

美洲大蠊抗氧化活性成分研究

张涛¹, 司金光¹, 陈佳欢^{1,2}, 张秋博¹, 邹忠梅^{1*}¹中国医学科学院 & 北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193; ²沈阳药科大学, 沈阳 117004

摘要: 对美洲大蠊 (*Periplaneta americana*) 虫体 95% 乙醇提取物的化学成分进行研究。采用硅胶柱色谱, 凝胶柱色谱, 开放 ODS 柱色谱和半制备高效液相色谱等技术进行分离纯化, 通过核磁共振、质谱等方法鉴定化合物的结构。结果从乙酸乙酯部位分离并鉴定 14 个化合物, 分别为: 环(*L*-缬氨酸-*L*-脯氨酸)二肽(**1**)、3,4-二羟基苯乙醇(**2**)、原儿茶酸(**3**)、环(*L*-异亮氨酸-*L*-脯氨酸)二肽(**4**)、环(*L*-苯丙氨酸-*L*-缬氨酸)二肽(**5**)、烟酸(**6**)、马尿酸(**7**)、aspongopyrazine A(**8**)、aspongopusin(**9**)、(2*R*, 3*S*)-2-(3', 4'-dihydroxyphenyl)-3-acetylamino-7-hydroxyethyl-1, 4-benzodioxane(**10**)、(2*R*, 3*S*)-2-(3', 4'-dihydroxyphenyl)-3-acetylamino-7-(*N*-acetyl-2''-aminoethylene)-1, 4-benzodioxane(**11**)、环(亮氨酸-脯氨酸)二肽(**12**)、1, 2-二去氢-*N*-乙酰多巴胺(**13**)、3, 4-二氢-8-羟基-2(1*H*)-喹啉酮(**14**)。其中化合物**1**、**4**~**9**和**10**~**13**为首次从大蠊属昆虫中分离得到, 化合物**10**的波谱数据为首次报道。对已分离的 14 个化合物利用 DPPH 和 ABTS⁺ 自由基清除实验评价化合物的体外抗氧化活性, 结果显示化合物**2**、**3**、**13**具有潜在的抗氧化活性。

关键词: 美洲大蠊; 化学成分; 结构鉴定; 抗氧化活性

中图分类号: R93

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.11.009

Antioxidant Constituents from *Periplaneta americana*ZHANG Tao¹, SI Jin-guang¹, CHEN Jia-huan^{1,2}, ZHANG Qiu-bo¹, ZOU Zhong-mei^{1*}

¹Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union College, Beijing 100193, China; ²Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

Abstract: To study the chemical constituents from 95% ethanol extract of *Periplaneta americana*. The chemical constituents were isolated and purified by silica gel column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography, ODS column chromatography and semi-preparative HPLC. Fourteen compounds were obtained from the ethyl acetate fraction of *P. americana* based on NMR and MS spectroscopic methods. Their structures were identified as cyclo(*L*-Val-*L*-Pro) (**1**), 3,4-dihydroxyphenylethanol (**2**), protocatechuic acid (**3**), cyclo(*L*-Ile-*L*-Pro) (**4**), cyclo(*L*-Phe-*L*-Val) (**5**), nicotinic acid (**6**), hippuric acid (**7**), aspongopyrazine A (**8**), aspongopusin (**9**), (2*R*, 3*S*)-2-(3', 4'-dihydroxyphenyl)-3-acetylamino-7-hydroxyethyl-1, 4-benzodioxane (**10**), (2*R*, 3*S*)-2-(3', 4'-dihydroxyphenyl)-3-acetylamino-7-(*N*-acetyl-2''-aminoethylene)-1, 4-benzodioxane (**11**), cyclo(*L*-Leu-*L*-Pro) (**12**), 1, 2-dehydro-*N*-acetyldopamine (**13**) and 3, 4-dihydro-8-hydroxy-2(1*H*)-quinolinone (**14**). Among them, compounds **1**, **4**~**9** and **10**~**13** were isolated from the genus for the first time. The spectral data of compound **10** were reported for the first time. All compounds were evaluated for antioxidant activity. Compounds **2**, **3** and **13** showed potential antioxidant activity by DPPH and ABTS⁺ radical scavenging methods.

Key words: *Periplaneta americana*; chemical constituents; structural elucidation; antioxidant activity

美洲大蠊 (*Periplaneta americana* L.) 为节肢动物门昆虫纲蜚蠊目蜚蠊科 (Blattidae) 大蠊属 (*Periplaneta*) 昆虫, 俗称蟑螂。美洲大蠊是传统的中药材, 始载于《神农本草经》, 称蜚蠊, 列为中品, 治疗

血痰症、寒热、破积聚、喉咽痹, 内寒无子^[1]。美洲大蠊的现代药理学研究显示其具有广泛的药理活性, 如: 抗肿瘤、保肝、促进组织修复、增强机体免疫力、抗菌抗病毒和抗氧化作用^[2]等。近年来, 美洲大蠊的开发应用也取得了一定的成果, 相继有以美洲大蠊为原料的中药制剂, 如: 用于修复皮肤损伤、消化道溃疡、口腔溃疡、促进瘢痕愈合的康复新液^[3]; 用于辅助治疗慢性充血性心力衰竭的心脉隆

收稿日期: 2017-08-09

接受日期: 2017-09-12

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程 (2016-I2M-3-015)

* 通信作者 Tel: 86-10-57833281; E-mail: zmozou@implad.ac.cn

注射液^[4]和用于治疗慢性乙型肝炎的肝龙胶囊^[5]等应用于临床,并取得良好的效果。为全面了解美洲大蠊的化学成分,我们对其95%乙醇提取物的化学成分进行了研究,从其乙酸乙酯部位分离得到14个化合物,分别鉴定为:环(*L*-缬氨酸-*L*-脯氨酸)二肽(**1**)、3,4-二羟基苯乙醇(**2**)、原儿茶酸(**3**)、环(*L*-异亮氨酸-*L*-脯氨酸)二肽(**4**)、环(*L*-苯丙氨酸-*L*-缬氨酸)二肽(**5**)、烟酸(**6**)、马尿酸(**7**)、aspongopyrazine A(**8**)、aspongopousin(**9**)、(2*R*,3*S*)-2-(3',4'-dihydroxyphenyl)-3-acetylamino-7-hydroxyethyl-1,4-benzodioxane(**10**)、(2*R*,3*S*)-2-(3',4'-dihydroxyphenyl)-3-acetylamino-7-(*N*-acetyl-2''-aminoethylene)-1,4-benzodioxane(**11**)、环(亮氨酸-脯氨酸)二肽(**12**)、1,2-二去氢-*N*-乙酰多巴胺(**13**)、3,4-二氢-8-羟基-2(1*H*)-喹啉酮(**14**)。其中化合物**1**、**4**~**9**和**10**~**13**为首次从大蠊属昆虫中分离得到,化合物**10**的波谱数据为首次报道。另据研究发现,包括免疫性疾病、癌症等在内的大约两百种疾病的产生与氧自由基密切相关^[6],为此,我们运用DPPH和ABTS⁺自由基清除实验对从美洲大蠊中分离的14个化合物进行体外抗氧化活性评价,结果显示化合物**2**、**3**、**13**具有潜在的抗氧化活性。

1 仪器、试剂与材料

X6型显微熔点测定仪(北京泰克仪器有限公司,中国),LTQ Orbitrap XL spectrometer 质谱仪(Thermo,美国),Waters Synapt G2 HD MS(Waters,美国),Bruker AVANCE III500型核磁共振仪(Bruker,瑞士),EYELA N-1100型旋转蒸发仪(Tokyo Rikakai,日本),真空隔膜泵(ILMVAC,德国),SHB-B型循环水式真空泵(郑州长城科工贸有限公司,中国),JY02S型紫外分析仪(北京君意设备有限公司,中国),分液器(天津科诺仪器设备有限公司,中国),KQ5200B型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,中国),Waters 2535型 semi-Prep HPLC(配置2489型UV检测器)(Waters,美国),Multiskan MK3酶标仪(Thermo,美国),YMC-Pack ODS-A色谱柱(5 μm,10 × 250 mm,YMC,日本)。薄层色谱硅胶(GF₂₅₄)和柱色谱硅胶(60~100目,100~200目,200~300目,300~400目)均为青岛海洋化工有限公司产品;Sephadex LH-20(GE Healthcare,瑞典);ODS-A-HG(12, nm s ~ 50, μm YMC,日本);DPPH(Sigma-Aldrich,美国),ABTS(Sigma-Aldrich,美国),

K₂S₂O₈(国药集团化学试剂有限公司,中国),所有试剂均为分析纯(北京化工厂,中国)。

原药材:美洲大蠊于2015年1月购自云南腾药制药股份有限公司GAP基地,经云南腾药制药股份有限公司研发总监邵维在工程师鉴定为节肢动物门昆虫纲蜚蠊目蜚蠊科大蠊属昆虫的全虫。标本(No. 20150113)现存于中国医学科学院药用植物研究所国家中药化合物库。

2 提取与分离

美洲大蠊粗粉15 kg,用6倍量的95%乙醇加热回流提取3次,每次2 h,合并提取液,减压浓缩得粗提物900 g。粗提物用蒸馏水5 L分散,等体积依次加入石油醚、乙酸乙酯进行萃取,各萃取三次,得石油醚部位(32 g)、乙酸乙酯部位(75 g)和水部位。取乙酸乙酯部位70 g进行硅胶柱色谱分离,以石油醚-丙酮(100:0→0:100)梯度洗脱,得96个流份,根据薄层色谱(TLC)检测合并得到8个组分(Fr. A~H)。

Fr. E(9.0 g)经硅胶柱色谱以二氯甲烷-甲醇(100:1→5:1)梯度洗脱,收集到41个流份,经TLC分析合并为5个组分(Fr. E₁~E₅),Fr. E₃(4.0 g)经Sephadex LH-20凝胶柱色谱以甲醇洗脱,经TLC分析合并为5个组分(E_{3a}~E_{3e}),Fr. E_{3d}(1.2 g)经反复重结晶得化合物**3**(1000 mg),Fr. E_{3d}重结晶后母液(200 mg)经硅胶柱色谱以石油醚-乙酸乙酯(4:1→1:1)梯度洗脱,得化合物**1**(19 mg)、化合物**8**(4 mg)、化合物**9**(5 mg);Fr. E_{3c}(240 mg)经硅胶柱色谱以石油醚-乙酸乙酯(4:1→2:1)梯度洗脱,得化合物**2**(31 mg)、化合物**4**(28 mg);Fr. E_{3b}(330 mg)经硅胶柱色谱以石油醚-乙酸乙酯(5:1→2:1)梯度洗脱,得化合物**6**(10 mg)、化合物**7**(20 mg)。Fr. F(12.5 g)经开放的ODS柱色谱,以10%~65%甲醇-水梯度洗脱,共收集流份56份,Fr. F₂₄₋₂₅(154 mg)经反复重结晶,得化合物**5**(10 mg);Fr. F₃₂₋₃₄(84 mg)经 semi-Prep HPLC,以20%乙腈-水等度洗脱,得化合物**11**(24 mg);Fr. F₂₉₋₃₀(176 mg)经 semi-Prep HPLC,以20%乙腈-水等度洗脱,得化合物**10**(30 mg);Fr. F₁₄₋₁₅(73 mg)经 semi-Prep HPLC,以11%乙腈-水等度洗脱,得化合物**13**(39 mg);Fr. F₃₆₋₃₇(97 mg)经 semi-Prep HPLC,以20%~60%甲醇-水梯度洗脱30 min,得化合物**12**(14 mg)、化合物**14**(7 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1 白色簇晶(甲醇);mp. 192 ~ 194 °C, HR-ESI-MS (pos.): m/z 197. 1295 [M + H]⁺ (理论值 197. 1290), 提示化合物分子式为 C₁₀H₁₆N₂O₂。¹H NMR(DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 4. 11 (1H, m, H-2), 2. 34 (1H, m, H-3a), 2. 13 (1H, m, H-3b), 1. 76-1. 88 (3H, m, H-4, 3'), 3. 33-3. 40 (2H, m, H-5), 3. 92 (1H, t, *J* = 1. 9 Hz, H-2'), 1. 01 (3H, d, *J* = 7. 2 Hz, H-4'), 0. 85 (3H, d, *J* = 6. 9 Hz, H-5'), 7. 96 (1H, br s, NH); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ: 170. 3 (C-1), 59. 5 (C-2), 27. 8 (C-3), 22. 1 (C-4), 44. 6 (C-5), 165. 2 (C-1'), 58. 2 (C-2'), 27. 7 (C-3'), 18. 3 (C-4'), 16. 4 (C-5')。以上波谱数据与文献^[7]报道数据基本一致,故鉴定该化合物为环(*L*-缬氨酸-*L*-脯氨酸)二肽。

化合物 2 浅黄色油状物;HR-ESI-MS (pos.): m/z 177. 0524 [M + Na]⁺ (理论值 177. 0528), 提示化合物分子式为 C₈H₁₀O₃。¹H NMR(DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 6. 58 (1H, d, *J* = 2. 0 Hz, H-2), 8. 63 (2H, br s, H-3, 4), 6. 91 (1H, d, *J* = 7. 9 Hz, H-5), 6. 42 (1H, dd, *J* = 7. 9, 2. 0 Hz, H-6), 2. 53 (2H, t, *J* = 7. 3 Hz, H-7), 3. 50 (2H, m, H-8), 4. 54 (1H, t, *J* = 5. 2 Hz, -OH); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ: 130. 2 (C-1), 116. 3 (C-2), 144. 9 (C-3), 143. 3 (C-4), 115. 4 (C-5), 119. 4 (C-6), 38. 6 (C-7), 62. 7 (C-8)。以上波谱数据与文献^[8]报道数据基本一致,故鉴定该化合物为 3,4-二羟基苯乙醇。

化合物 3 黄色针晶(甲醇);mp. 197 ~ 199 °C, HR-ESI-MS (pos.): m/z 177. 0162 [M + Na]⁺ (理论值 177. 0164), 提示化合物分子式为 C₇H₆O₄。¹H NMR(DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 7. 33 (1H, d, *J* = 2. 0 Hz, H-2), 9. 65 (1H, br s, H-3), 9. 28 (1H, br s, H-4), 6. 78 (1H, d, *J* = 8. 2 Hz, H-5), 7. 28 (1H, dd, *J* = 8. 2, 2. 0 Hz, H-6), 12. 29 (1H, br s, H-7); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ: 121. 7 (C-1), 116. 6 (C-2), 144. 9 (C-3), 150. 0 (C-4), 115. 2 (C-5), 121. 9 (C-6), 167. 3 (C-7)。以上波谱数据与文献^[9]报道数据基本一致,故鉴定该化合物为原儿茶酸。

化合物 4 白色粉末;mp. 100 ~ 102 °C, HR-ESI-MS (pos.): m/z 211. 1450 [M + H]⁺ (理论值 211. 1447), 提示化合物分子式为 C₁₁H₁₈N₂O₂。¹H

NMR(CD₃OD, 500 MHz) δ: 4. 11 (1H, m, H-2), 2. 13 (1H, m, H-3), 1. 75-1. 87 (2H, m, H-4), 3. 36-3. 43 (2H, m, H-5), 3. 95 (1H, d, *J* = 2. 0 Hz, H-2'), 2. 02 (1H, m, H-3'), 1. 26-1. 34 (2H, m, H-4'), 0. 83 (3H, t, *J* = 7. 5 Hz, H-5'), 0. 98 (3H, d, *J* = 7. 1 Hz, H-6'), 7. 96 (1H, br s, NH); ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ: 170. 1 (C-1), 59. 2 (C-2), 27. 9 (C-3), 22. 0 (C-4), 44. 9 (C-5), 165. 2 (C-1'), 58. 2 (C-2'), 34. 9 (C-3'), 23. 9 (C-4'), 12. 3 (C-5'), 15. 0 (C-6')。以上波谱数据与文献^[7]报道数据基本一致,故鉴定该化合物为环(*L*-异亮氨酸-*L*-脯氨酸)二肽。

化合物 5 白色粉末;mp. 271 ~ 273 °C。HR-ESI-MS (pos.): m/z 247. 1438 [M + H]⁺ (理论值 247. 1447), 提示化合物分子式为 C₁₄H₁₈N₂O₂。¹H NMR(DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 7. 90 (1H, s, H-1), 4. 21 (1H, m, H-3), 8. 10 (1H, s, H-4), 3. 53 (1H, m, H-6), 1. 69 (1H, m, H-7), 0. 26 (3H, d, *J* = 6. 9 Hz, H-8), 0. 64 (3H, d, *J* = 6. 9 Hz, H-9), 2. 87 (1H, dd, *J* = 13. 5, 5. 0 Hz, H-10a), 3. 14 (1H, dd, *J* = 13. 5, 4. 3 Hz, H-10b), 7. 21 ~ 7. 25 (5H, m, H-12 ~ 16); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ: 166. 4 (C-2), 55. 0 (C-3), 166. 5 (C-5), 59. 1 (C-6), 31. 0 (C-7), 16. 2 (C-8), 18. 2 (C-9), 37. 8 (C-10), 136. 3 (C-11), 130. 3 (C-12, 16), 127. 9 (C-13, 15), 126. 5 (C-14)。以上波谱数据与文献^[10]报道数据基本一致,故鉴定该化合物为环(*L*-苯丙氨酸-*L*-缬氨酸)二肽。

化合物 6 白色结晶(甲醇);mp. 234 ~ 236 °C。HR-ESI-MS (pos.): m/z 124. 0389 [M + H]⁺ (理论值 124. 0399), 提示化合物分子式为 C₆H₅NO₂。¹H NMR(DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 9. 07 (1H, d, *J* = 2. 0 Hz, H-2), 8. 26 (1H, dd, *J* = 7. 9, 2. 0 Hz, H-4), 7. 54 (1H, dd, *J* = 7. 9, 4. 8 Hz, H-5), 8. 79 (1H, dd, *J* = 4. 8, 2. 0 Hz, H-6), 13. 41 (1H, s, -COOH); ¹³C NMR(DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ: 153. 3 (C-2), 126. 6 (C-3), 137. 0 (C-4), 123. 8 (C-5), 150. 2 (C-6), 166. 3 (-COOH)。以上波谱数据与文献^[11]报道数据基本一致,故鉴定该化合物为烟酸。

化合物 7 白色针晶(甲醇);mp. 190 ~ 192 °C。HR-ESI-MS (pos.): m/z 180. 0650 [M + H]⁺ (理论值 180. 0661), 提示化合物分子式为 C₉H₉NO₃。¹H NMR(DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 3. 92 (2H, d, *J* = 5. 9

H_z, H-2), 8.83 (1H, t, $J = 5.9$ Hz, H-3), 7.87 (2H, m, H-6, 10), 7.48 (2H, m, H-7, 9), 7.54 (1H, m, H-8); ¹³C NMR(DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ : 171.4 (C-1), 41.2 (C-2), 166.4 (C-4), 133.8 (C-5), 127.2 (C-6, 10), 128.4 (C-7, 9), 131.4 (C-8)。以上波谱数据与文献^[12]报道数据基本一致,故鉴定该化合物为马尿酸。

化合物 8 白色粉末; mp. 220 ~ 222 °C。HR-ESI-MS (pos.): m/z 203.0825 [M + H]⁺ (理论值 203.0821), 提示化合物分子式为 C₁₁H₁₀N₂O₂。¹H NMR(CD₃OD, 500 MHz) δ : 7.48 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-2), 6.88 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 7.38 (1H, dd, $J = 8.2, 2.2$ Hz, H-6), 8.81 (1H, s, H-8), 8.48 (1H, s, H-1'), 2.55 (3H, s, H-3'); ¹³C NMR(CD₃OD, 125 MHz) δ : 129.2 (C-1), 114.7 (C-2), 147.0 (C-3), 148.6 (C-4), 116.7 (C-5), 119.8 (C-6), 151.9 (C-7), 141.1 (C-8), 144.9 (C-1'), 151.7 (C-2'), 20.7 (C-3')。以上波谱数据与文献^[13]报道数据基本一致,故鉴定该化合物为 aspongopyrazine A。

化合物 9 白色粉末; mp. 192 ~ 194 °C。HR-ESI-MS (pos.): m/z 192.0660 [M + H]⁺ (理论值 192.0661), 提示化合物分子式为 C₁₀H₉NO₃。¹H NMR(CD₃OD, 500 MHz) δ : 7.09 (1H, s, H-4), 2.49 (3H, s, H-6), 7.06 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 6.81 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-11), 7.01 (1H, dd, $J = 8.1, 2.1$ Hz, H-12); ¹³C NMR(CD₃OD, 125 MHz) δ : 153.5 (C-2), 120.0 (C-4), 162.0 (C-5), 13.5 (C-6), 121.1 (C-7), 112.3 (C-8), 146.8 (C-9), 147.3 (C-10), 116.7 (C-11), 117.2 (C-12)。以上波谱数据与文献^[14]报道数据基本一致,故鉴定该化合物为 aspongopusin。

化合物 10 黄色油状物; 254 nm 下有暗斑吸收, 10% 浓硫酸乙醇溶液加热后显红色(105 °C)。HR-ESI-MS (pos.): m/z 368.1110 [M + Na]⁺ (理论值 368.1110), 提示化合物分子式为 C₁₈H₁₉NO₆。¹H NMR(DMSO-*d*₆, 500 MHz) 中芳香区 δ _H: 6.79 (3H, m), 6.70 (3H, m) 提示可能有两个 ABX 耦合系统的苯环, 9.02 (2H, br s) 为两个羟基氢信号, 且所处化学环境相同, 4.71 (1H, d, $J = 7.4$ Hz) 与 5.55 (1H, dd, $J = 9.7, 7.4$ Hz) 相互耦合, 为两个连氧次甲基信号, 低场区活泼氢 8.88 (1H, d, $J = 9.7$ Hz) 与 5.55 (1H, dd, $J = 9.7, 7.4$ Hz) 相耦合, 结

合分子量提示该活泼氢可能与氮相连, 2.62 (2H, t, $J = 7.1$ Hz) 与 3.55 (2H, m) 为亚甲基氢信号, 4.58 (1H, br s) 为醇羟基氢信号, 提示可能含有 CH₂CH₂OH 片段; ¹³C NMR(DMSO-*d*₆, 125 MHz) 显示 18 个碳信号, δ _C: 169.4 为羰基碳信号, 114.8-145.8 显示 12 个苯环碳信号, 76.5, 76.2, 为 2 个连氧次甲基碳信号, 62.2 为连氧亚甲基碳信号, 38.2 为亚甲基碳信号, 与上述氢信号对应, 确定有 CH₂CH₂OH 片段; 分析化合物的 HSQC、HMBC 谱确定 CH₂CH₂OH 连接在 7 位, 综合以上核磁与质谱数据, 结合文献^[15]确定该化合物为 (2*R*, 3*S*)-2-(3', 4'-dihydroxyphenyl)-3-acetylamino-7-hydroxyethyl-1, 4-benzodioxane。化合物的 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据如下。

¹H NMR(DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 4.71 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-2), 5.55 (1H, dd, $J = 9.7, 7.4$ Hz, H-3), 6.79 (3H, m, H-5, 8, 2'), 6.70 (3H, m, H-6, 5', 6'), 9.02 (2H, br s, H-3', 4'), 2.62 (2H, t, $J = 7.1$ Hz, H-1''), 3.55 (2H, m, H-2''), 4.58 (1H, br s, -OH), 8.88 (1H, d, $J = 9.7$ Hz, H-1'''), 1.76 (3H, s, H-3'''); ¹³C NMR(DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ : 76.5 (C-2), 76.2 (C-3), 140.3 (C-4a), 116.3 (C-5), 122.1 (C-6), 132.8 (C-7), 117.0 (C-8), 142.4 (C-8a), 126.9 (C-1'), 114.8 (C-2'), 145.7 (C-3'), 145.1 (C-4'), 115.3 (C-5'), 119.0 (C-6'), 38.2 (C-1''), 62.2 (C-2''), 169.4 (C-2'''), 22.6 (C-3''')。

化合物 11 浅黄色粉末; mp. 173 ~ 175 °C。HR-ESI-MS (pos.): m/z 385.1400 [M + H]⁺ (理论值 385.1400), 提示化合物分子式为 C₂₀H₂₀N₂O₆。¹H NMR(DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 4.75 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-2), 5.58 (1H, dd, $J = 9.6, 7.2$ Hz, H-3), 6.80 (2H, m, H-5, 2'), 6.88 (2H, m, H-6, 6'), 6.71 (2H, m, H-8, 5'), 9.02 (1H, br s, H-3', 4'), 6.03 (1H, d, $J = 14.7$ Hz, H-1''), 7.23 (1H, dd, $J = 14.7, 9.8$ Hz, H-2''), 10.06 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, H-3''), 1.77 (3H, s, H-5''), 8.90 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-1'''), 1.94 (3H, s, H-3'''); ¹³C NMR(DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ : 76.6 (C-2), 76.2 (C-3), 140.7 (C-4a), 110.5 (C-5), 122.6 (C-6), 130.4 (C-7), 115.2 (C-8), 142.9 (C-8a), 126.8 (C-1'), 113.2 (C-2'), 145.0 (C-3'), 145.7 (C-4'), 117.0 (C-5'), 118.4 (C-6'), 114.8 (C-1''), 119.0 (C-2''),

169.0 (C-4''), 22.6 (C-5''), 167.1 (C-2'''), 22.7 (C-3'''). 以上数据与文献^[15]报道数据基本一致,故鉴定该化合物为(2*R*,3*S*)-2-(3',4'-dihydroxyphenyl)-3-acetylamino-7-(*N*-acetyl-2''-aminoethylene)-1,4-benzodioxane。

化合物 12 白色砂晶(甲醇); mp. 165 ~ 166 °C。HR-ESI-MS (pos.): m/z 211.1451 [M + H]⁺ (理论值 211.1447), 提示化合物分子式为 C₁₁H₁₈N₂O₂。¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ : 4.19 (1H, t, J = 8.1 Hz, H-2), 1.73 ~ 1.98 (5H, m, H-3a, 4, 9), 2.10 (1H, m, H-3b), 3.32-3.40 (2H, m, H-5), 4.00 (1H, t, J = 6.3 Hz, H-8), 1.35 (1H, m, H-10), 0.87 (3H, d, J = 5.4 Hz, H-11), 0.86 (3H, d, J = 4.6 Hz, H-12), 7.95 (1H, br s, NH); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ : 170.3 (C-1), 58.5 (C-2), 27.4 (C-3), 22.8 (C-4), 44.9 (C-5), 166.5 (C-7), 52.6 (C-8), 37.8 (C-9), 24.1 (C-10), 22.5 (C-11), 21.9 (C-12)。以上波谱数据与文献^[16]报道数据基本一致,故鉴定该化合物为环(亮氨酸-脯氨酸)二肽。

化合物 13 无色油状物; HR-ESI-MS (pos.): m/z 216.0659 [M + Na]⁺ (理论值 216.0637), 提示化合物分子式为 C₁₀H₁₁NO₃。¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 7.10 (1H, dd, J = 14.7, 9.8 Hz, H-1), 5.94 (1H, d, J = 14.7 Hz, H-2), 6.71 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-4), 8.83 (2H, br s, H-5, 6), 6.63 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-7), 6.55 (1H, dd, J = 8.1, 2.0 Hz, H-8), 9.97 (1H, d, J = 9.8 Hz, H-1'), 1.93 (3H, s, H-3'); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ : 120.9 (C-1), 111.8 (C-2), 127.9 (C-3), 111.4 (C-4), 144.2 (C-5), 145.4 (C-6), 115.8 (C-7), 116.9 (C-8), 166.9 (C-2'), 22.7 (C-3')。以上波谱数据与文献^[17]报道数据基本一致,故鉴定该化合物为1,2-二去氢-*N*-乙酰多巴胺。

化合物 14 黄色粉末; mp. 178 ~ 179 °C。HR-ESI-MS (pos.): m/z 164.0714 [M + H]⁺ (理论值 164.0712), 提示化合物分子式为 C₉H₉NO₂。¹H

NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ : 2.57 (2H, m, H-3), 2.93 (2H, t, J = 8.5 Hz, H-4), 6.66-6.70 (2H, m, H-5, 7), 6.82 (1H, t, J = 7.8 Hz, H-6); ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ : 173.4 (C-2), 31.7 (C-3), 26.2 (C-4), 126.1 (C-4a), 119.6 (C-5), 124.3 (C-6), 114.4 (C-7), 145.4 (C-8), 126.4 (C-8a)。以上波谱数据与文献^[18]报道数据基本一致,故鉴定该化合物为3,4-二氢-8-羟基-2(1H)-喹啉酮。

4 抗氧化活性测定

4.1 抗氧化活性方法

4.1.1 DPPH 方法

按照文献^[19],在 517 nm 处测定样品及阳性对照的吸光度。每份样品平行操作 3 次,取平均值。计算清除率及半数抑制率 IC₅₀ 值。

$$\text{清除率 } I(\%) = \left(1 - \frac{A_1}{A_0}\right) \times 100\%$$

式中, A₁: 实验组吸光度值; A₀: 空白组吸光度值。

4.1.2 ABTS 方法

按照文献^[20],在 734 nm 处测定样品及阳性对照的吸光度。每份样品平行操作 3 次,取平均值。计算清除率及半数抑制率 IC₅₀ 值。

$$\text{清除率 } I(\%) = \left(1 - \frac{A_1}{A_0}\right) \times 100\%$$

式中, A₁: 实验组吸光度值; A₀: 空白组吸光度值。

4.2 抗氧化活性结果与分析

对分离得到的化合物进行 DPPH 自由基清除实验,结果显示化合物 **2**、**3**、**9**、**10**、**11**、**13** 清除 DPPH 自由基的能力与 Vc 相当,其清除 DPPH 自由基的 IC₅₀ 值如表 1 所示;对分离得到的化合物进行 ABTS⁺ 自由基清除实验,结果显示化合物 **2**、**3**、**8**、**9**、**10**、**11**、**13**、**14** 具有显著的清除 ABTS⁺ 自由基的能力,其清除 ABTS⁺ 自由基的 IC₅₀ 值如表 1 所示。通过上述自由基清除实验发现化合物 **2**、**3**、**13** 具有显著的抗氧化活性,其抗氧化活性可能与其结构中的酚羟基有关。

表 1 待测化合物清除 DPPH 自由基和 ABTS⁺ 自由基的 IC₅₀ 值

Table 1 IC₅₀ values of DPPH and ABTS⁺ radical scavenging of the isolated compounds

化合物 Compound	DPPH IC ₅₀ (μg/mL) ^a	ABTS ⁺ IC ₅₀ (μg/mL) ^a
1	33.53 ± 3.52	89.17 ± 5.76
2	4.23 ± 0.45	20.56 ± 1.73

续表 1 (Continued Tab. 1)

化合物 Compound	DPPH IC ₅₀ (μg/mL) ^a	ABTS ⁺ IC ₅₀ (μg/mL) ^a
3	7.25 ± 0.53	14.69 ± 1.07
4	>100 ^b	>100 ^b
5	>100 ^b	>100 ^b
6	>100 ^b	>100 ^b
7	>100 ^b	>100 ^b
8	26.54 ± 2.21	28.46 ± 2.54
9	6.13 ± 0.47	32.53 ± 2.83
10	3.70 ± 0.31	32.41 ± 2.75
11	5.17 ± 0.63	45.78 ± 3.24
12	>100 ^b	98.71 ± 5.33
13	2.75 ± 0.31	14.89 ± 1.32
14	70.77 ± 6.57	18.83 ± 1.43
Vc	6.86 ± 0.63	13.91 ± 1.13

^a Data were represented as mean ± SD. ^b The IC₅₀ value of sample was higher than 100 μg/mL.

参考文献

- Shennong Bencao Jing (神农本草经). Beijing: The Commercial Press (商务出版社), 1955. 90-91.
- Yu SS (于珊珊), Zhang H (张华), Zhang TT (张婷婷), et al. Research advances in pharmacological action and clinical application of *Periplaneta americana*. *J Liaoning Univ TCM* (辽宁中医药大学学报), 2016, 18: 228-231.
- Tang YL (汤雁利), Li G (李罡), Li QY (李启艳). Research advances in pharmacological action of Kangfuxin. *Northwest Pharm J* (西北药学杂志), 2014, 29: 103-106.
- Hu CJ (胡长军). Research advances of Xinmailong Injection. *Chin Med J Res Prac* (现代中药研究与实践), 2013, 27(4): 84-85.
- Na KG (那凯歌), Man HX (满红霞), Tan QY (谭巧云), et al. Study on fingerprints of Ganlong Capsule by HPLC method. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2016, 27: 1102-1104.
- Beckman KB, Ames BN. The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev*, 1998, 78: 547-581.
- Fu YD (付银丹), Li ZL (李振麟), Pu SB (濮社班), et al. Chemical constituents from *Scolopendra multidens* (I). *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2013, 44: 1726-1729.
- Li CY (李晨阳), Gao H (高昊), Jiao HW (焦华伟), et al. Isolation and identification of anthraquinones in the root bark of *Morinda officinalis*. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2011, 28(1): 30-37.
- Chen P (陈屏), Yang JS (杨峻山). Chemical constituents of the seeds of *Livistona chinensis*. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2008, 43: 1669-1670.
- Stark T. and Hofmann T. Structures, sensory activity, and dose/response functions of 2,5-diketopiperazines in Roasted Cocoa Nibs (*Theobroma cacao*). *J Agric Food Chem*, 2005, 53: 7222-7231.
- Fei YH (费永和), Chen Z (陈重), Li XR (李笑然), et al. Chemical constituents from seeds of *Helianthus annuus*. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2014, 45: 631-634.
- Li S, Zhu W, Gao F, et al. Palladium-catalyzed ortho-alkoxylation of *N*-benzoyl *α*-amino acid derivatives at room temperature. *J Org Chem*, 2017, 82: 126-134.
- Di L, Shi YN, Yan YM, et al. Nonpeptide small molecules from the insect *Aspongopus chinensis* and their neural stem cell proliferation stimulating properties. *RSC Adv*, 2015, 5: 70985-70991.
- Luo XH, Wang XZ, Jiang HL, et al. The biosynthetic products of Chinese insect medicine, *Aspongopus chinensis*. *Fitoterapia*, 2012, 83: 754-758.
- Xu MZ, Lee WS, Han JM, et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of *N*-acetyldopamine dimers from *Periostracum cicadae*. *Bioorgan Med Chem*, 2006, 14: 7826-7834.
- Xie LR (谢磊睿), Li DY (李丹毅), Wang PL (王培乐), et al. A new 3,4-seco-lanostane triterpenoid from a marine-derived fungus *Ascotricha* sp. ZJ-M-5. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2013, 48(1): 89-93.
- Abebe AT. Biochemistry of 1,2-dehydro-*N*-acetyl-dopamine derivatives. Boston: University of Massachusetts-Boston, PhD. 2013.
- Jiang WX (蒋文贤), Luo SL (罗世林), Wang Y (王英), et al. Chemical constituents from *Periplaneta americana*. *J Jinnan Univ, Nat Sci Med* (暨南大学学报, 自然科学与医学版), 2015, 36: 294-301.

(下转第 1881 页)