醉鱼草果实水部位化学成分及神经保护活性研究

张　伟[1,2,3,4],许双旺[1],吴德玲[1,2,3,4*],王桐生[1],许凤清[1,2,3],陈箫箫[1]

[1]安徽中医药大学药学院;[2] 中药饮片制造新技术安徽省重点实验室;
[3]安徽省高校科研创新平台团队—中药饮片产地加工与炮制一体化关键技术研究创新团队;
[4]安徽道地中药材品质提升协同创新中心,合肥 230012

摘　要:为研究醉鱼草果实水部位化学成分及其神经保护作用,利用多种色谱分离技术从醉鱼草果实水部位中分离得到 10 个化合物。结合现代光谱技术对分离得到的化合物进行结构鉴定,分别为密蒙花苷 C(**1**)、异毛蕊花糖苷(**2**)、毛蕊花糖苷(**3**)、4′-hydroxyphenyl ethyl vanillate(**4**)、6-*O*-香草酰筋骨草苷(**5**)、syringaresinol-4′-*O*-β-D-glucopyranoside(**6**)、刺五加苷 B(**7**)、松柏苷(**8**)、醉鱼草皂苷Ⅳb(**9**)、6-*O*-(3"-*O*-p-coumaroyl-α-L-rhamnopyranosyl) catalpol(**10**),其中化合物 **4**、**6**、**7**、**8**、**10** 为首次从醉鱼草属植物中分离得到,化合物 **2**、**3** 为首次从醉鱼草果实中分离得到;利用 MPP^+ 诱导的 SH-SY5Y 细胞模型对化合物 **1**、**5**、**6**、**7** 的神经保护作用进行活性筛选,结果显示四个化合物均能使细胞存活率显著提高。

关键词:醉鱼草果实;水部位;化学成分;神经保护作用

中图分类号:R284.2　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1001-6880(2019)8-1397-05

DOI:10.16333/j.1001-6880.2019.8.014

Neuroprotective chemical constituents from water-soluble of the *Buddleja lindleyana* fruits

ZHANG Wei[1,2,3,4], XU Shuang-wang[1], WU De-ling[1,2,3,4*], WANG Tong-sheng[1], XU Feng-qing[1,2,3], CHEN Xiao-xiao[1]

[1]*School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine*;
[2]*Anhui Province Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Decoction Pieces of New Manufacturing Technology*;
[3]*Research and Innovation Platform Team of Universities in Anhui Province—Key Technology Research and Innovation Team on Integration of Habitat Processing of Traditional Chinese Medicine Decoction Pieces*;
[4]*Synergetic Innovation Center of Anhui Authentic Chinese Medicine Quality Improvement, Hefei 230012, China*

Abstract: In order to investigate the chemical constituents and neuroprotective effects of the water soluble of the *Buddleja lindleyana* fruits, 10 compounds were isolated from water soluble of the *Buddleja lindleyana* fruits by various chromatographic separation techniques. By NMR and documents, the structures of the isolated compounds were identified as scleroside C (**1**), isoflavulinin (**2**), verbascoside (**3**), 4′-hydroxyphenyl ethyl vanillate (**4**), 6-*O*-vanillylsclerotin (**5**), syringaresinol-4′-*O*-β-D-glucopyranoside (**6**), acanthopanax B (**7**), cypressin (**8**), saponin Ⅳb (**9**), 6-*O*-(3"-*O*-p-coumaroyl-α-L-rhamnopyranosyl) catalpol (**10**). Compounds **4**, **6**, **7**, **8**, **10** were isolated from the genus *Buddleia* for the first time, and compounds **2** and **3** were isolated from the fruit of *Buddleja lindleyana* for the first time. Neuroprotective effects of compounds **1**, **5**, **6** and **7** were screened by MPP^+-induced SH-SY5Y cell model, and results showed that all four compounds could significantly improve cell viability.

Key words: *Buddleja lindleyana* fruits; water-soluble fraction; chemical constituents; neuroprotective

醉鱼草果实是马钱科醉鱼草属植物醉鱼草(*Buddleja lindleyana* Fort.)的果实。醉鱼草为多年生小灌木,广泛分布于长江以南地区,传统认为其具有祛风除湿、行气化痰、散瘀之功效[1]。近年来通过对醉鱼草全草、果实的研究发现,醉鱼草(包括果

收稿日期:2018-12-24　　接受日期:2019-05-21
基金项目:国家自然基金面上项目(81373841)
*通信作者　Tel:86-551-68129066;E-mail:dlwu7375@sina.com

实)中主要含有黄酮类,三萜类,环烯醚萜苷类等成分,而且具有抗菌杀虫、保肝、解痉、镇静、抗氧化、利尿等生物活性[2]。课题组前期研究发现其中的部分成分具有保护脑神经细胞,避免其受 MPP^+ 所致的损伤作用,预示其在抗帕金森病药物的研究中具有一定的应用前景。本文主要对安徽歙县产醉鱼草(*B. lindleyana*)果实经石油醚、乙酸乙酯等有机溶剂萃取后的水溶性部位进行了化学成分研究,并采用 MPP^+ 诱导的 SH-SY5Y 细胞模型对部分化合物的神经保护作用进行了活性筛选研究。

1 材料与仪器

BruckerAM-400/600 MHz 型超导核磁共振仪(Bruker,Bremerhaven,德国)。中压制备液相色谱仪(DrFlash-S 系列,上海利穗科技有限公司,分离柱为 SepaFlash 预装柱:DN50 ×500 mm,40 ×400 mm,40 ×250 mm);高压制备液相色谱仪(Waters 2545,美国 Waters 公司);SephadexLH-20(50 μm,GE 公司);反相材料 RP-18(50 μm,Merck 公司);YMC-Pack-ODS-A,(250 mm ×20 mm,5 μm,YieldMicroelectronicsCorp.);大孔树脂(AB-8,天津光复精细化工研究所);柱色谱硅胶(200 ~ 300 目,青岛海洋化工厂);薄层色谱用硅胶板(G、GF_{254},青岛海洋化工厂);Milli-Q 超纯水器(美国 Millipore);甲醇、乙腈为色谱纯(OCEANPAK);乙醇为食用酒精;水为蒸馏水;其它试剂均为分析纯(天津市大茂化学试剂厂)。

胎牛血清(德国 Serana 公司);胰蛋白酶(美国 Sigma 公司);二甲基亚砜(DMSO,BestBio 贝博);噻唑蓝(MTT,美国 Sigma);1-甲基-4-苯基吡啶离子(MPP^+,Sigma 公司);洁净工作台(SW-CJ-1F,苏净安泰);5% CO_2 细胞培养箱(371 直热式,Thermo 公司,美国);AIRTECH 倒置显微镜(XSP-15CE,上海立光精密仪器有限公司)。

醉鱼草果实采自安徽省歙县,经安徽中医药大学药学院刘守金教授鉴定为马钱科醉鱼草(*Buddleja lindleyana* Fort.)的果实,原植物标本(编号:AZYZYC-SX-02)存放于安徽中医药大学药学院中药化学教研室;人神经母细胞瘤细胞株(SH-SY5Y 细胞)由中科院上海细胞生物学研究所提供。

2 提取与分离

醉鱼草果实(10 kg)粉碎成粗粉后,采用乙醇-水(95∶5,50∶50)依次渗漉提取,渗漉液合并后减压浓缩至无醇味,加入水分散,依次加入石油醚、乙酸乙酯萃取,萃取后剩的水层离心后取上清液,蒸干得到 C 部位(3.5 kg)。将 C 部位水溶解后经 AB-8 大孔树脂(600 ×250 mm)吸附后,以乙醇-水梯度洗脱,得到 0%、30%、60% 和 90% 乙醇洗脱部位。取大孔树脂 30% 乙醇-水洗脱部位 504 g 以聚酰胺柱色谱(600 ×200 mm)分离,乙醇-水(0∶100,30∶70,60∶40,95∶5)梯度洗脱,依次得到四个洗脱流份,分别为 C2-1、C2-2、C2-3、C2-4。

取 C2-2(34 g),经硅胶柱色谱(250 ×100 mm)吸附,使用二氯甲烷-甲醇(95∶5,90∶10,85∶15,80∶20,75∶25,50∶50,0∶100)梯度洗脱,TLC 检识合并得到流份 C2-2-1 和 C2-2-2。对 C2-2-1 流份反复使用 Sephadex LH-20 柱色谱及 ODS 反相柱色谱进行细分、纯化后,得化合物 **1**(17 mg)。C2-2-2 经反复 Sephadex LH-20 柱色谱、ODS 反相柱色谱(甲醇-水系统)及高压制备液相色谱(甲醇-水系统)处理后,得化合物 **2**(8 mg)和 **3**(11 mg)。

取 C2-1(367 g),经硅胶柱色谱充分吸附后,使用二氯甲烷-甲醇系统梯度洗脱,各流份经 TLC 检识后合并,得到 C2-1-1 ~ C2-1-6 共六个部分。C2-1-1 经反复硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱、ODS 反相柱色谱处理,得化合物 **4**(17 mg),**5**(24 mg),**6**(19 mg)。C2-1-2 经反复 Sephadex LH-20 柱色谱、硅胶柱色谱、ODS 反相柱色谱及高压制备液相色谱处理,得化合物 **7**(41 mg),**8**(10 mg)。C2-1-4 借助中压制备色谱,利用甲醇-水(10∶90,20∶80,30∶70,40∶60,50∶50,60∶40,100∶0)梯度洗脱,得到 C2-1-4-1 ~ C2-1-4-6 共 6 个流份,其中 C2-1-4-3 经反复 ODS 反相柱色谱及高压制备液相色谱纯化,得化合物 **9**(6 mg)。C2-1-3 经 MCI 柱色谱处理后,以甲醇-水(10∶90,15∶85,20∶80,25∶75,30∶70,100∶0)梯度洗脱,得到 C2-1-3-1 和 C2-1-3-2 两个部位,其中 C2-1-3-1 经常压 ODS 反相柱色谱和高压制备液相色谱纯化,得化合物 **10**(8 mg)。

3 结构解析

化合物 1 白色粉末(甲醇);^{1}H NMR(600 MHz,pyridine-d_5)δ_H:5.63(1H,d,J = 11.3 Hz,H-11),6.62(1H,dd,J = 10.8,2.8 Hz,H-12),4.94(1H,d,J = 7.9 Hz,H-1′),5.29(1H,d,J = 8.0 Hz,H-1″),5.60(1H,d,J = 7.9 Hz,H-1‴),5.79(1H,d,J = 8.2 Hz,H-1⁗);^{13}C NMR(150 MHz,pyridine-d_5)δ:38.6(C-1),26.1(C-2),82.6(C-3),43.8(C-4),47.7(C-5),18.6(C-6),32.5(C-7),40.5(C-8),54.8(C-9),36.5(C-10),126.4(C-11),125.9(C-

12),136.3(C-13),42.5(C-14),33.0(C-15),24.7(C-16),40.6(C-17),135.7(C-18),38.3(C-19),32.5(C-20),35.5(C-21),29.2(C-22),64.6(C-23),12.8(C-24),18.5(C-25),17.3(C-26),20.8(C-27),63.1(C-28),24.6(C-29),35.4(C-30),104.2(C-1′),77.2(C-2′),84.6(C-3′),77.2(C-4′),70.5(C-5′),17.2(C-6′),105.0(C-1″),74.0(C-2″),76.4(C-3″),78.3(C-4″),77.6(C-5″),61.3(C-6″),104.0(C-1‴),75.6(C-2‴),78.8(C-3‴),72.8(C-4‴),72.2(C-5‴),63.1(C-6‴),102.8(C-1⁗),72.6(C-2⁗),72.1(C-3⁗),76.3(C-4⁗),70.4(C-5⁗),18.7(C-6⁗)。以上数据与文献[3]报道基本一致,故确定化合物**1**为密蒙花苷C(mimengoside C)。

化合物2　黄色粉末(甲醇);^{1}H NMR(600 MHz,DMSO-d_6)δ:7.44(1H,d,J=15.6 Hz,H-7′),7.03(1H,s,H-2′),6.94(1H,d,J=8.4 Hz,H-6′),6.73(1H,d,J=8.4 Hz,H-5′),6.59(1H,s,H-2),6.58(1H,s,H-5),6.45(1H,d,J=7.8 Hz,H-6),6.27(1H,d,J=15.6 Hz,H-8′),5.09(1H,s,Rha-H-1‴),4.27(1H,d,J=8.4 Hz,Glc-H-1″),2.66(2H,m,H-7),1.08(3H,d,J=6.0 Hz,Rha-H-6‴);^{13}C NMR(150 MHz,DMSO-d_6)δ:129.6(C-1),116.3(C-2),144.0(C-3),145.4(C-4),115.9(C-5),120.0(C-6),35.6(C-7),70.7(C-8),125.9(C-1′),115.3(C-2′),145.1(C-3′),148.8(C-4′),116.7(C-5′),121.9(C-6′),146.0(C-7′),114.3(C-8′),166.9(C=O),103.0(C-1″),74.5(C-2″),81.3(C-3″),68.9(C-4″),74.1(C-5″),63.9(C-6″),101.0(C-1‴),71.0(C-2‴),71.0(C-3‴),72.5(C-4‴),68.5(C-5‴),18.3(C-6‴)。以上数据与文献[4]报道一致,故鉴定化合物**2**为异毛蕊花糖苷(isoacteoside)。

化合物3　黄色粉末(甲醇);^{1}H NMR(600 MHz,DMSO-d_6)δ:7.44(1H,d,J=15.6 Hz,H-7′),7.01(1H,s,H-2′),6.96(1H,d,J=8.4 Hz,H-6′),6.75(1H,d,J=7.8 Hz,H-5′),6.61(1H,s,H-2),6.48(1H,d,J=7.8 Hz,H-6),6.18(1H,d,J=16.2 Hz,H-8′),5.02(1H,s,rha-H-1‴),4.35(1H,d,J=7.8 Hz,glc-H-1″),2.68(2H,m,H-7),0.94(3H,d,J=6.0 Hz,rha-H-6‴);^{13}C NMR(150 MHz,DMSO-d_6)δ:129.6(C-1),116.2(C-2),144.0(C-3),145.4(C-4),115.9(C-5),120.0(C-6),35.4(C-7),70.7(C-8),125.9(C-1′),115.1(C-2′),146.0(C-3′),140(C-4′),116.7(C-5′),121.9(C-6′),148.9(C-7′),114.0(C-8′),166.1(C=O),102.7(C-1″),74.9(C-2″),79.5(C-3″),69.6(C-4″),74.9(C-5″),61.2(C-6″),101.7(C-1‴),70.8(C-2‴),71.0(C-3‴),72.1(C-4‴),69.2(C-5‴),18.6(C-6‴)。以上数据与文献[5]报道一致,故鉴定化合物**3**为毛蕊花糖苷(acteoside)。

化合物4　白色粉末(甲醇);^{1}H NMR(600 MHz,DMSO-d_6)δ:7.43(1H,s,H-6),7.41(1H,s,H-2),6.96(1H,d,J=8.4 Hz,H-2′,6′),6.82(1H,d,J=7.8 Hz,H-5),6.63(1H,d,J=8.4 Hz,H-3′,5′),3.78(3H,s,H-OCH$_3$),3.50(2H,t,H-7′),2.55(2H,t,H-8′);^{13}C NMR(150 MHz,DMSO-d_6)δ:122.1(C-1),113.1(C-2),147.6(C-3),151.5(C-4),115.4(C-5),123.9(C-6),167.7(C-7),56.0(3-OCH$_3$),130.09(C-1′),129.9(C-2′),115.4(C-3′),155.9(C-4′),115.4(C-5′),129.9(C-6′),63.0(C-7′),39.7(C-8′)。以上数据与文献[6]报道一致,故鉴定化合物**4**为4′-hydroxyphenyl ethyl vanillate。

化合物5　白色粉末(甲醇);^{1}H NMR(400 MHz,CD$_3$OD)δ:7.59(2H,m,H-2′,6′),6.83(1H,d,J=8.8 Hz,H-5′),6.24(1H,brd,J=6.4 Hz,H-3),5.53(1H,d,J=1.6 Hz,H-1),5.02(2H,m,H-4,6),4.68(1H,d,J=8.0 Hz,H-1-glc),3.90(3H,s,-OCH$_3$),3.00(1H,brd,J=8.8 Hz,H-5),2.62(1H,brd,J=14.4 Hz,H-9),2.29(1H,dd,J=14.0,6.0 Hz,H-7-a),2.06(1H,dd,J=14.0,3.6 Hz,H-7-b),1.42(3H,s,H-10);^{13}C NMR(100 MHz,CD$_3$OD)δ:93.5(C-1),141.2(C-3),104.7(C-4),39.6(C-5),80.8(C-6),47.9(C-7),79.3(C-8),51.8(C-9),26.3(C-10),125.3(C-1′),113.8(C-2′),148.8(C-3′),153.1(C-4′),116.0(C-5′),122.9(C-6′),168.0(C=O),56.5(3′-OCH$_3$),99.5(C-1″),74.9(C-2″),78.1(C-3″),71.8(C-4″),78.3(C-5″),63.0(C-6″)。以上数据与文献[7]报道基本一致,确定化合物**5**为6-*O*-香草酰筋骨草苷(6-*O*-vanilloylajugol)。

化合物6　白色粉末(甲醇);^{1}H NMR(400 MHz,CD$_3$OD)δ:6.72(2H,s,H-2,6),6.66(2H,s,H-2′,6′),4.87(1H,d,J=7.6 Hz,H-1″),4.77(1H,d,J=3.6 Hz,H-7),4.72(1H,d,J=3.6 Hz,H-7′),4.29(2H,m,H-9β,9′β),3.92(2H,m,H-9α,9′α),3.86(6H,s,3′,5′-OCH$_3$),3.85(6H,s,3,5-OCH$_3$),3.14(2H,brs,H-8,8′);^{13}C NMR(100 MHz,CD$_3$OD)

δ:133.2(C-1),104.6(C-2,6),149.4(C-3,5),136.3(C-4),87.3(C-7),55.6(C-8),72.9(C-9),135.7(C-1′),104.9(C-2′,6′),139.6(C-4′),154.5(C-3′,5′),87.7(C-7′),55.8(C-8′),73.0(C-9′),57.2(-OCH_3 × 2,OCH_3-3,5),56.9(-OCH_3 × 2,OCH_3-3′,5′),105.4(C-1″),75.8(C-2″),77.9(C-3″),71.4(C-4″),78.4(C-5″),62.7(C-6″)。以上数据与文献[8]报道基本一致,故确定化合物**6**为syringaresinol-4′-*O*-β-D-glucopyranoside。

化合物 7 白色粉末(甲醇);^{1}H NMR(600 MHz,CD_3OD)δ:6.75(2H,s,H-2,6),6.54(1H,d,J = 15.6 Hz,H-7),6.33(1H,dt,J = 16.2,5.4 Hz,H-8),4.22(2H,d,J = 5.4Hz,H-9),3.85(6H,s,-OCH_3),4.87(1H,d,J = 7.8 Hz,H-1′);^{13}C NMR(150 MHz,CD_3OD)δ:130.1(C-1),105.5(C-2,6),154.4(C-3,5),136.0(C-4),135.3(C-7),131.4(C-8),63.7(C-9),57.1(-OCH_3 × 2,OCH_3-3′,5′),105.4(C-1′),75.8(C-2′),78.5(C-3′),71.4(C-4′),77.9(C-5′),62.7(C-6′)。以上数据与文献报道[9,10]基本一致,故确定化合物**7**为刺五加苷B(eleutheroside B)。

化合物 8 白色粉末(甲醇);^{1}H NMR(600 MHz,CD_3OD)δ:7.10(1H,d,J = 8.4 Hz,H-5),7.07(1H,d,J = 1.8 Hz,H-2),6.95(1H,dd,J = 8.4,1.2 Hz,H-6),6.54(1H,d,J = 16.2 Hz,H-7),6.28(1H,dt,J = 15.6,6.0 Hz,H-8),4.21(2H,d,J = 6.0 Hz,H-9),3.87(3H,s,-OCH_3);^{13}C NMR(150 MHz,CD_3OD)δ:133.7(C-1),111.4(C-2),151.0(C-3),147.7(C-4),118.0(C-5),120.8(C-6),131.4(C-7),129.0(C-8),63.8(C-9),56.8(3-OCH_3),102.8(C-1′),74.9(C-2′),77.9(C-3′),71.4(C-4′),78.3(C-5′),62.6(C-6′)。以上数据与文献[11]报道基本一致,确定化合物**8**为松柏苷(coniferin)。

化合物 9 白色粉末(甲醇);^{1}H NMR(600 MHz,CD_3OD)δ:5.60(1H,d,J = 10.2 Hz,H-11),6.42(1H,dd,J = 10.8,3.0 Hz,H-12);^{13}C NMR(150 MHz,CD_3OD)δ:39.0(C-1),26.5(C-2),84.5(C-3),41.5(C-4),50.0(C-5),19.0(C-6),32.3(C-7),41.3(C-8),55.8(C-9),37.4(C-10),127.4(C-11),126.6(C-12),135.3(C-13),43.6(C-14),33.1(C-15),78.1(C-16),44.5(C-17),135.3(C-18),33.7(C-19),30.5(C-20),30.5(C-21),29.7(C-22),63.8(C-23),12.8(C-24),17.0(C-25),17.4(C-26),20.3(C-27),63.7(C-28),24.3(C-29),26.6(C-30),103.6(C-1′),76.4(C-2′),85.7(C-3′),72.5(C-4′),71.3(C-5′),21.0(C-6′),104.9(C-1″),76.1(C-2″),78.4(C-3″),71.5(C-4″),78.3(C-5″),62.5(C-6″),105.5(C-1‴),75.4(C-2‴),78.4(C-3‴),72.8(C-4‴),74.1(C-5‴),63.1(C-6‴)。以上数据与文献[12]报道基本一致,故确定化合物**9**为醉鱼草皂苷Ⅳ$_b$(buddlejasaponin Ⅳ$_b$)。

化合物 10 白色粉末(甲醇);^{1}H NMR(600 MHz,DMSO-d_6)δ:10.00(1H,s,H-4‴),7.56(1H,d,J = 15.6 Hz,H-β),7.53(2H,d,J = 8.4Hz,H-2‴,6‴),6.78(2H,d,J = 8.4 Hz,H-3‴,C-5‴),6.41(1H,dd,J = 6.0,1.2Hz,H-3),6.38(1H,d,J = 15.6 Hz,H-α),5.25(1H,d,J = 4.8Hz,H-1),5.10(1H,d,J = 4.2 Hz,H-1″),5.05(1H,d,J = 6.6 Hz,H-4),4.58(1H,d,J = 7.8 Hz,H-1′),1.17(3H,d,J = 6.0 Hz,H-6″);^{13}C NMR(150 MHz,DMSO-d_6)δ:93.1(C-1),141.0(C-3),102.4(C-4),35.6(C-5),81.7(C-6),57.5(C-7),65.4(C-8),41.9(C-9),58.8(C-10),97.9(C-1′),74.0(C-2′),77.5(C-3′),70.3(C-4′),76.4(C-5′),61.4(C-6′),98.8(C-1″),68.2(C-2″),73.5(C-3″),69.1(C-4″),68.9(C-5″),17.9(C-6″),125.2(C-1‴),130.3(C-2‴),115.9(C-3‴),159.8(C-4‴),115.9(C-5‴),130.3(C-6‴),114.2(C-α),144.6(C-β),166.4(C=O)。以上数据与文献[13]报道基本一致,故确定化合物**10**为6-*O*-(3″-*O*-p-coumaroyl-α-L-rhamnopyranosyl)catalpol。

4 化合物活性的筛选

将SH-SY5Y细胞在37 ℃、5% CO_2及饱和湿度环境下培养与DMEM培养基(另加胎牛血清、青霉素、链霉素、胰蛋白酶),待细胞增殖至约80%时铺板,培养细胞按每孔100 μL的密度种植于96孔培养板中。细胞于37 ℃、5% CO_2培养箱中培养24 h,将各个样品配制成4个浓度梯度(31、62、125、250 μmol/L)加到96孔培养板中,每个浓度梯度设6个复孔,并设置空白孔(等体积PBS)、正常孔(不含血清的完全培养基)、模型孔(不含血清的完全培养基加入1 mmol/L的MPP^+),作用1 h后加入1 mmol/L MPP^+,继续培养24 h后,于每孔中加入20 μL的MTT(5 mg/mL),继续培养4 h,吸出孔内的培养液,在每孔加入150 μL的DMSO,低速振荡10 min,酶标仪570 nm波长下测定其吸光度(A)值,并计算细胞存活率。

表 1　部分化合物对细胞存活率的影响

Table 1　The effect of compounds on the viability of SH-SY5Y cells

化合物 Compound	0 μmol/L	31 μmol/L	62 μmol/L	125 μmol/L	250 μmol/L
模型组	52.3 ±6.8	–	–	–	–
1	–	56.6 ±3.7*	61.7 ±5.4**	67.1 ±3.3**	68.6 ±6.2**
5	–	58.1 ±5.4*	67.1 ±6.1**	74.3 ±2.3**	77.8 ±3.9**
6	–	60.2 ±4.8*	66.6 ±2.4**	77.1 ±6.2**	75.2 ±6.5**
7	–	55.2 ±4.8	70.1 ±3.3**	67.7 ±2.3**	64.2 ±7.0**

注:与模型组比较:* $P<0.05$,** $P<0.01$。

Note:Compared with the model group:* $P<0.05$,** $P<0.01$.

通过 MTT 法对部分化合物给药的细胞存活率进行测定,与模型组相比较(见表 1),所选的 4 个化合物对 MPP^+ 损伤的 SH-SY5Y 细胞均具有一定的保护作用。其中化合物 **1** 和 **5** 给药的细胞存活率随着给药浓度的增大而增大;化合物 **6** 和 **7** 给药的细胞存活率先随着给药浓度的增高而增大,药物浓度达到一定浓度后,细胞存活率达到最大,进一步增大给药浓度,细胞存活率会有所下降。

5　结论

本研究从醉鱼草果实水部位分离纯化得到密蒙花苷 C(**1**)、异毛蕊花糖苷(**2**)、毛蕊花糖苷(**3**)、4′-hydroxyphenyl ethyl vanillate(**4**)、6-*O*-香草酰筋骨草苷(**5**)、syringaresinol-4′-*O*-β-D-glucopyranoside(**6**)、刺五加苷 B(**7**)、松柏苷(**8**)、醉鱼草皂苷Ⅳb(**9**)、6-*O*-(3″-*O*-p-coumaroyl-α-L-rhamnopyranosyl) catalpol(**10**)等 10 个化合物,其中化合物 **4**、**6**、**7**、**8** 和 **10** 为首次从醉鱼草属植物中分离得到,化合物 **2** 和 **3** 为首次从醉鱼草果实中分离得到;利用 MPP^+ 诱导的 SH-SY5Y 细胞模型对化合物 **1**、**5**、**6** 和 **7** 的神经保护作用进行考察,结果显示四个化合物均能使细胞存活率显著提高。本研究进一步丰富了醉鱼草果实中化学成分类型,为更好的开发利用醉鱼草资源提供参考。

参考文献

1　Jiangsu New Medical College. Chinese Medicine Dictionary (中药大词典)[M]. Shanghai:Shanghai Scientific & Technical Publishers,1986:3675.

2　Li YY, Lu JH, Li Q, et al. Pedicularioside A from *Buddleja Lindleyana* inhibits cell death incuced by 1-methyl-4-phenylpyridinium ions(MPP^+) in primary cultures of rat mesencephalic neurons[J]. Eur J Pharmacol,2008,579:134-140.

3　Guo H, Koike K, Li W, et al. Saponins from the flower buds of *Buddleja officinalis*[J]. J Nat Prod,2004,67(1):10-13.

4　Wu J. Chemical constituents from flowers of *Incarvillea younghusbandii*[D]. Chengdu:Southwest Jiaotong University(西南交通大学),2012.

5　Wang LT, Sun ZH, Zhong ML, et al. Studies on chemical constituents of *Clinopodium chinense*[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志),2017,42:2510-2517.

6　Pendota SC, Aderogba MA, Ndhlala AR, et al. Antimicrobial and acetylcholinesterase inhibitory activities of *Buddleja salviifolia*(L.) Lam. leaf extracts and isolated compounds[J]. J Ethnopharmacol,2013,148:515-520.

7　Lu JH, Huang QA, Zhao YY, et al. Studies on chemical constituents of *Buddleja lindleyana*[J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药),2001,32:296-298.

8　Wang CZ, Yu DQ. Lignan and acetylenic glycosides from *Aster auriculatus*[J]. Phytochemistry,1998,48:711-717.

9　Greca MD, Ferrara M, Fiorentino A, et al. Antialgal compounds from *Zantedeschia aethiopica*[J]. Phytochemistry, 1998,49:1299-1304.

10　Yan ZW, Liu JP, Lu D, et al. Chemical constituents from pulp of *Acanthopanax senticosus*(Rupr et Maxim) Harms(Ⅱ)[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2013,25:338-341.

11　Liu SS, Zhou XQ, Liang CX, et al. Chemical Constituents from aqueous extract of *Euodiae Fructus*[J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae(中国实验方剂学杂志),2016,22:58-64.

12　Liu Z, Jia Z, Cates RG, et al. Triterpenoid saponins from *Clinopodium chinensis*[J]. J Nat Prod,1995,58:184-188.

13　Eribekyan MI, Arutyunyan LS, Mnatsakanyan VA. Iridoid glycosides of *Verbascum sinuatum*[J]. Chem Nat Compd,1987, 23:125-126.