

长叶紫珠化学成分及抗炎活性研究

赵璐,徐凡,易侨祺,张桃莉,王红刚*

广东药科大学中药学院,广州 510006

摘要:本文对长叶紫珠(*Callicarpa longifolia*)进行化学成分研究。运用硅胶、Sephadex LH-20、ODS、MCI等柱层析并结合半制备型HPLC、重结晶等手段对长叶紫珠的甲醇提取物进行分离纯化;通过显色反应、理化性质、核磁共振波谱技术、质谱法等对所分离得到的化合物进行结构鉴定,从长叶紫珠中分离得到10个化合物,分别为18-hydroxyferruginol(1)、dehydroabietanol(2)、neolupenol(3)、kaempferol-3,4',7-O-trimethylether(4)、artemisin(5)、5-羟基-7,8,3',4'-四甲氧基黄酮(6)、penduletin(7)、毛蕊花糖苷(8)、邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(9)、邻苯二甲酸二丁酯(10)。十个化合物均为首次从长叶紫珠植物中分离得到。运用Griess法测定化合物1~5、8~10对LPS诱导的RAW 264.7细胞模型NO释放量的影响研究其抗炎活性。结果显示,化合物1、2、4、10具有一定的抑制NO生成作用,其IC₅₀值分别为25.2、34.6、109.6、104.8 μmol/L。

关键词:长叶紫珠;紫珠属;化学成分;抗炎

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2021)12-2029-06

DOI:10.16333/j.1001-6880.2021.12.006

Chemical constituents from *Callicarpa longifolia* and their anti-inflammatory activity

ZHAO Lu, XU Fan, YI Qiao-qi, ZHANG Tao-li, WANG Hong-gang*

School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

Abstract:To study the chemical constituents of *Callicarpa longifolia*. The methanol extract of *C. longifolia* was isolated and purified by silicon, Sephadex LH-20, ODS, MCI column chromatographies, semi-preparative HPLC and recrystallization method. The structures of the compounds were identified by color reaction, physicochemical properties, nuclear magnetic resonance spectroscopy and mass spectrometry. Ten compounds, 18-hydroxyferruginol (1), dehydroabietanol (2), neolupenol (3), kaempferol-3,4',7-O-trimethylether (4), artemisin (5), 5-hydroxy-7,8,3',4'-tetramethoxyflavone (6), penduletin (7), verbascoside (8), di-(2-ethylhexyl)-phthalate (9), and dibutyl phthalate (10) were isolated from *C. longifolia* for the first time. The anti-inflammatory effect of compounds 1-5 and 8-10 was tested on lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. The results showed that compounds 1, 2, 4 and 10 had significant inhibitory effects on NO production and their IC₅₀ values were 25.2, 34.6, 109.6 and 104.8 μmol/L respectively.

Key words: *Callicarpa longifolia*; *Callicarpa*; chemical constituents; anti-inflammation

长叶紫珠(*Callicarpa longifolia* Lamk.),为马鞭草科紫珠属植物,产于我国台湾、广东、云南,生于海拔1400 m下的山坡疏林中,在印度尼西亚、菲律宾、马来西亚、越南、缅甸、印度也有分布^[1]。长叶紫珠别名老哈眼,在我国福建地区其常被当作民间草药使用,应用历史悠久且有较好的疗效。据《福建民间草药》和《闽南民间草药》记载,长叶紫珠又

名山枇杷、牛舌癩,《中国药植图鉴》中又称其为野枇杷,味苦辛,性温,有微毒。具有祛风除湿、活血止血、清痰镇咳、解毒杀虫的功效,常用作治疗风湿痛、吐血、风寒咳嗽、虫证等症。紫珠属植物当中的许多植物在古代民间的常用草药以及各地民族药书籍中都有所记载,该属在国内共46种植物,其中20多种植物的清热、祛风湿、止血等药效效果十分明显,现代研究报道紫珠属植物具有抗炎^[2-6]、止血^[7]、镇痛^[8,9]、抗氧化^[10-12]、改善记忆障碍^[13,14]等药理作用。

收稿日期:2021-04-30 接受日期:2021-11-17

基金项目:广东省省级科技计划(2016A070712021)

*通信作者 E-mail:wanghongang7588@163.com

作为一种民间用药,长叶紫珠应用历史悠久、疗效显著,但一直以来有关长叶紫珠的研究报道却很稀少。本文选取紫珠属植物长叶紫珠作为研究对象,在紫珠属植物的研究基础上,以期从长叶紫珠中寻找出具有良好抗炎效果的活性成分,为抗炎药物的开发提供一定的参考价值。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

核磁共振仪(AVANCE III 500MHz,瑞士布鲁克拜厄斯宾有限公司)、高分辨质谱(maXis impact,德国Bruker公司)、半制备高效液相色谱仪(北京赛谱锐思科技有限公司)。

硅胶(100~200,200~300目,青岛海洋化工有限公司);MCI(三菱化学公司);ODS(日本YMC公司);Sephadex LH-20(北京赛谱锐思科技有限公司);石油醚、乙酸乙酯、二氯甲烷、甲醇(天津市大茂化学试剂厂,分析纯);甲醇(瑞典欧普森试剂公司,色谱级);DMEM高糖培养基、胎牛血清、胰蛋白酶(美国Gibco);磷酸缓冲盐溶液(PBS)(美国Gibco);二甲基亚砜(美国Mpbio);CCK8细胞计数试剂盒(美国APEX-BIO);地塞米松、脂多糖(LPS)(美国Sigma);Griess试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司)。

长叶紫珠 *Callicarpa longifolia* Lamk. 采集于广东药科大学大学城校区中药学院药用植物园,经中国科学院华南植物园叶华谷教授鉴定为马鞭草科紫珠属植物长叶紫珠(*Callicarpa longifolia* Lamk.)的枝叶。凭证标本(标本号201980723)存放于广东药科大学中药标本馆。

1.2 实验方法

1.2.1 提取与分离

长叶紫珠干燥枝叶5.5 kg,粉碎成粗粉,以甲醇冷浸方式提取5次(前3次冷浸提取48 h,后2次冷浸提取72 h),每次约20 L,合并甲醇提取液,减压浓缩,回收溶剂后得甲醇浸膏888.65 g。将甲醇浸膏用温水进行分散(浸膏:水 \approx 1:1,V/V)后,分别用石油醚(6 \times 1.2 L)、乙酸乙酯(6 \times 1.2 L)、正丁醇(6 \times 1.2 L)依次萃取,再分别合并有机层并减压浓缩,最终得石油醚浸膏222.15 g,乙酸乙酯浸膏271.02 g,正丁醇浸膏182.12 g。

将乙酸乙酯浸膏(271.02 g)以硅胶为固定相,以二氯甲烷-甲醇(200:1,100:1,50:1,30:1,15:1,9:1,7:1,5:1,3:1,1:1,V/V)为洗脱剂进行梯度洗脱,经薄层色谱检查后合并相同部分,得到16个组分(Y1~Y16)。Y3组分经Sephadex LH-20凝胶柱色谱分离,以二氯甲烷-甲醇(1:1,V/V)洗脱,得到13个组分(Y3.1~Y3.13);Y3.4组分经MCI及数次Sephadex LH-20凝胶柱分离纯化后,得到化合物9(99.2 mg)。Y4组分经Sephadex LH-20凝胶柱分离后,得到5个组分(Y4.1~Y4.5);Y4.5组分再次经硅胶、MCI柱分离纯化后,得到化合物3(7.0 mg)。Y5组分经硅胶柱层析分离,使用石油醚-乙酸乙酯(200:1,100:1,50:1,30:1,15:1,9:1,7:1,V/V)以及纯甲醇洗脱,得8个组分(Y5.1~Y5.8)。Y5.3组分经Sephadex LH-20凝胶柱色谱分离后,得到6个组分(Y5.3.1~Y5.3.6);Y5.3.3组分经半制备高效液相色谱纯化后,得到化合物2(85%甲醇-水, t_R =12.032 min,5.0 mg);Y5.4组分经MCI、Sephadex LH-20凝胶柱分离纯化后,得化合物4(2.3 mg)。Y7组分经硅胶柱色谱以石油醚-乙酸乙酯(200:1,100:1,50:1,30:1,15:1,9:1,7:1,5:1,3:1,1:1,V/V)以及纯甲醇洗脱后,得到8个组分(Y7.1~Y7.8);Y7.3组分经重结晶纯化后得到化合物5(111.9 mg);Y7.4组分经MCI、凝胶柱色谱,以及半制备高效液相色谱分离纯化后,得到化合物10(80%甲醇-水, t_R =15.408 min,3.1 mg);Y7.6组分经MCI柱色谱分离后得到12个组分(Y7.6.1~Y7.6.12)。其中Y7.7组分经MCI、硅胶和多次凝胶柱色谱分离后,得到化合物1(205.4 mg)和6(5.0 mg)。Y10组分则经重结晶纯化后得到化合物7(92.6 mg)。

正丁醇浸膏(182.12 g),以MCI为固定相,以甲醇-水(10% \rightarrow 100%)为洗脱剂进行梯度洗脱,经薄层色谱检查,合并相同部分后,得到4个组分Fr.W1~Fr.W4。Fr.W2组分经半制备液HPLC分离纯化后,得到化合物8(42%甲醇水, t_R =17.036 min,25.0 mg)。

1.2.2 抗炎活性研究

用CCK8法测定RAW 264.7细胞在不同浓度化合物环境下的存活率来评价对应化合物的细胞毒

性作用。根据细胞毒性测试结果对本实验化合物的给药浓度进行设计。

将处于对数生长期的的小鼠巨噬细胞 RAW 264.7 稀释并接种于 96 孔板,每孔 100 μL ,细胞密度 4×10^4 个/孔,孔板边缘加入 100 μL PBS,培养 24 h 后进行下一步实验。将不做处理的完全培养基正常培养的细胞作为空白对照,将仅加入 100 ng/mL LPS 的细胞设为模型组。以 100 ng/mL LPS 及 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 地塞米松作为阳性组,以不同浓度化合物及 100 ng/mL LPS 作为实验组。加入药物后,培养 18 h。分别取各组细胞上清液用 Griess 法检测 NO 释放量水平。

2 实验结果

2.1 结构鉴定

化合物 1 白色棒状结晶; HR-EI-MS: m/z 303.233 0 $[M + H]^+$ (calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{O}_2$, 303.231 9)。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 2.24 (1H, m, H-1a), 1.34 (1H, m, H-1b), 1.67 (2H, m, H-2), 1.56 (1H, m, H-3a), 1.37 (1H, m, H-3b), 1.67 (1H, m, H-5), 1.85 (2H, m, H-6), 2.79 (2H, m, H-7), 3.20 (1H, p, $J = 6.9$ Hz, H-15), 1.19 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-16), 1.20 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-17), 3.46 (1H, d, $J = 11.1$ Hz, H-18a), 3.13 (1H, d, $J = 11.1$ Hz, H-19b); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 39.9 (C-1), 19.8 (C-2), 36.3 (C-3), 38.4 (C-4), 45.0 (C-5), 20.1 (C-6), 30.4 (C-7), 127.0 (C-8), 149.2 (C-9), 38.9 (C-10), 111.1 (C-11), 153.2 (C-12), 133.3 (C-13), 127.2 (C-14), 27.2 (C-15), 23.2 (C-16, 17), 72.0 (C-18), 18.0 (C-19), 25.7 (C-20)。以上数据与文献进行对照,同时经二维核磁谱图进行验证,确定为文献^[15]报道的化合物 18-hydroxyferuginol。

化合物 2 透明油状液体; HR-EI-MS: m/z 287.237 7 $[M + H]^+$ (calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{O}$, 287.236 9); ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.15 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-12), 6.94 (1H, dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, H-11), 6.85 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-14), 3.45 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-18a), 3.12 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-18b), 2.90 ~ 2.83 (1H, m, H-6a), 2.83 ~ 2.76 (1H, m, H-6b), 2.35 ~ 2.27 (1H, m, H-15), 1.89 ~ 1.78

(2H, m, H-7), 1.70 ~ 1.67 (2H, m, H-2), 1.55 (1H, m, H-5), 1.40 ~ 1.29 (2H, m, H-3), 1.24 ~ 1.19 (9H, m, H-16, 17, 20), 0.88 (3H, d, H-19); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 148.6 (C-9), 146.6 (C-13), 135.9 (C-8), 127.7 (C-14), 125.2 (C-12), 124.6 (C-11), 72.0 (C-18), 45.0 (C-5), 39.8 (C-1), 38.9 (C-4), 38.4 (C-10), 36.3 (C-3), 34.8 (C-15), 31.1 (C-7), 25.8 (C-20), 24.5 (C-16, C-17), 19.9 (C-2), 19.8 (C-6), 18.0 (C-19)。以上数据与文献^[16]报道的 dehydroabietanol 数据一致。

化合物 3 白色羽状结晶; HR-EI-MS: m/z 427.380 2 $[M + H]^+$ (calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{51}\text{O}$, 427.393 4); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 5.15 (1H, t, $J = 3.7$ Hz, H-12), 3.25 (1H, dd, $J = 11.1, 5.2$ Hz, H-3), 2.02 ~ 1.86 (3H, m, H-11, H-18), 1.09, 1.03, 1.02, 0.98, 0.94, 0.82 (3H \times 6, s, H-22 ~ 27), 0.82 (6H, s, H-2, 30); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 139.8 (C-13), 124.6 (C-12), 79.2 (C-3), 59.2 (C-18), 55.4 (C-5), 47.9 (C-9), 42.3 (C-14), 41.7 (C-1), 40.2 (C-8), 39.8 (C-19), 39.8 (C-20), 39.0 (C-22), 38.9 (C-17), 37.1 (C-4), 33.9 (C-10), 33.1 (C-7), 31.4 (C-21), 29.9 (C-27), 28.9 (C-23), 28.3 (C-2), 27.4 (C-16), 26.8 (C-11), 23.5 (C-15), 23.4 (C-28), 21.6 (C-29), 18.5 (C-6), 17.6 (C-26), 17.0 (C-30), 15.8 (C-24), 15.8 (C-25)。以上数据与文献^[17]报道的 neolupenol 数据一致。

化合物 4 黄色针状结晶; HR-EI-MS: m/z 329.102 4 $[M + H]^+$ (calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{O}_6$, 329.102 0); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 12.65 (1H, s, 5-OH), 8.07 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-2' 和 H-6'), 7.02 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-3' 和 H-5'), 6.44 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 6.35 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-6), 3.89 (3H, s, -OCH₃), 3.87 (3H, s, -OCH₃), 3.85 (3H, s, -OCH₃); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 178.9 (C-4), 165.6 (C-7), 162.2 (C-4'), 161.8 (C-5), 156.9 (C-8a), 156.1 (C-2), 139.0 (C-3), 130.3 (C-2' 和 C-6'), 123.0 (C-1'), 114.2 (C-3' 和 C-5'), 106.2 (C-4a), 98.0 (C-6), 92.3 (C-8), 60.3 (3-OCH₃), 55.9, 55.6 (4', 7-OCH₃)。以上数据与文献^[18]报道的 kaempferol 3,4',7-O-trimethylether 数据一致。

化合物 5 黄色针状结晶; HR-EI-MS: m/z 389.123 3 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{20}H_{21}O_8$, 389.123 1); 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 12.91 (1H, s, 5-OH), 8.02 (1H, dd, $J = 8.5, 2.0$ Hz, H-6'), 7.98 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 7.29 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 6.80 (1H, s, H-8), 4.28 (6H, s, 3', 4'-OCH₃), 4.26 (3H, s, 7-OCH₃), 4.22 (3H, s, 6-OCH₃), 4.17 (3H, s, 3-OCH₃); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 155.9 (C-2), 138.9 (C-3), 178.9 (C-4), 152.9 (C-5), 132.4 (C-6), 158.8 (C-7), 90.4 (C-8), 152.3 (C-9), 106.6 (C-10), 123.0 (C-1'), 111.4 (C-2'), 148.9 (C-3'), 151.5 (C-4'), 111.0 (C-5'), 122.2 (C-6'), 60.2 (3-OCH₃), 60.9 (6-OCH₃), 56.4 (7-OCH₃), 56.1 (3'-OCH₃), 56.1 (4'-OCH₃)。以上数据与文献^[19]报道的 artemein 基本一致。

化合物 6 黄色针状结晶; HR-EI-MS: m/z 359.234 0 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{19}H_{19}O_7$, 359.234 1) 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 12.61 (1H, s, 5-OH), 7.71 (1H, $J = 2.0$ Hz, H-6'), 7.67 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz, H-2'), 7.05 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.50 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-3), 6.01 (1H, s, H-6), 3.99 (3H, s, -OCH₃), 3.96 (3H, s, -OCH₃), 3.92 (3H, s, -OCH₃), 3.86 (3H, s, OCH₃); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 179.1 (C-4), 158.9 (C-2), 156.1 (C-9), 152.9 (C-7), 152.5 (C-4'), 148.5 (C-3'), 146.5 (C-5'), 138.9 (C-8), 132.5 (C-1), 122.8 (C-6'), 122.6 (C-10), 114.7 (C-2'), 111.1 (C-5'), 106.7 (C-3), 90.5 (C-6), 61.0 (7-OCH₃), 60.3 (8-OCH₃), 56.5 (3'-OCH₃), 56.3 (4'-OCH₃)。以上数据与文献^[20]报道的 5-羟基-7,8,3',4'-四甲氧基黄酮数据一致。

化合物 7 黄色针状结晶; HR-EI-MS: m/z 345.096 5 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{18}H_{17}O_7$, 345.096 9); 1H NMR (500 MHz, $(CD_3)_2CO$) δ : 12.72 (1H, s, 5-OH), 9.11 (1H, s, -OH), 8.05 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-2', H-6'), 7.02 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3', H-5'), 6.80 (1H, s, 8-H), 3.98 (3H, s, 7-OCH₃), 3.88 (3H, s, 3-OCH₃), 3.80 (3H, s, 6-OCH₃); ^{13}C NMR (125 MHz, $(CD_3)_2CO$) δ : 179.9 (C-4), 161.0 (C-42'), 160.2 (C-7), 157.1 (C-2), 153.7 (C-5), 153.2 (C-

9), 139.2 (C-3), 133.2 (C-6), 131.3 (C-22'), 129.4 (C-62'), 122.7 (C-12'), 116.9 (C-32'), 116.5 (C-52'), 107.1 (C-10), 91.7 (C-8), 60.6 (6-OCH₃), 60.2 (3-OCH₃), 56.8 (7-OCH₃)。以上数据与文献^[21]报道的 penduleti 数据一致。

化合物 8 红棕色粉末; HR-EI-MS: m/z 625.213 9 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{29}H_{37}O_{15}$, 625.212 7); 1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.62 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H- β'''), 7.08 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'''), 6.98 (1H, dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz, H-6'''), 6.80 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5'''), 6.72 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2), 6.70 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.59 (1H, dd, $J = 8.0, 2.1$ Hz, H-6), 6.30 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H- α'''), 5.21 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-1''), 4.94 (1H, t, $J = 9.5$ Hz, H-6'), 4.40 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-1'), 4.07 ~ 3.41 (10H, m, H- α -, 2', 3', 4', 5', 2'', 3'', 4'', 5''), 2.87 ~ 2.77 (2H, m, H- β), 1.11 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, H-6''); ^{13}C NMR (125 MHz, C_5D_5N) δ : 167.6 (C=O), 151.1 (C-4'''), 148.2 (C- β'''), 147.7 (C-3'''), 147.3 (C-3), 146.1 (C-4), 130.9 (C-1), 127.5 (C-1'''), 122.8 (C-6'''), 121.0 (C-6), 118.0 (C-5), 117.3 (C-5'''), 117.0 (C-2), 116.3 (C-2'''), 115.3 (C- α'''), 104.7 (C-1'), 103.6 (C-1''), 81.1 (C-3'), 76.9 (C-4'), 76.4 (C-2'), 74.5 (C-4''), 73.1 (C-2''), 73.1 (C-3''), 71.8 (C- α), 70.8 (C-5'), 70.7 (C-5''), 62.6 (C-6'), 36.6 (C- β), 19.7 (C-6'')。以上数据与文献^[22]报道的毛蕊花糖苷数据一致。

化合物 9 透明油状物; $C_{24}H_{38}O_4$, ESI-MS: m/z 391.8 $[M + H]^+$; 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.70 (2H, dd, $J = 5.7, 3.3$ Hz, H-2, 5), 7.53 (2H, dd, $J = 5.7, 3.3$ Hz, H-3, 4), 4.26 ~ 4.17 (4H, m, 3', 3''), 1.68 (2H, m, H-4', 4''), 1.42 (4H, m, H-5', 5''), 1.37 ~ 1.23 (12H, m, H-6', 6'', 7', 7'', 8', 8''), 0.91 ~ 0.89 (6H, m, H-12', 12''); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 167.9 (C-1', 1''), 132.6 (C-1, 6), 131.0 (C-3, 4), 129.0 (C-2, 5), 68.3 (3', 3''), 38.9 (4', 4''), 30.5 (C-11', 11''), 29.8, 29.1 (C-9, 9'), 23.9 (C-5', 5''), 23.1 (C-6', 6''), 14.2 (C-10', 10''), 11.1 (12', 12'')。以上数据与文献^[23]报道的邻苯二甲酸-二-(2-乙基己基)酯数据基本一致。

化合物 10 透明油状物; HR-EI-MS: m/z 279.159 0 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{16}H_{23}O_4$, 279.159 1); 1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.75 (2H, dd, $J = 5.7, 3.3$ Hz, H-3, 6), 7.64 (2H, dd, $J = 5.7, 3.3$ Hz, H-4, 5), 4.32 (4H, t, $J = 6.6$ Hz, H-8, 8'), 1.75 (4H, m, H-9, 9'), 1.53 ~ 1.44 (4H, m, H-10, 10'), 1.01 (6H, t, $J = 7.4$ Hz, H-11, 11'); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 169.3 (C-7, 7'), 133.6 (C-1, 2), 132.4 (C-4, 5), 129.9 (C-3, 6), 66.7 (C-8, 8'), 31.7 (C-9, 9'), 20.3 (C-10, 10'), 14.0 (C-11, 11')。以上数据与文献^[24]报道的邻苯二甲酸二丁酯的数据一致。

2.2 抗炎活性结果

所述单体化合物的抗炎活性测定结果显示, 化合物 **1**、**2**、**4**、**10** 具有一定的抑制 NO 生成作用, 其 IC_{50} 值分别为 25.2、34.6、109.6、104.8 $\mu\text{mol/L}$ 。其中, 两个松香烷型二萜(化合物 **1**、**2**) 较其他化合物有着更好的活性效果, 而化合物 **5**、**8**、**9** 均未表现出显著的抑制 NO 生成作用。

3 结论

本实验从长叶紫珠中分离并鉴定出 10 个化合物, 包括二萜类化合物、三萜类化合物、黄酮类化合物、苯乙醇苷类化合物、芳香族化合物。10 个化合物均为首次从长叶紫珠中分离得到。抗炎活性实验结果表明, 部分化合物具有一定的抗炎活性, 这提示我们长叶紫珠具有较大的被开发利用的潜能。通过对长叶紫珠的化学成分及抗炎活性进行研究, 为明晰长叶紫珠的化学成分构成及药效物质基础提供了依据, 同时也为长叶紫珠的开发利用提供一定参考依据。

参考文献

- 1 Editorial board of flora of China, Chinese Academy of Sciences. Flora Reipublicae Popularis Sinicae (中国植物志) [M]. Beijing: Sci Press, 1982, 65(1): 42.
- 2 Lin YC, Lin JJ, Chen SR, et al. Clerodane diterpenoids from *Callicarpa hypoleucophylla* and their anti-inflammatory activity[J]. Molecules, 2020, 25(10): 2288.
- 3 Hong YL. Preparation technology and quality standard of Fuyankang effervescent tablets and studies on the chemical constituents of *Callicarpa kwangtungensis* [D]. Beijing: Bei-

- jing University of Chinese Medicine (北京中医药大学), 2004.
- 4 Liang JJ, Xu K, Li LF, et al. Study of total flavonoids of *Callicarpa nudiflora* on anti-inflammatory and hemostasis effects [J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med (现代中西医结合杂志), 2009, 18: 3161-3162.
- 5 Kim SM, Ryu HW, Kwon OK, et al. *Callicarpa japonica* Thunb. ameliorates allergic airway inflammation by suppressing NF- κ B activation and upregulating HO-1 expression [J]. J Ethnopharmacol, 2021, 267: 113523.
- 6 Sun J, Chen L, Jiang P, et al. Phenylethanoid glycosides of *Callicarpa kwangtungensis* Chun exert cardioprotective effect by weakening $Na^+ - K^+ - ATPase/ Src/ ERK1/2$ pathway and Inhibiting apoptosis mediated by oxidative stress and inflammation [J]. J Ethnopharmacol, 2020, 258: 112881.
- 7 Yan F, Deng YD, Yang H. Experimental research of hemostatic effect of different parts of *Callicarpa formosana* [J]. Shanghai J Tradit Chin Med (上海中医药杂志), 2013, 47(7): 93-95.
- 8 Song C. Study on analgesic effect of *Callicarpa formosana* extracts [J]. China Pharm (中国药业), 2012, 21(22): 1-32.
- 9 Ren FZ, Niu GY, Luan XH, et al. Study on the analgesic effect of *Callicarpa bodinieri* Lvel. [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2003, 15: 155-156.
- 10 Lin ZZ, Zhu CC, Zhang CX, et al. Chemical constituents and antioxidant activity of the essential oils from the leaves of *Callicarpa formosana* Rolfe [J]. J Trop Subtrop Bot (热带亚热带植物学报), 2009, 17: 401-405.
- 11 Ning DS, Li DP, Huang S, et al. Determination of total flavonoids, total phenols and antioxidant activity in aqueous extract of seven *Callicarpa* species [J]. Guihaia (广西植物), 2012, 32: 845-848.
- 12 Julfikar AJ, Mithun R, Lalit MN, et al. Antidiabetic activity of hydro-alcoholic stem bark extract of *Callicarpa arborea* Roxb. with antioxidant potential in diabetic rats [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 95(8): 84-94.
- 13 Lee KY, Jeong EJ, Lee HS, et al. Acteoside of *Callicarpa dichotoma* attenuates scopolamine-induced memory impairments [J]. Biol Pharm Bull, 2006, 29(1): 71-74.
- 14 Lin ZZ, Chen DJ, Ning Y, et al. Research on effects of phenylethanoid glycosides of *Callicarpa kochiana* on learning and memory function in multiple models [J]. Pharm Clin Chin Mater Med (中药药理与临床), 2013, 29(1): 72-74.
- 15 Harrison LJ, Asakawa Y. 18-Oxoferruginol from the leaf of

- Torreya nucifera* [J]. Pergamon, 1987, 26: 1211-1212.
- 16 Aikaterini K, Efstathia I, Maria C, et al. ^1H and ^{13}C NMR spectral assignments of abietane diterpenes from *Pinus heldreichii* and *Pinus nigra* subsp. *nigra* [J]. Magn Reson Chem, 2017, 55: 4585-4602.
- 17 Sagar R, Dhoke ND, Shaw AK. A convenient approach towards separation and identification of triterpenes of delta(12) lupane series [J]. Indian J Chem B, 2004, 43: 2446-2451.
- 18 Jang DS, Han AR, Park G, et al. Flavonoids and aromatic compounds from the rhizomes of *Zingiber zerumbet* [J]. Arch Pharm Res, 2004, 27: 386-389.
- 19 Zhao XF, Xu B, Ren J, et al. Chemical constituents from the biological transformation of *Hericium erinaceus* and *Artemisia annua* [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2019, 41: 1875-1879.
- 20 Xiao CQ, Wenger LJ, Zhang XY, et al. Chemical constituents of *Acorus calamus* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2008, 39: 1463-1465.
- 21 Díaz O, Alarcón R, Gutiérrez D, et al. 6-Methoxyflavonoids and other constituents from *Microliaubum polymnioides* (Asteraceae) [J]. Nat Prod Commun, 2015, 10: 1183-1184.
- 22 Ren FZ, He BK, Luan XH. Study on the chemical constituents of *Callicarpa bodinieri* [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2004(01): 17-19.
- 23 Deng Y, He JB, Guan KY, et al. Studies on the chemical constituents of *Cynanchum auriculatum* [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2013, 25: 729-732.
- 24 Qu XY, Gu QQ, Cu CB, et al. Structural identification and antitumor activity of secondary metabolites of marine-derived actinomycete 3295 [J]. Chin J Mar Drugs (中国海洋药物), 2004, 23(6): 14.

忍冬苷通过靶向 EZH2 减轻由自噬介导的 NLRP3 炎症体激活来缓解溃疡性结肠炎

溃疡性结肠炎(UC)是一种常见的胃肠道慢性炎症性疾病。它的特点是复发性和弥漫性粘膜炎症,从直肠开始并连续延伸到结肠的近端部分。流行病学研究表明,UC 的全球发病率和流行率一直在上升。UC 患者不仅有腹痛、血便、直肠出血、乏力等症状,还伴有外周性关节炎、结膜炎、体重减轻等肠外表现,生活质量严重下降。虽然在 UC 的发生和发展中已经得出了由遗传易感性、上皮屏障破坏和肠道菌群失调导致的免疫反应失调和异常炎症信号的结论,但对 UC 的确切病因和发病机制仍知之甚少。据报道,结肠巨噬细胞中 NLRP3 炎症体的异常激活与溃疡性结肠炎密切相关。尽管靶向 NLRP3 炎症体被认为是一种潜在的治疗方法,但通过何种途径来调节肠道炎症的基本机制仍有争议。

来自南京中医药大学药学院的胡立宏教授及其团队重点研究了黄酮类化合物忍冬苷的抗溃疡性结肠炎作用。忍冬苷是抗炎和抗感染药草金银花中最丰富的成分之一,该团队证明忍冬苷能够通过与 zeste 同源物 2 增强子 (EZH2) 组蛋白甲基转移酶结合对肠道炎症发挥治疗作用。EZH2 介导的 H3K27me3 修饰促进了自噬相关蛋白 5 的表达,而自噬相关蛋白 5 又导致了自噬的增强,加速了自溶体介导的 NLRP3 的降解。动态模拟研究表明,EZH2 残基 (His129 和 Arg685) 的突变大大削弱了忍冬苷的保护作用。更重要的是,体内研究证实,忍冬苷可以剂量依赖性地破坏 NLRP3-ASC-pro-caspase-1 复合物的组装并缓解结肠炎,而 EZH2 过表达质粒的给药则会减弱忍冬苷对结肠炎的保护作用。因此,这些发现为进一步考虑将忍冬苷作为一种抗炎表观遗传剂提供了条件,并表明 EZH2/ATG5/NLRP3 轴可能成为预防溃疡性结肠炎以及其他炎症性疾病的一种新通路。相关研究发表在《Acta Pharmaceutica Sinica B》杂志上。

胡乃华编译自: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8463273>

原文标题: Lonicerin targets EZH2 to alleviate ulcerative colitis by autophagy-mediated NLRP3 inflammasome inactivation