

穿心草吡啶类化学成分及抗炎活性研究

刘 娇^{1,2}, 张海新², 韩 玉^{1,2}, 林春玉², 张 涛^{2*}, 邹忠梅^{1,2*}

1. 沈阳药科大学, 辽宁 沈阳 110016

2. 中国医学科学院北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193

摘要: 目的 研究穿心草 *Canscora lucidissima* 全草中吡啶类成分。方法 运用硅胶柱色谱、MCI 柱色谱、半制备 HPLC 及重结晶等多种分离方法对穿心草 95%乙醇提取物进行分离纯化, 根据理化性质以及波谱数据对分离的单体化合物进行结构鉴定, 对获得的化合物采用 Griess 法测定抗炎活性。结果 从穿心草中共分离得到 18 个化合物, 分别为 1-羟基-3,5-二甲氧基吡啶 (1)、1-羟基-3,7-二甲氧基吡啶 (2)、1,5-二羟基-3-甲氧基吡啶 (3)、1,3-二羟基-5-甲氧基吡啶 (4)、1,3,7-三羟基-6-甲氧基吡啶 (5)、5-羟基-1,3-二甲氧基吡啶 (6)、1,6-二羟基-3,7-二甲氧基吡啶 (7)、1,5-二羟基-3,6-二甲氧基吡啶 (8)、1,3,5-三羟基吡啶 (9)、3,7,8-三羟基-1-甲氧基吡啶 (10)、1,3,7-三羟基吡啶 (11)、1,3,7,8-四羟基吡啶 (12)、1,3,5,8-四羟基吡啶 (13)、1,3,6-三羟基-5-甲氧基吡啶 (14)、1,5,6-三羟基-3-甲氧基吡啶 (15)、1,3,6,7-四羟基吡啶 (16)、1,7,8-三羟基-3-甲氧基吡啶 (17)、1,5,8-三羟基-3-甲氧基吡啶 (18)。化合物 15 和 17 能够显著降低脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 刺激的小鼠单核巨噬细胞白血病细胞 RAW264.7 中一氧化氮 (nitric oxide, NO) 的释放, 在 50 $\mu\text{mol/L}$ 时其抑制率分别为 89.85%、69.69%。结论 化合物 2、4~7、10、11、17 为首次从穿心草属植物中分离得到, 化合物 8、9、14~16 为首次从该植物中发现。化合物 15 和 17 表现一定的抗炎活性。

关键词: 穿心草; 吡啶; 抗炎活性; 1-羟基-3,7-二甲氧基吡啶; 1,3-二羟基-5-甲氧基吡啶; 1,5,6-三羟基-3-甲氧基吡啶

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2023)23-7723-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.23.014

Chemical constituents and biological activities of xanthenes from *Canscora lucidissima*

LIU Jiao^{1,2}, ZHANG Hai-xin², HAN Yu^{1,2}, LIN Chun-yu², ZHANG Tao², ZOU Zhong-mei^{1,2}

1. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union College, Beijing 100193, China

Abstract: Objective To study the xanthenes in *Canscora lucidissima*. **Methods** The 95% ethanol extract of *C. lucidissima* was separated and purified by silica gel, MCI, semi-preparative HPLC and other chromatographic separation methods, and the structure of the isolates were identified according to the physical and chemical properties as well as spectral data. The anti-inflammatory activity of the obtained compounds was determined by Griess method. **Results** A total of 18 compounds were identified as 1-hydroxy-3,5-dimethoxyxanthone (1), 1-hydroxy-3,7-dimethoxyxanthone (2), 1,5-dihydroxy-3-methoxyxanthone (3), 1,3-dihydroxy-5-methoxyxanthone (4), 1,3,7-trihydroxy-6-methoxyxanthone (5), 5-hydroxy-1,3-dimethoxyxanthone (6), 1,6-dihydroxy-3,7-dimethoxyxanthone (7), 1,5-dihydroxy-3,6-dimethoxyxanthone (8), 1,3,5-trihydroxyxanthone (9), 1-methoxy-3,7,8-trihydroxyxanthone (10), 1,3,7-trihydroxyxanthone (11), 1,3,7,8-tetrahydroxyxanthone (12), 1,3,5,8-tetrahydroxyxanthone (13), 1,3,6-trihydroxy-5-methoxyxanthone (14), 1,5,6-trihydroxy-3-methoxyxanthone (15), 1,3,6,7-tetrahydroxyxanthone (16), 1,7,8-trihydroxy-3-methoxyxanthone (17) and 1,5,8-trihydroxy-3-methoxyxanthone (18). Compounds 15 and 17 significantly reduced the release of nitric oxide from lipopolysaccharide-stimulated mouse monocyte macrophage leukemia cells (RAW264.7), with inhibition rates of

收稿日期: 2023-07-22

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82074010); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目 (2022-I2M-1-017)

作者简介: 刘 娇 (1999—), 女, 硕士研究生, 研究方向为天然药物化学。E-mail: L15174269066@163.com

*通信作者: 邹忠梅, 研究员, 从事天然药物研究。E-mail: zmzou@implad.ac.cn

张 涛, 副研究员, 研究方向为天然药物化学。E-mail: tzhang@implad.ac.cn

89.85% and 69.69% at 50 $\mu\text{mol/L}$. **Conclusion** Among them, compounds **2**, **4—7**, **10**, **11** and **17** are isolated from the genus *Canscora* for the first time, and **8**, **9** and **14—16** are first discovered from this plant. Compounds **15** and **17** exhibited mild anti-inflammatory activity.

Key words: *Canscora lucidissima* (Lévl. et Vant.) Hand. -Mazz.; xanthone; anti-inflammatory activity; 1-hydroxy-3,7-dimethoxyxanthone; 1,3-dihydroxy-5-methoxyxanthone; 1,5,6-trihydroxy-3-methoxyxanthone

穿心草 *Canscora lucidissima* (Lévl. et Vant.) Hand. -Mazz. 为龙胆科 (Gentianaceae) 穿心草属 *Canscora* Lam. 一年生直立分枝草本植物, 生于石灰岩山坡较阴湿的岩壁或石缝中, 广泛分布于贵州、广西等地。其性凉, 微甘微苦。根据《广西中草药》中记载: “穿心草理气, 止痛, 止咳。治肺热咳嗽, 心胃气痛, 毒蛇咬伤”^[1]。作为壮族、仫佬族等少数民族的常用药材, 穿心草用于治疗黄疸型肝炎、胃炎、跌打内伤等。穿心草中主要含有呋喃、黄酮、三萜等化学成分, 其中呋喃类成分是其特征成分, 目前已分离得到 20 余个呋喃类化合物^[2-4]。此类化合物具有多种生物活性, 如抗炎、镇静、抗氧化、抗菌等^[5-10]。本实验针对穿心草中呋喃类化合物进行研究, 共从中分离得到 18 个呋喃类化合物, 分别鉴定为 1-羟基-3,5-二甲氧基呋喃 (1-hydroxy-3,5-dimethoxyxanthone, **1**)、1-羟基-3,7-二甲氧基呋喃 (1-hydroxy-3,7-dimethoxyxanthone, **2**)、1,5-二羟基-3-甲氧基呋喃 (1,5-dihydroxy-3-methoxyxanthone, **3**)、1,3-二羟基-5-甲氧基呋喃 (1,3-dihydroxy-5-methoxyxanthone, **4**)、1,3,7-三羟基-6-甲氧基呋喃 (1,3,7-trihydroxy-6-methoxyxanthone, **5**)、5-羟基-1,3-二甲氧基呋喃 (5-hydroxy-1,3-dimethoxyxanthone, **6**)、1,6-二羟基-3,7-二甲氧基呋喃 (1,6-dihydroxy-3,7-dimethoxyxanthone, **7**)、1,5-二羟基-3,6-二甲氧基呋喃 (1,5-dihydroxy-3,6-dimethoxyxanthone, **8**)、1,3,5-三羟基呋喃 (1,3,5-trihydroxyxanthone, **9**)、3,7,8-三羟基-1-甲氧基呋喃 (1-methoxy-3,7,8-trihydroxyxanthone, **10**)、1,3,7-三羟基呋喃 (1,3,7-trihydroxyxanthone, **11**)、1,3,7,8-四羟基呋喃 (1,3,7,8-tetrahydroxyxanthone, **12**)、1,3,5,8-四羟基呋喃 (1,3,5,8-tetrahydroxyxanthone, **13**)、1,3,6-三羟基-5-甲氧基呋喃 (1,3,6-trihydroxy-5-methoxyxanthone, **14**)、1,5,6-三羟基-3-甲氧基呋喃 (1,5,6-trihydroxy-3-methoxyxanthone, **15**)、1,3,6,7-四羟基呋喃 (1,3,6,7-tetrahydroxyxanthone, **16**)、1,7,8-三羟基-3-甲氧基呋喃 (1,7,8-trihydroxy-3-methoxyxanthone, **17**)、1,5,8-三羟基-3-甲氧基呋喃 (1,5,8-trihydroxy-

3-methoxyxanthone, **18**)。其中化合物 **2**、**4—7**、**10**、**11** 和 **17** 为首次从穿心草属植物中分离得到, 化合物 **8**、**9** 和 **14—16** 为首次从穿心草中发现。对分离鉴定的 18 个化合物进行抗炎活性筛选发现: 化合物 **15** 和 **17** 通过抑制脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的 RAW264.7 细胞 NO 的生成, 表现一定的抗炎活性。

1 仪器与材料

Bruker AM 600 型核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); Waters 2535 型 semi-PHPLC (配置 2489 型 UV 检测器, 美国 Waters 公司); YMC-Pack ph 色谱柱、YMC-Pack ODS-A 色谱柱 (250 mm $\times$ 10 mm, 5 μm , 日本 YMC 公司); EyeLA OSB-2100 型旋转蒸发仪 (日本东京理化公司); 柱色谱用硅胶 (60~100、100~200、200~300 目); 薄层色谱用硅胶 GF₂₅₄ (青岛海洋化工厂); 真空隔膜泵 (德国 ILMVAC 公司); SHB-B 型循环水式真空泵 (郑州长城科工贸有限公司)。色谱甲醇、乙腈 (美国 Thermo Fisher 公司); 常规试剂均为分析纯 (北京化工厂); MCO-18AIC 二氧化碳培养箱 (日本 SANYO 公司); BX63 倒置显微镜 (日本 Olympus 公司); YZB/京 0024-2005 超净工作台 (北京东联哈尔仪器有限公司); H1 型多功能酶标仪 (美国 Biotek 公司); DYML-S50A-3 高压蒸汽灭菌锅 (北京勤诚亦信科技有限公司); 磷酸缓冲液 (PBS, 思拓凡生物科技有限公司); 一氧化氮 (NO) 检测试剂盒 (批号 011020200325, 上海碧云天生物技术有限公司); 胎牛血清 (批号 10099-141, 美国 Thermo Fisher 公司); DMEM 高糖培养基 (批号 11965-092, 美国 Thermo Fisher 公司); 地塞米松 (dexamethasone, DEX, 批号 50-02-2, 美国 Sigma-Aldrich 公司); LPS (批号 057M4013V, 美国 Sigma 公司); 小鼠单核巨噬细胞白血病细胞 RAW 264.7, 购于中国医学科学院基础医学研究所国家实验细胞资源共享平台。

穿心草于 2019 年 8 月购自广西省玉林市玉州区偏冷中药材购销部, 经广西中医药研究院中药资源研究所黄云峰研究员鉴定为龙胆科穿心草属植物

穿心草 *C. lucidissima* (Lévl. et Vant.) Hand. -Mazz. 干燥全草。标本 (SCI-NCL006382) 现存于中国医学科学院药用植物研究所国家中药化合物库。

2 方法

2.1 提取分离

穿心草全草 30 kg, 切段后用 95%乙醇加热回流提取 2 次, 每次 2 h, 合并提取液, 减压浓缩, 得浸膏 5 kg, 提取率为 16.67%。取 95%乙醇浸膏 4.3 kg, 用石油醚萃取后得到浸膏 583 g。取石油醚部位 Fr. A (480 g) 进行硅胶柱色谱分离, 以石油醚-丙酮 (100:0~0:100) 梯度洗脱, 经过重结晶 (二氯甲烷-甲醇 1:1) 方法得到化合物 **1** (280 mg) 和 **2** (200 mg)。其余流分通过 TLC 合并相似成分得到 Fr. A₁ (208 g)、Fr. A₂ (120 g)、Fr. A₃ (49 g)、Fr. A₄ (85 g) 共 4 个流分。Fr. A₃ (49 g) 经硅胶柱色谱分离, 以石油醚-丙酮 (100:0~0:100) 梯度洗脱, 通过 TLC 合并相似流分得到 Fr. A_{3.1} (10 g)、Fr. A_{3.2} (25 g)、Fr. A_{3.3} (3 g) 共 3 个亚组分。将其中 Fr. A_{3.1} (10 g)、Fr. A_{3.2} (25 g) 分别通过 MCI 柱色谱除去色素分为 Fr. A_{3.1.1} (3.5 g)、Fr. A_{3.1.2} (1.7 g)、Fr. A_{3.2.1} (3.8 g)、Fr. A_{3.2.2} (7.8 g)。Fr. A_{3.1.1} (3.5 g) 经半制备 HPLC (85%甲醇) 得化合物 **3** (8 mg) 和 **4** (6 mg)。Fr. A_{3.2.1} (3.8 g) 进行硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇 (100:0~0:100) 梯度洗脱, 通过 TLC 合并得到 Fr. A_{3.2.1.1} (0.5 g)、Fr. A_{3.2.1.2} (1.4 g)、Fr. A_{3.2.1.3} (0.5 g) 共 3 个亚流分。Fr. A_{3.2.1.2} (1.4 g) 经半制备 HPLC (32%乙腈-0.1%甲酸) 得化合物 **5** (3.5 mg)、**6** (3 mg)、**7** (16 mg)、**8** (6 mg)、**9** (90 mg)、**10** (18 mg) 和 **11** (59 mg)。Fr. A_{3.2.1.2.2} (0.4 g) 经半制备 HPLC (35%乙腈-0.1%甲酸) 得化合物 **12** (18 mg)、**13** (168 mg)、**14** (25 mg)、**15** (82 mg) 和 **16** (29 mg)。Fr. A_{3.2.2} (7.8 g) 进行硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇 (100:0~0:100) 梯度洗脱, 通过 TLC 合并得到 Fr. A_{3.2.2.1} (0.2 g)、Fr. A_{3.2.2.2} (0.5 g)、Fr. A_{3.2.2.3} (1.2 g)、Fr. A_{3.2.2.4} (1.0 g) 共 4 个亚流分。Fr. A_{3.2.2.1} (0.2 g) 经半制备 HPLC (80%乙腈-0.1%甲酸) 得化合物 **17** (12 mg) 和 **18** (10 mg)。

2.2 活性测试

采用 LPS 刺激小鼠巨噬细胞 RAW264.7, 检测待测化合物对 NO 释放量的影响。实验设置对照组、LPS (10 ng/mL) 模型组、化合物 (50、25 μmol/L) 给药组, 以 DEX (10 μmol/L) 为阳性对照。取对数生长期的 RAW264.7 细胞以 2×10⁶ 个/mL 接种于 96

孔板中, 每孔加 100 μL 细胞悬液, 随后加入 DEX、不同浓度化合物和 LPS, 在 CO₂ 细胞孵育箱中培养 24 h 后, 吸取 50 μL 细胞培养上清液到新的 96 孔板中, 分别加入 Griess I 和 Griess II 各 50 μL, 摇床上振荡 10 min 使其充分反应, 于 540 nm 波长处测定各孔吸光度 (A) 值, 最后根据标准曲线计算出每孔 NO 含量。实验重复 3 次, 每组设置 3 个平行复孔, 结果取平均值, 所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 **1**: 黄色针状结晶 (二氯甲烷-甲醇 1:1), mp 167~168 °C。HR-ESI-MS m/z : 271.061 3 [M-H]⁻ (计算值 271.060 6, C₁₅H₁₁O₅⁻), 分子式 C₁₅H₁₂O₅。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 12.82 (1H, s, 1-OH), 7.80 (1H, dd, J = 7.8, 1.8 Hz, H-8), 7.29 (1H, t, J = 7.8 Hz, H-7), 7.22 (1H, dd, J = 7.8, 1.8 Hz, H-6), 6.55 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-4), 6.35 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-2), 4.02 (3H, s, 3-OMe), 3.88 (3H, s, 5-OMe); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 166.8 (C-1), 97.7 (C-2), 163.4 (C-3), 92.9 (C-4), 157.7 (C-4a), 148.3 (C-4b), 146.3 (C-5), 123.7 (C-6), 115.7 (C-7), 116.8 (C-8), 121.6 (C-8a), 104.0 (C-8b), 180.9 (C-9), 56.0 (3-OMe), 56.5 (5-OMe)。上述数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **1** 为 1-羟基-3,5-二甲氧基吡啶。

化合物 **2**: 橙黄色针状结晶 (二氯甲烷-甲醇 1:1), mp 167~168 °C。HR-ESI-MS m/z : 271.061 6 [M-H]⁻ (计算值 271.060 6, C₁₅H₁₁O₅⁻), 分子式 C₁₅H₁₂O₅。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 12.88 (1H, s, 1-OH), 7.59 (1H, d, J = 3.0 Hz, H-8), 7.36 (1H, d, J = 9.0 Hz, H-5), 7.30 (1H, dd, J = 9.0, 3.0 Hz, H-6), 6.41 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-4), 6.34 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-2), 3.91 (3H, s, 3-OMe), 3.89 (3H, s, 7-OMe); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 166.7 (C-1), 97.1 (C-2), 163.5 (C-3), 92.6 (C-4), 157.9 (C-4a), 150.9 (C-4b), 119.1 (C-5), 125.0 (C-6), 156.1 (C-7), 105.2 (C-8), 121.0 (C-8a), 103.8 (C-8b), 180.7 (C-9), 56.1 (3-OMe), 56.0 (7-OMe)。上述数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **2** 为 1-羟基-3,7-二甲氧基吡啶。

化合物 **3**: 淡黄色针晶 (二氯甲烷-甲醇 1:1), mp 274~275 °C。HR-ESI-MS m/z : 259.055 6 [M+H]⁺ (计算值 259.060 6, C₁₄H₁₁O₅⁺), 分子式 C₁₄H₁₀O₅。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.88 (1H, s, 1-OH), 10.56 (1H, s, 5-OH), 7.56 (1H, dd, J =

7.8, 1.8 Hz, H-8), 7.33 (1H, dd, $J = 7.8, 1.8$ Hz, H-6), 7.27 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, H-7), 6.64 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-4), 6.40 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2), 3.89 (3H, s, 3-OMe); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.6 (C-1), 97.2 (C-2), 166.6 (C-3), 92.8 (C-4), 157.2 (C-4a), 145.0 (C-4b), 146.3 (C-5), 120.8 (C-6), 124.4 (C-7), 114.6 (C-8), 121.0 (C-8a), 103.1 (C-8b), 180.6 (C-9), 56.2 (3-OMe)。上述数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **3** 为 1,5-二羟基-3-甲氧基吡啶。

化合物 **4**: 黄色粉末。HR-ESI-MS m/z : 259.055 6 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (计算值 259.060 6, $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{O}_5^+$), 分子式 $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_5$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.83 (1H, s, 1-OH), 11.16 (1H, s, 3-OH), 7.66 (1H, dd, $J = 7.8, 1.8$ Hz, H-8), 7.51 (1H, dd, $J = 7.8, 1.8$ Hz, H-6), 7.39 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, H-7), 6.42 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-4), 6.23 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2), 3.97 (3H, s, 5-OMe); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.9 (C-1), 98.3 (C-2), 165.9 (C-3), 94.2 (C-4), 157.3 (C-4a), 145.4 (C-4b), 148.0 (C-5), 115.8 (C-6), 124.2 (C-7), 116.7 (C-8), 120.6 (C-8a), 102.3 (C-8b), 179.9 (C-9), 56.3 (5-OMe)。上述数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 **4** 为 1,3-二羟基-5-甲氧基吡啶。

化合物 **5**: 黄色粉末。HR-ESI-MS m/z : 273.041 2 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (计算值 273.039 9, $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{O}_6^-$), 分子式 $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_6$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 13.08 (1H, s, 1-OH), 6.34 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-4), 6.17 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2), 7.37 (1H, s, H-8), 7.15 (1H, s, H-5), 3.93 (3H, s, 6-OMe); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.6 (C-1), 97.9 (C-2), 165.0 (C-3), 93.6 (C-4), 157.4 (C-4a), 150.9 (C-4b), 100.2 (C-5), 155.1 (C-6), 144.4 (C-7), 107.5 (C-8), 112.6 (C-8a), 101.7 (C-8b), 179.0 (C-9), 56.4 (6-OMe)。上述数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 **5** 为 1,3,7-三羟基-6-甲氧基吡啶。

化合物 **6**: 黄色粉末。HR-ESI-MS m/z : 271.062 0 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (计算值 271.060 6, $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{O}_5^-$), 分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.67 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-4), 6.49 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2), 7.44 (1H, dd, $J = 7.8, 1.8$ Hz, H-8), 7.20 (1H, dd, $J = 7.8, 1.8$ Hz, H-6), 7.15 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, H-7), 3.91 (3H, s, 1-OMe), 3.86 (3H, s, 3-OMe); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 161.5 (C-1), 95.4 (C-2), 164.7 (C-3), 93.1 (C-4), 159.0 (C-4a), 144.0 (C-4b), 146.5 (C-5), 123.7

(C-6), 123.8 (C-7), 114.8 (C-8), 119.2 (C-8a), 106.2 (C-8b), 173.9 (C-9), 56.2 (1-OMe), 56.1 (3-OMe)。上述数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 **6** 为 5-羟基-1,3-二甲氧基吡啶。

化合物 **7**: 黄色粉末。HR-ESI-MS m/z : 289.069 3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (计算值 289.071 2, $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{O}_6^+$), 分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_6$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 13.07 (1H, s, 1-OH), 9.86 (1H, s, 6-OH), 7.38 (1H, s, H-8), 7.11 (1H, s, H-5), 6.53 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-4), 6.35 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2), 3.95 (3H, s, 3-OMe), 3.86 (3H, s, 7-OMe); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.4 (C-1), 96.7 (C-2), 165.7 (C-3), 92.4 (C-4), 157.2 (C-4a), 151.0 (C-4b), 100.1 (C-5), 155.3 (C-6), 144.5 (C-7), 107.4 (C-8), 112.6 (C-8a), 102.6 (C-8b), 179.2 (C-9), 56.4 (3-OMe), 56.1 (7-OMe)。上述数据与文献报道基本一致^[17], 故鉴定化合物 **7** 为 1,6-二羟基-3,7-二甲氧基吡啶。

化合物 **8**: 淡黄色粉末。HR-ESI-MS m/z : 289.069 3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (计算值 289.071 2, $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{O}_6^+$), 分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_6$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.62 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-4), 6.37 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2), 7.63 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-8), 7.19 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-7), 3.95 (3H, s, 6-OMe), 3.88 (3H, s, 3-OMe); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.7 (C-1), 97.0 (C-2), 166.3 (C-3), 92.8 (C-4), 134.0 (C-5), 109.1 (C-6), 153.0 (C-7), 115.7 (C-8), 180.1 (C-9), 157.4 (C-4a), 145.3 (C-4b), 102.5 (C-8a), 114.3 (C-8b), 56.5 (6-OMe), 56.2 (3-OMe)。上述数据与文献报道基本一致^[18], 故鉴定化合物 **8** 为 1,5-二羟基-3,6-二甲氧基吡啶。

化合物 **9**: 黄色粉末。HR-ESI-MS m/z : 245.042 2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (计算值 245.045 0, $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{O}_5^+$), 分子式 $\text{C}_{13}\text{H}_8\text{O}_5$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.89 (1H, s, 1-OH), 11.08 (1H, s, 3-OH), 10.46 (1H, s, 5-OH), 6.42 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-4), 6.20 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2), 7.53 (1H, dd, $J = 7.8, 1.8$ Hz, H-8), 7.30 (1H, dd, $J = 7.8, 1.8$ Hz, H-6), 7.24 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, H-7); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.9 (C-1), 98.1 (C-2), 165.8 (C-3), 94.1 (C-4), 157.3 (C-4a), 144.8 (C-4b), 146.2 (C-5), 120.9 (C-6), 124.2 (C-7), 114.6 (C-8), 120.6 (C-8a), 102.2 (C-8b), 180.2 (C-9)。上述数据与文献报道基本一致^[19], 故鉴定化合物 **9** 为 1,3,5-三羟基吡啶。

化合物 **10**: 黄色粉末。HR-ESI-MS m/z : 275.053 2

[M+H]⁺ (计算值 275.055 6, C₁₄H₁₁O₆⁺), 分子式 C₁₄H₁₀O₆。 ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 13.34 (1H, s, 8-OH), 11.08 (1H, s, 3-OH), 6.38 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-4), 6.36 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-2), 7.16 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-6), 6.77 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5), 3.85 (3H, s, 1-OMe); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 162.1 (C-1), 95.6 (C-2), 164.9 (C-3), 94.8 (C-4), 159.4 (C-4a), 148.2 (C-4b), 104.8 (C-5), 122.6 (C-6), 140.1 (C-7), 147.2 (C-8), 108.6 (C-8a), 103.3 (C-8b), 180.8 (C-9), 56.1 (1-OMe)。上述数据与文献报道基本一致^[20], 故鉴定化合物 **10** 为 1-甲氧基-3,7,8-三羟基吡啶酮。

化合物 **11**: 黄色粉末。HR-ESI-MS *m/z*: 245.042 2 [M+H]⁺ (计算值 245.045 0, C₁₃H₉O₅⁺), 分子式 C₁₃H₈O₅。 ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.90 (1H, s, 1-OH), 6.35 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-4), 6.18 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-2), 7.46 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-5), 7.40 (1H, d, *J* = 3.0 Hz, H-8), 7.27 (1H, dd, *J* = 9.0, 3.0 Hz, H-6); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 162.8 (C-1), 97.9 (C-2), 165.9 (C-3), 93.8 (C-4), 157.6 (C-4a), 149.0 (C-4b), 119.1 (C-5), 124.5 (C-6), 154.0 (C-7), 108.0 (C-8), 120.4 (C-8a), 101.9 (C-8b), 179.7 (C-9)。上述数据与文献报道基本一致^[21], 故鉴定化合物 **11** 为 1,3,7-三羟基吡啶酮。

化合物 **12**: 黄色粉末。HR-ESI-MS *m/z*: 259.026 1 [M-H]⁻ (计算值 259.024 3, C₁₃H₇O₆⁻), 分子式 C₁₃H₈O₆。 ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.87 (1H, s, 1-OH), 11.70 (1H, s, 8-OH), 11.19 (1H, s, 3-OH), 9.37 (1H, s, 7-OH), 6.33 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-4), 6.18 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-2), 7.25 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-6), 6.86 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 162.2 (C-1), 98.2 (C-2), 166.5 (C-3), 94.1 (C-4), 157.9 (C-4a), 147.9 (C-4b), 106.1 (C-5), 124.0 (C-6), 140.5 (C-7), 147.1 (C-8), 107.3 (C-8a), 100.9 (C-8b), 184.0 (C-9)。上述数据与文献报道基本一致^[22], 故鉴定化合物 **12** 为 1,3,7,8-四羟基吡啶酮。

化合物 **13**: 黄色粉末。HR-ESI-MS *m/z*: 261.039 0 [M+H]⁺ (计算值 261.039 9, C₁₃H₉O₆⁺), 分子式 C₁₃H₈O₆。 ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.90 (1H, s, 1-OH), 6.40 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-4), 6.21 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-2), 7.23 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-6), 6.62 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-7); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 162.3 (C-1), 98.6 (C-2), 166.6 (C-3), 94.4 (C-4),

157.5 (C-4a), 143.3 (C-4b), 137.3 (C-5), 123.7 (C-6), 109.5 (C-7), 151.8 (C-8), 107.4 (C-8a), 101.3 (C-8b), 183.8 (C-9)。上述数据与文献报道基本一致^[23], 故鉴定化合物 **13** 为 1,3,5,8-四羟基吡啶酮。

化合物 **14**: 黄色粉末。HR-ESI-MS *m/z*: 273.042 6 [M-H]⁻ (计算值 273.039 9, C₁₄H₉O₆⁻), 分子式 C₁₄H₁₀O₆。 ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 13.06 (1H, s, 1-OH), 6.39 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-4), 6.17 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-2), 7.70 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-8), 6.95 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-7), 3.87 (3H, s, 5-OMe); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 162.9 (C-1), 98.2 (C-2), 165.6 (C-3), 94.2 (C-4), 157.2 (C-4a), 150.5 (C-4b), 134.5 (C-5), 157.3 (C-6), 114.2 (C-7), 120.9 (C-8), 112.9 (C-8a), 101.4 (C-8b), 179.2 (C-9), 60.8 (5-OMe)。上述数据与文献报道基本一致^[24], 故鉴定化合物 **14** 为 1,3,6-三羟基-5-甲氧基吡啶酮。

化合物 **15**: 黄色粉末。HR-ESI-MS *m/z*: 273.042 0 [M-H]⁻ (计算值 273.039 9, C₁₄H₉O₆⁻), 分子式 C₁₄H₁₀O₆。 ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 6.58 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-4), 6.35 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-2), 7.50 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-8), 6.94 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-7), 3.87 (3H, s, 3-OMe); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 162.7 (C-1), 96.9 (C-2), 166.0 (C-3), 92.7 (C-4), 157.3 (C-4a), 146.2 (C-4b), 132.7 (C-5), 152.4 (C-6), 113.2 (C-7), 116.0 (C-8), 113.0 (C-8a), 102.4 (C-8b), 180.0 (C-9), 56.1 (3-OMe)。上述数据与文献报道基本一致^[25], 故鉴定化合物 **15** 为 1,5,6-三羟基-3-甲氧基吡啶酮。

化合物 **16**: 黄色粉末。HR-ESI-MS *m/z*: 259.025 4 [M-H]⁻ (计算值 259.024 3, C₁₃H₇O₆⁻), 分子式 C₁₃H₈O₆。 ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 13.16 (1H, s, 1-OH), 6.32 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-4), 6.14 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-2), 7.36 (1H, s, H-8), 6.85 (1H, s, H-5); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 162.6 (C-1), 97.7 (C-2), 164.7 (C-3), 93.6 (C-4), 157.4 (C-4a), 150.9 (C-4b), 102.7 (C-5), 154.1 (C-6), 143.8 (C-7), 108.0 (C-8), 111.8 (C-8a), 101.6 (C-8b), 178.9 (C-9)。上述数据与文献报道基本一致^[26], 故鉴定化合物 **16** 为 1,3,6,7-四羟基吡啶酮。

化合物 **17**: 黄色粉末。HR-ESI-MS *m/z*: 273.044 0 [M-H]⁻ (计算值 273.039 9, C₁₄H₉O₆⁻), 分子式 C₁₄H₁₀O₆。 ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 6.56 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-4), 6.35 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-2), 7.28

(1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-6), 6.88 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-5), 3.87 (3H, s, 3-OMe); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 161.9 (C-1), 97.2 (C-2), 167.1 (C-3), 92.8 (C-4), 157.7 (C-4a), 148.0 (C-4b), 106.0 (C-5), 124.1 (C-6), 140.6 (C-7), 147.1 (C-8), 107.4 (C-8a), 101.8 (C-8b), 184.3 (C-9), 56.3 (3-OMe)。上述数据与文献报道基本一致^[27], 故鉴定化合物 **17** 为 1,7,8-三羟基-3-甲氧基呋喃。

化合物 **18**: 黄色粉末。HR-ESI-MS m/z : 275.054 8 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (计算值 275.055 6, $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{O}_6^+$), 分子式 $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_6$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.92 (1H, s, 1-OH), 11.09 (1H, s, 8-OH), 9.74 (1H, s, 5-OH), 6.63 (1H, s, H-4), 6.41 (1H, s, H-2), 7.26 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-6), 6.65 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-7), 3.90 (3H, s, 3-OMe); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.0 (C-1), 97.6 (C-2), 167.1 (C-3), 93.0 (C-4), 157.4 (C-4a), 143.4 (C-4b), 137.4 (C-5), 123.9 (C-6), 109.6 (C-7), 151.8 (C-8), 107.6 (C-8a), 102.2 (C-8b), 184.1 (C-9), 56.3 (3-OMe)。上述数据与文献报道基本一致^[28], 故鉴定化合物 **18** 为 1,5,8-三羟基-3-甲氧基呋喃。

3.2 活性测试结果

对分离鉴定的 18 个化合物进行抗炎活性筛选。化合物 **15** 在 50 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下对 NO 生成的抑制率为 $(89.85 \pm 0.36)\%$, 在 25 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下对 NO 生成的抑制率为 $(44.06 \pm 1.21)\%$ 。化合物 **17** 在 50 $\mu\text{mol/L}$ 对 NO 生成的抑制率为 $(69.69 \pm 2.99)\%$, 在 25 $\mu\text{mol/L}$ 对 NO 生成的抑制率为 $(56.09 \pm 3.65)\%$ 。其余化合物在 50 $\mu\text{mol/L}$ 均无明显抗炎活性。

4 讨论

本研究对穿心草的化学成分进行研究, 从穿心草全草的 95%乙醇提取物的石油醚部位中分离鉴定了 18 个呋喃类化合物, 其中包括首次从穿心草属植物中分离得到的化合物 8 个, 首次从该植物中分离发现的化合物 5 个。有报道化合物 **1** 通过提高细胞膜的流动性, 减少 LDH 的释放, 从而对培养心肌细胞 A-RI 有良好的保护作用^[29], 同时其对激活细胞膜 Na^+/H^+ 交换加重心脏缺血再灌注损伤有一定的保护作用^[9]。本研究通过抑制 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞 NO 的生成, 发现化合物 **15**、**17** 在 50、25 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下有一定的抗炎活性。但本研究只是对穿心草 95%乙醇提取物石油醚部位以及分离得到的化合物进行初步的抗炎活性研究, 后期将对

其它极性部位和药理作用展开进一步研究, 以便为穿心草的综合利用提供科研数据和理论基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 广西壮族自治区政治工作组玉生小组. 广西中草药 [M]. 南宁: 广西人民出版社, 1970: 296.
- [2] Tanaka N, Shibata I, Tasaki Y, et al. Acylated iridoid glucoside and xanthenes from *Canscora lucidissima*: Their structures and ferroptosis inhibitory activity [J]. *Fitoterapia*, 2023, 168: 105539.
- [3] 邓芹英, 李宣, 杨舜娟, 等. 中草药穿心草中呋喃化合物的研究 [J]. 中山大学学报: 自然科学版, 1997, 36(S2): 64-68.
- [4] Luo B S, Huang K H, Sui X J, et al. New xanthenes from *Canscora lucidissima* and their antioxidant and NO inhibitory activities [J]. *Nat Prod Res*, 2022, 36(6): 1433-1440.
- [5] Jiang D J, Dai Z, Li Y J. Pharmacological effects of xanthenes as cardiovascular protective agents [J]. *Cardiovasc Drug Rev*, 2004, 22(2): 91-102.
- [6] 何泉华, 许实波. 穿心草呋喃抗氧化作用初探 [J]. 中国药理学通报, 1998, 14(2): 130-132.
- [7] 何泉华, 许实波, 彭波. 穿心草呋喃抗心肌缺血再灌注心律失常的保护作用及其机制 [J]. 中国中药杂志, 1998, 23(9): 556-557.
- [8] 何泉华, 许实波. 呋喃对大鼠心肌线粒体氧化损伤的保护作用 [J]. 中国药理学杂志, 2000, 35(6): 381-383.
- [9] 何泉华, 许实波, 邓芹英. 穿心草呋喃对激活细胞膜 Na^+/H^+ 交换加重心脏缺血再灌注损伤的保护作用 [J]. 中国药理学通报, 2000, 16(6): 642-644.
- [10] Ghosal S, Biswas K, Chaudhuri R K. Chemical constituents of Gentianaceae XXIV: Anti-*Mycobacterium tuberculosis* activity of naturally occurring xanthenes and synthetic analogs [J]. *J Pharm Sci*, 1978, 67(5): 721-722.
- [11] 李兆云, 王志远, 肖怀, 等. 显脉獐牙菜的化学成分研究 [J]. 中国药房, 2016, 27(15): 2107-2108.
- [12] 尤蓉蓉, 陈雪晴, 何丹丹, 等. 藏药印度獐芽菜石油醚部位化学成分及体外活性研究 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(19): 3764-3769.
- [13] 季丰, 李占林, 牛生吏, 等. 大叶藤黄茎皮化学成分研究 [J]. 中国药物化学杂志, 2012, 22(6): 507-510.
- [14] Li Y P, Huang S T. Xanthenes from *Swertia nervosa* and their inhibitory effects on nitric oxide production [J]. *Chem Nat Compd*, 2020, 56(4): 732-735.
- [15] Umoh U F, Thomas P S, Essien E E, et al. Isolation and characterization of bioactive xanthenes from *Hippocratea africana* (Willd.) Loes. ex Engl. (Celastraceae) [J]. *J*

- Ethnopharmacol*, 2021, 280: 114031.
- [16] Demgne O M F, Damen F, Fankam A G, *et al*. Botanicals and phytochemicals from the bark of *Hypericum roeperianum* (Hypericaceae) had strong antibacterial activity and showed synergistic effects with antibiotics against multidrug-resistant bacteria expressing active efflux pumps [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 277: 114257.
- [17] 徐婧, 崔圆圆, 牛艳芬, 等. 木竹果树皮化学成分及其抗炎活性的研究 [J]. 中成药, 2016, 38(3): 579-583.
- [18] Zheng Z P, Tan H Y, Chen J, *et al*. Characterization of tyrosinase inhibitors in the twigs of *Cudrania tricuspidata* and their structure-activity relationship study [J]. *Fitoterapia*, 2013, 84: 242-247.
- [19] 郑伟, 岳跃栋, 龚亚君, 等. 双斑獐牙菜的化学成分研究 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1468-1476.
- [20] Duan Y H, Dai Y, Chen L Y, *et al*. Xanthones from the stems of *Cratoxylum cochinchinense* [J]. *Magnetic Reson Chem*, 2012, 50(9): 642-645.
- [21] Wong K W, Ee G C L, Ismail I S, *et al*. Xanthones from stem bark of *Garcinia rostrata* [J]. *Chem Nat Compd*, 2018, 54(6): 1160-1163.
- [22] Jia Y H, Xiong C W. Assessing the biological activities of xanthone derivatives from *Swertia macrosperma* C. B. Clark [J]. *Nat Prod Res*, 2017, 31(6): 704-706.
- [23] 于莹, 王世盛, 丁凤娟, 等. 云南獐牙菜化学成分的分离与鉴定 [J]. 中国药物化学杂志, 2010, 20(2): 125-128.
- [24] Sabphon C. Cholinesterase inhibitory activities of xanthones from *Anaxagorea luzonensis* A. Gray [J]. *J Med Plants Res*, 2012, 6(21): 3781-3785.
- [25] Terreaux C, Maillard M, Gupta M P, *et al*. Xanthones from *Schultesia lisianthoides* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 40(6): 1791-1795.
- [26] 傅芑, 李廷钊, 柳润辉, 等. 田基黄呋喃成分的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2004, 16(6): 511-513.
- [27] 潘莉, 张晓峰, 王明奎, 等. 祁连獐牙菜化学成分研究 [J]. 中草药, 2002, 33(7): 583-586.
- [28] 许旭东, 杨峻山. 毛獐芽菜中呋喃化学成分研究 [J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(9): 657-659.
- [29] 何泉华, 何岚, 许实波, 等. 穿心草呋喃对心肌细胞缺氧-再给氧损伤的保护作用 [J]. 中药材, 2000, 23(7): 399-401.

[责任编辑 王文倩]