

羊角天麻化学成分及 β -羟高铁血红素形成抑制活性研究

沈怡, 陈浩, 崔淑君, 肖朝江, 董相, 姜北*

大理大学药物研究所 大理大学药学与化学学院, 大理 671000

摘要:为探究羊角天麻(*Dobinea delavayi*)的 β -羟高铁血红素形成抑制活性成分,本实验采用硅胶、Sephadex LH-20柱色谱等方法进行化合物的纯化分离,通过理化性质及波谱数据鉴定化合物结构。结果从羊角天麻中分离得到12个化合物,分别鉴定为3,4,2',4'-四羟基二氢查尔酮(1)、紫柳花素(2)、3,4,2',4', α -五羟基查尔酮(3)、金色草素(4)、芒果苷(5)、没食子酸(6)、二十四亚甲基环阿尔廷醇(7)、6 β -羟基-豆甾-4-烯-3-酮(8)、 β -谷甾醇(9)、胡萝卜苷(10)、棕榈酸甲酯(11)、1-棕榈酸单甘油酯(12),其中化合物1~4、6~8均为首次九子母属植物中分离得到。活性研究结果显示,化合物1~6均具有 β -羟高铁血红素形成抑制活性,其中黄酮类化合物2~4具有较强的抑制活性,其 IC_{50} 分别为120.3、61.5、56.0 $\mu\text{g/mL}$ 。

关键词:羊角天麻;化学成分; β -羟高铁血红素形成抑制活性

中图分类号:R2841;R961

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2019)6-1017-06

DOI:10.16333/j.1001-6880.2019.6.015

Chemical constituents of *Dobinea delavayi* and their β -hematin formation inhibition activity

SHEN Yi, CHEN Hao, CUI Shu-jun, XIAO Chao-jiang, DONG Xiang, JIANG Bei*

Institute of Materia Medica & College of Pharmacy and Chemistry, Dali University, Dali 671000, China

Abstract: To study the inhibitory active constituents from *Dobinea delavayi* against β -hematin formation. The compounds were isolated by silica gel and sephadex LH-20 column chromatography, and their structures were identified by the analyses of their physicochemical properties and NMR data. Twelve compounds were isolated and identified as 3,4,2',4'-tetrahydroxydihydrochalcone (1), butin (2), 3,4,2',4', α -pentahydroxychalcone (3), aureusidin (4), mangiferin (5), gallic acid (6), 24-methylene-cycloartanol (7), 6 β -hydroxystigmast-4-en-3-one (8), β -sitosterol (9), daucosterol (10), methyl hexadecanoate (11), and glyceroylmonopalmitate (12). Compounds 1-4 and 6-8 were isolated from the *Dobinea* for the first time. According to the bioassay experiment, compounds 1-6 showed β -hematin formation inhibition activities in different degrees, and the flavonoids compounds 2-4 revealed significant β -hematin formation inhibition activities with IC_{50} of 120.3, 61.5 and 56.0 $\mu\text{g/mL}$, respectively.

Key words: *Dobinea delavayi*; chemical constituents; β -hematin formation inhibitory activity

羊角天麻(*Dobinea delavayi*)为漆树科(Anacardiaceae)(或九子母科Podoaceae)九子母属(*Dobinea*)植物,多年生亚灌木状草本,根状茎粗大,因炮制后形如羊角而得名;产云南(中部至西北部)、四川(西南部);生于海拔1100~2300米的向阳草坡或灌丛中^[1]。民间用于肺热咳嗽、跌打损伤、骨折以及治疗腮腺炎、乳腺炎、疮疖、头晕、风湿

等,有消炎止痛、舒筋活络之效^[1,2]。

目前,仅有少量羊角天麻化学成分方面的研究报道^[3-5],从中分离得到了一系列单体成分,包括萜类、甾体、脂肪酸及甘油酯类成分。在本研究组前期开展滇西药用植物活性筛选研究中,发现羊角天麻提取物具有较好的 β -羟高铁血红素形成抑制活性(IC_{50} 为 $239.6 \pm 20.7 \mu\text{g/mL}$)。为进一步明确该植物相关活性成分,本实验对采自云南大理的羊角天麻进行了深入的化学成分研究,分离得到了12个化合物,分别鉴定为3,4,2',4'-四羟基二氢查尔酮(1)、紫柳花素(2)、3,4,2',4', α -五羟基查尔酮

收稿日期:2018-08-15 接受日期:2018-12-18

基金项目:国家自然科学基金(81460532)

*通信作者 Tel: 86-872-2257259; E-mail: jiangbei@dali.edu.cn

(3)、金色草素(4)、芒果苷(5)、没食子酸(6)、二十四亚甲基环阿尔廷醇(7)、豆甾-4-烯-6 β -羟基-3-酮(8)、 β -谷甾醇(9)、胡萝卜苷(10)、棕榈酸甲酯(11)、1-棕榈酸单甘油酯(12),其中化合物1~4、6~8均为首次九子母属植物中分离得到,明确了羊角天麻中查尔酮类成分的存在。活性检测结果显示,化合物1~6均具 β -羟高铁血红素形成抑制活性,其中黄酮类化合物2~4的抑制活性较好,其 IC_{50} 分别为120.3、61.5、56.0 $\mu\text{g/mL}$,应该是该植物 β -羟高铁血红素形成抑制主要活性成分。

1 仪器与材料

Bruker Avance III-400 核磁共振仪(德国布鲁克公司),(TMS为内标);Dionex UltiMate 3000 超高效液相色谱仪及 Bruker Daltonics MS 质谱系统;VARIOSKAN LUX 多功能酶标仪(Thermo fisher scientific);RE-2000A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);MCO-18AIC CO_2 培养箱(日本三洋公司);AL204 电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司)。4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES)、氯喹二磷酸盐(美国 Sigma 公司);氯高铁血红素(Solarbio 公司);氢氧化钠(西陇化工股份有限公司);乙酸钠(国药集团化学试剂有限公司);冰醋酸(广东光华科技股份有限公司);吡啶(上海申博化工有限公司);二甲基亚砜(天津化学试剂有限公司);甲醇、丙酮、氯仿等试剂均为工业级有机溶剂均重蒸后使用;其余试剂均为分析纯。

本实验所用植物样品于2017年7月采自云南省大理苍山西坡,经大理大学药学与化学学院生药教研室张德全博士鉴定为羊角天麻 *Dobinea delavayi* (Baill.) Baill.,植物标本(编号20170730-7)保存于大理大学药物研究所姜北教授课题组。

2 实验方法

2.1 提取与分离

羊角天麻干燥根粉末1.9 kg,80%乙醇冷浸6次,每次24 h,合并冷浸液,减压回收溶剂,浓缩后得总浸膏用适量水分散后,依次用乙酸乙酯、正丁醇进行分配,得相应萃取部位。乙酸乙酯部位(134.5 g)经300~400目硅胶柱色谱分离,氯仿-丙酮混合溶剂洗脱,洗脱梯度为1:0.9:1、8:2、6:4、1:1、0:1,各梯度溶剂用量为:前三段分别为20 L左右,后三段分别为10 L左右,接样量为每次1 L,通过薄层色谱检测,合并得到8个流分 Frs. 1~8。

Fr. 1 经反复硅胶柱色谱、Sephadex LH-20(丙

酮)分离得化合物7(11.5 mg)、11(93 mg);Fr. 2 经硅胶柱色谱分离(石油醚-丙酮30:1 \rightarrow 0:1),并结合重结晶等方法得化合物9(11 mg)、12(35.4 mg);Fr. 3 经硅胶柱色谱(石油醚-丙酮)分离,Fr. 3-4 有晶体析出,经有机溶剂反复洗涤得化合物8(6 mg);Fr. 4 经反复硅胶柱色谱(石油醚-丙酮4:1、石油醚-乙酸乙酯4:1)、Sephadex LH-20(丙酮)分离得化合物1(70 mg);Fr. 4 经反复硅胶柱色谱(石油醚-乙酸乙酯、石油醚-丙酮)方法得化合物2(36 mg)、3(7.8 mg);Fr. 5 经反复硅胶柱色谱(氯仿-丙酮、氯仿-甲醇)、重结晶方法得化合物4(16 mg)、6(6.8 mg);Fr. 6 经硅胶柱色谱(氯仿-甲醇30:1 \rightarrow 5:1) Frs. 6-7 静置后有沉淀析出,经有机溶剂反复洗涤得化合物10(450 mg),Frs. 6-10 静置后有沉淀析出,经有机溶剂反复洗涤得化合物5(17 mg)。

2.2 β -羟高铁血红素形成抑制活性测

β -羟高铁血红素形成抑制活性测试方法参照文献^[6-8],并进行适当改良后按照如下操作进行:精密称取供试样品并配成系列浓度溶液备用;精密称量羟高铁血红素,以氢氧化钠水溶液(浓度为0.1 mol/L)溶解,并定容至100 mL后避光保存备用(羟高铁血红素储备液浓度1.0 mmol/L)。将50 μL 不同浓度的供试样品加入于96孔板中,平行设置3个复孔;设置氯喹为阳性对照,二甲基亚砜为空白对照,随后每孔加入50 μL 羟高铁血红素储备液再加入80 μL 醋酸盐缓冲液(4 mol/L, pH5.0)使之混合。置于50 $^{\circ}\text{C}$ 孵育12 h,取出待室温后,每孔加入100 μL 30% (v/v)的吡啶-HEPES(20 mmol/L, pH7.5)溶液。室温静置10 h后,从每孔中移取50 μL 上清液至另一96孔板中,随后每孔均加入200 μL 吡啶-HEPES(20 mol/L, pH7.5)溶液,并在405 nm波长处测定吸收值。由羟高铁血红素标准曲线得出未反应的羟高铁血红素的浓度,从而计算出供试品对 β -羟高铁血红素形成的半数抑制浓度(以 IC_{50} 表示)。

2.3 统计学分析

采用SPSS17.0软件进行统计学处理。所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析(one-way analysis of variance, one-way ANOVA)进行统计学处理, $P < 0.05$ 表示差异有显著性意义。

3 实验结果

3.1 结构鉴定

化合物1 淡黄色固体(丙酮); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CD_3COCD_3) δ : 12.85 (1H, s, 2'-OH), 7.74

(1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-6'), 6.79 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2), 6.75 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.59 (1H, dd, $J = 8.0, 2.1$ Hz, H-6), 6.42 (1H, dd, $J = 8.9, 2.3$ Hz, H-5'), 6.35 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-3'), 3.18 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H- β), 2.85 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H- α); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3COCD_3) δ : 133.5 (s, C-1), 116.2 (d, C-2), 145.5 (s, C-3), 143.8 (s, C-4), 116.0 (d, C-5), 120.4 (d, C-6), 40.1 (t, C- α), 30.2 (t, C- β), 204.9 (s, C- β'), 113.6 (s, C-1'), 165.4 (s, C-2'), 103.4 (d, C-3'), 165.9 (s, C-4'), 108.8 (d, C-5'), 133.4 (d, C-6')。以上数据与文献^[9]报道基本一致,故鉴定该化合物为3,4,2',4'-四羟基二氢查尔酮。

化合物 2 黄色粉末(丙酮); ^1H NMR (400 MHz, CD_3COCD_3) δ : 13.65 (1H, s, 2'-OH), 8.13 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-6'), 7.77 (1H, d, $J = 15.3$ Hz, H- β), 7.70 (1H, d, $J = 15.3$ Hz, H- α), 7.36 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2), 7.23 (1H, dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz, H-6), 6.91 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 6.47 (1H, dd, $J = 8.9, 2.4$ Hz, H-5'), 6.36 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-5'); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3COCD_3) δ : 192.8 (s, -C=O), 118.3 (d, C- α), 145.5 (d, C- β), 128.1 (s, C-1), 116.0 (d, C-2), 146.0 (s, C-3), 149.2 (s, C-4), 116.4 (d, C-5), 123.5 (d, C-6), 114.5 (s, C-1'), 167.6 (s, C-2'), 103.7 (d, C-3'), 165.5 (s, C-4'), 108.7 (d, C-5'), 133.3 (d, C-6')。以上数据与文献^[10]报道基本一致,故鉴定该化合物为紫柳花素(3,4,2',4'-四羟基查尔酮)。

化合物 3 黄色针晶(丙酮); ^1H NMR (400 MHz, CD_3COCD_3) δ : 7.61 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6'), 7.57 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2), 7.34 (1H, dd, $J = 8.3, 2.1$ Hz, H-6), 6.94 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5), 6.81 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-3'), 6.78 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz, H-5'), 6.64 (1H, s, H- β); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3COCD_3) δ : 125.4 (s, C-1), 118.6 (d, C-2), 146.2 (s, C-3), 148.3 (s, C-4), 116.5 (d, C-5), 125.7 (d, C-6), 147.2 (s, C- α), 112.4 (d, C- β), 182.5 (s, C- β'), 115.0 (s, C-1'), 168.9 (s, C-2'), 99.4 (d, C-3'), 166.6 (s, C-4'), 113.5 (d, C-5'), 126.5 (d, C-6')。以上数据与文献^[11]报道基本一致,故鉴定该化合物为3,4,2',4', α -五羟基查尔酮。

化合物 4 黄色粉末(丙酮); ^1H NMR (400

MHz, CD_3COCD_3) δ : 7.47 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 7.18 (1H, dd, $J = 8.3, 2.1$ Hz, H-6'), 6.82 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5'), 6.56 (1H, s, H-10), 6.20 (1H, d, $J = 1.4$ Hz, H-7), 6.02 (1H, d, $J = 1.4$ Hz, H-5); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3COCD_3) δ : 147.8 (s, C-2), 182.8 (s, C-3), 159.9 (s, C-4), 98.5 (d, C-5), 169.4 (s, C-6), 91.6 (d, C-7), 169.5 (s, C-8), 104.7 (s, C-9), 112.8 (d, C-10), 125.7 (s, C-1'), 118.6 (d, C-2'), 146.6 (s, C-3'), 148.9 (s, C-4'), 116.6 (d, C-5'), 125.9 (d, C-6')。以上数据与文献^[12]报道基本一致,故鉴定该化合物为金色草素(5,7,3',4'-四羟基噢啉)。

化合物 5 黄色粉末(氯仿-甲醇); ^1H NMR (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 8.15 (1H, s, H-8), 7.20 (1H, s, H-5), 6.68 (1H, s, H-4), 5.88 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, H-1'), 5.34 (1H, t, $J = 8.8$ Hz, H-4'), 4.62 (1H, dd, $J = 11.8, 2.5$ Hz, H-6'a), 4.51 (3H, overlap, H-2', 3', 6'b), 4.26 (1H, m, H-5'); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 163.6 (s, C-1), 109.1 (s, C-2), 166.7 (s, C-3), 94.6 (d, C-4), 157.8 (s, C-4a), 152.3 (s, C-4b), 103.7 (d, C-5), 156.3 (s, C-6), 145.8 (s, C-7), 109.6 (d, C-8), 113.4 (s, C-8a), 180.6 (s, C-9), 103.1 (s, C-9a), 75.8 (d, C-1'), 72.4 (d, C-2'), 81.1 (d, C-3'), 72.9 (d, C-4'), 83.4 (d, C-5'), 62.3 (t, C-6')。以上数据与文献^[13]报道基本一致,故鉴定该化合物为芒果苷。

化合物 6 针状结晶(丙酮); ^1H NMR (400 MHz, CD_3COCD_3) δ : 7.14 (2H, s, H-2, 6); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3COCD_3) δ : 122.0 (s, C-1), 110.0 (d, C-2, 6), 146.0 (s, C-3, 5), 138.6 (s, C-4), 167.7 (s, -C=O)。以上数据与文献^[14]报道基本一致,故鉴定该化合物为没食子酸。

化合物 7 无色针晶(丙酮); ^1H NMR (400 MHz, CD_3COCD_3) δ : 4.72 (1H, brs, H-31a), 4.68 (1H, brs, H-31b), 3.21 (1H, dd, $J = 10.9, 5.4$ Hz, H-3), 1.03 (3H d, $J = 2.4$ Hz, H-26), 1.02 (3H, overlap, H-18), 1.01 (3H, overlap, H-21), 0.96 (3H, s, H-30), 0.94 (3H, s, H-28), 0.93 (3H, overlap, H-27), 0.82 (3H, s, H-29), 0.57 (1H, d, $J = 4.2$ Hz, H-19a), 0.38 (1H, d, $J = 4.2$ Hz, H-19b); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3COCD_3) δ : 32.8 (t, C-1), 31.3 (t, C-2), 78.4 (d, C-3), 41.2 (s, C-4), 48.1 (d, C-5), 21.9 (t, C-6), 26.9 (t, C-7), 49.0 (d, C-8), 20.6

(s, C-9), 27.1 (s, C-10), 27.1 (t, C-11), 33.7 (t, C-12), 46.1 (s, C-13), 49.6 (s, C-14), 36.3 (t, C-15), 28.8 (t, C-16), 53.1 (d, C-17), 18.6 (q, C-18), 30.4 (t, C-19), 36.8 (d, C-20), 18.7 (q, C-21), 35.8 (t, C-22), 31.9 (t, C-23), 157.3 (s, C-24), 34.4 (d, C-25), 22.2 (q, C-26), 22.3 (q, C-27), 19.8 (q, C-28), 14.7 (q, C-29), 26.1 (q, C-30), 106.7 (t, C-31)。以上数据与文献^[15]报道基本一致,故鉴定该化合物为24-亚甲基环阿廷醇。

化合物 8 无色针晶(丙酮);¹H NMR (400 MHz, CD₃COCD₃) δ: 5.67 (1H, s, H-4), 4.29 (1H, brs, H-6), 1.39 (3H, s, H-19), 0.97 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, H-26), 0.86 (3H, s, H-29), 0.84 (3H, overlap, H-21), 0.83 (3H, overlap, H-27), 0.78 (3H, s, H-18);¹³C NMR (100 MHz, CD₃COCD₃) δ: 38.1 (t, C-1), 34.7 (t, C-2), 199.5 (s, C-3), 126.5 (d, C-4), 169.4 (s, C-5), 73.2 (s, C-6), 40.0 (t, C-7), 30.7 (d, C-8), 54.8 (d, C-9), 38.8 (s, C-10), 21.8 (t, C-11), 40.6 (t, C-12), 43.3 (s, C-13), 56.8 (d, C-14), 25.0 (t, C-15), 29.0 (t, C-16), 57.0 (d, C-17), 12.3 (q, C-18), 20.2 (q, C-19), 37 (d, C-20), 19.8 (q, C-21), 34.9 (t, C-22), 26.8 (t, C-23), 46.8 (d, C-24), 30.0 (d, C-25), 19.4 (q, C-26), 19.2 (q, C-27), 23.8 (t, C-28), 12.4 (q, C-29)。以上数据与文献^[16]报道基本一致,故鉴定该化合物为豆甾-4-烯-6β-羟基-3-酮。

化合物 9 无色针晶(丙酮);¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 5.34 (1H, brs, H-6), 3.52 (1H, m, H-3α), 1.00 (3H, s, Me-19), 0.92 (3H, d, *J* = 5.7 Hz, Me-21), 0.84, 0.82, 0.81 (各 3H, overlap, Me-26, 27, 29), 0.67 (3H, s, Me-18);¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 37.4 (t, C-1), 31.8 (t, C-2), 71.9 (d, C-3), 42.4 (t, C-4), 140.9 (s, C-5), 121.8 (d, C-6), 32.0 (t, C-7), 32.0 (d, C-8), 50.2 (d, C-9), 36.6 (s, C-10), 21.2 (t, C-11), 39.9 (t, C-12), 42.4 (s, C-13), 56.2 (d, C-14), 24.4 (t, C-15), 28.4 (t, C-16), 56.9 (d, C-17), 12.0 (q, C-18), 19.5 (q, C-19), 36.2 (d, C-20), 18.9 (q, C-21), 34.1 (t, C-22), 26.2 (t, C-23), 46.0 (d, C-24), 29.3 (d, C-25), 20.0 (q, C-26), 19.2 (q, C-27), 23.2 (t, C-28), 12.1 (q, C-29)。以上数据与文献^[17]报道基本一致,故鉴定该化合物为β-谷甾醇。

化合物 10 白色粉末(氯仿-甲醇)。通过在

TLC上用多种溶剂系统展开对比,化合物**10**与胡萝卜苷的对照品斑点颜色及 R_f 值均一致,故鉴定为胡萝卜苷。

化合物 11 白色粉末(石油醚-丙酮);ESI-MS: *m/z* 293 [M + Na]⁺。¹H NMR (400 MHz, CD₃COCD₃) δ: 3.60 (3H, s, -OCH₃), 2.28 (2H, t, *J* = 7.5 Hz, H-2), 1.37 ~ 1.26 (26H, brs, 13 × -CH₂), 0.89 (3H, t, *J* = 6.8 Hz, H-16);¹³C NMR (100 MHz, CD₃COCD₃) δ: 174.3 (s, C-1), 34.8 ~ 23.8 (t, 14 × -CH₂), 14.9 (q, C-16), 51.95 (q, -OCH₃)。以上数据与文献^[18]道基本一致,故鉴定该化合物为棕榈酸甲酯。

化合物 12 白色粉末(石油醚-丙酮);ESI-MS: *m/z* 353 [M + Na]⁺。¹H NMR (400 MHz, C₅D₅N) δ: 4.75 (1H, dd, *J* = 11.0, 4.6 Hz, H-1a), 4.67 (1H dd, *J* = 11.0, 6.4 Hz, H-1b), 4.47 (1H, m, H-2), 4.15 (2H d, *J* = 5.5 Hz, H-3), 2.37 (2H, t, *J* = 7.5 Hz, H-2'), 1.42 ~ 1.10 (26H, brs, 13 × -CH₂), 0.87 (3H, t, *J* = 6.7 Hz, H-16');¹³C NMR (100 MHz, C₅D₅N) δ: 67.2 (t, C-1), 71.3 (d, C-2), 64.7 (t, C-3), 174.2 (s, C-1'), 34.8 (t, C-2'), 32.5 ~ 23.3 (t, 13 × -CH₂), 14.7 (q, C-16')。以上数据与文献^[19]报道基本一致,故鉴定该化合物为1-棕榈酸单甘油酯。

3.2 β-羟高铁血红素形成抑制活性测试结果

对分离得到的部分化合物进行β-羟高铁血红素形成抑制活性实验,结果显示化合物**1~6**均具有β-羟高铁血红素形成抑制活性,其中黄酮类化合物**2~4**具有较好的β-羟高铁血红素形成抑制活性,其IC₅₀分别为:120.3 ± 4.0、61.5 ± 3.4、56.0 ± 3.4 μg/mL,阳性药氯喹二磷酸盐的IC₅₀为36.5 ± 3.6 μg/mL。化合物活性测试结果见表1、表2。

4 讨论

本研究从羊角天麻根中分离鉴定了12个成分,包括6个酚酸类(**1~6**)、4个甾体类(**7~10**)、2个脂肪族类(**11~12**)成分。在文献报道中,该植物以倍半萜、甾体及脂肪酸为主要成分,未见查尔酮与噢啉类成分报道,本研究在该植物中分离得到了3个查尔酮及1个噢啉类化合物,丰富了该植物的化学成分类型,为进一步了解该植物的化学成分提供了依据。

β-羟高铁血红素形成抑制活性测试为近年来发展起来的一种体外抗疟活性检测方法,具有快速简

表1 羊角天麻中单体化合物 β -羟高铁血红素形成抑制活性结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 1 β -Hematin formation inhibitory activity of compounds from *D. delavayi* ($\bar{x} \pm s, n=3$)

供试样品 Sample	不同浓度($\mu\text{g/mL}$)样品的 β -羟高铁血红素形成抑制率(%) Rate(%) of β -Hematin formation inhibitory in screened samples with different concentration ($\mu\text{g/mL}$)					IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
	277.8	55.6	11.1	2.2	0.4	
CD * *	81.2 \pm 0.6	81.9 \pm 2.0	2.2 \pm 0.6	0.1 \pm 0.9	-1.36 \pm 0.2	36.1 \pm 0.85
1	35.6 \pm 4.7	9.8 \pm 0.9	-1.9 \pm 0.8	0.0 \pm 1.6	-1.4 \pm 1.6	>277.8
5	25.7 \pm 0.9	3.8 \pm 1.6	2.5 \pm 0.9	-0.2 \pm 1.9	-0.3 \pm 0.5	>277.8
6	24.7 \pm 1.6	1.0 \pm 1.8	1.2 \pm 1.1	0.8 \pm 2.1	-0.3 \pm 1.3	>277.8
7	3.9 \pm 1.1	3.4 \pm 1.5	-0.6 \pm 1.8	1.6 \pm 1.1	1.4 \pm 2.7	-
9	-2.6 \pm 0.7	1.1 \pm 1.5	0.7 \pm 0.9	-0.6 \pm 1.3	0.4 \pm 2.0	-
10	0.3 \pm 1.6	-0.9 \pm 2.2	-3.3 \pm 0.9	-2.5 \pm 0.6	2.4 \pm 0.4	-
12	-0.6 \pm 2.1	-2.4 \pm 0.7	-1.4 \pm 0.5	-1.6 \pm 1.0	-0.3 \pm 0.3	-

注:与阳性对照组氯喹二磷酸盐比较, * $P < 0.05$. ** CD: 氯喹二磷酸盐。

Note: Compared with the chloroquine diphosphate group, * $P < 0.05$. ** CD: chloroquine diphosphate.

表2 化合物2~4 β -羟高铁血红素形成抑制活性实验结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 2 β -Hematin formation inhibitory activity of compounds 2-4 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

供试样品 Sample	不同浓度($\mu\text{g/mL}$)样品的 β -羟高铁血红素形成抑制率(%) Rate(%) of β -Hematin formation inhibitory in screened samples with different concentration ($\mu\text{g/mL}$)								IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
	142.2	113.8	72.8	58.3	46.6	37.3	29.8	23.8	
CD * *	87.2 \pm 8.3	89.6 \pm 5.3	84.8 \pm 3.1	83.0 \pm 0.8	83.0 \pm 2.8	62.1 \pm 3.4	43.6 \pm 3.2	30.2 \pm 1.4	32.3 \pm 0.5
2	67.7 \pm 11.5	35.9 \pm 3.1	30.2 \pm 1.7	17.0 \pm 3.6	6.1 \pm 1.2	2.4 \pm 0.6	1.7 \pm 0.7	-	120.3 \pm 4.0 *
3	117.5 \pm 3.1	103.6 \pm 8.8	86.5 \pm 9.1	74.1 \pm 9.8	26.9 \pm 8.6	7.4 \pm 0.6	3.6 \pm 0.9	-	61.5 \pm 3.4 *
4	104.3 \pm 3.2	97.5 \pm 2.0	79.8 \pm 3.9	56.7 \pm 5.0	46.4 \pm 3.9	34.8 \pm 6.0	12.8 \pm 1.5	-	56.0 \pm 3.4 *

便的特点。实验中阳性药氯喹二磷酸盐的 β -羟高铁血红素形成抑制率在23.8~46.6 $\mu\text{g/mL}$ 时呈现良好的量效线性关系,之后在提高浓度时因其已达到较高的抑制率,量效关系进入非线性区,致使其抑制率随浓度变化不明显(表2)。本研究结果显示,在测定的10个不同类型的化合物中,化合物1~6均具有一定的活性,其中化合物2~4具有较强的抑制活性,而甾体类及脂肪族类化合物均无活性。构效分析表明:带有酚羟基的化合物具有较好的 β -羟高铁血红素形成抑制活性。近来有研究报道,含有多个酚羟基的黄酮类成分芹菜素具有显著的体内抗疟活性,其体内抑制伯氏疟原虫 *Plasmodium berghei* 的活性在70、35、15 mg/kg/day时分别达到69.74%、50.3%、49.23%,效果十分显著^[20]。因此,羊角天麻中的黄酮类成分是否也具有较好的体内抗疟活性值得进一步研究。

参考文献

- 1 Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae Agendae Acad- eniae Sinicae Edita (中国科学院中国植物志编辑委员会). Flora reipublicae popularis sinicae (中国植物志) [M]. Beijing: Science Press, 1980.
- 2 Jiang B, Duan BZ. Conventional Phytomedicines of Bai Nationality (白族药用植物图鉴) [M]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine (中国中医药出版社), 2014: 53.
- 3 Cheng ZQ. Chemical constituents of four plants [D]. Kunming: Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences (中国科学院昆明植物所), 2010.
- 4 Liu SH, Cheng JY, Wu DG. Two new sesquiterpenes from *Dobinea delavayi* [J]. Guihaia (广西植物), 1995, 15: 252-253.
- 5 Cheng ZQ, Yang D, Ma QY, et al. Chemical constituents from *Dobinea delavayi* [J]. Chin Tradit Herbal Drugs (中草药), 2012, 43: 1916-1919.
- 6 guiar AAC, Santos RDM, Figueiredo FJB, et al. Antimalarial activity and mechanisms of action of two novel 4-aminoquinolines against chloroquine-resistant parasites [J]. PLoS One, 2012, 7: e37259.
- 7 Ncokazi KK, Egan TJ. A colorimetric high-throughput β -hem-

- atin inhibition screening assay for use in the search for anti-malarial compounds[J]. *Anal Biochem*, 2005, 338:306-319.
- 8 Xiao CJ, Dong X, Han BY, et al. Antimalarial activity of *Isodon yuennanensis*[J]. *Chin Pharm J(中国药理学杂志)*, 2016, 51:612-615.
 - 9 Siddaiah V, Rao CV, Venkateswarlu S, et al. A Concise synthesis of polyhydroxydihydrochalcones and homoisoflavonoids [J]. *Tetrahedron*, 2006, 62:841-846.
 - 10 Cai LM, Huo SX, Lin J, et al. Chemical constituents of *Vernonia anthelmintica* (L.) Willd[J]. *Chin Tradit Pat Med(中成药)*, 2012, 34:2159-2161.
 - 11 Metuno R, Ngandeu F, Tchinda AT, et al. Chemical constituents of *Treculia acuminata* and *Treculia africana*(Moraceae) [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2008, 36:148-152.
 - 12 Kumboonma P, Senawong T, Saenglee S, et al. New histone deacetylase inhibitors from the twigs of *Melanorrhoea usitata* [J]. *Med Chem Res*, 2018, 27:2004-2015.
 - 13 Faizi S, Zikrurrahman S, Ali M, et al. Temperature and solvent dependent NMR studies on mangiferin and complete NMR spectral assignments of its acyl and methyl derivatives [J]. *Magn Reson Chem*, 2006, 44:838-844.
 - 14 Yin XM, Wang SH, Li DH. Antibacterial activity and chemical composition of *Hylotelephium erythrostickum* ethyl acetate extracts[J]. *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)*, 2018, 30:539-541.
 - 15 De PT, Urones JG, Marcos IS, et al. Triterpenes from *Euphorbia broteri*[J]. *Phytochemistry*, 1987, 26:1767-1776.
 - 16 Greca MD, Monaco P, Previtera L. Stigmasterols from *Typha latifolia*[J]. *J Nat Prod*, 1990, 53:1430-1435.
 - 17 Kitajima J, Tanaka Y. Constituents of *Prunus zippeliana* Leaves and Branches [J]. *Chem & Pharm Bull*, 2008, 41:2007-2009.
 - 18 Fu J, liang GY, Zhang JX, et al. Chemical constituents in *Indigofera stachyoides* [J]. *Drugs & Clinic(现代药物与临床)*, 2013, 28:265-268.
 - 19 Zhang DS, Chen WH, Chen GY, et al. Chemical constituents from the stems of *Saprosma merrillii* Lo [J]. *Chin Pharm J(中国药理学杂志)*, 2013, 48:964-967.
 - 20 Amiri M, Nourian A, Khoshkam M, et al. Apigenin inhibits growth of the *Plasmodium berghei* and disrupts some metabolic pathways in mice [J]. *Phytother Res*, 2018, 32:1795-1802.

(上接第 1011 页)

- 7 Ma GY, Khan SI, Jacob MR, et al. Antimicrobial and antileishmanial activities of hypocrellins A and B[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48:4450-4452.
- 8 Croce AC, Fasani E, Bottone MG, et al. Hypocrellin-B acetate as a fluorogenic substrate for enzyme-assisted cell photosensitization [J]. *Photochem Photobiol Sci*, 2011, 10:1783-1790.
- 9 Kishi T, Tahara S, Taniguchi N, et al. New perylenequinones from *Shiraia bambusicola* [J]. *Planta Med*, 1991, 57:376-379.
- 10 Fang LZ, Qing C, Shao HJ, et al. Hypocrellin D, a cytotoxic fungal pigment from fruiting bodies of the ascomycete *Shiraia bambusicola*[J]. *J Antibiot*, 2006, 37:351-354.
- 11 Son BW, Jensen PR, Kauffman CA, et al. New cytotoxic epidithiodioxopiperazines related to verticillin A from a marine isolate of the fungus *Penicillium*[J]. *Nat Prod Lett*, 1999, 13:213-222.
- 12 Sate Y, Oda T. Griseofulvin biosynthesis: New evidence of two acetate-dispositions in the ring A from ¹³C nuclear magnetic resonance studies [J]. *Tetrahedron Lett*, 1976, 44:3971-3974.
- 13 Abdel-Lateff A, Klemke C, Gabriele M, et al. Two new xanthone derivatives from the algicolous marine fungus *Wardomyces anomalus*[J]. *J Nat Prod*, 2003, 66:706-708.
- 14 Mutanyatta J, Matapa BG, Shushu DD, et al. Homoisoflavonoids and xanthenes from the tubers of wild and in vitro regenerated *Ledebouria graminifolia* and cytotoxic activities of some of the homoisoflavonoids [J]. *Phytochemistry*, 2003, 62:797-804.
- 15 Li GY, Li BG, Liu GY, et al. Sterol from *Aspergillus ochraceus* 43[J]. *Chin J Appl Environ Biol(应用与环境生物学报)*, 2005, 11:67-70.
- 16 Fangkrathok N, Sripanidkulchai B, Umehara K, et al. Bioactive ergostanoids and a new polyhydroxyoctane from *Lentinus polychrous* mycelia and their inhibitory effects on E2-enhanced cell proliferation of T47D cells [J]. *Nat Prod Res*, 2013, 27:1611-1619.
- 17 Lee MK, Hung TM, Cuong TD, et al. Ergosta-7, 22-diene-2 β , 3 α , 9 α -triol from the fruit bodies of *Ganoderma lucidum* induces apoptosis in human myelocytic HL-60 cells [J]. *Phytother Res*, 2011, 25:1579-1585.