

# 地卷柏中肽类化学成分及其神经保护活性研究

何福林<sup>1</sup>, 贺 茜<sup>1</sup>, 吕敬崑<sup>3</sup>, 谢 夷<sup>1</sup>, 陈小明<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup>湖南科技学院化学与生物工程学院;

<sup>2</sup>湖南省银杏工程技术研究中心; <sup>3</sup>湖南恒伟药业股份有限公司, 永州 425100

**摘 要:** 研究地卷柏 *Selaginella prostrata* 全草中的肽类化学成分及其神经保护活性。基于茚三酮试剂显色的薄层原位化学反应导向分离方法, 综合运用正、反相硅胶柱色谱和半制备液相色谱等多种分离技术进行分离纯化, 通过波谱数据分析和文献比对鉴定化合物的结构。共从地卷柏全草的 95%乙醇提取物中分离得到 15 个肽类化合物, 分别鉴定为 pulvpeptin A (1)、nocardiotide A (2)、dianthin C (3)、longicalycinin A (4)、橙黄胡椒酰胺 (5)、橙黄胡椒酰胺乙酸酯 (6)、环-(L-酪氨酸-L-脯氨酸) (7)、环-(L-羟脯氨酸-L-亮氨酸) (8)、环-(L-亮氨酸-L-异亮氨酸) (9)、环-(L-脯氨酸-L-苯丙氨酸) (10)、环-(L-缬氨酸-L-脯氨酸) (11)、环-(L-脯氨酸-L-亮氨酸) (12)、环-(L-脯氨酸-L-异亮氨酸) (13)、环-(L-缬氨酸-L-苯丙氨酸) (14)、环-(L-缬氨酸-L-缬氨酸) (15)。所有化合物均为首次从地卷柏中分离获得, 化合物 2~4、7~15 为首次从卷柏属植物中分离获得。通过建立 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导 SH-SY5Y 细胞损伤模型, 采用 MTT 法评价分离所得化合物的神经保护活性。结果显示在 50 μmol/L 浓度下, 化合物 5、6 和 8 显示出较好的神经保护活性。本研究为地卷柏的开发利用研究提供了理论基础。

**关键词:** 地卷柏; 肽类; 化学成分; 神经保护活性

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

## Chemical constituents of peptides from *Selaginella prostrata* and their neuroprotective activities

HE Hu-lin<sup>1</sup>, HE Xi<sup>1</sup>, LYU Jing-kun<sup>3</sup>, XIE Yi<sup>1</sup>, CHEN Xiao-ming<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup>School of Chemistry and Bioengineering, Hunan University of Science and Engineering; <sup>2</sup>Hunan Provincial Engineering Research Center for Ginkgo Folium, Hunan University of Science and Engineering; <sup>3</sup>Hunan

HENGWEI Pharmaceutical Co., Ltd., Yongzhou 425100, China

**Abstract:** The peptide chemical constituents and neuroprotective activities in the whole herb of *Selaginella prostrata* were investigated. Thin-layer in situ chemical reaction oriented separation method based on ninhydrin reagent color development was used to separate and purify the compounds by positive and reversed phase silica gel column chromatography and high performance liquid chromatography. The structures of the compounds were identified by spectral data analysis and literature comparison. Fifteen peptides compounds were isolated from 95%

ethanol extract of whole herb of *S. prostrata*. They were identified as pulvpeptin A (1), nocardiotide A (2), dianthin C (3), longicalycinin A (4), aurentiamide (5), aurantiamide acetate (6), cyclo-(L-Tyr-L-Pro) (7), cyclo-(L-Hyp-L-Leu) (8), cyclo-(L-Leu-L-Ile) (9), cyclo-(L-Pro-L-Phe) (10), cyclo-(L-Val-L-Pro) (11), cyclo-(L-Pro-L-Leu) (12), cyclo-(L-Pro-L-Ile) (13), cyclo-(L-Val-L-Phe) (14), cyclo-(L-Val-L-Val) (15). All the compounds were isolated from *S. prostrata* for the first time. Moreover, compounds 2-4 and 7-15 were isolated from *Selaginella* genus for the first time. SH-SY5Y cell damage model induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was established by cell culture in vitro. The neuroprotective activity of the isolated compounds was evaluated by MTT assay. Compounds 5, 6 and 8 were showed good neuroprotective activity at the concentration of 50 μmol/L. This study provided a theoretical basis for the research on the exploitation and utilization of *S. prostrata*.

**Key words:** *Selaginella prostrata*; peptides; chemical constituents; neuroprotective activity

地卷柏 (*Selaginella prostrata* H. S. Kung) 为卷柏科卷柏属植物, 多年生直立旱生草本, 主产于贵州 (安顺)、四川 (峨眉山)、陕西 (宁陕) 和云南 (彝良) 等地, 植物资源丰富<sup>[1]</sup>。其环境适应能力强, 外观形状独特, 具有较高的观赏价值。此外, 地卷柏以全草入药, 炒炭外敷可用于收敛止血; 炖酒内服可治疗跌打损伤和闭经血瘀等症<sup>[2,3]</sup>。研究表明, 卷柏属植物主要含有黄酮类<sup>[4,5]</sup>、炔酚类<sup>[6]</sup>、生物碱类<sup>[7]</sup>和木脂素类<sup>[8]</sup>等化学成分, 药理活性包括神经保护<sup>[9]</sup>、抗肿瘤<sup>[10]</sup>、抗炎<sup>[11]</sup>、降血糖<sup>[12]</sup>和抑菌<sup>[13]</sup>等。

目前国内外对卷柏属植物化学成分和生物活性的研究主要集中在黄酮和炔酚类化合物, 对其他类型成分的研究相对较少<sup>[14]</sup>。值得注意的是, 2020 年国内研究团队首次从卷柏科植物垫状卷柏 (*S. pulvinata*) 中分离得到环肽类化合物<sup>[15]</sup>。上述发现极大丰富了卷柏科植物化学成分的多样性, 然而目前对于卷柏科植物中肽类成分的研究还十分有限, 有待进一步探究<sup>[16]</sup>。地卷柏作为卷柏属植物的成员之一, 是天然肽类成分的重要潜在来源。本课题组前期对地卷柏全草的化学成分进行了首次初步探索, 从中分离得到倍半萜、木脂素和双黄酮类化合物<sup>[3]</sup>。在持续的研究过程中, 本课题组采用茚三酮试剂显色的薄层原位化学反应方法<sup>[17-18]</sup>, 发现地卷柏中可能含有肽类成分。在此基础上, 拟采用多种色谱分离技术对粗提物中的目标肽类成分进行分离纯化, 并对所得化合物进行神经保护活性筛选, 旨在进一步阐明地卷柏的药效物质基础, 为该植物资源的合理开发利用提供参考和依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

Bruker 400 MHz 和 600 MHz 核磁共振谱仪 (德国 Bruker 公司); Agilent 6545 Q-TOF

液质联用仪（美国安捷伦公司）；ELX-800 酶标仪（美国宝特公司）；N-1100-D 型旋转蒸发仪（巩义市瑞德仪器设备有限公司）；依利特 P3700 半制备液相色谱仪（大连依利特分析仪器有限公司）；ODS 反相色谱硅胶和 YMC-Pack Pro C<sub>18</sub> 半制备色谱柱：5 μm，250 × 10 mm（日本 YMC 公司）；Sephadex LH-20（瑞典 GE Healthcare）；正相色谱硅胶和硅胶 GF<sub>254</sub> 薄层板（青岛海洋化工有限公司）。

胎牛血清和 DMEM 培养基（批号 2391583、8123131，美国 Fisher Scientific 公司）；水溶性维生素 E（批号 2208215，纯度 98%，美国 MedChem Express 公司）；过氧化氢和二甲基亚砷（批号 D143932、D103272，上海阿拉丁生化科技股份有限公司）；青霉素/链霉素和噻唑蓝四溴化铵（批号 202429、203258，上海碧云天生物技术公司）；SH-SY5Y 神经母细胞瘤细胞（中国医学科学院国家实验细胞资源共享平台）；娃哈哈纯净水（杭州娃哈哈百立食品有限公司）；乙腈、甲醇（色谱纯，美国 Tedia 公司）；石油醚、乙酸乙酯（分析纯，上海泰坦科技股份有限公司）。

## 1.2 植物材料

地卷柏于 2021 年 7 月采自中国云南省彝良县，经湖南科技学院姜红宇副教授鉴定为卷柏科卷柏属植物地卷柏 *Selaginella prostrata* 的全草，凭证标本（2021-PS-0701）保存于湖南省银杏工程技术研究中心。

## 1.3 实验方法

### 1.3.1 提取与分离

取地卷柏干燥全草 10 kg 粉碎，用 95%乙醇回流浸提 3 次，每次 3 h，提取液经减压浓缩得浸膏 1.2 kg。浸膏中加入适量水混悬，再依次用二氯甲烷、乙酸乙酯和正丁醇萃取。其中，乙酸乙酯部位（426 g）采用硅胶柱进行分离，以二氯甲烷-甲醇（100：1→5：1）梯度洗脱，经 TLC 检识合并，共得到 9 个组分（Fr1~Fr9）。取少量 Fr1~Fr9 组分样品进行薄层原位化学反应，结果显示组分 Fr5、Fr7 中存在目标成分。组分 Fr5（23.8 g）经 ODS 柱层析分离，以甲醇-水（1：4→1：0）梯度洗脱，得到 8 个组分（Fr5.1~Fr5.8）。组分 Fr5.3（2.6 g）经 Sephadex LH-20 凝胶柱（甲醇）纯化后得到 6 个组分（Fr5.3.1~Fr5.3.6），组分 Fr5.3.2（243.2 mg）通过半制备 HPLC（乙腈-水，30：70，2.0 mL/min）纯化得到化合物 **1**（6.5 mg， $t_R = 25.6$  min）和 **2**（8.2 mg， $t_R = 28.3$  min）。组分 Fr5.3.4（68.9 mg）通过重结晶得到化合物 **11**（25.5 mg）。组分 Fr5.3.5（184.8 mg）通过半制备 HPLC（甲醇-水，35：65，2.0 mL/min）纯化得到化合物 **14**（11.0 mg， $t_R = 36.7$  min）和 **15**（4.8 mg， $t_R = 42.2$  min）。组分 Fr5.6（3.2 g）经硅胶柱层析，用二氯甲烷-甲醇（80：1→3：1）梯度洗脱，得到 10 个组分（Fr5.6.1~

Fr5.6.10)。组分 Fr5.6.5 (95.6 mg) 通过半制备 HPLC (乙腈-水, 55 : 45, 2.0 mL/min) 纯化得到化合物 **5** (12.6 mg,  $t_R = 32.5$  min) 和 **6** (9.8 mg,  $t_R = 27.8$  min)。组分 Fr5.6.7 (115.8 mg) 通过半制备 HPLC (乙腈-水, 45 : 55, 2.0 mL/min) 纯化得到化合物 **7** (6.2 mg,  $t_R = 33.8$  min)。组分 Fr7 (5.5 g) 采用 ODS 反相柱进行分离, 使用甲醇-水 (30 : 70→100 : 0) 梯度洗脱, 得到 6 个组分 (Fr7.1~Fr7.6)。组分 Fr7.2 (359.4 mg) 用 Sephadex LH-20 分离, 纯甲醇洗脱, 得到 4 个组分 (Fr7.2.1~Fr7.2.4)。组分 Fr7.2.2 (94.7 mg) 通过半制备 HPLC (甲醇-水, 30 : 70, 2.0 mL/min) 得到化合物 **8** (5.2 mg,  $t_R = 24.2$  min) 和 **13** (8.1 mg,  $t_R = 38.9$  min)。组分 Fr7.3 (522.8 mg) 经硅胶柱分离, 用石油醚-乙酸乙酯 (50 : 1→3 : 1) 梯度洗脱, 得到 4 个组分 (Fr7.3.1~Fr7.3.4)。Fr7.3.2 (168.5 mg) 经 Sephadex LH-20 (甲醇) 纯化得到化合物 **9** (17.2 mg) 和 **10** (7.7 mg)。组分 Fr7.4 (615.6 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (甲醇) 纯化后, 通过半制备 HPLC (甲醇-水, 50 : 50, 2.0 mL/min) 得到化合物 **3** (14.5 mg,  $t_R = 16.8$  min) 和 **4** (8.6 mg,  $t_R = 25.2$  min)。组分 Fr7.5 (648.5 mg) 经反复硅胶柱层析后, 通过半制备 HPLC (乙腈-水, 35 : 65, 2.0 mL/min) 得到化合物 **12** (6.7 mg,  $t_R = 33.9$  min)。

### 1.3.2 薄层原位化学反应

将待测样品分别点在两块薄层硅胶板 (50 × 100 mm, 板 1 和板 2) 上, 用氯仿-甲醇 (9:1) 作为展开剂, 展开完成后取出硅胶板挥干溶剂。板 1 不做处理, 将板 2 悬于底部加有 3.0 mL 浓盐酸的耐酸、耐高温磨口玻璃缸上方, 加盖密闭后将玻璃缸置于 110 °C 条件下的烘箱内加热水解 1~2 h, 待冷却后取出板 2 挥干盐酸。随后, 向板 1 和板 2 喷洒 0.2% 茚三酮丙酮试剂, 用电吹风加热 3~5 min 显色。观察实验现象, 若板 2 显示紫红色或黄色斑点, 而板 1 在相应位置上无显色斑点, 表明该组分可能含有环肽或肽酰胺类成分<sup>[18]</sup>。

### 1.3.3 体外神经保护活性评价

采用 MTT 法筛选化合物 **1~15** (纯度均≥97%) 的神经保护活性<sup>[19]</sup>。SH-SY5Y 细胞以 DMEM 培养基辅以 10% 热灭活胎牛血清和 1% 链霉素-青霉素于 37 °C、环境 CO<sub>2</sub> 浓度为 5% 的细胞培养箱中培养。选取对数生长期细胞以  $1.2 \times 10^4$  个/孔的浓度接种于 96 孔板中 (每孔 100  $\mu$ L), 培养 24 h 后用 50  $\mu$ mol/L 的化合物或水溶性维生素 E (阳性对照) 处理 1 h, 再加入 400  $\mu$ mol/L 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 处理 4 h 后加入 20  $\mu$ L 的 MTT 溶液 (5 mg/mL), 然后在 37 °C 条件下孵育 4 h。除去培养液后, 向每孔加入 150  $\mu$ L 的 DMSO 溶解形成的甲瓩晶体, 用酶标仪测量 490 nm 处各孔的吸光度。细胞存活率 =  $[(A_{\text{实验组}} - A_{\text{空白组}}) / (A_{\text{对照组}} - A_{\text{空白组}})] \times 100\%$ , 重复实验 3 次。采用 SPSS 软件进行方差分析, 结果以平均值±标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 结构鉴定

**化合物 1** 白色无定形粉末;HR-ESI-MS: $m/z$  869.426 8[M+Na]<sup>+</sup>(calcd for C<sub>42</sub>H<sub>58</sub>N<sub>10</sub>O<sub>9</sub>Na, 869.428 0), 分子式 C<sub>42</sub>H<sub>58</sub>N<sub>10</sub>O<sub>9</sub>。 <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)  $\delta$ : 12.26 (1H, br s, 10-NH), 8.54 (1H, d,  $J=9.6$  Hz, 39-NH), 8.32 (1H, br s, 37-NH), 8.06 (1H, s, 42-NH<sub>2</sub>), 8.03 (1H, d,  $J=6.0$  Hz, 2-NH), 7.82 (1H, d,  $J=6.0$  Hz, H-6), 7.69 (1H, s, 42-NH<sub>2</sub>), 7.66 (1H, d,  $J=6.0$  Hz, H-7), 7.55 (1H, br s, H-11), 7.41 (1H, t,  $J=7.2$  Hz, H-8), 7.37 (1H, d,  $J=7.2$  Hz, 23-NH), 7.28 (1H, br s, 31-NH), 7.27 (1H, m, H-9), 5.33 (1H, dd,  $J=9.6, 1.2$  Hz, H-31), 5.26 (1H, dt,  $J=9.6, 4.2$  Hz, H-39), 5.12 (1H, q,  $J=5.4$  Hz, H-2), 4.85 (1H, dd,  $J=9.0, 4.2$  Hz, H-26), 4.61 (1H, t,  $J=7.8$  Hz, H-13), 4.58 (1H, dd,  $J=17.4, 6.0$  Hz, H-37a), 4.40 (1H, dd,  $J=10.8, 7.8$  Hz, H-18), 4.25 (1H, m, H-23), 3.86(1H, m, H-16a), 3.82 (1H, dd,  $J=17.4, 6.0$  Hz, H-37b), 3.70 (1H, dd,  $J=15.0, 4.8$  Hz, H-3a), 3.66 (1H, m, H-21a), 3.62 (1H, dd,  $J=15.0, 4.8$  Hz, H-3b), 3.38 (1H, m, H-29a), 3.32 (1H, m, H-21b), 3.31 (1H, m, H-16b), 3.21 (1H, m, H-29b), 3.03 (1H, m, H-40a), 2.71 (2H, m, H-41), 2.66 (1H, m, H-40b), 2.33 (1H, m, H-14a), 2.17 (1H, m, H-19a), 2.08 (2H, overlapped, H-15a, H-27a), 1.99 (1H, m, H-27b), 1.92 (1H, m, H-14b), 1.91 (2H, overlapped, H-19b, H-20a), 1.88 (1H, m, H-15b), 1.78 (2H, overlapped, H-20b, H-28a), 1.69 (2H, overlapped, H-28b, H-32), 1.34 (1H, m, H-33a), 1.28 (1H, m, H-33b), 1.26 (3H, d,  $J=3.6$  Hz, H-24), 1.12 (3H, d,  $J=6.6$  Hz, H-35), 0.76 (3H, t,  $J=7.2$  Hz, H-34); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)  $\delta$ : 172.7 (C-1), 57.7 (C-2), 26.2 (C-3), 109.9 (C-4), 128.8 (C-5), 118.4 (C-6), 113.2 (C-7), 122.8 (C-8), 120.9 (C-9), 138.0 (C-10), 125.4 (C-11), 175.9 (C-12), 64.3 (C-13), 30.5 (C-14), 25.9 (C-15), 48.0 (C-16), 170.6 (C-17), 65.7 (C-18), 27.1 (C-19), 25.6 (C-20), 47.7 (C-21), 172.8 (C-22), 47.6 (C-23), 17.2 (C-24), 171.4 (C-25), 62.5 (C-26), 29.6 (C-27), 25.7 (C-28), 46.8 (C-29), 173.0 (C-30), 55.6 (C-31), 28.6 (C-32), 23.8 (C-33), 11.9 (C-34), 17.0 (C-35), 169.8 (C-36), 44.6 (C-37), 173.5 (C-38), 53.7 (C-39), 28.8 (C-40), 34.0(C-41), 175.5(C-42)。以上数据与文献<sup>[15]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 **1** 为 pulvpeptinA。

**化合物 2** 淡黄色无定形粉末; HR-ESI-MS:  $m/z$  791.423 8[M+Na]<sup>+</sup> (calcd for

$C_{42}H_{56}N_8O_6Na$ , 791.421 5), 分子式  $C_{42}H_{56}N_8O_6$ 。 $^1H$  NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 7.56 (1H, d,  $J=7.8$  Hz, H-12), 7.46 (1H, d,  $J=7.8$  Hz, H-37), 7.23 (1H, d,  $J=7.8$  Hz, H-40), 7.18 (1H, d,  $J=7.8$  Hz, H-15), 7.04 (1H, s, H-17), 6.99 (1H, m, H-39), 6.97 (1H, s, H-42), 6.95 (1H, m, H-14), 6.91 (1H, m, H-38), 6.88 (1H, m, H-13), 4.38 (1H, dd,  $J=9.6, 3.6$  Hz, H-8), 4.32 (1H, q,  $J=7.2$  Hz, H-19), 4.23 (1H, d,  $J=7.8$  Hz, H-22), 4.21 (1H, d,  $J=4.8$  Hz, H-2), 3.82 (1H, t,  $J=7.2$  Hz, H-27), 3.36 (1H, t,  $J=7.8$  Hz, H-33), 3.30 (1H, dd,  $J=15.0, 3.6$  Hz, H-9a), 3.06 (1H, dd,  $J=15.0, 9.6$  Hz, H-9b), 2.83 (2H, td,  $J=8.4, 1.2$  Hz, H-34), 2.02 (1H, m, H-3), 1.98 (1H, m, H-23), 1.63 (1H, m, H-29), 1.60 (2H, m, H-28), 1.29 (2H, m, H-4), 1.18 (3H, d,  $J=7.2$  Hz, H-20), 0.94 (3H, d,  $J=6.6$  Hz, H-31), 0.93 (3H, d,  $J=6.6$  Hz, H-30), 0.91 (3H, d,  $J=6.6$  Hz, H-25), 0.89 (3H, d,  $J=6.6$  Hz, H-24), 0.86 (3H, t,  $J=7.2$  Hz, H-5), 0.85 (3H, d,  $J=7.2$  Hz, H-6);  $^{13}C$  NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 173.5 (C-1), 59.0 (C-2), 37.0 (C-3), 27.5 (C-4), 14.8 (C-5), 12.2 (C-6), 179.1 (C-7), 56.9 (C-8), 29.2 (C-9), 112.3 (C-10), 128.9 (C-11), 119.6 (C-12), 119.5 (C-13), 122.1 (C-14), 112.1 (C-15), 138.0 (C-16), 124.7 (C-17), 173.9 (C-18), 49.8 (C-19), 18.2 (C-20), 175.3 (C-21), 60.8 (C-22), 31.8 (C-23), 19.8 (C-24), 19.0 (C-25), 171.6 (C-26), 53.0 (C-27), 42.0 (C-28), 25.7 (C-29), 22.6 (C-30), 22.9 (C-31), 173.3 (C-32), 41.6 (C-33), 26.2 (C-34), 113.3 (C-35), 128.9 (C-36), 119.2 (C-37), 119.4 (C-38), 122.3 (C-39), 112.2 (C-40), 138.8 (C-41), 123.4 (C-42)。以上数据与文献<sup>[20]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **2** 为 nocardiotide A。

**化合物 3** 淡黄色无定形粉末; HR-ESI-MS:  $m/z$  699.345 2 $[M+Na]^+$  (calcd for  $C_{36}H_{48}N_6O_7Na$ , 699.347 7), 分子式  $C_{36}H_{48}N_6O_7$ 。 $^1H$  NMR (600 MHz,  $C_5D_5N$ )  $\delta$ : 10.06 (1H, br d,  $J=1.8$  Hz, 2-NH), 9.42 (1H, d,  $J=8.4$  Hz, 29-NH), 9.18 (1H, t,  $J=4.8$  Hz, 22-NH), 8.97 (1H, d,  $J=6.6$  Hz, 16-NH), 7.58 (1H, d,  $J=9.0$  Hz, 11-NH), 7.11~7.36 (5H, m, H-32, H-33, H-34, H-35, H-36), 6.99 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-5, H-9), 6.90 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-6, H-8), 5.31 (1H, m, H-29), 4.92 (1H, t,  $J=9.0$  Hz, H-11), 4.75 (1H, m, H-2), 4.69 (1H, dd,  $J=13.8, 7.2$  Hz, H-22a), 4.62 (1H, t,  $J=6.6$  Hz, H-16), 3.92 (1H, d,  $J=7.8$  Hz, H-24), 3.75 (1H, dd,  $J=12.0, 5.4$  Hz, H-30a), 3.56 (1H, m, H-27a), 3.45 (1H, m, H-22b), 3.44 (1H, t,  $J=12.6$

Hz, H-3a), 3.35 (1H, dd,  $J=12.0, 3.6$  Hz, H-30b), 3.33 (1H, m, H-27b), 3.02 (1H, dd,  $J=12.6, 10.2$  Hz, H-3b), 2.41 (1H, m, H-12), 2.30 (2H, m, H-18), 2.23 (1H, dd,  $J=11.4, 6.0$  Hz, H-25a), 2.11 (1H, m, H-17), 1.25 (3H, d,  $J=6.6$  Hz, H-14), 1.23 (2H, m, H-26), 1.13 (3H, d,  $J=6.6$  Hz, H-20), 1.10 (3H, d,  $J=6.6$  Hz, H-13), 1.02 (1H, m, H-25b), 0.85 (3H, t,  $J=7.2$  Hz, H-19);  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ )  $\delta$ : 171.0 (C-1), 55.1 (C-2), 37.8 (C-3), 126.2 (C-4), 131.2 (C-5), 116.5 (C-6), 158.2 (C-7), 116.5 (C-8), 131.2 (C-9), 173.2 (C-10), 58.4 (C-11), 31.8 (C-12), 19.2 (C-13), 19.3 (C-14), 172.2 (C-15), 61.5 (C-16), 36.4 (C-17), 25.6 (C-18), 11.5 (C-19), 16.2 (C-20), 171.0 (C-21), 44.4 (C-22), 172.5 (C-23), 61.9 (C-24), 30.0 (C-25), 21.8 (C-26), 46.7 (C-27), 171.6 (C-28), 55.5 (C-29), 38.4 (C-30), 139.0 (C-31), 129.7 (C-32), 128.8 (C-33), 126.8 (C-34), 128.8 (C-35), 129.7 (C-36)。以上数据与文献<sup>[21]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **3** 为 dianthin C。

**化合物 4** 淡黄色无定形粉末; HR-ESI-MS:  $m/z$  634.264 8 $[\text{M}+\text{Na}]^+$  (calcd for  $\text{C}_{34}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{O}_6\text{Na}$ , 634.263 6), 分子式  $\text{C}_{34}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{O}_6$ 。 $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ )  $\delta$ : 10.91 (1H, d,  $J=7.2$  Hz, 27-NH), 8.54 (1H, br s, 4-NH), 8.45 (1H, d,  $J=9.6$  Hz, 18-NH), 8.30 (1H, d,  $J=9.0$  Hz, 2-NH), 7.58 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-21, H-25), 7.35 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-22, H-24), 7.02~7.42 (10H, m, H-7, H-8, H-9, H-10, H-11, H-30, H-31, H-32, H-33, H-34), 5.35 (1H, m, H-18), 5.06 (1H, m, H-4), 4.85 (1H, dd,  $J=16.2, 9.0$  Hz, H-2a), 4.42 (1H, t,  $J=8.4$  Hz, H-13), 4.38 (1H, m, H-27), 3.96 (1H, m, H-19a), 3.86 (1H, m, H-28a), 3.81 (1H, m, H-16a), 3.63 (1H, m, H-28b), 3.62 (1H, dd,  $J=16.2, 9.0$  Hz, H-2b), 3.45 (1H, m, H-19b), 3.43 (1H, m, H-16b), 3.28 (1H, m, H-5a), 3.21 (1H, m, H-5b), 1.91 (1H, m, H-15a), 1.82 (2H, m, H-14), 1.66 (1H, m, H-15b);  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ )  $\delta$ : 170.8 (C-1), 43.7 (C-2), 171.3 (C-3), 57.2 (C-4), 36.8 (C-5), 138.6 (C-6), 129.9 (C-7), 128.9 (C-8), 126.7 (C-9), 128.9 (C-10), 129.9 (C-11), 170.8 (C-12), 60.4 (C-13), 30.6 (C-14), 23.0 (C-15), 48.9 (C-16), 171.3 (C-17), 54.4 (C-18), 35.6 (C-19), 127.6 (C-20), 130.8 (C-21), 116.5 (C-22), 158.0 (C-23), 116.5 (C-24), 130.8 (C-25), 171.3 (C-26), 57.8 (C-27), 40.2 (C-28), 140.2 (C-29), 130.3 (C-30), 129.0 (C-31), 126.9 (C-32), 129.0 (C-33), 130.3 (C-34)。以上数据与文献<sup>[22]</sup>报道

基本一致，故鉴定化合物 **4** 为 longicalycinin A。

**化合物 5** 白色无定形粉末；HR-ESI-MS:  $m/z$  425.182 7[M+Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>25</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>Na, 425.183 6)，分子式 C<sub>25</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.02~7.70 (15H, m, Ar-H)，4.79 (1H, m, H-2)，4.06 (1H, m, H-1'')，3.43 (2H, m, H-9'')，3.15 (1H, dd,  $J$  = 13.2, 6.0 Hz, H-3a)，2.98 (1H, dd,  $J$  = 13.2, 9.0 Hz, H-3b)，2.91 (1H, dd,  $J$  = 13.2, 6.0 Hz, H-2''a)，2.72 (1H, dd,  $J$  = 13.2, 9.0 Hz, H-2''b)；<sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 173.5 (C-1)，56.9 (C-2)，39.2 (C-3)，139.9 (C-4)，129.6 (C-5)，130.5 (C-6)，128.6 (C-7)，130.5 (C-8)，129.6 (C-9)，170.2 (C-1')，135.5 (C-2')，129.5 (C-3')，128.0 (C-4')，133.1 (C-5')，128.0 (C-6')，129.5 (C-7')，54.5 (C-1'')，38.1 (C-2'')，138.9 (C-3'')，129.6 (C-4'')，130.5 (C-5'')，127.5 (C-6'')，130.5 (C-7'')，129.6 (C-8'')，64.1 (C-9'')。以上数据与文献<sup>[23, 24]</sup>报道基本一致，故鉴定化合物 **5** 为橙黄胡椒酰胺。

**化合物 6** 白色无定形粉末；HR-ESI-MS:  $m/z$  467.192 9[M+Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>27</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Na, 467.194 1)，分子式 C<sub>27</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.06~7.77 (15H, m, Ar-H)，4.78 (1H, m, H-2)，4.30 (1H, m, H-1'')，3.97 (1H, dd,  $J$  = 12.0, 4.2 Hz, H-9''a)，3.89 (1H, dd,  $J$  = 12.0, 6.0 Hz, H-9''b)，3.12 (1H, dd,  $J$  = 13.8, 7.2 Hz, H-3a)，2.99 (1H, dd,  $J$  = 13.8, 9.0 Hz, H-3b)，2.85 (1H, dd,  $J$  = 13.8, 6.6 Hz, H-2''a)，2.78 (1H, dd,  $J$  = 13.8, 9.0 Hz, H-2''b)，2.00 (3H, s, OAc)；<sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 172.9 (C-1)，56.9 (C-2)，39.2 (C-3)，138.7 (C-4)，129.7 (C-5)，130.5 (C-6)，128.6 (C-7)，130.5 (C-8)，129.7 (C-9)，170.2 (C-1')，135.5 (C-2')，127.7 (C-3')，129.6 (C-4')，133.1 (C-5')，129.6 (C-6')，127.7 (C-7')，51.4 (C-1'')，38.2 (C-2'')，139.0 (C-3'')，130.4 (C-4'')，129.6 (C-5'')，128.0 (C-6'')，129.6 (C-7'')，130.4 (C-8'')，66.4 (C-9'')，173.6 (OAc)，21.0 (OAc)。以上数据与文献<sup>[23, 25]</sup>报道基本一致，故鉴定化合物 **6** 为橙黄胡椒酰胺乙酸酯。

**化合物 7** 白色片状晶体 (CH<sub>3</sub>OH)；HR-ESI-MS:  $m/z$  283.107 5[M+Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>Na, 283.105 3)，分子式 C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.05 (2H, d,  $J$  = 8.4 Hz, H-12, H-16)，6.72 (2H, d,  $J$  = 8.4 Hz, H-13, H-15)，4.37 (1H, t,  $J$  = 3.6 Hz, H-9)，4.06 (1H, dd,  $J$  = 11.2, 6.6 Hz, H-6)，3.56 (1H, m, H-3a)，3.38 (1H, m, H-3b)，3.07 (2H, m, H-10)，2.11 (1H, m, H-5a)，1.82 (2H, m, H-4)，1.22

(1H, m, H-5b) ;  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 167.0 (C-1) , 46.0 (C-3) , 22.8 (C-4) , 29.5 (C-5) , 60.2 (C-6) , 170.8 (C-7) , 58.0 (C-9) , 37.8 (C-10) , 127.7 (C-11) , 132.2 (C-12) , 116.2 (C-13) , 157.7 (C-14) , 116.2 (C-15) , 132.2 (C-16)。  
以上数据与文献<sup>[26]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **7** 为环- (*L*-酪氨酸-*L*-脯氨酸)。

**化合物 8** 白色无定形粉末; HR-ESI-MS:  $m/z$  249.120 3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$  (calcd for  $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3\text{Na}$ , 249.121 0), 分子式  $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$ 。  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 4.53 (1H, dd,  $J=10.2$ , 6.6 Hz, H-8) , 4.47 (1H, t,  $J=4.2$  Hz, H-6) , 4.18 (1H, m, H-3) , 3.67 (1H, dd,  $J=13.2$ , 4.8 Hz, H-9b) , 3.44 (1H, d,  $J=13.2$  Hz, H-9a) , 2.28 (1H, dd,  $J=13.2$ , 6.0 Hz, H-7b) , 2.10 (1H, m, H-7a) , 1.92 (2H, m, H-10b, H-11) , 1.52 (1H, m, H-10a) , 0.96 (6H, overlapped, H-12, H-13) ;  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 169.4 (C-2) , 55.0 (C-3) , 173.5 (C-5) , 59.1 (C-6) , 38.6 (C-7) , 69.5 (C-8) , 55.6 (C-9) , 39.8 (C-10) , 26.2 (C-11) , 22.6 (C-12) , 23.7 (C-13) 。以上数据与文献<sup>[27]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **8** 为环- (*L*-羟脯氨酸-*L*-亮氨酸)。

**化合物 9** 白色无定形粉末; HR-ESI-MS:  $m/z$  249.156 1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$  (calcd for  $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2\text{Na}$ , 249.157 4), 分子式  $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$ 。  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.00 (1H, br s, H-1) , 4.03 (1H, d,  $J=10.4$  Hz, H-6) , 3.96 (1H, br s, H-3) , 2.16 (1H, m, H-11) , 2.09 (2H, m, H-12a) , 1.89 (1H, dd,  $J=13.6$ , 10.0 Hz, H-7a) , 1.72 (1H, m, H-8) , 1.64 (1H, m, H-7b) , 1.48 (1H, m, H-12b) , 1.03 (3H, d,  $J=7.2$  Hz, H-14) , 0.97 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-10) , 0.96 (1H, t,  $J=7.2$  Hz, H-13) , 0.95 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-9) ;  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 167.2 (C-2) , 60.3 (C-3) , 168.7 (C-5) , 53.3 (C-6) , 43.7 (C-7) , 24.2 (C-8) , 21.3 (C-9) , 23.5 (C-10) , 38.4 (C-11) , 24.6 (C-12) , 12.0 (C-13) , 15.7 (C-14) 。以上数据与文献<sup>[28]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **9** 为环- (*L*-亮氨酸-*L*-异亮氨酸)。

**化合物 10** 白色无定形粉末; HR-ESI-MS:  $m/z$  267.110 8 $[\text{M}+\text{Na}]^+$  (calcd for  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2\text{Na}$ , 267.110 4), 分子式  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$ 。  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.28 (5H, m, H-12, H-13, H-14, H-15, H-16) , 4.46 (1H, m, H-9) , 4.10 (1H, m, H-6) , 3.56 (1H, m, H-3a) , 3.39 (1H, m, H-3b) , 3.18 (2H, m, H-10) , 2.10 (1H, m, H-5a) , 1.82 (2H, m, H-4) , 1.23 (1H, m, H-5b) ;  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 171.0 (C-1) , 46.0 (C-3) , 22.8 (C-4) , 29.4 (C-5) , 60.2 (C-6) , 167.0 (C-7) , 57.7 (C-9) , 38.3

(C-10), 137.4 (C-11), 129.5 (C-12, C-16), 131.1 (C-13, C-15), 128.1 (C-14)。  
以上数据与文献<sup>[29]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **10** 为环-(*L*-脯氨酸-*L*-苯丙氨酸)。

**化合物 11** 白色针状晶体 (CHCl<sub>3</sub>) ; HR-ESI-MS:  $m/z$  219.113 3[M+Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Na, 219.110 4), 分子式 C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 4.10 (1H, t,  $J$  = 8.0 Hz, H-2), 3.95 (1H, s, H-7), 3.55 (2H, m, H-5), 2.38 (2H, m, H-3), 2.05 (2H, m, H-4), 1.90 (1H, m, H-8), 1.07 (3H, d,  $J$  = 8.0 Hz, H-9), 0.92 (3H, d,  $J$  = 8.0 Hz, H-10); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 170.5 (C-1), 60.6 (C-2), 28.9 (C-3), 22.5 (C-4), 45.3 (C-5), 165.0 (C-6), 59.0 (C-7), 28.6 (C-8), 19.5 (C-9), 16.8 (C-10)。以上数据与文献<sup>[30]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **11** 为环-(*L*-缬氨酸-*L*-脯氨酸)。

**化合物 12** 白色无定形粉末; HR-ESI-MS:  $m/z$  233.123 7[M+Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Na, 233.126 1), 分子式 C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 4.30 (1H, m, H-5), 3.88 (1H, m, H-7), 3.65~3.47 (2H, m, H-5), 2.38 (1H, m, H-3a), 2.00 (1H, m, H-3b), 1.55~2.09 (5H, m, H-4, H-8, H-9), 1.03 (3H, d,  $J$  = 6.4 Hz, H-10), 1.00 (3H, d,  $J$  = 6.4 Hz, H-11); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 171.7 (C-1), 59.4 (C-2), 30.0 (C-3), 23.2 (C-4), 46.8 (C-5), 169.1 (C-6), 57.2 (C-7), 43.7 (C-8), 25.6 (C-9), 23.4 (C-10), 22.0 (C-11)。以上数据与文献<sup>[29]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **12** 为环-(*L*-脯氨酸-*L*-亮氨酸)。

**化合物 13** 白色无定形粉末; HR-ESI-MS:  $m/z$  233.125 3[M+Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Na, 233.126 1), 分子式 C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 5.82 (1H, s, NH), 4.08 (1H, t,  $J$  = 8.4 Hz, H-2), 3.99 (1H, br s, H-7), 3.64 (1H, m, H-5a), 3.56 (1H, m, H-5b), 2.38 (1H, m, H-8), 2.32 (1H, m, H-3a), 2.05 (2H, m, H-3b, H-4a), 1.91 (1H, m, H-4b), 1.45 (1H, m, H-9a), 1.18 (1H, m, H-9b), 1.06 (3H, d,  $J$  = 7.2 Hz, H-11), 0.95 (1H, t,  $J$  = 7.2 Hz, H-10); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 165.0 (C-1), 58.9 (C-2), 28.6 (C-3), 22.5 (C-4), 45.2 (C-5), 169.9 (C-6), 60.6 (C-7), 35.4 (C-8), 24.2 (C-9), 12.2 (C-10), 16.0 (C-11)。以上数据与文献<sup>[31]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **13** 为环-(*L*-脯氨酸-*L*-异亮氨酸)。

**化合物 14** 无色针状晶体 (CH<sub>3</sub>OH); HR-ESI-MS:  $m/z$  269.127 5[M+Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Na, 269.126 1), 分子式 C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 8.10

(1H, s, 4-NH), 7.90 (1H, s, 1-NH), 7.16~7.26 (5H, m, Ar-H), 4.21 (1H, m, H-3), 3.53 (1H, m, H-6), 3.14 (1H, dd,  $J=13.6, 4.0$  Hz, H-10a), 2.90 (1H, dd,  $J=13.6, 4.8$  Hz, H-10b), 1.70 (1H, m, H-7), 0.68 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-9), 0.29 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-8);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 166.7 (C-2), 55.1 (C-3), 166.5 (C-5), 59.4 (C-6), 31.1 (C-7), 16.3 (C-8), 18.3 (C-9), 38.0 (C-10), 136.4 (C-11), 130.3 (C-12), 128.0 (C-13), 128.0 (C-14), 128.0 (C-15), 130.3 (C-16)。以上数据与文献<sup>[32]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **14** 为环-(*L*-缬氨酸-*L*-苯丙氨酸)。

**化合物 15** 无色针状晶体 (CH<sub>3</sub>OH); HR-ESI-MS:  $m/z$  221.125 5[M+Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Na, 221.126 1), 分子式 C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 7.88 (2H, s, NH), 3.64 (2H, br s, H-2, H-2'), 2.12 (2H, m, H-3, H-3'), 0.90 (6H, d,  $J=7.2$  Hz, H-4, H-4'), 0.80 (6H, d,  $J=7.2$  Hz, H-5, H-5');  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 167.5 (C-1), 59.3 (C-2), 31.2 (C-3), 18.8 (C-4), 17.5 (C-5), 167.5 (C-1'), 59.3 (C-2'), 31.2 (C-3'), 18.8 (C-4'), 17.5 (C-5')。以上数据与文献<sup>[32]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **15** 为环-(*L*-缬氨酸-*L*-缬氨酸)。

化合物 **1~15** 的结构见图 1。

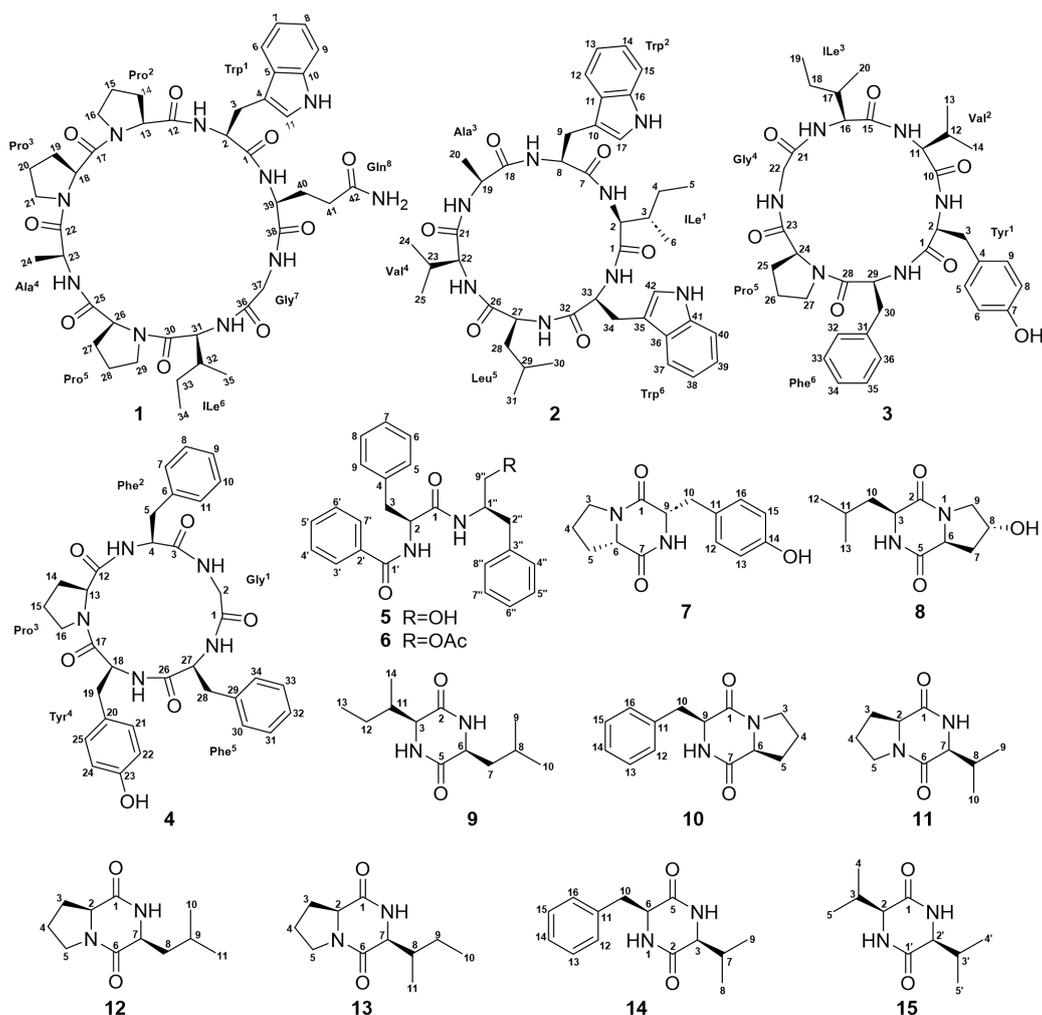


图 1 化合物 1~15 的化学结构

Fig. 1 The chemical structures of compounds 1-15

## 2.2 神经保护活性测试

体外建立  $\text{H}_2\text{O}_2$  诱导 SH-SY5Y 细胞损伤模型, 采用 MTT 法测试化合物的神经保护活性。实验结果如表 1 所示, 与对照组比较, 模型组的细胞存活率显著降低 ( $P < 0.01$ ); 与模型组相比, 化合物 5、6 和 8 在  $50 \mu\text{mol/L}$  浓度下对  $\text{H}_2\text{O}_2$  诱导的神经细胞损伤表现出良好的保护作用 ( $P < 0.001$ ), 分别使细胞存活率由  $\text{H}_2\text{O}_2$  损伤后的 ( $48.52 \pm 0.67$ )% 提升至 ( $80.24 \pm 1.52$ )%、( $78.11 \pm 0.74$ )% 和 ( $80.69 \pm 2.07$ )%, 活性强度与阳性对照水溶性维生素 E ( $84.86 \pm 1.56\%$ ) 基本相当。化合物 3 和 4 在  $50 \mu\text{mol/L}$  浓度下对  $\text{H}_2\text{O}_2$  诱导的神经细胞损伤表现出一定的保护活性 ( $P < 0.01$ ), 分别使 SH-SY5Y 细胞的存活率增加 ( $15.00\%$ ) 和 ( $11.83\%$ )。其他化合物在  $50 \mu\text{mol/L}$  浓度下对  $\text{H}_2\text{O}_2$  诱导的神经细胞损伤无明显保护效果。

表 1 化合物 1-15 对  $\text{H}_2\text{O}_2$  诱导 SH-SY5Y 细胞损伤的神经保护作用 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 1 Neuroprotective effects of compounds 1-15 on  $\text{H}_2\text{O}_2$ -induced injury in SH-SY5Y cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

化合物	细胞存活率	化合物	细胞存活率
-----	-------	-----	-------

Compound	Cell viability (%)	Compound	Cell viability (%)
对照组 Control group	100.00 ± 0	7	53.95 ± 1.88*
模型组 Model group	48.52 ± 0.67 <sup>#</sup>	8	80.69 ± 2.07***
水溶性维生素 E			
Trolox	84.86 ± 1.56***	9	49.78 ± 0.59
1	50.42 ± 0.91	10	52.45 ± 1.92
2	45.64 ± 1.34	11	50.19 ± 0.66
3	63.52 ± 0.85**	12	48.72 ± 0.37
4	60.35 ± 0.88**	13	50.64 ± 1.50
5	80.24 ± 1.52***	14	46.85 ± 0.75
6	78.11 ± 0.74***	15	47.88 ± 0.15

注：与对照组比较，<sup>#</sup> $P < 0.01$ ；与模型组比较，\* $P < 0.05$ ，\*\* $P < 0.01$ ，\*\*\* $P < 0.001$ 。

Note: Compared with control group, <sup>#</sup> $P < 0.001$ ; Compared with model group, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

### 3 讨论与结论

卷柏属植物资源丰富，化学成分类型多样，药理活性广泛，具有较大的开发空间和利用价值<sup>[14]</sup>。本研究基于茚三酮试剂显色的薄层原位化学反应导向分离方法，利用多种色谱分离技术从地卷柏 95%乙醇提取物的乙酸乙酯部位分离鉴定了 15 个肽类化合物，包括 1 个环八肽（1），2 个环六肽（2、3），1 个环五肽（4），2 个线性肽（5、6）和 9 个环二肽类化合物（7~15）。其中，化合物 2~4、7~15 为首次从卷柏属植物中分离得到，化合物 1~15 为首次从地卷柏中分离得到。化合物 5、6 和 8 对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的 SH-SY5Y 细胞损伤表现出较好的神经保护活性，细胞存活率较模型组分别增加（31.72%）、（29.59%）和（32.17%）。据文献报道，橙黄胡椒酰胺（5）和橙黄胡椒酰胺乙酸酯（6）对低氧/复氧诱导的 PC-12 细胞表现出剂量依赖性的抗氧化作用<sup>[9]</sup>。本文实验结果验证了化合物 5 和 6 的神经保护活性，提示两者对神经退行性疾病具有潜在的治疗作用。值得注意的是，目前这些活性成分的作用靶点、机制尚不明确，还需要通过进一步的体内外实验深入探讨，验证其应用的可能性。本文对地卷柏中肽类成分及其神经保护活性进行初步探索，研究结果丰富了地卷柏的化学成分种类，为进一步研究该植物的药理功效和生物活性奠定了基础，也为这一植物资源的开发利用提供参考和理论依据。

#### 参考文献

- 1 Chinese Flora Editing Committee. Flora of China(中国植物志)[M]. Beijing: Science Press, 2004, 6: 206.
- 2 Wei HJ, Wang ZW, Chen B. Eight newly recorded species of lycophytes and ferns from Hubei Province[J]. J Plant Resour Environ(植物资源与环境学报), 2021, 30: 72-74.
- 3 Jiang HY, Lv JK, Shao JH, et al. Chemical constituents from *Selaginella prostrata* H. S. Kung and their  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2024, 36: 37-43.
- 4 Zou ZX, Xu PS, Zhang GG, et al. Selagintriflavonoids with BACE1 inhibitory activity from the fern

- Selaginella doederleinii*[J].Phytochemistry,2017,134:114-121.
- 5 Zou ZX,Tan GS,Zhang GG,et al.New cytotoxic apigenin derivatives from *Selaginella doederleinii*[J].Chin Chem Lett,2017,28:931-934.
  - 6 Li W,Tang GH,Yin S,et al.Selaginellins from the genus *Selaginella*:isolation,structure,biological activity,and synthesis[J].Nat Prod Rep,2021,38:822-842.
  - 7 Zou ZX,Xu KP,Li FS,et al.A new pyrrole alkaloid from *Selaginella moellendorffii* Hieron[J].Chin Chem Lett,2013,24:114-116.
  - 8 Long HP,Tan GS,Zhu GZ,et al.Study on phenylpropanoids and lignans from *Selaginella involven*[J].Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2016,47:3773-3778.
  - 9 Long HP,Li FS,Yang ZB,et al.Peptide chemical constituents from *Selaginella involven* Spring and their protective effects on anoxic/reoxygenation-induced PC-12 cell damage[J].Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2014,26:947-951.
  - 10 Liu R,Zou H,Zou ZX,et al.Two new anthraquinone derivatives and one new triarylbenzophenone analog from *Selaginella tamariscina*[J].Nat Prod Res,2020,34:2709-2714.
  - 11 Yang JW,Pokharel YR,Kim M,et al.Inhibition of inducible nitric oxide synthase by sumaflavone isolated from *Selaginellatamariscina*[J].J Ethnopharmacol,2006,105:107-113.
  - 12 Long HP,Liu J,Xu PS,et al.Hypoglycemic flavonoids from *Selaginella tamariscina*(P.Beauv.) Spring[J].Phytochemistry,2022,195:113073.
  - 13 Zou ZX,Xu PS,Wu CR,et al.Carboxymethyl flavonoids and a chromone with antimicrobial activity from *Selaginella moellendorffii* Hieron[J].Fitoterapia,2016,111:124-129.
  - 14 Jing XD,Lv X,Wang HG,et al.Advances in research on chemical constituents and pharmacological activities of genus *Selaginella*[J].Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药),2018,29:959-963.
  - 15 Lv HW,Li YX,Zhu MD,et al.A cyclic peptide and two pairs of norlignan lignanoside epimers from *Selaginella pulvinata*[J].Fitoterapia,2020,143:104562.
  - 16 Yan XJ,Wen J,Song Y,et al.A new cyclopeptide from *Selaginella tamariscina*[J].China J Chin Mater Med(中国中药杂志),2022,47:4391-4394.
  - 17 Zhuang LW,Zhou WJ,Mao YL,et al.Isolation and purification of diketopiperazines with antialgal activity from marine macroalgae[J].Mar Sci Bull(海洋通报),2022,41:703-712.
  - 18 Zhou J,Tan NH.A new method for thin-layer chemical identification of plant ring skin and its application in phytochemical studies[J].Chin Sci Bull(科学通报),2000,45:1047-1051.
  - 19 Liao ZD,Xu FQ,Wu DL,et al.A new benzophenone isolated from fibrous roots of *Anemarrhena asphodeloides*[J].China J Chin Mater Med(中国中药杂志),2019,44:1392-1396.
  - 20 Ibrahim AH,Attia EZ,Hajjar D,et al.New cytotoxic cyclic peptide from the marine sponge-associated *Nocardiosis* sp.UR67[J].Mar Drugs,2018,16:290.
  - 21 Hsieh PW,Chang FR,Wu CC,et al.New cytotoxic cyclic peptides and dianthramide from *Dianthus superbus*[J].J Nat Prod,2004,67:1522-1527.
  - 22 Hsieh PW,Chang FR,Wu CC,et al.Longicalycinin A,a new cytotoxic cyclic peptide from *Dianthus superbus* var. *longicalycinus*(Maxim.) Will.[J].Chem Pharm Bull,2005,53:336-338.
  - 23 Yang GZ,Shi K,Gan F,et al.Isolation and Identification of phenolic chemical constituents from *Euphorbia hirta* L.[J].J South-cent Minzu Univ:Nat Sci(中南民族大学学报:自科版),2017,36:43-46.
  - 24 Fang FK,Tang H,Liu BS,et al.Study on chemical constituents of sponge *Agelas mauritiana* from the South China Sea[J].J Pharm Pract(药学实践杂志),2015,33:242-245.
  - 25 Zan K,Chen XQ,Fu Q,et al.Chemical ingredients isolated from the aerial parts of *Artemisia anomala*[J].Chin

Pharm Sci,2010,19:95-99.

- 26 Lin J,Lin XP,Ai W,et al.Study of metabolites from a deepsea actinomycete strain *Actinomadura* sp. 01119[J].Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2014,26:1026-1029.
- 27 Chen RQ,Luo XC,Lin HW,et al.Secondary metabolites of a marine sponge associated *Streptomyces parvulus* 162432[J].Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2023,54:4104-4110.
- 28 Xu M,Yu ZX,Zhang B,et al.Chemical constituents with  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities from seeds of *Morinda citrifolia*(Noni)[J].China J Chin Mater Med(中国中药杂志),2022,47:3519-3525.
- 29 Kuang QX,Tan L,Luo Y,et al.Chemical constituents of the endophytic fungus *Fusarium proliferatum* from *Ligusticum chuanxiong* Hort.[J].Chin J Appl Environ Biol(应用与环境生物学报),2021,27:1318-1325.
- 30 Zhang HQ,Deng GG,Wang JZ,et al.Study on constituents from cultures of fungus *Phellinus lonicerinus*[J].Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2021,33:1866-1870.
- 31 Sun JB,Wang SP,Wang J,et al.Study on chemical constituents of sponge *Mycale* sp. from the South China Sea[J].J Pharm Prat(药学实践杂志),2017,35:308-314.
- 32 Yao FZ.Study on the chemical constituents of the rhizome of *Kaempferia galanga* L.[D].Guangzhou:Guangdong Pharmaceutical University(广东药科大学),2018.

收稿日期: 2023-12-26                      接受日期:

基金项目: 湖南省教育厅科学研究优秀青年项目(23B0751); 湖南省自然科学基金项目(2022JJ30272, 2020JJ5204)

\*通信作者 E-mail: chenxiaoming3012@163.com