

## 羊角拗茎的化学成分及其抗炎活性研究

于 淼<sup>1,2</sup>, 冉红玲<sup>1,2</sup>, 梅文莉<sup>1,2</sup>, 黄圣卓<sup>1,2</sup>, 魏艳梅<sup>1</sup>, 蔡彩虹<sup>1,2</sup>, 戴好富<sup>1,2</sup>, 王 昊<sup>1,2\*</sup><sup>1</sup>中国热带农业科学院热带生物技术研究所 海南省黎药资源天然产物研究与利用重点实验室;<sup>2</sup>海南热带农业资源研究院 海南省热带农业生物资源保护与利用重点实验室, 海口 571101

**摘要:**探讨羊角拗茎的化学成分及其抗炎活性,采用硅胶、Sephadex LH-20 等色谱分离技术分离纯化羊角拗茎乙醇提取物的乙酸乙酯萃取物中的化合物,通过质谱和核磁共振等波谱技术对其结构进行鉴定,确定出了 13 个化合物,包括常春藤皂苷元(1)、(-)-loliolide(2)、(3*S*,5*R*,6*S*,7*E*)-3,5,6-trihydroxy-7-megastigmen-9-one(3)、(3*R*,6*R*,7*E*)-3-hydroxy-4,7-megastigmadien-9-one(4)、松脂素(5)、表松脂素(6)、4,4'-dihydroxy-3,3'-dimethoxybenzophenone(7)、6-羟基柚皮素(8)、东莨菪素(9)、6-羟基-7,8-二甲氧基香豆素(10)、吡啶(11)、香草酸(12)、对羟基苯甲酸(13)。其中化合物 1~4 和 6~13 为首次从羊角拗中分离得到。采用 LPS 诱导小鼠单核巨噬细胞 RAW 264.7 体外细胞炎症模型测试结果表明,化合物 5 能显著抑制 NO 的产生,IC<sub>50</sub> 值为 18.09 ± 1.09 μM。

**关键词:**羊角拗;化学成分;抗炎活性

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2022)1-0057-06

DOI:10.16333/j.1001-6880.2022.1.008

## Study on chemical constituents and their anti-inflammatory activity from stems of *Strophanthus divaricatus*

YU Miao<sup>1,2</sup>, RAN Hong-ling<sup>1,2</sup>, MEI Wen-li<sup>1,2</sup>, HUANG Sheng-zhuo<sup>1,2</sup>, WEI Yan-mei<sup>1</sup>, CAI Cai-hong<sup>1,2</sup>, DAI Hao-fu<sup>1,2</sup>, WANG Hao<sup>1,2\*</sup><sup>1</sup>Key Laboratory of Natural Products Research and Development from Li Folk Medicine of Hainan Province, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences;<sup>2</sup>Key Laboratory of Conservation and Utilization of Tropical Agro-bioresources of Hainan Province, Hainan Academy of Tropical Agricultural Resources, Haikou 571101, China

**Abstract:** To study the chemical constituents and their anti-inflammatory activity from the stems of *Strophanthus divaricatus*, thirteen compounds were isolated from its ethyl acetate fraction of ethanol extract by using chromatographic techniques including silica gel, Sephadex LH-20 etc. Their structures were elucidated on the basis of spectroscopic data analysis as hederagenin (1), (-)-loliolide (2), (3*S*,5*R*,6*S*,7*E*)-3,5,6-trihydroxy-7-megastigmen-9-one (3), (3*R*,6*R*,7*E*)-3-hydroxy-4,7-megastigmadien-9-one (4), (+)-pinoselin (5), epipinoselin (6), 4,4'-dihydroxy-3,3'-dimethoxybenzophenone (7), 6-hydroxynaringenin (8), seosoltrin (9), 6,7-dimethylesculetin (10), indazole (11), vanillic acid (12), and *p*-hydroxybenzoic acid (13). Compounds 1~4 and 6~13 were identified from this plant for the first time. Compound 5 showed a significant inhibition on the lipopolysaccharide (LPS)-induced nitric oxide (NO) production in RAW 264.7 cells with IC<sub>50</sub> value of 18.09 ± 1.09 μM.

**Key words:** *Strophanthus divaricatus*; chemical constituent; anti-inflammatory activity

羊角拗 (*Strophanthus divaricatus* (Lour.) Hook. et Arn.) 又名羊角扭、鲤鱼橄榄、山羊角,为夹

竹桃科 (Apocynaceae) 羊角拗属 (*Strophanthus*) 植物,主要分布在我国海南、云南、贵州、广东和福建等省份,老挝、越南等南亚国家也有分布,野生于丘陵山地、路旁疏林中或山坡灌木丛中<sup>[1]</sup>。羊角拗全株植物含毒,为药用强心剂,可用于治疗血管硬化、跌打扭伤、风湿性关节炎、蛇咬伤等症,也可在农业上

收稿日期:2021-06-07 接受日期:2021-11-02

基金项目:2020年海南省自然科学基金青年基金(320QN334);中国热带农业科学院院级创新团队基本科研业务费(1630052017005)

\* 通信作者 E-mail:wanghao@itbb.org.cn

用作杀虫剂<sup>[1]</sup>。研究表明羊角拗主要含有强心苷<sup>[2-4]</sup>,也含有倍半萜、三萜和木脂素等化学成分<sup>[5]</sup>,羊角拗的提取物具有强心、抗菌、抗氧化和杀虫等作用<sup>[6-8]</sup>,强心苷类化合物具有抗肿瘤、强心等生物活性<sup>[9,10]</sup>。为了进一步完善羊角拗化学物质基础研究,深入挖掘该植物的化学成分及其抗炎活性,本研究采用硅胶、Sephadex LH-20 凝胶等多种色谱分离技术对羊角拗茎乙醇提取物的乙酸乙酯萃取物分离研究,并采用 LPS 诱导小鼠单核巨噬细胞 RAW 264.7 体外细胞炎症模型对其化学成分进行体外抗炎活性测试。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

Bruker AV-500 型超导核磁共振波谱仪(德国 Bruker 公司);Autospec 300 质谱仪(英国 VG 公司);分析型高效液相色谱仪(Agilent 1260)(美国安捷伦科技有限公司);旋转蒸发器(Heidolph Laborota);ELX-800 酶标仪(美国宝特公司);ZHJH-C1109C 超净工作台(上海智诚分析仪器制造有限公司);HHB11360-S CO<sub>2</sub> 培养箱(上海跃进医疗器械厂);Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶(德国 Merck 公司);柱层析硅胶 G(200~300 目,60~80 目)、薄层层析硅胶 H(青岛海洋化工厂);氘代试剂(青岛腾龙微波科技有限公司);常用有机试剂为国产 AR 级试剂(天津市康科德科技有限公司);色谱纯甲醇和乙腈(天津市科密欧有限公司);水为超纯水;浓硫酸(山东淄博滨岭化工有限公司);RAW 264.7 细胞株(购于中科院干细胞库);洁特 96 孔细胞培养板(TCP011096)(广州洁特生物过滤股份有限公司);磷酸缓冲液 PBS、DMEM 高糖培养基(美国 Gibco 公司);胎牛血清(浙江天杭生物科技股份有限公司,批号 21010702);青链霉素混合液(北京 Solarbio 公司);胰蛋白酶(美国 Amresco 公司);脂多糖(LPS)、Griess 试剂、槲皮素和四甲基偶氮唑蓝(美国 Sigma 公司)。

### 1.2 材料

羊角拗茎于 2019 年 9 月采自海南省海口市,并经中国热带农业科学院热带生物技术研究所黄圣卓博士鉴定为夹竹桃科(Apocynaceae)羊角拗属(*Strophanthus*)植物羊角拗(*Strophanthus divaricatus*(Lour.) Hook. et Arn.),凭证标本(WANG202002)保存于中国热带农业科学院热带生物技术研究所。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 提取与分离

羊角拗茎(24.4 kg),干燥粉碎后用 95% 乙醇

浸泡提取 3 次,提取液减压浓缩得到乙醇提取物(1.5 kg)。将提取物分散于水中成悬浊液,依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取,得到石油醚萃取物(256.0 g)、乙酸乙酯萃取物(328.1 g)和正丁醇萃取物(438.0 g)。乙酸乙酯萃取物经正相硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯(10:1→0:1)、丙酮梯度洗脱,洗脱液经薄层层析分析后,合并得流分 A~H。在 HPLC-UV 的指导下,F 经减压硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯(10:1→0:1)、丙酮梯度洗脱,得到 12 个流分(F1~F12)。F6 经减压硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯(5:1→0:1)多次梯度洗脱后,通过 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(甲醇)分离得到化合物 2(4.6 mg)、3(4.5 mg)、8(1.3 mg)、9(4.8 mg)和 10(2.1 mg)。F7 经减压硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯(10:1→0:1)梯度洗脱后,通过 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(甲醇)分离,再经多次硅胶柱层析以石油醚-乙酸乙酯(5:1)洗脱得到化合物 4(3.1 mg)、6(3.8 mg)和 7(1.0 mg)。F8 经减压硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯(6:1→0:1)梯度洗脱后,通过 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(甲醇)分离,得到化合物 11(2.0 mg)、12(10.5 mg)和 13(4.1 mg),未纯化部分再经多次硅胶柱层析以石油醚-乙酸乙酯(4:1)洗脱后,通过制备薄层色谱得到化合物 5(4.1 mg)。F10 在甲醇中重结晶得到化合物 1(115.0 mg)。

#### 1.3.2 抗炎活性

采用脂多糖(LPS)诱导小鼠单核巨噬细胞 RAW 264.7 模型对化合物 1~13 进行抗炎活性筛选<sup>[11,12]</sup>。实验分为阳性对照组(槲皮素)、LPS 诱导组、空白对照组和不同浓度的样品组,并将待测样品梯度稀释为 5 个浓度:100、50、25、12.5、6.25 μM。RAW 264.7 细胞复苏后,采用含 10% 胎牛血清、1% 的青霉素-链霉素双抗的 DMEM 培养液,置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养。选取对数生长期的 RAW 264.7 细胞,取 100 μL 细胞液以 5 × 10<sup>4</sup> 个/mL 密度接种于 96 孔板上,于 37 °C、5% CO<sub>2</sub>、90% 以上湿度条件下培养 24 h,再分别加入 50 μL 配制的 LPS(终浓度 0.5 μg/mL)和 50 μL 待测化合物溶液(100~6.25 μM)。继续培养 24 h 后每孔取 100 μL 上清液于新的 96 孔板中,之后在每孔中加入 100 μL 的 Griess 试剂,于酶标仪 540 nm 处测定并记录吸光度 A,根据公式(1)计算出 NO 的抑制率,通过绘制化合物浓度-抑制率曲线图,计算化合物对

LPS 诱导 RAW 264.7 细胞产生 NO 的半抑制浓度。

$$\text{抑制率} = (C_2 - C_1) / (C_2 - C_0) \times 100\% \quad (1)$$

式中:  $C_0$ 、 $C_1$ 、 $C_2$  分别为 540 nm 下测得的空白对照组、不同浓度的样品组、LPS 组的吸光度。

### 1.3.3 数据处理

用 SPSS 25.0 对实验数据进行单因素方差分析,表中数据均用平均值  $\pm$  标准误差表示。当  $P < 0.05$  时,认为具有统计学显著性差异。

## 2 实验结果

### 2.1 结构鉴定

**化合物 1** 无色针状晶体(甲醇);  $C_{30}H_{48}O_4$ , ESI-MS:  $m/z$  473.3  $[M + H]^+$ ;  $^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 12.03 (1H, s, 28-OH), 5.16 (1H, m, H-12), 4.40 (1H, t,  $J = 4.1$  Hz, 23-OH), 4.16 (1H, d,  $J = 4.9$  Hz, 3-OH), 3.42 (1H, m, H-3), 3.31 (1H, m, H-23a), 3.07 (1H, dd,  $J = 10.5, 4.1$  Hz, H-23b), 2.74 (1H, dd,  $J = 13.5, 4.1$  Hz, H-18), 1.09 (3H, s, 27- $CH_3$ ), 0.86 (3H, s, 25- $CH_3$ ), 0.86 (3H, s, 29- $CH_3$ ), 0.86 (3H, s, 30- $CH_3$ ), 0.71 (3H, s, 26- $CH_3$ ), 0.52 (3H, s, 24- $CH_3$ );  $^{13}C$  NMR (125 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 37.9 (C-1), 26.6 (C-2), 70.3 (C-3),

41.4 (C-4), 47.1 (C-5), 17.5 (C-6), 32.1 (C-7), 38.8 (C-8), 46.4 (C-9), 36.3 (C-10), 22.6 (C-11), 121.6 (C-12), 143.9 (C-13), 41.9 (C-14), 27.2 (C-15), 22.9 (C-16), 45.5 (C-17), 40.8 (C-18), 45.7 (C-19), 30.4 (C-20), 33.3 (C-21), 30.2 (C-22), 64.5 (C-23), 12.7 (C-24), 15.5 (C-25), 16.9 (C-26), 25.7 (C-27), 178.6 (C-28), 32.9 (C-29), 23.4 (C-30)。以上数据与文献<sup>[13]</sup>报道对照基本一致,故鉴定化合物 **1** 为常春藤皂苷元(结构见图 1)。

**化合物 2** 黄色油状;  $C_{11}H_{16}O_3$ , ESI-MS:  $m/z$  197.2  $[M + H]^+$ ;  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 5.75 (1H, s, H-2), 4.22 (1H, m, H-6), 2.42 (1H, m, H-7a), 1.99 (1H, m, H-5a), 1.74 (1H, d,  $J = 4.0$  Hz, H-7b), 1.53 (1H, dd,  $J = 14.4, 4.0$  Hz, H-5b), 1.76 (3H, s, H-10), 1.47 (3H, s, H-11), 1.28 (3H, s, H-9);  $^{13}C$  NMR (125 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 174.4 (C-1), 113.3 (C-2), 185.7 (C-3), 37.2 (C-4), 47.9 (C-5), 67.3 (C-6), 46.4 (C-7), 88.9 (C-8), 31.0 (C-9), 27.4 (C-10), 26.9 (C-11)。以上数据与文献<sup>[14]</sup>报道对照基本一致,故鉴定化合物 **2** 为(-)-loliolide。

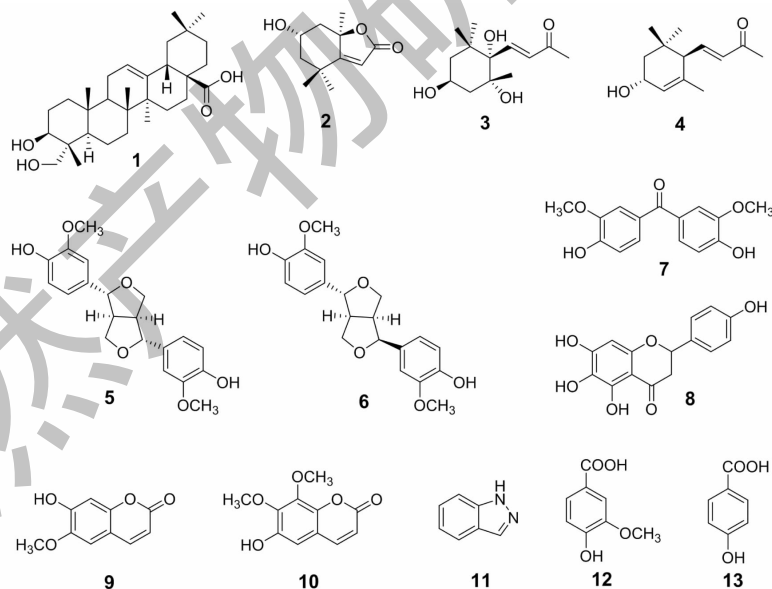


图 1 羊角拗茎中化合物 1~13 的结构

Fig. 1 The structures of compounds 1-13 from the stems of *S. divaricatus*

**化合物 3** 黄色油状;  $C_{13}H_{22}O_4$ , ESI-MS:  $m/z$  243.3  $[M + H]^+$ ;  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 7.17 (1H, d,  $J = 15.7$  Hz, H-7), 6.18 (1H, d,  $J = 15.7$  Hz, H-8), 3.75 (1H, m, H-3), 2.30 (1H, d,  $J =$

5.2 Hz, H-4a), 1.65 (1H, dd,  $J = 9.1, 5.2$  Hz, H-4b), 1.57 (1H, d,  $J = 11.9$  Hz, H-2a), 1.26 (1H, d,  $J = 11.9$  Hz, H-2b), 2.28 (3H, s, H-10), 1.19 (3H, s, H-12), 1.18 (3H, s, H-13), 0.96 (3H, s, H-11);  $^{13}C$

NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 36.1 (C-1), 47.6 (C-2), 64.3 (C-3), 41.3 (C-4), 68.7 (C-5), 70.8 (C-6), 145.5 (C-7), 133.8 (C-8), 200.3 (C-9), 27.5 (C-10), 25.2 (C-11), 29.8 (C-12), 20.1 (C-13)。以上数据与文献<sup>[15]</sup>报道对照基本一致,故鉴定化合物 **3** 为(3*S*, 5*R*, 6*S*, 7*E*)-3, 5, 6-trihydroxy-7-megastigmen-9-one。

**化合物 4** 黄色油状; C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub>, ESI-MS:  $m/z$  209.2 [M + H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 6.75 (1H, dd,  $J$  = 15.7, 9.5 Hz, H-7), 6.11 (1H, d,  $J$  = 15.7 Hz, H-8), 5.55 (1H, br s, H-4), 4.15 (1H, m, H-3), 2.34 (1H, d,  $J$  = 9.5 Hz, H-6), 1.60 (1H, dd,  $J$  = 12.9, 6.7 Hz, H-2a), 1.43 (1H, dd,  $J$  = 12.9, 9.5 Hz, H-2b), 2.25 (3H, s, H-11), 1.62 (3H, s, H-13), 0.97 (3H, s, H-12), 0.88 (3H, s, H-10); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 35.9 (C-1), 41.0 (C-2), 66.9 (C-3), 127.7 (C-4), 136.1 (C-5), 55.5 (C-6), 150.3 (C-7), 133.4 (C-8), 201.0 (C-9), 29.6 (C-10), 27.2 (C-11), 27.0 (C-12), 22.6 (C-13)。以上数据与文献<sup>[16]</sup>报道对照基本一致,故鉴定化合物 **4** 为(3*R*, 6*R*, 7*E*)-3-hydroxy-4, 7-megastigmadien-9-one。

**化合物 5** 白色粉末; C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>O<sub>6</sub>, ESI-MS:  $m/z$  359.3 [M + H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 6.94 (2H, d,  $J$  = 1.7 Hz, H-2, H-2'), 6.80 (2H, dd,  $J$  = 8.1, 1.8 Hz, H-6, H-6'), 6.76 (2H, d,  $J$  = 8.1 Hz, H-5, H-5'), 4.70 (2H, d,  $J$  = 4.4 Hz, H-7, H-7'), 4.22 (2H, m, H-9a, H-9a'), 3.82 (2H, m, H-9b, H-9b'), 3.13 (2H, m, H-8, H-8'), 3.84 (6H, s, 3-OCH<sub>3</sub>, 3'-OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 133.8 (C-1, C-1'), 111.0 (C-2, C-2'), 149.1 (C-3, C-3'), 147.3 (C-4, C-4'), 116.1 (C-5, C-5'), 120.1 (C-6, C-6'), 87.5 (C-7, C-7'), 55.4 (C-8, C-8'), 72.6 (C-9, C-9'), 56.4 (3-OCH<sub>3</sub>, 3'-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[17]</sup>报道对照基本一致,故鉴定化合物 **5** 为松脂素。

**化合物 6** 黄色粉末; C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>O<sub>6</sub>, ESI-MS:  $m/z$  359.3 [M + H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 6.96 (1H, d,  $J$  = 1.5 Hz, H-2), 6.91 (1H, d,  $J$  = 1.5 Hz, H-2'), 6.89 (1H, m, H-5), 6.89 (1H, m, H-5'), 6.84 (1H, dd,  $J$  = 8.1, 1.5 Hz, H-6), 6.79 (1H, dd,  $J$  = 8.1, 1.5 Hz, H-6'), 4.86 (1H, d,  $J$  = 5.3 Hz, H-7'), 4.43 (1H, d,  $J$  = 7.1 Hz, H-7), 4.12 (1H, d,

$J$  = 9.5 Hz, H-9a), 3.85 (1H, m, H-9b), 3.85 (1H, m, H-9a'), 3.33 (1H, m, H-8'), 3.33 (1H, m, H-9b'), 2.91 (1H, dd,  $J$  = 14.8, 7.0 Hz, H-8), 3.92 (3H, s, 5-OCH<sub>3</sub>), 3.90 (3H, s, 5'-OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 133.2 (C-1), 108.7 (C-2), 146.9 (C-3), 145.5 (C-4), 114.4 (C-5), 119.3 (C-6), 87.9 (C-7), 54.6 (C-8), 71.1 (C-9), 130.5 (C-1'), 108.5 (C-2'), 146.6 (C-3'), 144.7 (C-4'), 114.4 (C-5'), 118.6 (C-6'), 82.2 (C-7'), 50.3 (C-8'), 69.8 (C-9'), 56.1 (5-OCH<sub>3</sub>), 56.1 (5'-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[18]</sup>报道对照基本一致,故鉴定化合物 **6** 为表松脂素。

**化合物 7** 黄色粉末; C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub>, ESI-MS:  $m/z$  275.2 [M + H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.51 (2H, d,  $J$  = 1.9 Hz, H-2, H-2'), 7.36 (2H, dd,  $J$  = 8.3, 1.9 Hz, H-6, H-6'), 6.89 (2H, d,  $J$  = 8.3 Hz, H-5, H-5'), 3.94 (6H, s, 3-OCH<sub>3</sub>, 3'-OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 126.5 (C-1, C-1'), 111.9 (C-2, C-2'), 149.7 (C-3, C-3'), 155.4 (C-4, C-4'), 116.3 (C-5, C-5'), 127.7 (C-6, C-6'), 195.6 (C-7), 56.4 (3-OCH<sub>3</sub>, 3'-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[19]</sup>报道对照基本一致,故鉴定化合物 **7** 为4, 4'-dihydroxy-3, 3'-dimethoxybenzophen-one。

**化合物 8** 黄色粉末; C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>, ESI-MS:  $m/z$  289.2 [M + H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.31 (2H, d,  $J$  = 8.4 Hz, H-2', H-6'), 6.81 (2H, d,  $J$  = 8.4 Hz, H-3', H-5'), 5.88 (1H, s, H-8), 5.33 (1H, dd,  $J$  = 12.9, 3.0 Hz, H-2), 3.11 (1H, dd,  $J$  = 17.1, 12.9 Hz, H-3a), 2.69 (1H, dd,  $J$  = 17.1, 3.0 Hz, H-3b); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 80.5 (C-2), 44.1 (C-3), 197.8 (C-4), 159.0 (C-5), 131.3 (C-6), 164.9 (C-7), 96.2 (C-8), 165.4 (C-9), 103.3 (C-10), 131.1 (C-1'), 129.0 (C-2'), 116.3 (C-3'), 165.5 (C-4'), 116.3 (C-5'), 129.0 (C-6')。以上数据与文献<sup>[20]</sup>报道对照基本一致,故鉴定化合物 **8** 为6-羟基柚皮素。

**化合物 9** 黄色油状; C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>, ESI-MS:  $m/z$  193.1 [M + H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 7.90 (1H, d,  $J$  = 9.4 Hz, H-4), 7.20 (1H, s, H-5), 6.77 (1H, s, H-8), 6.31 (1H, d,  $J$  = 9.4 Hz, H-3), 3.81 (3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 160.7 (C-2), 111.7 (C-3), 144.5 (C-4), 109.6 (C-5), 145.3 (C-6), 149.5 (C-7), 102.8 (C-8),

151.2(C-9), 110.6(C-10), 56.0(6-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[21]</sup>报道对照基本一致,故鉴定化合物**9**为东莨菪素。

**化合物 10** 棕色粉末; C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>, ESI-MS: *m/z* 223.1 [M + H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.88(1H, d, *J* = 9.5 Hz, H-4), 6.75(1H, s, H-6), 6.35(1H, d, *J* = 9.5 Hz, H-3), 3.92(3H, s, 8-OCH<sub>3</sub>), 3.91(3H, s, 7-OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 163.1(C-2), 115.3(C-3), 146.3(C-4), 101.0(C-5), 141.7(C-6), 151.7(C-7), 140.0(C-8), 139.8(C-9), 116.0(C-10), 56.6(7-OCH<sub>3</sub>), 61.4(8-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[22]</sup>报道对照基本一致,故鉴定化合物**10**为6-羟基-7,8-二甲氧基香豆素。

**化合物 11** 棕色粉末; C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>, ESI-MS: *m/z* 119.1 [M + H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 8.06(1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-6), 7.93(1H, s, H-3), 7.42(1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-7), 7.17(1H, m, H-4), 7.16(1H, m, H-5); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 132.7(C-3), 121.9(C-4), 121.8(C-5), 127.2(C-6), 112.5(C-7), 137.6(C-8), 121.3(C-9)。以上数据与文献<sup>[23]</sup>报道对照基本一致,故鉴定化合物**11**为吡啶。

**化合物 12** 黄色粉末; C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>, ESI-MS: *m/z* 169.1 [M + H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.57(1H, overlapped, H-2), 7.57(1H, overlapped, H-6), 6.85(1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-5), 3.91(3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 123.4(C-1), 114.1(C-2), 149.0(C-3), 153.0(C-4), 116.1(C-5), 125.6(C-6), 56.7(3-OCH<sub>3</sub>), 170.3(1-COOH)。以上数据与文献<sup>[24]</sup>报道对照基本一致,故鉴定化合物**12**为香草酸。

**化合物 13** 白色粉末; C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>, ESI-MS: *m/z* 139.1 [M + H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.89(2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-2, H-6), 6.84(2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-3, H-5); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 122.7(C-1), 133.0(C-2, C-6), 116.0(C-3, C-5), 163.3(C-4), 170.1(1-COOH)。以上数据与文献<sup>[25]</sup>报道对照基本一致,故鉴定化合物**13**为对羟基苯甲酸。

## 2.2 抗炎活性结果

化合物**1~13**的抗炎活性结果表明,仅化合物

**5**能够显著抑制LPS诱导小鼠单核巨噬细胞RAW 264.7产生NO, IC<sub>50</sub>值为18.09 ± 1.09 μM,略弱于阳性对照槲皮素(11.54 ± 0.23 μM)。其他化合物未显示明显抗炎活性(见表1)。

表1 化合物**1~13**的对LPS诱导RAW 264.7细胞产生NO的半数抑制浓度(*n* = 3)

Table 1 IC<sub>50</sub> value of compounds **1~13** on NO production in LPS-induced RAW 264.7 (*n* = 3)

化合物 Compound	IC <sub>50</sub> (μM)
<b>1~4</b>	>100
<b>5</b>	18.09 ± 1.09
<b>6~13</b>	>100
槲皮素 Quercetin	11.54 ± 0.23

注:槲皮素为阳性对照。

Note: Quercetin is positive control.

## 3 结论

本研究首次从羊角拗茎中分离鉴定13个化合物(**1~4**和**6~13**),其中文献报道五环三萜常春藤皂苷元(**1**)具有抗肿瘤、抗抑郁和抗菌等活性<sup>[26]</sup>,有待进一步研究。采用LPS诱导小鼠单核巨噬细胞RAW 264.7模型的抗炎活性筛选结果表明,松脂素(**5**)具有显著的抗炎活性, IC<sub>50</sub>值为18.09 ± 1.09 μM。本研究丰富了羊角拗的化合物类型,也为其抗炎活性研究提供了依据。

## 参考文献

- Editorial board of flora of China, Chinese Academy of Sciences. Flora of China[M]. Beijing: Science Press, 1993.
- Huang L, Lou ZC. Study on the Chinese plant *Strophanthus divaricatus* containing cardiac glycosides[J]. J Peking Univ: Med(北京大学学报:医学版), 1959(4): 42-51.
- Kawaguchi K, Asaka I, Hirofumi M, et al. Cardenolides in the regenerated plants obtained from *Strophanthus divaricatus* calli[J]. Phytochemistry, 1993, 34: 1317-1321.
- Kawaguchi K, Hirofumi M, Furuya T. Biotransformation of digitoxigenin by cell suspension cultures of *Strophanthus divaricatus*[J]. Phytochemistry, 1991, 30: 1503-1506.
- Chen NH, Li, Zhang YB, Li ZH, et al. Two new Sesquiterpenoids from the root of *Strophanthus divaricatus*[J]. Chem Lett, 2015, 44: 1119-1121.
- Cheng W, Wang S, Wang ZN. *In vitro* antibacterial activity of the extracts from the root of *Strophanthus divaricatus*[J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2013, 24: 2383-2384.

- 7 Cheng W, Wang MY, Yan XX, et al. Study on antioxidant activity of liposolubility components from leaves of *Strophanthus divaricatus*[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2013, 35: 1014-1016.
- 8 Huang LJ, Xiao CX, Zhang ZX. Insecticidal activity and behavior inhibition of the red imported fire ant by *Strophanthus divaricatus*[J]. Guangdong Agr Sci(广东农业科学), 2019, 46(9): 106-113.
- 9 Weng JR, Bai LY, Chiu SJ, et al. Divaricoside exerts antitumor effects, in part, by modulating Mcl-1 in human oral squamous cell carcinoma cells[J]. Comput Struct Biotech, 2019, 17: 151-159.
- 10 Jing HD, Guo GW. Comparison of potency between *Strophanthus divaricatus* cardiotonin and g-picroside[J]. Acta Pharm Sin(药学学报), 1965, 12: 325-331.
- 11 Huo HX, Gu YF, Sun H, et al. Anti-inflammatory 2-(2-phenylethyl) chromone derivatives from Chinese agarwood[J]. Fitoterapia, 2017, 118: 49-55.
- 12 Wei YM. Isolation and identification of compounds from *Inonotus obliquus* and initially study on some of their biological activities[D]. Daqing: Heilongjiang Bayi Agricultural University(黑龙江八一农垦大学), 2020.
- 13 Zhang YH, Chen DL, Wang FP. Studies on chemical constituents of *Periploca omeiensis*[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2006, 18: 772-774.
- 14 Li Y, Wang CL, Wang FF. Chemical constituents of *Dendrobium officinale*[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2009, 35: 1715-1719.
- 15 Zhong JD, Li YP, Li HM, et al. Chemical constituents from *Croton caudatus* var. *tomentosus*[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2013, 25: 1658-1661.
- 16 Machida K, Kikuchi M. Norisoprenoids from *Viburnum dilatatum*[J]. Phytochemistry, 1996, 41: 1333-1336.
- 17 Wang LQ, Zhao YX, Zhou L, et al. Lignans from *Gnetum montanum* Markgr. f. *megalocarpua*[J]. Chem Nat Compd, 2009, 45: 424-426.
- 18 Rahman M. Lignans of *Forsythia intermedia*[J]. Phytochemistry, 1990, 29: 1971-1980.
- 19 Chang HS, Lee SJ, Yang CW, et al. Cytotoxic sesquiterpenes from *Magnolia kachirachirai*[J]. Chem Biodivers, 2010, 7: 2737-2747.
- 20 Miyake Y, Minato K, Fukumoto S, et al. New potent antioxidative hydroxyflavanones produced with *Aspergillus saitoi* from flavanone glycoside in citrus fruit[J]. Biosci Biotech Bioch, 2003, 67: 1443-1450.
- 21 Kang WY, Li GH, Hao XJ. Two new triterpenes from *Neonauclea sessilifolia*[J]. Acta Bot sin, 2003, 45: 1003-1007.
- 22 Liu LM, Wang RH, Chen L. Studies on the chemical constituents of *Fraxinus rhynchophylla* Hance[J]. Chin J Ethnomed Ethnopharm(中国民族民间医药), 2009, 18(16): 5.
- 23 Yuan PL, Wang XP, Chen KX, et al. Chemical constituents from the stems of *Solanum torvum*[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2016, 28(1): 104-107.
- 24 Gutierrez LMT, Woldemichael GM, Singh MP, et al. Isolation of three new naturally occurring compounds from the culture of *Micromonospora* sp. P1068[J]. Nat Prod Res, 2005, 19: 645-652.
- 25 Xin XL, Aisa HA, Wang HQ. Flavonoids and phenolic compounds from seeds of the Chinese plant *Nigella glandulifera*[J]. Chem Nat Compd, 2008, 44: 368-369.
- 26 Xing Y, Nan ML, Wang X, et al. Research progress of hederagenin[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学), 2017, 23(22): 226-234.