

刺苞老鼠簕的化学成分及其抗炎和抗氧化活性研究

贾慧珍^{1,2},孙朋^{1,2},鲁建美^{1,2},吴敏^{1,2},许又凯^{1*}

¹中国科学院西双版纳热带植物园 热带植物资源可持续利用重点实验室,勐腊 666303;

²中国科学院大学,北京 100049

摘要:利用大孔树脂、硅胶和 SephadexLH-20 凝胶柱色谱等方法,从刺苞老鼠簕 *Acanthus leucostachyus* Wall. ex Nees 全草分离纯化得到 13 个化合物,通过 NMR、MS 等波谱数据与文献进行对比分析鉴定化合物结构。这些化合物分别鉴定为 2-苯并噁唑啉酮(1)、3-羟基乙酰基吲哚(2)、儿茶酚(3)、香草酸(4)、methyl 3,4-dihydroxy-benzoate(5)、N-(2-hydroxyphenyl)formamide(6)、咔唑(7)、邻苯二甲酰正二丁酯(8)、ethyl *p*-methoxy-*trans*-cinnamate(9)、肉桂酸乙酯(10)、豆甾醇(11)、3-hydroxy-4-methoxypyridine(12)、豆甾醇-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷(13)。所有化合物均为首次从该植物中分离得到,其中化合物 7 为首次从老鼠簕属植物中分离得到。采用 DPPH 自由基清除法测试分离纯化到的化合物的抗氧化活性,用脂多糖(LPS)诱导小鼠单核巨噬细胞 RAW 264.7 生成 NO 炎症模型测试抗炎活性。其中化合物 3 表现出较好的抗氧化活性,IC₅₀ 值为 105.18 μM;化合物 3、6、9 表现出较强的抗炎活性,IC₅₀ 值分别为 18.49、22.84、41.22 μM。

关键词:刺苞老鼠簕;2-苯并噁唑啉酮;咔唑生物碱;抗炎;抗氧化活性

中图分类号:Q501

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2022)3-0407-06

DOI:10.16333/j.1001-6880.2022.3.007

Chemical constituents from *Acanthus leucostachyus* and their anti-inflammatory and antioxidant activities

JIA Hui-zhen^{1,2}, SUN Peng^{1,2}, LU Jian-mei^{1,2}, WU Min^{1,2}, XU You-kai^{1*}

¹CAS Key Laboratory of Tropical Plant Resources Sciences and Sustainable Use, Xishuangbanna

Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla 666303, China;

²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: To study the chemical constituents from the whole herb of *Acanthus leucostachyus*. Thirteen compounds (1-13) were isolated and purified by column chromatography on microporous resin, silica gel and SephadexLH-20. The structure of the compounds was identified by comparing their NMR, MS spectroscopic data with those in the literatures. These compounds were identified as 2-benzoxazolinone (1), 3-hydroxylacetyl-indole (2), catechol (3), vanillic acid (4), methyl 3,4-dihydroxybenzoate (5), N-(2-hydroxyphenyl) formamide (6), carbazole (7), dibutyl phthalate (8), ethyl *p*-methoxy-*trans*-cinnamate (9), ethyl cinnamate (10), stigmasterol (11), 3-hydroxy-4-methoxypyridine (12), stigmasterol-3-*O*- β -D-glucopyranoside (13). All compounds were isolated from this plant for the first time, in addition, compound 7 was found in the genus *Acanthus* for the first time. All isolates were evaluated for antioxidant activity by DPPH free radical scavenging method and anti-inflammatory activities by lipopolysaccharide (LPS) induced mouse monocyte macrophage RAW 264.7 to generate NO inflammatory model. Among those compounds, compound 3 showed moderate antioxidant activity with IC₅₀ value of 105.18 μM; Compounds 3, 6 and 9 showed significant anti-inflammatory activity with IC₅₀ values of 18.49, 22.84 and 41.22 μM, respectively.

Key words: *Acanthus leucostachyus*; 2-benzoxazolinone; carbazole alkaloids; anti-inflammatory; antioxidant activity

爵床科(Acanthaceae)约有 229 属,3 450 种^[1]。

我国约有 68 属 311 种,以云南地区种类最多。老鼠簕属(*Acanthus*)全球有 30 余种,其中有三种分布在中国,分别为老鼠簕 *Acanthus ilicifolius*,刺苞老鼠簕 *A. leucostachyus* 和小花老鼠簕 *A. ebracteatus*。在泰

收稿日期:2021-11-10 接受日期:2022-01-28

基金项目:中国科学院专项中科院合作局一带一路民族药研究与
产业合作(Y6ZK131B01)

*通信作者 Tel:86-018787926562;E-mail:xyk@xthg.ac.cn

中国传统医药中,老鼠簕属植物常被用作泻下、抗炎、治疗风湿性关节炎、退热、抗肿瘤、抗溃疡等,其叶子被用于治疗风湿病、蛇咬、麻痹和哮喘,也可与胡椒一起作为滋补剂使用^[2]。刺苞老鼠簕 *A. leucostachyus*,又名蛤蟆花,产云南南部且主要分布于西双版纳海拔 550~1150 米的密林中潮湿处,中南半岛及印度也有分布^[3]。傣名为“帕夯喃”,是传统的傣药,在多部傣医药经书中均有记载^[4,5],主要用于治疗肾结石。据《中国傣药志》^[4]中记载刺苞老鼠簕气微,味淡,凉,入水、土塔,归肾、膀胱经,全草入药具有清热解毒,利尿化石的功效,并与盾翅藤、水红木和肾茶等共同煎服治疗慢性肾炎。傣医使用刺苞老鼠簕治疗疾病已有上千年历史,并有明确疗效,已收入 2005 年版第三册傣族药《云南省中药材标准》^[5]中的法定药材,是傣医常用草药之一,具有重要的药用价值。Huо 等^[6]综述国内外老鼠簕属植物的化学成分多为木脂素类、苯乙醇苷类、黄酮类、三萜类等。Babu 等^[7]通过药理实验表明老鼠簕叶子具有抗氧化和抗肿瘤等活性。虽然刺苞老鼠簕已列为云南省法定药材,但《云南省中药材标准》^[5]只做了药材的生药鉴定和薄板层析等,刺苞老鼠簕的化学成分和药理活性仍为空白。因此,本文对刺苞老鼠簕的化学成分进行了研究,并对其化合物进行抗氧化和抗炎活性筛选,为刺苞老鼠簕的药用提供依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

AVANCE III 500MHz 核磁共振波谱仪(德国 Bruker 公司);Avance III 600MHz 核磁共振波谱仪(瑞士布鲁克公司);UPLC-IT-TOF 液相-离子阱飞行时间色谱质谱联用仪(岛津制作所);多功能荧光酶标仪+摇床 Varioskan Flash(美国 ThermoFisher);Waters 600 型高效液相色谱仪配备 Waters 2996 二极管阵列紫外检测器(美国 Waters 公司),色谱柱为 YMC-Pack ODS-A(300 mm×10 mm,S-5 μm)半制备柱(TMS 作内标);柱层层析硅胶(200~300 目)和 GF₂₅₄薄层色谱硅胶购自青岛海洋化工厂分厂;薄层层析硅胶(10~40 μm)购自青岛美高化工有限公司;Sephadex LH-20(40~70 μm)购自瑞典 GE Healthcare Bio-Sciences AB 公司;EYELA 油浴锅 OSB-2100 和旋转蒸发仪 N-1100(上海爱朗仪器有限公司);倒置生物显微镜 NIB-100(宁波永新光学股份有限公司);台式离心机 TDL-40B(上海安亭科

学仪器厂);生物安全柜 BSC-1100IIB2-X 和 CO₂ 细胞培养箱 QP-80(济南鑫贝西生物技术有限公司);小鼠单核巨噬细胞 RAW 264.7(中科院上海细胞库);DMEM 培养基和胎牛血清(BI 公司);Griess Reagent、LPS 及对照药物 L-NMMA(Sigma 公司);乙酸乙酯、甲醇、二氯甲烷、石油醚、浓硫酸等试剂均为分析纯购自天津市大茂化学试剂厂。

刺苞老鼠簕全草 *A. leucostachyus* 于 2019 年 8 月采自于云南省西双版纳傣族自治州勐腊县勐腊镇补蚌村,经中科院西双版纳热带植物园肖春芬高级研究员鉴定,标本(No. 60099)存放于中科院西双版纳热带植物园标本馆。

1.2 实验方法

1.2.1 提取分离

取干燥的刺苞老鼠簕全草 3.8 kg,粉碎,室温下用甲醇浸泡浸提 3 次(七天/次),合并提取液,滤过,减压浓缩得总浸膏 515 g。将总浸膏加适量纯水混匀,使其充分溶解,用乙酸乙酯萃取 8 次,减压浓缩得到乙酸乙酯部位(186 g)。乙酸乙酯部位经大孔树脂(纯水、30%、60%、90%、丙酮)洗脱,得到 5 个组分(Fr. 1~5)。Fr. 3 经硅胶(200~300 目)柱色谱(二氯甲烷-甲醇梯度)洗脱后,得到 3 个部分(A. 1、A. 2、A. 3),其中 A. 1 经薄层层析硅胶柱色谱,反复硅胶柱色谱(石油醚-乙酸乙酯梯度)洗脱以及重结晶得到化合物 1(461.8 mg)。A. 2 经反复硅胶柱色谱,再经 SephadexLH-20 凝胶柱色谱分离纯化,甲醇洗脱,得到化合物 2(1.3 mg)。A. 3 经硅胶柱(200~300 目)分离,再经硅胶柱(10~40 μm)分离,用不同溶剂体系(二氯甲烷-甲醇,石油醚-乙酸乙酯)洗脱,得到化合物 3(2.6 mg)、4(13.5 mg)和 5(13.0 mg)。A. 3 组分经反复硅胶柱色谱得到化合物 6(9.0 mg)和 7(1.6 mg)。Fr. 4 经硅胶柱色谱(二氯甲烷-甲醇)洗脱,洗脱物经 SephadexLH-20 凝胶色谱,TLC 检测合并相同部分,再经薄层层析硅胶柱色谱洗脱得到化合物 8(2.8 mg)和 9(45.7 mg),过半制备 HPLC(乙腈-纯水 40:60)分离得到化合物 10(12.5 mg)。Fr. 2 经硅胶柱(200~300 目)色谱分离,TLC 检测并合并相同馏分,经反复硅胶柱色谱层析分离,得到化合物 11(6.8 mg)、12(5.9 mg)和 13(2.9 mg)。

1.2.2 活性筛选

通过 DPPH 自由基清除实验对分离得到的化合物进行抗氧化活性筛选,准备好与化合物对应的 EP

管,终浓度为 100 μM ,在 96 孔板进行分组,每组设置三个复孔,空白对照组加入 100 μL 无水乙醇,实验组加入 100 μL 待测化合物,将 DPPH 工作液分别加入 96 孔板分组中,避光反应 30 min 后,在 517 nm 处测吸光值。

将 RAW 264.7 细胞接种在 96 孔板,用 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ LPS 进行诱导刺激,同时加入待测化合物处理至 50 μM ,设置不含药物组和 L-NMMA 阳性药物组为

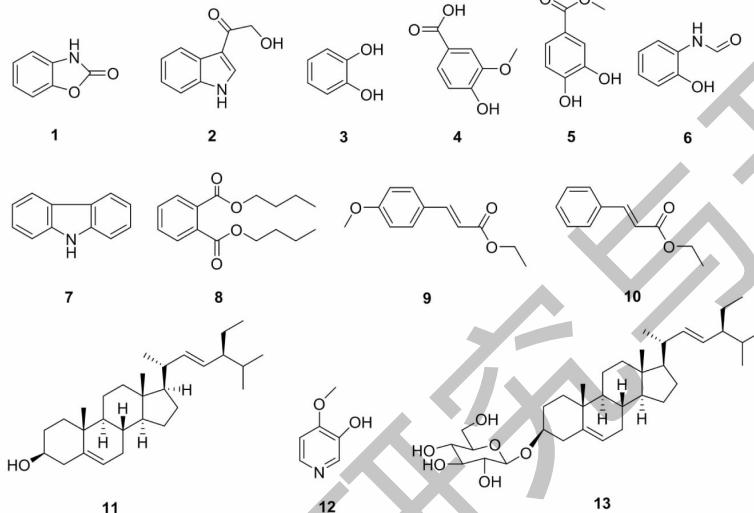


图 1 化合物 1~13 的化学结构

Fig. 1 The chemical structures of compounds 1-13

化合物 1 白色粉末,可形成晶体(甲醇);EI-MS: m/z 136 [M + H]⁺,分子式为 $\text{C}_7\text{H}_5\text{NO}_2$ 。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.21 ~ 7.18 (1H, m, H-7), 7.14 (1H, dd, J = 7.6, 1.0 Hz, H-4), 7.10 (1H, dd, J = 7.8, 1.2 Hz, H-6), 7.06 (1H, dd, J = 4.7, 4.1 Hz, H-5);¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 157.2 (C-2), 123.4 (C-4), 110.9 (C-5), 110.7 (C-6), 125.1 (C-7), 131.6 (C-8), 145.4 (C-9)。以上数据与文献^[8]基本一致,故鉴定为 2-苯并噁唑啉酮(结构见图 1)。

化合物 2 浅黄色晶体(甲醇);ESI-MS: m/z 176 [M + H]⁺、174 [M-H]⁻,分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{NO}_2$ 。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 8.23 (1H, s, H-2), 8.19 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-4), 7.45 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-7), 7.22 (2H, s, H-5, H-6), 4.72 (2H, s, H-9);¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 195.8 (C-8), 137.9 (C-7a), 134.1 (C-2), 127.1 (C-3a), 124.3 (C-6), 123.3 (C-5), 122.7 (C-7), 115.0 (C-4), 113.0 (C-3), 65.7 (C-9)。以上数据与文献^[9]基本

一致,故鉴定为 3-羟基乙酰基吲哚。

$$\text{NO 生成抑制率} = \frac{(OD_{\text{非药物处理组}} - OD_{\text{样品组}})}{OD_{\text{非药物处理组}}} \times 100\%$$

2 实验结果

2.1 结构鉴定

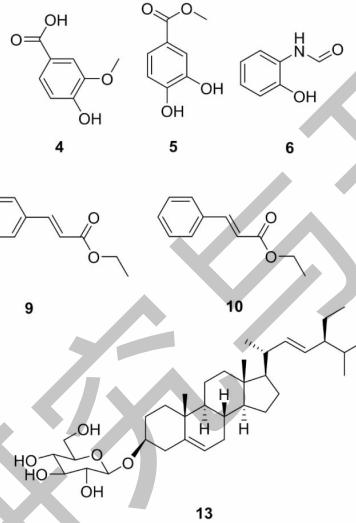


图 1 化合物 1~13 的化学结构

一致,故鉴定为 3-羟基乙酰基吲哚。

化合物 3 无色针晶(甲醇);ESI-MS: m/z 109 [M-H]⁻,分子式为 $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_2$ 。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 6.75 (2H, m, H-3, H-5), 6.65 (2H, m, J = 9.5, 3.5 Hz, H-4, H-6);¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 146.4 (C-1, C-2), 120.9 (C-4, C-5), 116.4 (C-3, C-6)。以上数据与文献^[10]基本一致,故鉴定为儿茶酚。

化合物 4 白色片状结晶(甲醇);ESI-MS: m/z 167 [M-H]⁻,分子式为 $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$ 。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.57 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-2), 7.47 (1H, dd, J = 8.2, 1.9 Hz, H-6), 6.75 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5), 3.87 (3H, s, -OCH₃);¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 175.6 (C = O), 150.1 (C-3), 148.2 (C-4), 130.5 (C-6), 124.1 (C-1), 115.0 (C-2), 114.2 (C-5), 56.4 (-OCH₃)。以上数据与文献^[9]基本一致,故鉴定为香草酸。

化合物 5 无色粉末;EI-MS: m/z 169 [M + H]⁺,分子式为 $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$ 。¹H NMR (500 MHz,

CD_3OD) δ : 7.54 (1H, dd, $J = 8.2, 1.9$ Hz, H-6), 7.52 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2), 6.82 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 3.88 (3H, s, -OCH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 170.0 (C=O), 152.7 (C-1), 148.7 (C-3), 125.2 (C-6), 123.1 (C-4), 116.0 (C-2), 113.90 (C-5), 56.4 (-OCH₃)。以上数据与文献^[11]基本一致,故鉴定为 methyl 3,4-dihydroxy-benzoate。

化合物 6 淡黄色粉末; ESI-MS: m/z 138 [M + H]⁺, 分子式为 C₇H₇NO₂。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 8.27 (1H, s, H-8), 7.97 ~ 7.92 (1H, dd, $J = 8.1, 1.3$ Hz, H-5), 6.97 ~ 6.92 (1H, dt, $J = 1.5, 8.1$ Hz, H-3), 6.83 (1H, dd, $J = 8.1, 1.3$ Hz, H-4), 6.80 ~ 6.76 (1H, dt, $J = 8.1, 1.5$ Hz, H-2); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 161.9 (C-8), 148.6 (C-4), 126.8 (C-5), 126.2 (C-2), 122.6 (C-1), 120.4 (C-6), 116.3 (C-3)。以上数据与文献^[12]基本一致,故鉴定为 *N*-(2-hydroxyphenyl) formamide。

化合物 7 白色粉末; ESI-MS: m/z 168 [M + H]⁺, 分子式为 C₁₂H₉N。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 8.05 ~ 8.01 (2H, dt, $J = 8.1, 0.9$ Hz, H-1, H-9), 7.42 (2H, dt, $J = 8.1, 0.9$ Hz, H-3, H-12), 7.34 (2H, ddd, $J = 8.2, 7.1, 1.2$ Hz, H-4, H-11), 7.13 (2H, ddd, $J = 8.0, 7.1, 1.0$ Hz, H-5, H-10); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 141.5 (C-2, C-13), 126.7 (C-7, C-8), 124.3 (C-4, C-11), 121.1 (C-1, C-9), 119.5 (C-5, C-10), 111.7 (C-3, C-12)。以上数据与文献^[13]基本一致,故鉴定为呋唑。

化合物 8 无色油状物; ESI-MS: m/z 279 [M + H]⁺, 分子式为 C₁₆H₂₂O₄。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.68 ~ 7.65 (2H, m, H-2, H-5), 7.56 (2H, dt, $J = 5.8, 2.9$ Hz, H-3, H-4), 4.23 (4H, t, $J = 6.6$ Hz, H-13, H-16), 1.71 ~ 1.62 (4H, m, H-14, H-15), 1.44 ~ 1.3 (4H, m, H-17, H-20), 0.93 (6H, t, $J = 7.1$ Hz, H-18, H-19); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 169.3 (C-7, C-10), 133.6 (C-1, C-2), 132.4 (C-4, C-5), 129.9 (C-3, C-6), 66.7 (C-13, C-16), 31.7 (C-14, C-15), 20.3 (C-17, C-20), 14.1 (C-18, C-19)。以上数据与文献^[14]基本一致,故鉴定为邻苯二甲酰正二丁酯。

化合物 9 无色针晶; ESI-MS: m/z 207 [M + H]⁺, 分子式为 C₁₂H₁₄O₃。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.68 (2H, d, $J = 10$ Hz, H-2, H-6), 6.89

(3H, m, overlapped, H-1', H-3, H-5), 5.81 (1H, d, $J = 12.8$ Hz, H-2'), 4.16 (2H, q, $J = 7.1$ Hz, H-1''), 3.80 (3H, s, -OCH₃), 1.25 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, H-2''); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 168.4 (C-3'), 161.8 (C-4), 144.3 (C-1), 133.3 (C-1'), 117.8 (C-2, C-6), 114.2 (C-3, C-5), 61.1 (C-1''), 55.8 (-OCH₃), 14.1 (C-2')。以上数据与文献^[15]基本一致,故鉴定为 ethyl *p*-methoxy-*trans*-cinnamate。

化合物 10 白色蜡状物; ESI-MS: m/z 177 [M + H]⁺, 分子式为 C₁₁H₁₂O₂。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.67 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7), 7.59 (2H, m, H-2, H-6), 7.40 (3H, dd, $J = 9.5, 6.0$ Hz, H-3, H-4, H-5), 6.51 (1H, dd, $J = 16.0, 1.1$ Hz, H-8), 4.23 (2H, q, $J = 7.1$ Hz, H-10), 1.30 (3H, m, H-11); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 168.7 (C-9), 146.1 (C-7), 135.7 (C-1), 131.5 (C-4), 130.0 (C-3, C-5), 129.2 (C-2, C-6), 119.0 (C-8), 61.6 (C-10), 14.7 (C-11)。以上数据与文献^[16]基本一致,故鉴定为肉桂酸乙酯。

化合物 11 白色针状晶体(氯仿); ESI-MS: m/z 413 [M + H]⁺, 分子式为 C₂₉H₄₈O。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.34 (1H, dd, $J = 3.4, 1.8$ Hz, H-6), 5.15 (1H, dd, $J = 15.2, 8.6$ Hz, H-22), 5.02 (1H, dd, $J = 15.2, 8.7$ Hz, H-23), 3.52 (1H, ddd, $J = 15.2, 10.9, 4.5$ Hz, H-3), 1.01 (3H, q, $J = 6.5$ Hz, H-19), 0.90 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21), 0.86 ~ 0.78 (3H, overlapped, H-26, H-27, H-29), 0.68 (3H, d, $J = 9.2$ Hz, H-18); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 140.8 (C-5), 138.4 (C-22), 129.4 (C-23), 121.9 (C-6), 71.9 (C-3), 57.0 (C-14), 56.1 (C-17), 51.4 (C-9), 50.2 (C-24), 42.4 (C-4, C-13), 40.6 (C-20), 39.7 (C-12), 37.4 (C-1), 36.7 (C-10), 32.0 (C-7, C-2, C-25), 31.8 (C-8), 29.0 (C-16), 25.5 (C-28), 24.5 (C-15), 21.3 (C-21), 21.1 (C-11, C-27), 19.6 (C-26), 19.1 (C-29), 12.3 (C-19), 12.1 (C-18)。以上数据与文献^[17]基本一致,故鉴定为豆甾醇。

化合物 12 无色油状物; ESI-MS: m/z 126 [M + H]⁺, 分子式为 C₆H₇NO₂。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.57 (1H, s, H-2), 7.47 (1H, dd, $J = 8.2, 1.8$ Hz, H-6), 6.76 ~ 6.73 (1H, m, H-5), 3.87 (3H, s, CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 150.2 (C-4), 148.1 (C-3), 124.2 (C-6), 115.4 (C-2), 114.0 (C-5), 56.2 (-OCH₃)。以上数据与文献^[18]基

本一致,故鉴定为 3-hydroxy-4-methoxypyridine。

化合物 13 浅黄色粉末;ESI-MS: m/z 592 [M + NH₄]⁺、597 [M + Na]⁺、619 [M + COOH]⁻,分子式为 C₃₅H₅₈O₆。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): CD₃OD = 3: 1) δ: 5.30 (1H, s, H-6), 5.08 (1H, dd, J = 15.1, 8.6 Hz, H-22), 4.95 (1H, dd, J = 15.2, 8.8 Hz, H-23), 4.34 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-1'), 3.51 (1H, m, H-3), 1.19 (3H, s, H-21), 0.94 (3H, s, H-19), 0.77 (3H, d, J = 6.1 Hz, H-26), 0.63 (3H, s, H-18);¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): CD₃OD = 3: 1) δ: 140.2 (C-5), 138.4 (C-22), 129.2 (C-23), 122.3 (C-6), 101.1 (C-1'), 79.2 (C-3), 76.3 (C-3'), 75.7 (C-5'), 73.5 (C-2'), 70.2 (C-4'), 61.9 (C-6'), 56.8 (C-14), 56.1 (C-17), 51.2 (C-9), 50.2 (C-24), 42.2 (C-13), 40.5 (C-12), 39.6 (C-20), 38.7 (C-4), 37.2 (C-1), 36.8 (C-10), 31.9 (C-7), 31.9 (C-8), 31.9 (C-25), 29.7 (C-2), 28.9 (C-16), 25.4 (C-28), 24.3 (C-15), 21.2 (C-11), 21.1 (C-21), 19.3 (C-27), 19.2 (C-19), 18.9 (C-26), 12.2 (C-29), 12.0 (C-18)。以上数据与文献^[19]基本一致,故鉴定为豆甾醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖苷。

2.2 活性筛选

清除 DPPH 自由基^[20]初筛实验结果表明(见表 1),化合物 1~13 均具有一定的抗氧化活性,其中化合物 3 和 6 的 DPPH 自由基清除率较高,表现出较好的抗氧化活性。对其进一步复筛,计算其 IC₅₀ 值,分别为 105.18、299.89 μM。

通过脂多糖 (LPS) 诱导小鼠单核巨噬细胞 RAW 264.7 生成 NO,进行活性筛选^[21],结果表明(见表 2),化合物 3、6、9 在浓度为 50 μM 时有超过 50% 的抑制率,对其进一步进行 IC₅₀^[22]的测定,其阳性对照 L-NMMA 的 IC₅₀ 为 44.96 ± 1.66 μM,化合物 3、6、9 的 IC₅₀ 值分别为 18.49 ± 1.03、22.84 ± 0.80、41.22 ± 2.64 μM。

3 讨论与结论

本研究对刺苞老鼠簕的化学成分进行分析,从刺苞老鼠簕全草甲醇提取物的乙酸乙酯部位中分离鉴定了 13 个化合物,其中包括 5 个生物碱(其中 1、6 为苯并噁唑酮类生物碱,2 为吲哚类生物碱,7 为 β-卡波林类生物碱,12 为吡啶类生物碱)、2 个苯丙素类及 2 个甾醇类化合物。苯并噁唑酮类生物碱为老鼠簕属的主要和特征性成分,与文献报道的同属植物的化学成分相同^[23]。在自然条件下,苯并

表 1 化合物 1~13 的抗氧化活性筛选

Table 1 Screening of antioxidant activities of the compounds 1-13

化合物 Compound	浓度 Concentration (μM)	DPPH 清除率 DPPH clearance rate (%)
1	100	5.29
2	100	7.86
3	100	54.47
4	100	18.29
5	100	15.89
6	100	30.14
7	100	18.29
8	100	7.03
9	100	8.21
10	100	10.14
11	100	7.54
12	100	10.93
13	100	10.02

表 2 化合物 1~10 的抗炎活性筛选

Table 2 Anti-inflammatory activity screening of the compounds 1-10

化合物 Compound	浓度 Concentration (μM)	NO 生成抑制率 Inhibition rate on NO production (%)
L-NMMA	50	52.45 ± 1.13
1	50	-9.98 ± 1.87
2	50	1.55 ± 0.23
3	50	81.54 ± 0.76
4	50	4.47 ± 1.70
5	50	4.64 ± 0.91
6	50	68.61 ± 0.91
7	50	14.31 ± 1.14
8	50	1.66 ± 2.65
9	50	56.18 ± 1.75
10	50	26.72 ± 1.29

噁唑酮也可降解为苯并噁唑啉酮,是禾本科作物中重要的次生代谢产物,可通过抑制叶绿体的光合磷酸化抑制一些幼苗生长,其作为除草剂的研制开发具有广阔的应用前景^[24]。咔唑生物碱为首次在老鼠簕属植物中分离得到。咔唑是芸香科植物的主要成分,不仅可插入 DNA,还能抑制端粒酶和调节蛋白磷酸化,其在天然产物抗癌治疗中扮演着重要的角色^[25]。化合物中儿茶酚(3)不仅显示了较好的

清除 DPPH 自由基的能力,而且体外抗炎实验中也显示了较好的活性。Ramalingam 等^[26]研究中也表明儿茶酚衍生物具有较好的抗氧化活性,其治疗慢性肾炎的作用机制还需要进一步研究探讨。

参考文献

- Wu J, Li JX, Huang JS, et al. Advances in chemical constituents of medicinal mangrove *Acanthus ilicifolius* [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2003, 34: 104-105.
- Babu BH, Shylesh BS, Padikkala J. Antioxidant and hepatoprotective effect of *Acanthus ilicifolius* [J]. Fitoterapia, 2001, 72: 272-277.
- Editorial Committee of Chinese Flora, Chinese Academy of Sciences. Flora of China(中国植物志) [M]. Beijing: Science press, 2002, 70: 45.
- Ma XJ, Zhang LX, Lin YF. China Dai Herbal(中国傣药志) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2017, 609.
- Yunnan Food and Drug Administration. Yunnan Standard for Chinese Medicinal Materials(云南省中药材标准) [M]. Kunming: Yunnan Science and Technology Press, 2007: 95-96.
- Huo CH, Liang H, Zhao YY, et al. Progress in the research on chemical constituents and pharmacologic activities of *Acanthus* [J]. Chin J Mar Drugs(中国海洋药物), 2004, 23 (3): 39-44.
- Babu BH, Shylesh BS, Padikkala J. Tumour reducing and anticarcinogenic activity of *Acanthus ilicifolius* in mice [J]. Ethnopharmacology, 2002, 79(1): 27-33.
- Zhong LJ, Huang MY, Zhang JG, et al. Study on the chemical constituents from *Acanthus ilicifolius* Linn. var. *xiamenensis* [J]. Chin J Mar Drugs(中国海洋药物), 2012, 31(6): 23-28.
- Liu F, Fang L, Li J, et al. Phenolic acid in stems and leaves of male plants in *Trichosanthes kirilowii* maxim [J]. Mod Chin Med(中国现代中药), 2016, 18: 407-409.
- Indriana A, Lee KJ, Kim YS. Bioassay-guided isolation and identification of compounds from *Arecae pericarpium* with anti-inflammatory, anti-oxidative, and melanogenesis inhibition activities [J]. Nat Prod Sci, 2016, 22: 193-200.
- Zhou XL, Wang PC, Liang B, et al. Chemical constituents of *Stachys geobombycis* [J]. Chin Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2018, 24(5): 55-58.
- Ying YM, Zhan ZJ, Ding ZS, et al. Bioactive metabolites from *Penicillium* sp. P-1, a fungal endophyte in *Huperzia serrata* [J]. Chem Nat Compd, 2011, 47: 541-544.
- Miller RB, Steven CF. Modified methods for the synthesis of carbazole from phenothiazine [J]. Molecules, 2001, 6: 668-672.
- Gan T, Han JX, Tian YX. Chemical constituents in EtOAc extract from rare medical herbs *Oreorchas patens* in Changbai Mountain [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2017, 48: 3051-3055.
- Uddin N, Hossain MK, Haque MR, et al. Chemical investigation of *Paederia foetidae* (Rubiaceae) [J]. Asian J Chem, 2013, 25: 1163-1164.
- Li YC, Ji H, Li XH, et al. Isolation of nematicidal constituents from essential oil of *Kaempferia galanga* L rhizome and their activity against *Heterodera avenae* Wollenweber [J]. Trop J Pharm Res, 2017, 16(1): 59-65.
- Zhu XY, Zhou YT, Yan HG, et al. Chemical constituents from ethyl acetate extracts of *Pholidota articulata* [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2020, 51: 6151-6156.
- Peng WW, Fu XX, Xiong ZH, et al. Taxonomic significance and antitumor activity of alkaloids from *Clausena lansium* Lour. Skeels(Rutaceae) [J]. Biochem Syst Ecol, 2020, 90: 104046.
- Guo Y, Chen C, Gao C, Chemical constituents of *Elephantopus scanner* L. [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2016, 28: 1051-1054.
- Neekhra S, Awasthi H, Singh D. Effect of *Streblus asper* leaves on locomotion, anxiety and cognition in rats [J]. Asian J Pharm, 2019, 12(2): 98-101.
- Zeng FK, Wang X, Li XJ, et al. Effect of thlaspi arvense N-butanol site on inhibition of TLR-4/NF-κB signaling pathway against LPS-induced RAW 264. 7 cell inflammation [J]. Drug Eval Res(药物评价研究), 2021, 44: 2148-2154.
- Reed LJ, Muench H. A simple method for estimating fifty percent endpoints [J]. Am J Hyg, 1938, 27: 493-497.
- Kapil A, Sharma S, Wahidulla S. Leishmanicidal activity of 2-benzoxazolinone from *Acanthus illicifolius* in vitro [J]. Planta Med, 1994, 60: 187-188.
- Liu XH, Zhou LG, Li JQ. Research development on benzoxazinoids [J]. Plant Prot(植物保护), 2003, 29(4): 3-7.
- Song F, Liu D, Huo X, et al. The anticancer activity of carbazole alkaloids [J]. Arch Pharm, 2021: 2100277.
- Ramalingam S, Muthu K, Palanivelu S, et al. Antioxidant and antihyperlipidemic activities of catechol derivatives and biflavonoid isolated from *Semecarpus anacardium* seeds [J]. Toxicol Mech Methods, 2021. DOI: 10. 1080/15376516. 2021. 1973170.