

醴肠化学成分及其抗沙门菌 T3SS 的活性成分研究

张晓春, 鲁春华*

山东大学齐鲁医学院, 山东大学药学院 天然药物化学研究所, 山东 济南 250012

摘要: 目的 研究醴肠 *Eclipta prostrata* 的化学成分及其抗沙门菌 III 型分泌系统 (type III secretion system, T3SS) 活性。方法 综合运用 Sephadex LH-20 凝胶、正相硅胶、HPLC、中压反相等柱色谱方法进行分离纯化, MS、NMR、UV、IR 等技术进行结构鉴定, 采用 SDS-PAGE 法检测化合物 1~18 抗沙门菌 T3SS 毒力蛋白分泌活性。结果 从醴肠全草提取物中分离到 18 个化合物, 分别鉴定为香豌豆酚 (1)、3'-O-甲基香豌豆酚 (2)、蟛蜞菊内酯 (3)、异去甲蟛蜞菊内酯 (4)、木犀草素 (5)、5'-(4-羟基-1-丁炔-1-基)[2,2'-联噻吩]-5-醛 (6)、 α -三联噻吩 (7)、 α -三联噻吩甲醛 (8)、 α -三联噻吩甲醇 (9)、5-甲氧亚甲基-2,2':5',2''-三联噻吩 (10)、5-羟甲基-(2,2':5',2'')-三联噻吩乙酯 (11)、[2,2':5',2''-三联噻吩]-5-基甲基-2-甲基丁酯 (12)、5-羟甲基-(2,2':5',2'')-噻吩当归酸酯 (13)、5-羟甲基-(2,2':5',2'')-噻吩巴豆酸酯 (14)、(Z)-[2,2'-联噻吩]-5-甲醇-5'-(3-丁烯-1-炔基)-2-巴豆酸酯 (15)、(E)-5'-(3-丁烯-1-炔基)-[2,2'-联噻吩]-5-甲醇-2-甲基巴豆酸酯 (16)、5'-(3-丁烯-1-炔基)-[2,2'-联噻吩]-5-甲醇-5-乙酯 (17) 和 5'-羟甲基-5-(3-丁烯-1-炔基)-2,2'-联噻吩 (18)。结论 化合物 6、15、16 首次从植物醴肠中分离得到。化合物 5 具有较强的沙门菌 T3SS 毒力蛋白分泌抑制活性, 化合物 1、3、4 具有一定的抗 T3SS 活性, 为醴肠民间用作排脓、止血、治热痢以及抗菌抗感染药物提供了科学的理论基础。

关键词: 醴肠; 抗沙门菌 T3SS 活性; 抗毒力药物; 噻吩; 黄酮; 5'-(4-羟基-1-丁炔-1-基)[2,2'-联噻吩]-5-醛; (Z)-[2,2'-联噻吩]-5-甲醇-5'-(3-丁烯-1-炔基)-2-巴豆酸酯; 木犀草素

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2022)16-4940-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.16.003

Chemical constituents from whole herbs of *Eclipta prostrata* and active components inhibit T3SS of *Salmonella*

ZHANG Xiao-chun, LU Chun-hua

Institute of Natural Medicinal Chemistry, School of Pharmaceutical Sciences, Cheeloo College of Medicine, Shandong University, Jinan 250012, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents and anti-T3SS activity from whole herbs of *Eclipta prostrata*. **Methods** The chemical constituents were systematically separated and purified by Sephadex LH-20, Silica gel, MPLC and HPLC column chromatography, and identified based on their MS and NMR data. The anti-T3SS activities of compounds 1—18 on *Salmonella* were detected by SDS-PAGE assay. **Results** Eighteen compounds were obtained from the extracts of *E. prostrata* and identified as orobol (1), 3'-O-methyl orobol (2), wedelolactone (3), isodemethyl wedelolactone (4), luteolin (5), 5'-(4-hydroxy-1-butyn-1-yl)[2,2'-bithiophene]-5-carboxaldehyde (6), α -terthienyl (7), α -formylterthienyl (8), α -terthienyl methanol (9), 5-(methoxymethyl)-2,2':5',2''-terthiophene (10), 5-hydroxymethyl-(2,2':5',2'')-terthienyl acetate (11), [2,2':5',2''-terthiophen]-5-yl methyl 2-methylbutanoate (12), 5-hydroxymethyl-(2,2':5',2'')-terthienyl angelate (13), 5-hydroxymethyl-(2,2':5',2'')-terthienyl tiglate (14), (Z)-5'-(3-buten-1-ynyl)-[2,2'-bithiophene]-5-methanol-2-methylcrotonate (15), (E)-5'-(3-buten-1-ynyl)-[2,2'-bithiophene]-5-methanol-2-methylcrotonate (16), 5'-(3-buten-1-yn-1-yl)-[2,2'-bithiophene]-5-methanol-5-acetate (17), and 5'-hydroxymethyl-5-(3-buten-1-ynyl)-2,2'-bithiophene (18), respectively. **Conclusion** Compounds 6, 15 and 16 are isolated from this plant for the first time. Compound 5 has significant anti-T3SS activity against the effector protein secretion, meanwhile, compounds 1, 3 and 4 showed certain activity, which provide a theoretical basis for the folk use of *E. prostrata* as purulent, hemostatic, heat dysentery, antibacterial and anti-infective drugs.

收稿日期: 2022-02-02

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (22177062); 教育部创新团队项目 (IRT_17R68)

作者简介: 张晓春 (1996—), 女, 在读博士生, 药学专业。E-mail: 2267837415@qq.com

*通信作者: 鲁春华 (1975—), 女, 教授, 天然药物化学专业。E-mail: ahua0966@sdu.edu.cn

Key words: *Eclipta prostrata* L.; anti-T3SS of *Salmonella* activity; anti-virulence drugs; thiophene; flavone; 5'-(4-hydroxy-1-butyn-1-yl) [2,2'-bithiophene]-5-carboxaldehyde; (Z)-5'-(3-buten-1-ynyl)-[2,2'-bithiophene]-5-methanol-2-methylcrotonate; luteolin

抗毒力疗法是治疗感染的一种新策略,在不影响细菌生长的情况下,干扰并抑制病原菌的毒力因子,降低其致病性。这些毒力因子主要参与细菌定殖、黏附,突破机体防御屏障,在宿主细胞内生存、增殖、扩散。当前抗毒力药物研究方向主要包括阻止细菌生物被膜形成,阻止细菌黏附,抑制分泌系统合成、组装等^[1-2]。目前已发现 9 种细菌分泌系统,其中 III 型分泌系统 (type III secretion system, T3SS) 是包括沙门菌在内的许多革兰阴性致病菌最重要的毒力系统,成为抗毒力药物重要的靶标^[3]。因此, T3SS 抑制剂的发现已成为治疗感染的一种新途径,在耐药性方面具有比传统抗生素更大的优势^[4]。药用植物具备来源广、化学成分多样、方便易得等多种优势,为抗毒力药物的发现提供了天然宝库,是 T3SS 抑制剂的重要来源^[5]。Zhang 等^[6]研究发现唇形科植物百里香中分离得到的百里香酚能够抑制沙门菌对 HeLa 细胞的侵袭,保护小鼠免受沙门菌感染,是一种潜在的 T3SS 抑制剂; Vikram 等^[7]对柑橘中的柚皮素进行研究,发现能够抑制沙门菌毒力岛 SPI-1, 显著降低沙门菌毒力和致病性。从药用植物中筛选抗沙门菌 T3SS 活性成分,已被证实是一种有效的治疗感染、对抗细菌耐药的方法。

本课题组前期对 50 种缅甸蔬菜进行了抗毒力活性筛选,发现醴肠全草提取物能够显著地抑制沙门菌 T3SS 毒力蛋白的分泌,是抗毒力药物发现的潜在资源,值得深入研究。醴肠 *Eclipta prostrata* L. 是菊科醴肠属植物,一年生草本,又名墨旱莲。分布于热带、亚热带地区,在我国广泛分布,是一种常见中草药^[8]。已有研究表明,醴肠提取物及化合物具有排脓、止血、治热痢以及抗菌抗感染等功效^[9-11]。为深入研究醴肠中通过抗毒力而抗感染抗菌的活性成分,本实验对醴肠全草提取物进行了成分的分离,共得到 18 个化合物,分别鉴定为香豌豆酚 (orobol, **1**)、3'-O-甲基香豌豆酚 (3'-O-methyl orobol, **2**)、蟛蜞菊内酯 (wedelolactone, **3**)、异去甲蟛蜞菊内酯 (isodemethyl wedelolactone, **4**)、木犀草素 (luteolin, **5**)、5'-(4-羟基-1-丁炔-1-基)[2,2'-联噻吩]-5-醛 (5'-(4-hydroxy-1-butyn-1-yl)[2,2'-bithiophene]-5-carboxaldehyde, **6**)、 α -三联噻吩 (α -terthienyl, **7**)、 α -三联噻吩甲醛 (α -formyl-

terthienyl, **8**)、 α -三联噻吩甲醇 (α -terthienyl methanol, **9**)、5-甲氧亚甲基-2,2':5',2''-三联噻吩 [5-(methoxymethyl)-(2,2':5',2'')-terthiophene, **10**]、5-羟甲基-(2,2':5',2'')-三联噻吩乙酯 [5-hydroxymethyl-(2,2':5',2'')-terthienyl acetate, **11**]、[(2,2':5',2'')-三联噻吩]-5-基甲基-2-甲基丁酯 ([2,2':5',2'')-terthiophen]-5-ylmethyl 2-methylbutanoate, **12**)、5-羟甲基-(2,2':5',2'')-噻吩当归酸酯 [5-hydroxymethyl-(2,2':5',2'')-terthienyl angelate, **13**]、5-羟甲基-(2,2':5',2'')-噻吩巴豆酸酯 [5-hydroxymethyl-(2,2':5',2'')-terthienyl tiglate, **14**]、(Z)-[2,2'-联噻吩]-5-甲醇-5'-(3-丁烯-1-炔基)-2-巴豆酸酯 ((Z)-5'-(3-buten-1-ynyl)-[2,2'-bithiophene]-5-methanol-2-methylcrotonate, **15**)、(E)-5'-(3-丁烯-1-炔基)-[2,2'-联噻吩]-5-甲醇-2-甲基巴豆酸酯 ((E)-5'-(3-buten-1-ynyl)-[2,2'-bithiophene]-5-methanol-2-methylcrotonate, **16**)、5'-(3-丁烯-1-炔基)-[2,2'-联噻吩]-5-甲醇-5-乙酯 (5'-(3-buten-1-yn-1-yl)-[2,2'-bithiophene]-5-methanol-5-acetate, **17**) 和 5'-羟甲基-5-(3-丁烯-1-炔基)-2,2'-联噻吩 [5'-hydroxymethyl-5-(3-buten-1-ynyl)-2,2'-bithiophene, **18**]。其中化合物 **6**、**15**、**16** 首次从植物醴肠中分离得到;抗毒力活性筛选发现化合物 **1**、**3**、**4** 和 **5** 具有抑制沙门菌 T3SS 毒力蛋白分泌的活性,其中化合物 **5** 表现出最强的抗毒力活性。

1 仪器与材料

400 MHz、600 MHz 核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司); SBS-100 数控计滴自动部分收集器 (上海沪西分析仪器厂有限公司); 分析型高效液相色谱仪 (美国 Agilent 科技公司); 制备型高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司); 中压液相色谱仪 (瑞士 BUCHI 公司); BSA-2245W 型电子天平 (德国 Sartorius 公司); TU-1810 型紫外可见分光光度计 (北京普析通用仪器公司); 凝胶成像仪 (美国 Bio-Rad 公司); 电泳仪 (美国 Bio-Rad 公司); 氘代试剂 (上海新铂化学有限公司); 色谱级乙腈、甲醇 (广州艾欣科技有限公司); 薄层色谱硅胶板 (烟台江友硅胶开发有限公司); 葡聚糖凝胶 (GE Healthcare 公司); 三氯乙酸 (TCA, Aladdin 公司); cytosporone B (CsnB, 上海毕得医药公司, CAS 321661-62-5; 产品编码 BP4078); 反相硅胶 (德国

Merck 公司); 实验用分析纯溶剂(天津富宇试剂公司); ESI-MS 质谱仪(美国 Finnigan 公司)。

供试菌株: 减毒鼠伤寒沙门菌(*Salmonella enterica* Serovar Typhimurium UK-1_χ8956) 由美国亚利桑那州立大学惠赠, -80 °C 保存于本实验室。

药材采集自山东省郓城县城南, 由中国科学院昆明植物研究所杨雪飞研究员鉴定为醴肠 *E. prostrata* L. 全草。

2 方法

2.1 提取与分离

取干燥醴肠全草 1.0 kg, 粉碎后用 95% 乙醇水提取液浸泡, 提取 3 次, 合并提取液, 35 °C 减压浓缩至干得到乙醇粗提物。用 95% 甲醇水溶液 200 mL 溶解粗提物后, 加入 100 mL 石油醚进行萃取, 共萃取 4~5 次, 合并萃取液, 35 °C 减压浓缩至干, 得到石油醚萃取物和甲醇萃取物。甲醇萃取物用醋酸乙酯-水(1:1) 萃取 3~4 次, 35 °C 减压浓缩至干得到醋酸乙酯萃取物和水萃取物。

醋酸乙酯萃取物(13.5 g) 经葡聚糖凝胶柱色谱分离, 甲醇洗脱, 合并洗脱液得 Fr. A~D。Fr. B(2.65 g) 先后经正相硅胶柱色谱、葡聚糖凝胶柱色谱分离共得到 7 个组分 Fr. B1~B7。Fr. B5(100.7 mg) 经正相硅胶柱色谱以石油醚-醋酸乙酯(20:1→0:1) 进行梯度洗脱, 根据薄层色谱(TLC) 检测结果, 合并洗脱液得到化合物 4(4.5 mg)。Fr. B6(38.4 mg) 经正相硅胶柱色谱, 以石油醚-醋酸乙酯(100:1→10:1) 梯度洗脱, 得到化合物 6(1.9 mg); Fr. B7(11.5 mg) 经正相硅胶柱色谱, 石油醚-醋酸乙酯(50:1→5:1) 分离得到化合物 3(4.5 mg)。

组分 Fr. D(2.25 g) 再次进行葡聚糖凝胶柱色谱分离, 二氯甲烷-甲醇(1:2) 洗脱, 根据 TLC 检测结果得到 Fr. D1~D3。Fr. D1(559.3 mg) 经中压反相柱(RP-18) 色谱分离, 以 10%~100% 乙腈梯度洗脱共得到 3 个组分 Fr. D1-1~D1-3。Fr. D1-2(56.8 mg) 经正相硅胶柱色谱以石油醚-醋酸乙酯(20:1→0:1) 进行梯度洗脱, 根据 TLC 检测合并相同组分, 得到化合物 1(4.7 mg)、5(12.4 mg)。Fr. D3(112.6 mg) 经葡聚糖凝胶柱色谱(甲醇) 分离, 合并相同流分共得到 3 个组分 Fr. D3-1~D3-3, Fr. D3-2(28.5 mg) 经正相硅胶柱色谱分离, 石油醚-醋酸乙酯(10:1) 梯度洗脱, 得到化合物 2(3.6 mg)。

取石油醚萃取物(8.8 g) 经葡聚糖凝胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇(1:2) 洗脱, 根据 TLC

检测结果, 合并为 Fr. 1~3。Fr. 2(3.0 g) 经葡聚糖凝胶柱色谱, 二氯甲烷-甲醇(1:2) 洗脱, 合并为 Fr. 2A~2E。Fr. 2C(67.7 mg) 经正相硅胶柱色谱以石油醚-丙酮(100:1→10:1) 梯度洗脱, 得到 Fr. 2C1~2C4 共 4 个组分。Fr. 2C3(60.3 mg) 经半制备型 HPLC [乙腈-水(85:15), 4 mL/min] 分离, 得到化合物 13(3.3 mg, t_R = 13.2 min)、14(4.5 mg, t_R = 12.7 min)、18(2.3 mg, t_R = 15.1 min)、11(3.2 mg, t_R = 8.1 min) 和 10(1.5 mg, t_R = 8.8 min)。Fr. 2D(278.4 mg) 经葡聚糖凝胶柱色谱, 二氯甲烷-甲醇(1:2) 洗脱, 得 9 个组分, 即 Fr. 2D1~2D9。Fr. 2D7(23.5 mg) 经正相硅胶柱色谱以石油醚-醋酸乙酯(1:0→10:1) 洗脱, 根据 TLC 检测结果, 得到化合物 8(2.3 mg)。Fr. 2D8(32.3 mg) 经正相硅胶柱色谱以石油醚-醋酸乙酯(1:0→0:1) 洗脱, 合并得化合物 7(4.6 mg) 和 9(3.5 mg)。

Fr. 3(556.9 mg) 经正相硅胶柱色谱以石油醚-醋酸乙酯(100:1→10:1) 梯度洗脱, 得 Fr. 3A~3C。Fr. 3B 经半制备型 HPLC [乙腈-水(80:20), 4 mL/min] 分离, 得化合物 17(3.3 mg, t_R = 6.1 min)、15(3.2 mg, t_R = 12.3 min)、16(1.9 mg, t_R = 13.5 min) 和 12(2.2 mg, t_R = 15.6 min)。

2.2 活性筛选^[12]

利用温度变化诱导鼠伤寒沙门菌 T3SS 毒力蛋白 SipA、B、C、D 分泌, 以 TCA-丙酮(-20 °C 保存) 沉淀毒力蛋白, 将蛋白变性后进行 SDS-PAGE 检测, 筛选能够抑制毒力蛋白分泌的化合物。具体方法: 将 28 °C 过夜培养的 *S. enterica* Serovar Typhimurium UK-1_χ8956 用添加 L-阿拉伯糖(0.2%) 的 LB 培养基稀释 100 倍, 加入样品(终浓度为 100 μmol/L) 后, 在 37 °C、220 r/min 条件下培养 5~6 h, 以加入 DMSO 组作为对照组, 加入 CsnB 的作为阳性对照组。在 4 °C 离心后从上清液中获得分泌蛋白, 加入 100% TCA 在冰上放置 30 min 使蛋白沉淀, 在 4 °C、12 000 r/min 离心 10 min, 控干 TCA 后, 加入 400 μL 冰丙酮洗涤。在 12 000 r/min 离心 15 min, 倒掉上清, 待丙酮挥发干后加入 20 μL 的 1× loading buffer, 在 95 °C 恒温加热 5 min 使蛋白变性, 取蛋白样品 8 μL 进行 SDS-PAGE 检测。

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 1: 黄色粉末; ESI-MS m/z 287.2 [$M+H$]⁺, 确定相对分子质量为 286; 分子式为 C₁₅H₁₀O₆;

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.02 (1H, s, H-2), 7.02 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-2'), 6.86 (1H, dd, $J = 8.2$, 1.8 Hz, H-6'), 6.83 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5'), 6.33 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 6.21 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 180.8 (C-4), 164.5 (C-7), 163.5 (C-5), 158.3 (C-9), 153.4 (C-2), 145.4 (C-4'), 144.8 (C-3'), 123.4 (C-3), 122.4 (C-1'), 120.3 (C-6'), 116.0 (C-2'), 114.9 (C-5'), 104.9 (C-10), 98.7 (C-6), 93.4 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **1** 为香豌豆酚。

化合物 **2**: 黄色粉末; ESI-MS m/z 301.4 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 确定相对分子质量为 300; 分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.11 (1H, s, H-2), 7.18 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2'), 7.0 (1H, dd, $J = 8.2$, 2.0 Hz, H-6'), 6.88 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5'), 6.37 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 6.25 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6), 3.91 (3H, s, 3'- OCH_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 180.8 (C-4), 164.9 (C-7), 162.1 (C-5), 158.3 (C-9), 153.6 (C-2), 147.4 (C-3'), 146.5 (C-4'), 123.3 (C-3), 122.4 (C-1'), 121.5 (C-6'), 114.8 (C-5'), 112.6 (C-2'), 104.8 (C-10), 98.8 (C-6), 93.4 (C-8), 55.1 (3'- OCH_3)。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **2** 为 3'- O -甲基香豌豆酚。

化合物 **3**: 黄色粉末; ESI-MS m/z 315.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 确定相对分子质量为 314; 分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{O}_7$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.14 (1H, s, H-10), 7.59 (1H, s, H-13), 6.67 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6), 6.65 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 3.72 (3H, s, 7'- OCH_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 166.4 (C-7), 161.5 (C-1), 159.4 (C-9), 156.8 (C-5), 156.8 (C-3), 150.8 (C-15), 147.7 (C-11), 146.7 (C-12), 115.8 (C-14), 106.5 (C-10), 103.6 (C-2), 100.1 (C-13), 99.0 (C-8), 98.9 (C-4), 92.4 (C-6), 55.9 (7'- OCH_3)。以上数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 **3** 为螳螂菊内酯。

化合物 **4**: 黄色粉末; ESI-MS m/z 301.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 确定相对分子质量为 300; 分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_8\text{O}_7$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.15 (1H, s, H-10), 7.60 (1H, s, H-13), 6.69 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 6.68 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 163.4 (C-7), 160.5 (C-1), 159.3 (C-9), 156.8 (C-3), 156.7 (C-5), 150.8 (C-15), 147.7 (C-11), 146.6 (C-12), 115.8 (C-14), 106.6 (C-10), 103.6 (C-2), 100.0 (C-13), 99.4 (C-8), 98.9 (C-4), 93.7 (C-6)。以上数据与文献报

道基本一致^[14], 故鉴定化合物 **4** 为异去甲基螳螂菊内酯。

化合物 **5**: 黄色粉末; ESI-MS m/z 287.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 确定相对分子质量为 286; 分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.29 (1H, dd, $J = 8.2$, 2.2 Hz, H-6'), 7.27 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.81 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-5'), 6.43 (1H, s, H-3), 6.33 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.10 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 182.4 (C-4), 164.9 (C-9), 164.7 (C-2), 161.8 (C-5), 158.0 (C-7), 149.6 (C-4'), 145.6 (C-3'), 122.3 (C-1'), 118.9 (C-6'), 115.4 (C-5'), 112.7 (C-2'), 103.9 (C-10), 102.4 (C-3), 98.7 (C-6), 93.6 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 **5** 为木犀草素。

化合物 **6**: 灰白色粉末; ESI-MS m/z 263.1 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 确定相对分子质量为 262; 分子式为 $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}_2\text{S}_2$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 9.86 (1H, s, 5'-CHO), 7.67 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-3), 7.23 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-4), 7.20 (1H, d, $J = 3.8$ Hz, H-3'), 7.10 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H-4'), 3.85 (2H, dd, $J = 10.7$, 5.1 Hz, H-9), 2.76 (2H, dd, $J = 11.1$, 5.3 Hz, H-8); $^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 146.5 (C-5'), 140.3 (C-2), 137.2 (C-2'), 134.3 (C-4), 126.9 (C-4'), 125.0 (C-3'), 124.3 (C-3), 122.4 (C-5), 93.4 (C-7), 74.8 (C-6), 60.9 (C-9), 24.2 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 **6** 为 5'-(4-羟基-1-丁炔-1-基) [2,2'-联噻吩]-5-醛。

化合物 **7**: 黄色粉末; ESI-MS m/z 249.4 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 确定相对分子质量为 248; 分子式为 $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{S}_3$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.18 (2H, dd, $J = 3.6$, 1.0 Hz, H-3, 3''), 7.23 (2H, dd, $J = 5.1$, 1.1 Hz, H-5, 5''), 7.08 (2H, s, H-3', 4'), 7.03 (2H, dd, $J = 5.1$, 3.6 Hz, H-4, 4''); $^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 137.1 (C-2, 2''), 136.2 (C-2', 5'), 127.9 (C-4, 4''), 124.5 (C-5, 5''), 124.3 (C-3', 4'), 123.7 (C-3, 3'')。以上数据与文献报道基本一致^[17], 故鉴定化合物 **7** 为 α -三联噻吩。

化合物 **8**: 棕黄色粉末; ESI-MS m/z 277.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 确定相对分子质量为 276; 分子式为 $\text{C}_{13}\text{H}_8\text{OS}_3$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 9.86 (1H, s, H-6), 7.68 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-4), 7.29 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-5''), 7.27 (1H, d, $J = 3.8$ Hz, H-3), 7.25 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H-3''), 7.24 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H-3'), 7.14 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H-4'), 7.06 (1H, dd, $J = 5.0$, 3.7

Hz, H-4''); ^{13}C -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 182.4 (C-6), 146.8 (C-2), 141.6 (C-5), 139.2 (C-2''), 137.4 (C-4), 136.4 (C-5'), 134.5 (C-2'), 128.1 (C-4''), 126.9 (C-5''), 125.4 (C-3''), 124.7 (C-4'), 124.5 (C-3'), 124.0 (C-3)。以上数据与文献报道基本一致^[18], 故鉴定化合物 **8** 为 α -三联噻吩甲醛。

化合物 **9**: 棕黄色粉末; ESI-MS m/z 279.1 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 确定相对分子质量为 278; 分子式为 $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{OS}_3$; ^1H -NMR (400 MHz, acetone- d_6) δ : 7.23 (1H, d, $J = 5.1$ Hz, H-5''), 7.18 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-3), 7.08 (1H, d, $J = 3.8$ Hz, H-3'), 7.06 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H-4'), 7.04 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-3''), 7.03 (1H, dd, $J = 5.1, 3.8$ Hz, H-4''), 6.92 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-4), 4.81 (2H, s, H-6); ^{13}C -NMR (400 MHz, acetone- d_6) δ : 143.1 (C-5), 137.4 (C-2), 137.1 (C-2''), 136.3 (C-5'), 136.1 (C-2'), 127.9 (C-4''), 126.2 (C-4), 124.3 (C-3'), 124.3 (C-4'), 124.3 (C-5''), 123.8 (C-3), 123.3 (C-3''), 60.2 (C-6)。以上数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 **9** 为 α -三联噻吩甲醇。

化合物 **10**: 棕黄色粉末; ESI-MS m/z 293.4 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 确定相对分子质量为 292; 分子式为 $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{OS}_3$; ^1H -NMR (400 MHz, acetone- d_6) δ : 7.46 (1H, dd, $J = 5.1, 1.0$ Hz, H-5''), 7.31 (1H, dd, $J = 0.8, 3.6$ Hz, H-3), 7.23 (1H, d, $J = 3.8$ Hz, H-4'), 7.20 (1H, d, $J = 3.8$ Hz, H-3'), 7.17 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-3''), 7.11 (1H, dd, $J = 5.0, 3.6$ Hz, H-4''), 7.01 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-4), 4.60 (2H, s, H-6), 3.35 (3H, s, H-7); ^{13}C -NMR (100 MHz, acetone- d_6) δ : 144.2 (C-5'), 141.2 (C-5), 137.3 (C-2), 136.1 (C-2''), 136.0 (C-2'), 128.1 (C-4''), 127.2 (C-4), 125.0 (C-5''), 124.5 (C-3'), 124.4 (C-4'), 124.0 (C-3), 123.3 (C-3''), 68.5 (C-6), 56.9 (C-7)。以上数据与文献报道基本一致^[19], 故鉴定化合物 **10** 为 5-甲氧亚甲基-2,2':5',2''-三联噻吩。

化合物 **11**: 棕黄色粉末; ESI-MS m/z 321.4 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 确定相对分子质量为 320; 分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_2\text{S}_3$; ^1H -NMR (400 MHz, acetone- d_6) δ : 7.47 (1H, dd, $J = 5.1, 1.0$ Hz, H-5''), 7.33 (1H, d, $J = 3.6, 1.0$ Hz, H-3''), 7.23 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H-3'), 7.23 (1H, d, $J = 3.8$ Hz, H-4'), 7.19 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-3), 7.13 (1H, d, $J = 3.7$ Hz, H-4), 7.12 (1H, dd, $J = 5.1, 3.6$ Hz, H-4''), 5.25 (2H, s, H-6), 2.06 (3H, s, H-8); ^{13}C -NMR (100 MHz, acetone- d_6) δ : 170.1 (C-7), 138.0 (C-5), 137.3 (C-2), 136.5 (C-5'), 136.3 (C-2'),

136.2 (C-2''), 129.3 (C-4), 128.2 (C-4''), 125.1 (C-5''), 124.8 (C-3'), 124.6 (C-4'), 124.1 (C-3''), 123.4 (C-3), 60.0 (C-6), 19.9 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[18], 故鉴定化合物 **11** 为 5-羟甲基-(2,2':5',2'')-三联噻吩乙酯。

化合物 **12**: 棕黄色粉末; ESI-MS m/z 363.1 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 确定相对分子质量为 362; 分子式为 $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_2\text{S}_3$; ^1H -NMR (400 MHz, acetone- d_6) δ : 7.45 (1H, d, $J = 5.1$ Hz, H-5''), 7.32 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-3''), 7.23 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H-4'), 7.23 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H-3'), 7.19 (1H, d, $J = 3.7$ Hz, H-3), 7.13 (1H, d, $J = 3.7$ Hz, H-4), 7.11 (1H, dd, $J = 5.1, 3.7$ Hz, H-4''), 5.29 (2H, s, H-6), 2.46 (1H, m, H-8), 1.71 (2H, m, H-9), 1.14 (2H, t, $J = 3.5$ Hz, H-10), 0.88 (3H, d, $J = 4.4$ Hz, H-11); ^{13}C -NMR (100 MHz, acetone- d_6) δ : 175.5 (C-7), 138.3 (C-5), 136.5 (C-5'), 136.5 (C-2''), 135.6 (C-2), 135.6 (C-2'), 129.1 (C-4), 128.2 (C-4''), 124.8 (C-3'), 124.8 (C-5''), 124.6 (C-4'), 124.1 (C-3''), 123.3 (C-3), 59.9 (C-6), 40.6 (C-8), 26.5 (C-9), 16.0 (C-10), 10.9 (C-11)。以上数据与文献报道基本一致^[20], 故鉴定化合物 **12** 为 [2,2':5',2'']-三联噻吩]-5-甲基-2-甲基丁酯。

化合物 **13**: 棕黄色粉末; ESI-MS m/z 361.5 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 确定相对分子质量为 360; 分子式为 $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_2\text{S}_3$; ^1H -NMR (400 MHz, acetone- d_6) δ : 7.46 (1H, d, $J = 5.1$ Hz, H-5''), 7.32 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-3''), 7.22 (1H, d, $J = 3.8$ Hz, H-3'), 7.22 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H-4'), 7.20 (1H, d, $J = 3.7$ Hz, H-3), 7.16 (1H, d, $J = 3.7$ Hz, H-4), 7.11 (1H, dd, $J = 5.0, 3.6$ Hz, H-4''), 6.19 (1H, qd, $J = 7.2, 1.4$ Hz, H-4'''), 5.36 (2H, s, H-1'''), 1.98 (3H, dd, $J = 7.2, 1.5$ Hz, H-5'''), 1.89 (3H, s, H-6'''); ^{13}C -NMR (100 MHz, acetone- d_6) δ : 166.9 (C-2'''), 138.2 (C-5), 138.1 (C-4''), 137.7 (C-2'), 136.5 (C-2''), 136.3 (C-2), 135.6 (C-5'), 129.1 (C-4), 128.2 (C-4''), 127.4 (C-3'''), 125.1 (C-5''), 124.7 (C-4'), 124.6 (C-3'), 124.1 (C-3''), 123.4 (C-3), 59.9 (C-1'''), 19.8 (C-6'''), 15.1 (C-5''')。以上数据与文献报道基本一致^[20], 故鉴定化合物 **13** 为 5-羟甲基-(2,2':5',2'')-噻吩当归酸酯。

化合物 **14**: 棕黄色粉末; ESI-MS m/z 361.5 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 确定相对分子质量为 360; 分子式为 $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_2\text{S}_3$; ^1H -NMR (400 MHz, acetone- d_6) δ : 7.45 (1H, dd, $J = 5.1, 0.9$ Hz, H-5''), 7.31 (1H, dd, $J = 3.6,$

0.8 Hz, H-3''), 7.22 (1H, d, $J = 3.8$ Hz, H-3'), 7.22 (1H, d, $J = 3.8$ Hz, H-4'), 7.19 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-3), 7.14 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-4), 7.11 (1H, dd, $J = 5.0, 3.6$ Hz, H-4''), 6.91 (1H, qd, $J = 7.0, 1.3$ Hz, H-4'''), 5.33 (2H, s, H-1'''), 1.83 (3H, t, $J = 1.0$ Hz, H-6''') 1.81 (3H, dd, $J = 7.0, 0.9$ Hz, H-5'''); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, acetone- d_6) δ : 166.8 (C-2'''), 138.3 (C-5), 137.7 (C-2'), 137.7 (C-4'''), 136.5 (C-2''), 136.3 (C-2), 135.6 (C-5'), 129.1 (C-4), 128.2 (C-3'''), 128.1 (C-4''), 124.7 (C-4'), 124.7 (C-5''), 124.6 (C-3'), 124.0 (C-3''), 123.4 (C-3), 60.2 (C-1'''), 13.5 (C-5'''), 11.3 (C-6'''). 以上数据与文献报道基本一致^[21], 故鉴定化合物 **14** 为 5-羟甲基-(2,2':5',2'')-噻吩巴豆酸酯。

化合物 **15**: 棕黄色粉末; ESI-MS m/z 329.1 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 确定相对分子质量为 328; 分子式为 $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_2\text{S}_2$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, acetone- d_6) δ : 7.22 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-3), 7.22 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H-3'), 7.22 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H-4'), 7.15 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-4), 6.90 (1H, dd, $J = 7.0, 1.4$ Hz, H-4'''), 6.17 (1H, dd, $J = 17.5, 11.3$ Hz, H-3''), 5.77 (1H, dd, $J = 17.5, 1.9$ Hz, H-4''a), 5.65 (1H, dd, $J = 11.3, 1.9$ Hz, H-4''b), 5.34 (2H, s, H-1'''), 1.80 (3H, dd, $J = 7.0, 1.0$ Hz, H-5'''), 1.83 (3H, t, H-6'''); $^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, acetone- d_6) δ : 166.7 (C-2'''), 139.1 (C-5), 137.7 (C-4'''), 133.4 (C-5'), 133.3 (C-2'), 129.1 (C-4), 128.2 (C-3'''), 127.1 (C-4''), 124.5 (C-4'), 124.4 (C-3'), 124.1 (C-3), 122.1 (C-2), 116.7 (C-3''), 93.0 (C-2''), 82.1 (C-1''), 60.1 (C-1'''), 13.5 (C-5'''), 11.2 (C-6'''). 以上数据与文献报道基本一致^[22], 故鉴定化合物 **15** 为 (Z)-[2,2'-联噻吩]-5-甲醇-5'-(3-丁烯-1-炔基)-2-巴豆酸酯。

化合物 **16**: 棕黄色粉末; ESI-MS m/z 329.1 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 确定相对分子质量为 328; 分子式为 $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_2\text{S}_2$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, acetone- d_6) δ : 7.23 (1H, d, $J = 3.1$ Hz, H-3), 7.22 (1H, d, $J = 3.8$ Hz, H-3'), 7.22 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H-4'), 7.17 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-4), 6.17 (1H, dd, $J = 17.5, 11.3$ Hz, H-3''), 6.13 (1H, dd, $J = 7.4, 1.4$ Hz, H-4'''), 5.77 (1H, dd, $J = 17.5, 1.9$ Hz, H-4''a), 5.65 (1H, dd, $J = 11.3, 1.9$ Hz, H-4''b), 5.36 (2H, s, H-1'''), 1.98 (3H, dd, $J = 7.2, 1.5$ Hz, H-5'''), 1.88 (3H, m, H-6'''); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, acetone- d_6) δ : 166.8 (C-2'''), 138.2 (C-5), 138.1 (C-4'''), 133.4 (C-5'), 133.3 (C-2'), 129.2 (C-4), 127.4

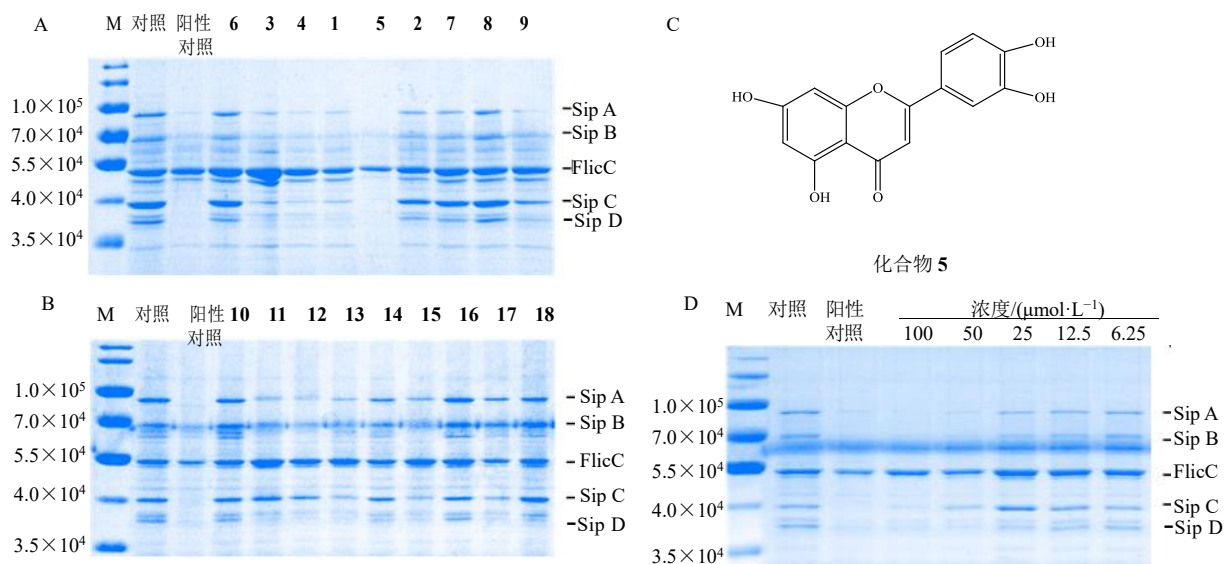
(C-3'''), 127.1 (C-4''), 124.1 (C-3), 124.1 (C-3'), 124.0 (C-4'), 121.6 (C-2), 116.7 (C-3''), 93.0 (C-2''), 82.5 (C-1''), 59.8 (C-1'''), 19.8 (C-6'''), 15.0 (C-5'''). 以上数据与文献报道基本一致^[23], 故鉴定化合物 **16** 为 (E)-5'-(3-丁烯-1-炔基)-[2,2'-噻吩]-5-甲醇-2-甲基巴豆酸酯。

化合物 **17**: 棕黄色粉末; ESI-MS m/z 289.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 确定相对分子质量为 288; 分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_2\text{S}_2$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, acetone- d_6) δ : 7.22 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H-3'), 7.22 (1H, d, $J = 3.8$ Hz, H-4'), 7.21 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-4), 7.13 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-3), 6.17 (1H, dd, $J = 17.6, 11.3$ Hz, H-3''), 5.76 (1H, dd, $J = 17.5, 2.0$ Hz, H-4''a), 5.65 (1H, dd, $J = 11.3, 2.0$ Hz, H-4''b), 5.25 (2H, s, H-6), 2.05 (3H, s, H-8); $^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, acetone- d_6) δ : 170.0 (C-7), 138.8 (C-5), 133.6 (C-5'), 133.3 (C-2'), 129.3 (C-4), 127.1 (C-4''), 124.1 (C-3), 124.1 (C-3'), 124.0 (C-4'), 121.6 (C-2), 116.7 (C-3''), 92.9 (C-2''), 82.7 (C-1''), 59.9 (C-6), 19.8 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[24], 故鉴定化合物 **17** 为 5'-(3-丁烯-1-炔基)-[2,2'-联噻吩]-5-甲醇-5-乙酯。

化合物 **18**: 棕黄色粉末; ESI-MS m/z 247.1 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 确定相对分子质量为 246; 分子式为 $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{OS}_2$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, acetone- d_6) δ : 7.21 (1H, d, $J = 3.8$ Hz, H-3), 7.17 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H-3'), 7.17 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H-4'), 6.94 (1H, d, $J = 3.7$ Hz, H-4), 6.16 (1H, dd, $J = 17.6, 11.3$ Hz, H-3''), 5.84 (1H, dd, $J = 11.3, 2.0$ Hz, H-4''a), 5.76 (1H, dd, $J = 17.6, 2.0$ Hz, H-4''b), 4.78 (2H, s, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, acetone- d_6) δ : 147.1 (C-5), 146.9 (C-5'), 139.2 (C-2'), 135.7 (C-2), 133.3 (C-3), 127.0 (C-4''), 125.0 (C-4), 124.1 (C-3'), 123.4 (C-4'), 116.7 (C-3''), 92.8 (C-2''), 82.5 (C-1''), 59.0 (C-6)。以上数据与文献报道基本一致^[25], 故鉴定化合物 **18** 为 5'-羟甲基-5-(3-丁烯-1-炔基)-2,2'-联噻吩。

3.2 抗 T3SS 活性筛选结果

通过 SDS-PAGE 检测沙门菌毒力蛋白分泌情况, 筛选化合物 **1**~**18** 的抗 T3SS 毒力蛋白分泌活性, 发现化合物 **5** 对毒力蛋白 (SipA、B、C、D) 的分泌表现出明显的抑制作用, 化合物 **1**、**3**、**4** 表现出一定的抑制作用。浓度梯度实验结果表明 (图 1), 化合物 **5** 对毒力蛋白分泌的抑制作用呈浓度相关性。在 100 $\mu\text{mol/L}$ 时, 显著抑制毒力蛋白的分泌;



A-化合物 1~9 的活性筛选 B-化合物 10~18 的活性筛选 C-化合物 5 的结构 D-化合物 5 浓度相关性抑制毒力蛋白 Sip A、B、C、D 的分泌; FliC-沙门菌鞭毛蛋白; M-Marker

A-inhibitory results of compounds 1~9 B-inhibitory results of compounds 10~18 C-chemical structure of compound 5 D-compound 5 inhibited the secretion of SPI-1 effectors in a dose-dependent manner. SipA/B/C/D SPI-1 effector proteins; FliC-flagellar filament protein; M-marker

图 1 SDS-PAGE 法检测化合物 1~18 对沙门菌 T3SS 毒力蛋白的分泌抑制活性

Fig. 1 Secretion inhibition of compounds 1-18 on salmonella T3SS virulence protein detected by SDS-PAGE

25 $\mu\text{mol/L}$ 时, 对毒力蛋白的分泌仍有一定的抑制, 且不影响鞭毛蛋白 FliC 的分泌。因此, 化合物 5 可作为 T3SS 的抑制剂继续研究。

4 讨论

应用多种色谱分离方法和核磁、质谱等技术从醴肠全草提取物中分离鉴定了 18 个单体化合物的结构, 化合物 6、15、16 为首次从该植物中分离得到; 利用 SDS-PAGE 法对化合物 1~18 进行 T3SS 抑制活性筛选, 发现化合物 1、3~5 具有抗沙门菌 T3SS 的活性, 其中化合物 5 具有较强的抗 T3SS 活性。本研究结果丰富了醴肠中化学结构的多样性, 并为抗病毒药物的开发提供活性先导了化合物, 为药用植物的开发和利用提供了理论基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] Dickey S W, Cheung G Y C, Otto M. Different drugs for bad bugs: Antivirulence strategies in the age of antibiotic resistance [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16(7): 457-471.
- [2] Allen R C, Popat R, Diggle S P, et al. Targeting virulence: Can we make evolution-proof drugs? [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2014, 12(4): 300-308.
- [3] Keyser P, Eloffson M, Rosell S, et al. Virulence blockers as alternatives to antibiotics: Type III secretion inhibitors against Gram-negative bacteria [J]. *J Intern Med*, 2008, 264(1): 17-29.
- [4] Hussain S, Ouyang P, Zhu Y K, et al. Type 3 secretion system 1 of *Salmonella typhimurium* and its inhibitors: A novel strategy to combat salmonellosis [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2021, 28(26): 34154-34166.
- [5] Thomford N E, Senthane D A, Rowe A, et al. Natural products for drug discovery in the 21st century: Innovations for novel drug discovery [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(6): 1578.
- [6] Zhang Y, Liu Y, Qiu J Z, et al. The herbal compound thymol protects mice from lethal infection by *Salmonella typhimurium* [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 1022.
- [7] Vikram A, Jesudhasan P R, Jayaprakasha G K, et al. Citrus flavonoid represses *Salmonella* pathogenicity island 1 and motility in *S. typhimurium* LT2 [J]. *Int J Food Microbiol*, 2011, 145(1): 28-36.
- [8] Feng L, Zhai Y Y, Xu J, et al. A review on traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Eclipta prostrata* (L.) L [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 245: 112109.
- [9] Le D D, Nguyen D H, Ma E S, et al. PTP1B inhibitory and anti-inflammatory properties of constituents from *Eclipta prostrata* L. [J]. *Biol Pharm Bull*, 2021, 44(3): 298-304.
- [10] Liu Q M, Zhao H Y, Zhong X K, et al. *Eclipta prostrata*

- L. phytochemicals: Isolation, structure elucidation, and their antitumor activity [J]. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50(11): 4016-4022.
- [11] Shrawani, Verma K. Phytochemical and antimicrobial activity of methanolic leaf extract of *Eclipta prostrata* L. [J]. *Int J Life Sci Pharm Res*, 2022, 12(3): L103-108.
- [12] Li J F, Sun W Y, Guo Z X, et al. Fusaric acid modulates type three secretion system of *Salmonella enterica* serovar typhimurium [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 449(4): 455-459.
- [13] El-Sohly H N, Joshi A, Li X C, et al. Flavonoids from *Maclura tinctoria* [J]. *Phytochemistry*, 1999, 52(1): 141-145.
- [14] Bhargava K K, Krishnaswamy N R, Seshadri T R. Isolation of desmethylwedelolactone and its glucoside from *Eclipta-Alba* [J]. *Indian J Chem*, 1970, 8(7): 664.
- [15] 陈海永, 周长新, 楼宜嘉, 等. 四方蒿化学成分的研究 [J]. *中国中药杂志*, 2005, 30(20): 1589-1591.
- [16] Yu S J, Zhang J S, He H, et al. Thiophene enantiomers from the aerial parts of *Eclipta prostrata* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2021, 23(8): 745-753.
- [17] Naik S K, Gurushanthaiah M, Raju N G, et al. Extraction of bio-active compounds of *Eclipta Alba* through GC-MS analysis [J]. *Res J Pharm Biol Chem Sci*, 2018, 9(2): 297-302.
- [18] Das B, Chakravarty A K. Ecliptal, a new terthienyl aldehyde from *Eclipta alba* [J]. *Indian J Chem Sect B*, 1991, 30: 1052-1053.
- [19] Xi F M, Li C T, Han J, et al. Thiophenes, polyacetylenes and terpenes from the aerial parts of *Eclipta prostrata* [J]. *Bioorg Med Chem*, 2014, 22(22): 6515-6522.
- [20] Tewtrakul S, Subhadhirasakul S, Tansakul P, et al. Antiinflammatory constituents from *Eclipta prostrata* using RAW264.7 macrophage cells [J]. *Phytother Res*, 2011, 25(9): 1313-1316.
- [21] Tewtrakul S, Subhadhirasakul S, Cheenpracha S, et al. HIV-1 protease and HIV-1 integrase inhibitory substances from *Eclipta prostrata* [J]. *Phytother Res*, 2007, 21(11): 1092-1095.
- [22] Singh P, Sharma A K, Joshi K C, et al. A further dithienylacetylene from *Eclipta erecta* [J]. *Phytochemistry*, 1985, 24(3): 615-616.
- [23] Singh P, Bhargava S. A dithienylacetylene ester from *Eclipta erecta* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(8): 2883-2884.
- [24] Hymete A, Rohloff J, Kjøsen H, et al. Acetylenic thiophenes from the roots of *Escinops ellenbeckii* from Ethiopia [J]. *Nat Prod Res*, 2005, 19(8): 755-761.
- [25] Ahmad V U, Alam N, Qaisar M. Acetylenic thiophenes from *Blumea obliqua* [J]. *Phytochemistry*, 1998, 49(1): 259-261.

[责任编辑 王文倩]