-D-6''-trans-p-coumaroylglucoside (4)、1H-Indole-3-carbaldehyde (5)、对羟基苯甲醛 (6)、3,5-二甲氧基-4-羟基苯甲醛 (7)、3,4-divanillyltetrahydrofuran (8)、buddlenol D (9)。除化合物 1 和化合物 6 外, 其余 7 个化合物均为首次从豨莶属植物中分离得到。

**关键词:** 毛梗豨莶草, 乙酸乙酯部位, 提取分离, 化学成分, 生物活性

中图分类号: Q946 文献标识码: A

文章编号: 1000-3142(2020)12-1699-07

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



## Chemical components and bioactivity from the ethyl acetate of *Siegesbeckia glabresce*

LIU Hua<sup>1</sup>, JIN Yongliang<sup>1</sup>, ZHANG Jiyue<sup>1</sup>, ZHU Lingli<sup>1</sup>, SHENG Tianlu<sup>1</sup>, LIU Feng<sup>2\*</sup>

( 1. School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 2. Affiliated Hospital of Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China )

**Abstract:** The ethyl acetate extracts of *Siegesbeckia glabrescens* had significant physiological activity to inhibit necroptosis. In order to identify the active components and find the target compounds, the ethyl acetate extracts of

收稿日期: 2020-07-29

基金项目: 国家自然科学基金 (81760706); 江西省自然科学基金 (2020BABL206146); 江西省教育厅科技计划项目 (GJJ180671); 江西省卫健委科技计划项目 (20191078); 江西省卫健委中医药科技计划项目 (2018B010); 江西省中药学一流学科专项科研基础项目 (JXSYLXK-ZHYA0022, JXSYLXK-ZHYA0112) [ Supported by the National Natural Science Foundation of China (81760706); Natural Science Foundation of Jiangxi (2020BABL206146); Science and Technology Program of Jiangxi Provincial Department of Education (GJJ180671); Jiangxi Provincial Health Commission Science and Technology Program (20191078); Jiangxi Provincial Health Commission Chinese Medicine Science and Technology Plan Program (2018B010); Jiangxi Provincial Chinese Medicine First-Class Discipline Special Scientific Research Basic Program (JXSYLXK-ZHYA0022, JXSYLXK-ZHYA0112) ]。

作者简介: 刘华 (1969-), 女, 江西上饶人, 博士, 教授, 主要从事天然产物的药效物质基础及活性研究, (E-mail) winner616@163.com。

\* 通信作者: 刘峰, 硕士, 副主任医师, 主要从事中医药临床研究, (E-mail) liufeng019369@163.com。

*S. glabresce* were isolated and studied systemically in chemistry. The compounds were isolated and purified by chromatography on silica gel, ODS, and Sephadex LH-20 columns, and their structures were determined according to physicochemical properties and spectral analyses. Nine compounds were isolated from the ethyl acetate of *S. glabresce* and identified as 3,7-dimethoxyquercetin (**1**), apigenin (**2**), okanin (**3**), okanin-4'-O- $\beta$ -D-6''-*trans-p*-coumaroylglucoside (**4**), 1*H*-indole-3-carbaldehyde (**5**), *p*-hydroxybenzaldehyde (**6**), 3, 5-dimethoxy-4-hydroxybenzaldehyde (**7**), 3,4-divanillyltetrahydrofuran(**8**), buddlenol D(**9**). Compounds **2-5**, **7-9** were isolated in this herbal plant for the first time.

**Key words:** *Siegesbeckia glabresce*, ethyl acetate extracts, extraction and separation, chemical components, bioactivity

中药豨薟草为菊科豨薟属一年生草本植物豨薟草(*Siegesbeckia orientalis*)、腺梗豨薟草(*S. pubescens*)和毛梗豨薟草(*S. glabrescens*)的干燥地上部分(中华人民共和国药典·一部,2015),性寒,味辛、苦,归肝、肾经,可利关节、通经络。目前,对豨薟草药理研究表明,豨薟草在抗炎(Hong et al., 2014; Nguyen et al., 2017;朱伶俐等,2018)、抗风湿(傅旭春等,2013;Wu et al., 2017)、抗肿瘤(Lu et al., 2014;Lee et al., 2014;Chang et al., 2016)、抗菌(Kim et al., 2016;陈少红等,2017)、抗氧化(Park et al., 2013;Zhang et al., 2014)和心血管保护(Weber et al., 2007;王发辉等,2012)等方面效用良好,活性成分集中于二萜类(Yang et al., 2016)、倍半萜类(Wu et al., 2015;Lee et al., 2016)、黄酮类(娄月芬等,2013)等化合物。

细胞坏死性凋亡(necroptosis)是近年来新发现的一种具有程序性可调控的非半胱氨酸蛋白酶(caspase)依赖的、通过死亡受体诱导的一种细胞死亡类型。主要由肿瘤坏死因子受体(tumor necrosis factor, TNF- $\alpha$ )家族以及Toll样受体(Toll-like receptors, TLR)家族启动,通过两个蛋白激酶RIPK1(receptor interacting protein kinase 1)和RIPK3(receptor interacting protein kinase 3)传递死亡信号,募集并磷酸化MLKL(mixed lineage kinase domain-like protein)(吴晨露等,2016),执行细胞死亡,细胞发生坏死。细胞坏死性凋亡是许多疾病恶化的根源,可能在包括癌症、代谢疾病、神经退行性病症以及心肌梗死、中风、胰腺炎、肠炎和皮肤炎等疾病的发病机制中起到重要作用(Andreas & Green, 2014;Dongshi et al., 2016)。

本课题组前期自建了江西100种中草药提取

物组分库,并对样品进行筛选,发现毛梗豨薟草的95%醇提取物浸膏乙酸乙酯萃取部位和二氯甲烷部位具有很强的抑制necroptosis的活性。为明确毛梗豨薟草的活性成分,对活性部位通过硅胶柱色谱、ODS柱色谱、凝胶柱色谱、HPLC等方法进行了化学成分分离,从乙酸乙酯部位分离得到9个化合物,分别为3,7-二甲氧基槲皮素(**1**)、芹菜素(**2**)、奥卡宁(**3**)、okanin-4'-O- $\beta$ -D-6''-*trans-p*-coumaroylglucoside(**4**)、1*H*-indole-3-carbaldehyde(**5**)、对羟基苯甲醛(**6**)、3,5-二甲氧基-4-羟基苯甲醛(**7**)、3,4-divanillyltetrahydrofuran(**8**)、buddlenol D(**9**)。除化合物**1**和化合物**6**外,其余7个化合物均为首次从豨薟属植物中分离得到。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料、仪器和试剂

1.1.1 材料 药材于2015年5月购于江西樟树,由江西中医药大学赖学文教授鉴定为菊科植物豨薟草属毛梗豨薟草(*Siegesbeckia glabresce*),凭证标本保存于江西中医药大学标本室,编号为ZY-20150525。

活性筛选用的细胞系为人直肠癌细胞系HT29,培养基为DMEM Medium加10%FBS和1%P/S。

1.1.2 仪器和试剂 仪器:2695 Alliance Separations Module型高效液相色谱仪和1525型制备高效液相色谱仪[LichrospherC18制备液相色谱柱(30 mm  $\times$  250 mm, 10  $\mu$ m)](美国Waters公司);Inova-600型超导核磁共振波谱仪(美国Varian公司);WFH-203(ZF-1)型三用紫外分析仪(上海精科实业有限公司);AE100型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多

公司)。试剂:LH-20 羟丙基葡聚糖凝胶(Sephadex LH-20,瑞典 GE Healthcar 公司);柱色谱及薄层色谱用硅胶(200 目,青岛海洋化工厂产品);ODS 柱色谱填料(50  $\mu\text{m}$ ,日本 YMC 公司);提取分离用试剂均为分析纯,制备 HPLC 用甲醇为色谱纯(西陇化工股份有限公司);水为三蒸水。

Cell Titer-Glo 细胞活性检测试剂盒购于 Promega 公司,肿瘤坏死因子 TNF- $\alpha$  通过大肠杆菌表达系统表达并纯化得到;促凋亡化合物 Smac mimetic 和 Caspase 抑制剂 z-VAD.fmk 由北京生命科学研究所化学中心合成。

## 1.2 方法

1.2.1 提取与分离 取干燥毛梗豨莶全草 25 kg,粉碎后用 95%乙醇回流提取 4 次,每次 3 h。合并提取液,减压回收溶剂得总浸膏 1.2 kg。加蒸馏水混悬,依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取,得到五个萃取部位,分别取各组分浸膏 20 mg 用 DMSO 配制成 20  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  储存液,编号,于  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存,备筛选用。

1.2.2 Cell Titer-Glo 细胞活性检测方法 三磷酸腺苷(Adenosine Tri-Phosphate, ATP)是活性细胞新陈代谢的一个指标。CTG 法是通过 Cell Titer-Glo<sup>TM</sup> 活细胞检测试剂盒萤光素酶的荧光发光值反映出 ATP 含量的高低,直接反映细胞的数量及细胞状态,非常适合高通量筛选、细胞增殖和细胞毒性分析。

1.2.3 活性筛选 HT29(人直肠癌)细胞模型,首先经 TSZ(终浓度分别为 20  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  TNF- $\alpha$ 、100  $\text{nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$  Smac 和 20  $\text{nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$  z-VAD 诱导过夜后,产生 necroptosis。然后,将配成 20  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的样品加入到经 TSZ 处理诱导成细胞坏死的 HT29 细胞模型中,37  $^{\circ}\text{C}$  恒温培养箱放置过夜。最后,用 Cell Titer-Glo(Promega) 试剂盒检测细胞 ATP 水平以确定细胞存活率。细胞存活率高的组分,说明对 TSZ 介导的细胞坏死有抑制作用。

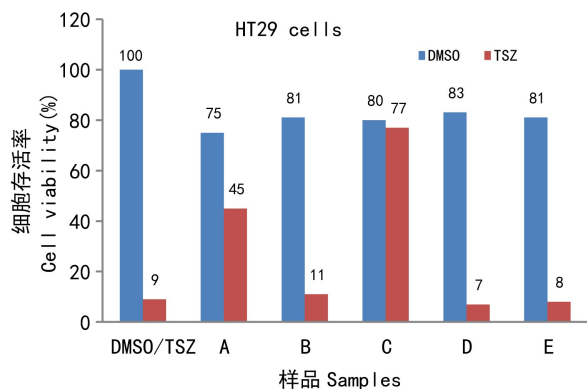
## 2 结果与分析

### 2.1 活性部位筛选结果

将 DMSO 配成的 5 份储存液编号为 A(总浸

膏)、B(石油醚萃取部位)、C(乙酸乙酯萃取部位)、D(正丁醇萃取部位)和 E(水部位)。筛选结果如图 1 所示。

由图 1 可知,经 TSZ 诱导的 HT29 细胞的存活率仅有 9%,诱导成 necroptosis 的 HT29 细胞在加入 B(石油醚萃取部位)、D(正丁醇萃取部位)和 E(水部位)配成的样品后的存活率并未得到改善。但是,A(总浸膏)已将存活率提高到 45%,C(乙酸乙酯萃取部位)的存活率高达 77%,远高于未加样品的 9%的存活率。这个结果说明毛梗豨莶对 necroptosis 有抑制作用,而乙酸乙酯萃取部位为其活性部位。



图中数据是使用 Cell Titer-Glo 试剂盒测定的 ATP 水平,反映 HT29 细胞诱导坏死后用不同的样品刺激后存活 12 h 的 HT29 细胞数量。DMSO. 二甲亚砜; T. TNF- $\alpha$ ; S. Smac; Z. z-VAD; A. 总浸膏; B. 石油醚萃取部位; C. 乙酸乙酯萃取部位; D. 正丁醇萃取部位; E. 水萃取部位。

The number of surviving HT29 cells with the indicated stimuli for 12 h was determined by measuring ATP levels using the Cell Titer-Glo kit. DMSO. Dimethylsulfoxide; T. TNF- $\alpha$ ; S. Smac; Z. z-VAD; A. Crude extracts; B. Petroleumether extract; C. Ethyl acetate extract; D. N-butyl alcohol extract; E. Water extract.

图 1 毛梗豨莶草各萃取部位筛选结果

Fig. 1 Screening results of extraction parts of *Siegesbeckia glabrescens*

### 2.2 活性部位化学分离结果

取活性组分乙酸乙酯萃取部位浸膏(60 g),加水混悬后,与 100 g 的 100~200 目硅胶干法上柱,依次以石油醚:乙酸乙酯 15:1~0:1 梯度洗脱。洗脱后的流份经 TLC 合并,得到 Fr-a~Fr-j 等 10 个组分。各组分分别以开放型 ODS 柱色谱法

进行分离,得到的各流份经 TLC 合并相同组分。其中,Fr-b-2 经制备型高压柱色谱进行分离,以 30% 甲醇等度洗脱,得到化合物 **3** (10 mg)。Fr-d-2 经制备型高压柱色谱以 30% 甲醇等度洗脱,得到化合物 **2** (7 mg)。Fr-d-3、Fr-d-4 先经 Sephadex LH-20 纯化后,再经制备型高压柱色谱分别以 50% 甲醇、40% 甲醇等度洗脱,得到化合物 **4** (7 mg)、化合物 **5** (6 mg) 和化合物 **8** (15 mg)。Fr-e-3 先经制备型高压柱色谱以 50% 甲醇等度洗脱,得到化合物 **1** (5 mg)。Fr-f-5 经制备型高压柱色谱以 45% 甲醇等度洗脱,得到化合物 **9** (6 mg)。Fr-h-2、Fr-h-3 先经 Sephadex LH-20 纯化后,再经制备型高压柱色谱分别以 55% 甲醇、50% 甲醇等度洗脱,得到化合物 **6** (8 mg) 和 **7** (5 mg)。

从乙酸乙酯部位分离得到的 9 个化合物,分别为 4 个黄酮类化合物,即 3,7-二甲氧基槲皮素 (**1**)、芹菜素 (**2**)、奥卡宁 (**3**)、okanin-4'-O- $\beta$ -D-6''-trans-*p*-coumaroylglucoside (**4**); 1 个生物碱类化合物,即 1*H*-indole-3-carbaldehyde (**5**); 2 个芳香化合物,即对羟基苯甲醛 (**6**) 和 3,5-二甲氧基-4-羟基苯甲醛 (**7**); 2 个木脂素类化合物,即 3,4-divanillyltetrahydrofuran (**8**) 和 buddlenol D (**9**)。除化合物 **1** 和化合物 **6** 外,其余 7 个化合物均为首次从豨薟属植物中分离得到。

化合物 **1** 黄色针晶 (甲醇)。HR-ESI-MS  $m/z$ : 329.0740 [M-H]<sup>-</sup>, 分子式为 C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>7</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz)  $\delta$ : 7.67 (1H, d,  $J$  = 2.1 Hz, H-2'), 7.56 (1H, dd,  $J$  = 8.5 Hz,  $J$  = 2.1 Hz, H-6'), 6.91 (1H, d,  $J$  = 8.5 Hz, H-5'), 6.59 (1H, d,  $J$  = 2.1 Hz, H-8), 6.33 (1H, d,  $J$  = 2.1 Hz, H-6), 3.89 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>), 3.80 (3H, s, 7-OCH<sub>3</sub>)。<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 150 MHz)  $\delta$ : 148.7 (C-2, 4'), 138.3 (C-3), 178.7 (C-4), 156.9 (C-5), 97.5 (C-6), 165.9 (C-7), 91.7 (C-8), 161.5 (C-9), 105.3 (C-10), 121.4 (C-1'), 115.2 (C-2'), 145.1 (C-3'), 115.0 (C-5'), 121.0 (C-6'), 59.1 (C-3-OCH<sub>3</sub>), 55.1 (C-7-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献 (Xiong et al., 1997) 报道一致,故鉴定化合物为 3,7-二甲氧基槲皮素 (**3,7-dimethoxyquercetin**)。

化合物 **2** 淡黄色针状结晶 (甲醇)。

HR-ESI-MS  $m/z$ : 270.9702 [M+H]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 600 MHz)  $\delta$ : 12.97 (1H, s, 5-OH), 10.92 (1H, s, 7-OH), 10.42 (1H, s, 4'-OH), 7.93 (2H, d,  $J$  = 8.3 Hz, H-2', H-6'), 6.97 (2H, d,  $J$  = 8.4 Hz, H-3', H-5'), 6.79 (1H, s, H-3), 6.50 (1H, d,  $J$  = 2.1 Hz, H-6), 6.20 (1H, d,  $J$  = 2.1 Hz, H-8)。<sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 150 MHz)  $\delta$ : 164.6 (C-2), 103.3 (C-3), 182.2 (C-4), 157.7 (C-5), 99.3 (C-6), 164.2 (C-7), 94.4 (C-8), 161.9 (C-9), 104.1 (C-10), 121.6 (C-1'), 130.1 (C-2'), 116.4 (C-3'), 161.7 (C-4'), 116.4 (C-5'), 128.9 (C-6')。以上数据与文献 (李晓亮等, 2007) 报道一致,故鉴定化合物为芹菜素 (apigenin)。

化合物 **3** 红棕色粉末 (甲醇)。HR-ESI-MS  $m/z$ : 287.0556 [M-H]<sup>-</sup>, 分子式为 C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 600 MHz)  $\delta$ : 7.25 (1H, d,  $J$  = 1.8 Hz, H-2), 7.18 (1H, dd,  $J$  = 8.4 Hz,  $J$  = 1.8 Hz, H-5), 6.80 (1H, d,  $J$  = 8.4 Hz, H-6), 7.63 (1H, d,  $J$  = 15.6 Hz, H- $\alpha$ ), 7.65 (1H, d,  $J$  = 15.6 Hz, H- $\beta$ ), 6.41 (1H, d,  $J$  = 9.0 Hz, H-5'), 7.67 (1H, d,  $J$  = 9.0 Hz, H-6')。<sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 150 MHz)  $\delta$ : 126.3 (C-1), 115.9 (C-2), 145.6 (C-3), 148.9 (C-4), 115.8 (C-5), 122.3 (C-6), 122.3 (C- $\alpha$ ), 144.6 (C- $\beta$ ), 192.0 (C = O), 113.4 (C-1'), 153.6 (C-2'), 132.4 (C-3'), 152.5 (C-4'), 107.7 (C-5'), 117.4 (C-6')。以上数据与文献 (Kwon et al., 2009) 报道一致,故鉴定化合物为奥卡宁 (okanin)。

化合物 **4** 黄色粉末 (甲醇), Molish 反应阳性。<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 600 MHz)  $\delta$ : 7.27 (1H, d,  $J$  = 1.8 Hz, H-2), 7.21 (1H, dd,  $J$  = 8.4 Hz,  $J$  = 1.8 Hz, H-5), 6.84 (1H, d,  $J$  = 8.4 Hz, H-6), 7.65 (1H, d,  $J$  = 15.6 Hz, H- $\alpha$ ), 7.69 (1H, d,  $J$  = 15.6 Hz, H- $\beta$ ), 6.75 (1H, d,  $J$  = 9.0 Hz, H-5'), 7.75 (1H, d,  $J$  = 9.0 Hz, H-6'),  $\delta$ : 3.75 ~ 5.47 为葡萄糖上质子信号, 7.56 (2H, d,  $J$  = 9.0 Hz, H-2''', H-6'''), 6.73 (2H, d,  $J$  = 9.0 Hz, H-3''', H-5'''), 6.43 (1H, d,  $J$  = 16.2 Hz, H-8'''), 7.55 (1H, d,  $J$  = 16.2 Hz, H-9''')。<sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 150 MHz)  $\delta$ : 126.1 (C-1), 116.2 (C-2), 145.6 (C-3), 149.1 (C-4), 115.5 (C-5), 122.2 (C-6), 117.4 (C- $\alpha$ ), 145.4 (C- $\beta$ ), 192.6

(C=O), 115.7 (C-1'), 152.5 (C-2'), 134.4 (C-3'), 150.3 (C-4'), 106.3 (C-5'), 121.4 (C-6'), 100.5 (C-1''), 73.8 (C-2''), 75.7 (C-3''), 69.9 (C-4''), 73.1 (C-5''), 63.3 (C-6''), 125.0 (C-1'''), 130.4 (C-2'''), 115.7 (C-3'''), 159.9 (C-4'''), 145.0 (C-7'''), 113.9 (C-8'''), 166.5 (C-9''')。以上数据与文献 (Hoffmann & Hölzl, 1988) 报道一致, 故鉴定化合物为 okanin-4'-O- $\beta$ -D-6''-*trans-p*-coumaroylglucoside。

化合物 5 白色针晶(甲醇)。HR-ESI-MS  $m/z$ : 146.0602 [M+H]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>NO。<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz)  $\delta$ : 9.90 (1H, s, 3a-CHO), 8.18 (1H, dt,  $J=7.7$  Hz,  $J=1.1$  Hz, H-4), 8.10 (1H, s, H-2), 7.27 (1H, m, H-5), 7.27 (1H, m, H-6), 7.49 (1H, dt,  $J=8.1$  Hz,  $J=1.0$  Hz, H-7)。<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 150 MHz)  $\delta$ : 138.3 (C-2), 118.7 (C-3), 124.3 (C-3'), 122.2 (C-4), 121.0 (C-5), 123.6 (C-6), 111.7 (C-7), 137.5 (C-7'), 186.0 (C-3a)。以上数据与文献 (Yang & Ye, 2009) 报道一致, 故鉴定化合物为 1*H*-indole-3-carbaldehyde。

化合物 6 淡黄色粉末(甲醇)。HR-ESI-MS  $m/z$ : 123.0441 [M+H]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz)  $\delta$ : 9.72 (1H, s, -CHO), 7.76 (2H, d,  $J=8.7$  Hz, H-3/5), 6.87 (2H, d,  $J=8.6$  Hz, H-2/6)。<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 150 MHz)  $\delta$ : 127.6 (C-1), 132.2 (C-2/6), 116.3 (C-3/5), 166.5 (C-4), 191.2 (-CHO)。以上数据与文献 (方前波等, 2010) 报道一致, 故鉴定化合物为对羟基苯甲醛 (*p*-hydroxybenzaldehyde)。

化合物 7 淡黄色固体(甲醇)。HR-ESI-MS  $m/z$ : 183.0645 [M+H]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz)  $\delta$ : 9.74 (1H, s, -CHO), 7.21 (2H, s, H-2/6), 3.93 (6H, s, -OCH<sub>3</sub>)。<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 150 MHz)  $\delta$ : 106.9 (C-2/6), 148.5 (C-3/5), 191.4 (-CHO), 55.4 (-2 \* OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献 (Chang et al., 2013) 报道一致, 故鉴定化合物为 3, 5-二甲氧基-4-羟基苯甲醛 (3, 5-dimethoxy-4-hydroxybenzaldehyde)。

化合物 8 无色针状晶体(甲醇)。HR-ESI-MS  $m/z$ : 343.1545 [M-H]<sup>-</sup>, 分子式为 C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>5</sub>。

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz)  $\delta$ : 6.59 (2H, d,  $J=2.0$  Hz, H-3/3'), 6.67 (2H, d,  $J=7.9$  Hz, H-6/6'), 6.53 (2H, dd,  $J=8.0$  Hz,  $J=2.0$  Hz, H-5/5'), 3.87 (2H, dd,  $J=8.6$  Hz,  $J=6.6$  Hz, H-9/9'a), 3.78 (6H, s, 2/2'-OMe), 3.50 (2H, dd,  $J=8.6$  Hz,  $J=6.6$  Hz, H-9/9'b), 2.51 (4H, dd,  $J=7.2$  Hz,  $J=5.3$  Hz, H-7/7'), 2.18 (2H, m, H-8/8')。<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 150 MHz)  $\delta$ : 144.4 (C-1/1'), 147.5 (C-2/2'), 111.9 (C-3/3'), 131.9 (C-4/4'), 120.8 (C-5/5'), 114.6 (C-6/6'), 38.5 (C-7/7'), 46.3 (C-8/8'), 73.0 (C-9/9'), 54.9 (2/2'-OMe)。以上数据与文献 (Lai-King & Brown, 1998) 报道一致, 故鉴定化合物为 3, 4-divanillyltetrahydrofuran。

化合物 9 淡黄色固体(甲醇)。HR-ESI-MS  $m/z$ : 643.1002 [M-H]<sup>-</sup>, 分子式为 C<sub>33</sub>H<sub>40</sub>O<sub>13</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz)  $\delta$ : 6.69 (2H, s, H-2/6), 6.66 (2H, s, H-2''/6''), 6.28 (2H, s, H-2'/6'), 4.99 (1H, m, H-7''), 4.77 (1H, d,  $J=4.5$  Hz, H-7), 4.74 (1H, d,  $J=4.5$  Hz, H-7'), 4.31 (1H, m, H-9a), 4.31 (1H, m, H-9'a), 4.31 (1H, m, H-8''), 3.93 (1H, m, H-9'b), 3.93 (1H, m, H-9b), 3.93 (1H, m, H-9'a), 3.93 (1H, dd,  $J=12.0$  Hz,  $J=3.5$  Hz, H-9''b), 3.87 (6H, s, 2 \* OMe), 3.84 (6H, s, 2 \* OMe), 3.83 (6H, s, 2 \* OMe), 3.16 (1H, m, H-8), 3.16 (1H, m, H-8')。<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 150 MHz)  $\delta$ : 134.8 (C-1), 102.8 (C-2/6), 147.5 (C-3/5), 137.5 (C-4), 85.9 (C-7), 54.3 (C-8), 71.5 (C-9), 134.8 (C-1'), 103.1 (C-2'/6'), 153.1 (C-3'/5'), 131.7 (C-4'), 85.7 (C-7'), 54.0 (C-8'), 71.6 (C-9'), 131.6 (C-1''), 103.8 (C-2''/6''), 147.9 (C-3''/5''), 134.4 (C-4''), 72.9 (C-7''), 86.2 (C-8''), 60.4 (C-9''), 55.4 (2 \* OMe), 55.3 (2 \* OMe), 55.3 (2 \* OMe)。以上数据与文献 (钟金栋等, 2013) 报道一致, 故鉴定化合物为 buddlenol D。

### 3 讨论

菝葜草为我国传统中草药, 临床应用广泛, 多以复方有效治疗痛风、类风湿性关节炎、三叉神经

痛、高血压、冠心病、黄疸型肝炎、中风及其后遗症等(沈震等,2013;石斌豪等,2015;王远征和李国庆,2016;刘流,2016;Liu et al., 2016;卢裕强等,2016;何威和曹亚丽,2016)。化学成分以黄酮类、二萜和倍半萜类化合物居多。本课题组前期研究发现,毛梗豨莶草具有很强的抑制细胞坏死性凋亡(necroptosis)的活性,并对其进行了化学成分分离,得到的9个化合物,除化合物1和化合物6外,其余7个化合物均为首次从豨莶属植物中分离得到。

最新的研究表明,necroptosis在许多疾病的发病机制中起到重要作用,抑制necroptosis能减少这些疾病带来的损伤。因此,necroptosis代表了一类广泛疾病的治疗目标,寻找特异性抑制剂来调控necroptosis,在生物医学研究和创新药物研发领域都具有至关重要的意义,可以为治疗多种疾病提供新的思路,这已成为当今新药研究的热点。

本研究丰富了豨莶草的化学成分,为下一步发现豨莶草细胞坏死性凋亡抑制剂提供了化学依据,也为设计开发针对细胞坏死性凋亡相关疾病的临床药物奠定了一定的化学基础,同时对丰富的豨莶草野生资源的开发和利用起到一定的推动作用。

## 参考文献:

ANDREAS L, DAUGLAS R, GREEN, 2014. Necroptosis [J]. *N Engl J Med*, 1:455-465.

CHANG CC, LING XH, HSU HF, et al., 2016. *Siegesbeckia orientalis* extract inhibits TGF $\beta$ 1-Induced migration and invasion of endometrial cancer cells [J]. *Molecules*, 21(8): 1021-1029.

CHANG RJ, WANG CH, ZENG Q, et al., 2013. Chemical constituents of the stems of *Celastrus rugosus* [J]. *Arch Pharm Res*, 36(11): 1291-1301.

CHEN SH, ZHAO PC, CHEN MZ, et al., 2017. Species identification and growth characteristics of endophytic anti-infective bacteria from herba *Siegesbeckiae* [J]. *Biotechnol Bull*, 33(2): 137-142. [陈少红, 赵朋超, 陈明钊, 等, 2017. 豨莶草内生抗感染细菌的分离鉴定及生长特性 [J]. *生物技术通报*, 33(2): 137-142.]

CHEN DS, YU J, ZHANG L, 2016. Necroptosis: an alternative cell death program defending against cancer [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1865: 228-236.

FANG QB, QIN KM, PAN Y, et al., 2010. Chemical composition of Baihe Zhimu decoction(I) [J]. *Chin Trad Herb Drugs*, 41(4): 517-520. [方前波, 秦昆明, 潘扬, 等, 2010. 百合知母汤的化学成分研究(I) [J]. *中草药*, 41(4): 517-520.]

FU XC, JIANG FP, FAN JZ, et al., 2013. Extract of herba *Siegesbeckiae* on mouse rheumatoid arthritis induced by anthrogen-CIA monoclonal antibody [J]. *J Zhejiang Univ (Med Sci Ed)*, 42(5): 556-560. [傅旭春, 蒋芳萍, 范珈祯, 等, 2013. 豨莶草对单克隆抗体组合诱导的小鼠类风湿关节炎作用 [J]. *浙江大学学报医学版*, 42(5): 556-560.]

HE W, CAO YL, 2016. The application of the addition and subtraction of Professor Zhao Jifu's Chen Cao formula in apoplexy [J]. *J Clin Med Lit*, 3(17): 3518-3519. [何威, 曹亚丽, 2016. 赵继福教授豨莶草方加减在中风病中的应用 [J]. *临床医药文献电子杂志*, 3(17): 3518-3519.]

HOFFMANN B, HÖLZL J, 1988. New Chalcones from *Bidens pilosa* [J]. *Planta Med*, 54: 52-54.

HONG YH, WENG LW, CHANG CC, et al., 2014. Anti-inflammatory effects of *Siegesbeckia orientalis* ethanol extract *in vitro* and *in vivo* models [J]. *Biol Med Res Int*, (2): 329712-329721.

KIM H, JEONG C, LIM E, et al., 2016. Antibacterial Effect of *Siegesbeckia pubescens* extract against fish pathogenic *Streptococcus iniae* [J]. *Korean J Fish Aquat Sci*, 49(5): 678-682.

KWON JW, BYUN E, LEE EJ, et al., 2009. Antioxidative and hepatoprotective effect of compounds from the flowers of *Bidens bipinnata* L. [J]. *Korean J Pharmacognosy*, 40(4): 345-350.

LAI-KING SY, GEOFFREY DB, 1998. Novel phenylpropanoids and lignans from *Illicium verum* [J]. *J Nat Prod*, 61(8): 987-992.

LEE HJ, WU Q, LI H, et al., 2016. A sesquiterpene lactone from *Siegesbeckia glabrescens* suppresses Hedgehog/Gli-mediated transcription in pancreatic cancer cells [J]. *Oncol Lett*, 12(4): 2912-2917.

LEE HN, JOO JH, OH JS, et al., 2014. Regulatory effects of *Siegesbeckia glabrescens* on non-small cell lung cancer cell proliferation and invasion [J]. *Am J Chin Med*, 42(2): 453-463.

LI XL, WANG H, LIU G, et al., 2007. Study on chemical constituents from *Desmodium styracifolium* [J]. *Chin Med Mat*, 30(7): 802-805. [李晓亮, 汪豪, 刘戈, 等, 2007. 广金钱草的化学成分研究 [J]. *中药材*, 30(7): 802-805.]

LIU C, LI Z, LIANG Y, 2016. Research of compatibility law of traditional Chinese medicine in treating rheumatoid arthritis [C] // *Biotechnology and Medical Science: Proceedings of the 2016 International Conference on Biotechnology and Medical Science*. World Scientific: 307-313.

LIU L, 2016. 46 cases of rheumatoid arthritis treated by oral

- medicine and rubbing [J]. *Nei Mongol J Trad Chin Med*, 35(4): 15-16. [刘流, 2016. 中汤药内服与外擦治疗类风湿关节炎 46 例 [J]. *内蒙古中医药*, 35(4): 15-16.]
- LOU YF, LI Y, HU B, 2013. Protective effect of total flavonoids in herba *Siegesbeckiae* on cerebral is chemia in rats [J]. *J Pharm Pract*, 31(1): 42-44. [娄月芬, 李盈, 胡滨, 2013. 豨莶草总黄酮对大鼠脑缺血损伤的保护作用及其作用机制研究 [J]. *药学实践杂志*, 31(1): 42-44.]
- LU Y, QIAN RQ, XIAO J, et al., 2014. Kirenol, a compound from herba *Siegesbeckiae*, induces apoptosis in human chronic myeloid leukemia K562 cells [J]. *Pharmazie*, 69(2): 148.
- LU YQ, QIU T, QIU CL, 2016. Qiu Changlin's commonly used drugs for trigeminal neuralgia [J]. *Chin J Trad Chin Med Pharm*, 31(2): 527-529. [卢裕强, 裘涛, 裘昌林, 2016. 裘昌林治疗三叉神经痛常用药对采撷 [J]. *中华中医药杂志*, 31(2): 527-529.]
- National Pharmacopoeia Commission, 2015. Pharmacopoeia of the People's Republic of China. A [M]. Beijing: China Medical Science Press: 368. [国家药典委员会, 2015. 中华人民共和国药典. 一部 [M]. 北京: 中国医药科技出版社: 368.]
- NGUYEN TD, THUONG PT, HWANG IH, et al., 2017. Anti-Hyperuricemic, anti-inflammatory and analgesic effects of *Siegesbeckia orientalis* L. resulting from the fraction with high phenolic content [J]. *BMC Compl Altern Med*, 17(1): 191-191.
- PARK JA, JIN KS, JI YL, et al., 2013. Anti-oxidative and anti-obesity activities of *Tetrapanax papyriferus* and *Siegesbeckia pubescens* extracts and their synergistic anti-obesity effects [J]. *J Biochem (Korean)*, 41(41): 341-349.
- SHEN Z, CAO Q, LIU XD, 2013. Effect of artemisia anomala, glandularstalk st. paulswort herb and tauro ursodesoxy cholic acid on the treatment of viral cholestatic hepatitis [J]. *Jilin J Trad Chin Med*, 33(12): 1229-1231. [沈震, 曹琴, 刘旭东, 2013. 豨莶草联合牛磺熊去氧胆酸治疗病毒性淤胆型肝炎 [J]. *吉林中医药*, 33(12): 1229-1231.]
- SHI BH, JIA JW, WANG J, 2015. A clinical analysis of patients with hepatitis B virus related acute-on-chronic liver failure treated by combination of traditional Chinese and western medicine [J]. *Chin J TCM WM Crit Care*, 3(17): 3518. [石斌豪, 贾建伟, 王娇, 2015. 中西医结合治疗乙型肝炎病毒相关慢加急性肝衰竭患者的临床疗效分析 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 22(3): 267-271.]
- WANG FH, FENG QX, YU B, et al., 2012. *Siegesbeckia pubescens* makino IIA on deep venous thrombosis of rat vWF and ICAM-1 Levels [J]. *J Liaoning Univ Trad Chin Med*, 14(2): 69-71. [王发辉, 冯起校, 于斌, 等, 2012. 腺梗豨莶 IIA 对深静脉血栓形成大鼠 vWF 及 ICAM-1 水平的影响 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 14(2): 69-71.]
- WANG YZ, LI GQ, 2016. Treatment of gout [J]. *China's Naturopathy*, 24(3): 89-89. [王远征, 李国庆, 2016. 治疗痛风验方 [J]. *中国民间疗法*, 24(3): 89-89.]
- WEBER C, FRAEMOHS L, DEJANA E, 2007. The role of junctional adhesion molecules in vascular inflammation [J]. *Nat Rev Immunol*, 7(6): 467-477.
- WU J, QU Y, DENG JX, et al., 2017. Molecular docking studies of kirenol a traditional Chinese medicinal compound against rheumatoid arthritis cytokine drug targets (TNF- $\alpha$ , IL-1 and IL-6) [J]. *Bio Med Res Int*, 28(5): 1992-1995.
- WU LC, XIE NN, ZHOU SA, et al., 2016. The molecular mechanisms of necroptosis and its role in inflammation [J]. *Chin J Cell Biol*, 38(1): 7-16. [吴晨露, 谢南南, 周仲奥, 等, 2016. 程序性细胞坏死的分子机制及其在炎症中的作用 [J]. *中国细胞生物学学报*, 38(1): 7-16.]
- WU Q, LI H, LEE SY, et al., 2015. New cytotoxic sesquiterpenoids from *Siegesbeckia glabrescens* [J]. *Molecules*, 20(2): 2850-2856.
- XIONG J, MA Y, XU YL, 1997. The constituents of *Siegesbeckia orientalis* [J]. *Nat Prod Rep*, 3(1): 14-18.
- YANG Y, CHEN H, LEI JC, et al., 2016. Biological activity of extracts and active compounds isolated from *Siegesbeckia orientalis* L. [J]. *Ind Crop Prod*, 94: 288-293.
- YANG Q, YE G, 2009. A new C-glucoside from *Commelina communis* [J]. *Chem Nat Compd*, 45(1): 59-60.
- ZENG LF, XU JW, XU L, et al., 2017. Separation and identification of flavonoids from *Siegesbeckia glabrescens* [J]. *Chin J Exp Trad Med Form*, 23(14): 74-77. [曾令峰, 徐骏伟, 徐丽, 等, 2017. 毛梗豨莶草黄酮类化学成分分离鉴定 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 23(14): 74-77.]
- ZHANG C, CAI SJ, CHEN WY, et al., 2014. Scavenging effect of *Siegesbeckia* leaves extracts on hydroxyl radical [J]. *J Southern Agric*, 45(6): 1060-1064.
- ZHONG JD, LI YP, LI HM, et al., 2013. Chemical constituents from *Croton caudatus* var. *tomentosus* [J]. *Nat Prod Res Dev*, 25(12): 1658-1661. [钟金栋, 李艳平, 李洪梅, 等, 2013. 毛叶巴豆的化学成分研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 25(12): 1658-1661.]
- ZHU LL, XU L, LIU CL, et al., 2018. Advances in research of phytopharmaceutical effects of jacksonin recent five years [J]. *Jiangxi J Trad Chin Med*, 49(10): 73-76. [朱伶俐, 徐丽, 刘春玲, 等, 2018. 近五年豨莶草药理作用研究进展 [J]. *江西中医药*, 49(10): 73-76.]
- ZHU LL, XU L, WU HQ, et al., 2018. Chemical components of *Siegesbeckia glabrescens* II [J]. *Chin J Exp Trad Med Form*, 24(2): 57-61. [朱伶俐, 徐丽, 吴华强, 等, 2018. 毛梗豨莶草化学成分研究 II [J]. *中国实验方剂学杂志*, 24(2): 57-61.]