

杜鹃兰化学成分及神经保护活性研究

林 松^{1,2}, 高 欢², 张 帅², 蒋晓文², 赵庆春^{1*}

1. 沈阳军区总医院 药剂科, 辽宁 沈阳 110840

2. 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016

摘要: **目的** 研究杜鹃兰 *Cremastra appendiculata* 的化学成分及其神经保护活性。**方法** 采用 AB-8 大孔树脂柱色谱、硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱、ODS 中低压柱色谱及高效液相柱色谱等手段进行分离, 并通过波谱方法对所得化合物的结构进行鉴定和解析。**结果** 对杜鹃兰乙醇提取物的醋酸乙酯萃取层进行分离, 共得到了 23 个化合物。通过理化性质、现代波谱学手段及文献对照等方法鉴定了其中 20 个化合物的结构, 分别为双 [4-(β -D-吡喃葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸酯 (1)、1-[4-(β -D-吡喃葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基-4-甲基苹果酸酯 (2)、1-[4-(β -D-吡喃葡萄糖氧)苄基]-4-甲基-2-苄基苹果酸酯 (3)、山药素 III-3-葡萄糖苷 (4)、红果酸 (5)、橙皮苷 (6)、1,3-二甲氧基酰胺基-4-甲基苯 (7)、(3-甲氧基酰胺基-2-甲基苯)-氨基甲酸甲酯 (8)、4,4'-二甲氧基酰胺基二苯甲烷 (9)、3,3'-二羟基-2,6-双(*p*-羟基苄基)-5-甲氧基苯 (10)、3',5'-二羟基-2-(4-羟基苄基)-3-甲氧基苯 (11)、3,3'-二羟基-2-(4-羟基苄基)-5-甲氧基苯 (12)、补骨脂宁 (13)、山药素 III (14)、新补骨脂异黄酮 (15)、异补骨脂查耳酮 (16)、2,6,2',6'-四甲基-4,4'-双(2,3-环氧基-1-羟基丙基)联苯 (17)、coelonin (18)、石斛酚 (19)、 β -谷甾醇 (20)。**结论** 其中化合物 7~9、13、15~17 为首次从该属植物中分离得到, 化合物 5、6 为首次从该植物中分离得到。其中化合物 1 和 17 在 H₂O₂ 损伤模型中表现出了较好的神经保护作用, 并且推测其发挥神经保护作用的机制可能是通过减轻氧化损伤实现的。

关键词: 杜鹃兰; 神经保护活性; 1,3-二甲氧基酰胺基-4-甲基苯; (3-甲氧基酰胺基-2-甲基苯)-氨基甲酸甲酯; 4,4'-二甲氧基酰胺基二苯甲烷; 补骨脂宁; 新补骨脂异黄酮

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2016)21-3779-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.21.005

Chemical constituents of *Cremastra appendiculata* and their neuroprotection

LIN Song^{1,2}, GAO Huan², ZHANG Shuai², JIANG Xiao-wen², ZHAO Qing-chun¹

1. Department of Pharmacy, General Hospital of Shenyang Military Area Command, Shenyang 110840, China

2. School of Traditional Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents of *Cremastra appendiculata* and their neuroprotection. **Methods** The chemical constituents were separated and purified by silica gel, Sephadex LH-20 column chromatography, ODS column chromatography, and HPLC column chromatography. Their structures were determined by NMR spectrum. **Results** Applying various chromatographic separation methods, 23 compounds were obtained from the acetic ether extraction of 55% ethanol extract of *C. appendiculata*. Based on physicochemical properties and spectroscopic analysis, 20 structures were identified as miltarine (1), 1-[4-(β -D-glucopyranosyloxybenzyl)-2-isobutylmalate-4-methyl (2), 1-[4-(β -D-glucopyranosyloxybenzyl)-4-methyl-2-benzylmalate (3), batatasin III-3-O-glucoside (4), eucomic acid (5), hesperidin (6), (4-methyl-1,3-phenylene) dicarbamic acid methyl ester (obtucarbamate A) (7), (3-meth-oxycarbonylamino-2-methyl-phenyl)-cabamic acid metylester (8), 4,4'-diphenylmethanebis(methyl) carbamate (9), 3,3'-dihydroxy-2',6'-bis(*p*-hydroxybenzyl)-5-methoxybibenzyl (10), 3',5'-dihydroxy-2-(4-hydroxybenzyl)-3-methoxybibenzyl (11), 3,3'-dihydroxy-2-(4-hydroxybenzyl)-5-methoxybibenzyl (12), corylin (13), batatasin III (14), neobavaisoflavone (15), isobavachalcone (16), 2,6,2',6'-tetramethoxy-4,4'-bis(2,3-epoxy-1-hydroxypropyl)biphenyl (17), coelonin (18), gigantol (19), and β -sitosterol (20). **Conclusion** Compounds 7—9, 13, and 15—17 are obtained from the plants of *Cremastra* Lindl. for the first time. Compounds 5 and 6 are obtained from the plant for the first time. Compounds 1 and 17 have the good performance of neuroprotection in hydrogen peroxide

收稿日期: 2016-05-16

作者简介: 林 松, 男, 硕士研究生, 从事天然药物化学研究。E-mail: 462824607@qq.com

*通信作者 赵庆春, 男, 博士生导师, 研究方向为基于靶点的天然活性产物的发现及作用机制研究。

Tel: (024)28856205 E-mail: zhaqingchun1967@163.com

model. Neuroprotective mechanism is likely to be achieved by weakening the oxidative damage.

Key words: *Cremastra appendiculata* (D. Don) Makino; neuroprotective activity; (4-methyl-1,3-phenylene) dicarbamic acid methyl ester; (3-methoxycarbonylamino-2-methylphenyl)-cabamic acid metylester; 4,4'-diphenylmethanebis(methyl) carbamate; corylin; neobavaisoflavone

杜鹃兰 *Cremastra appendiculata* (D. Don) Makino 为兰科 (Orchidaceae) 杜鹃兰属 *Cremastra* Lindl. 植物,《中国药典》2015 年版将其作为中药山慈菇的基原植物药物之一。山慈菇是 1 种常用中药材,性味甘、微辛,性寒,小毒。归肝经、胃经、肺经。其主要功效为清热解毒、消肿散结。临床上主要用于痈肿疔毒、淋巴结核和蛇虫咬伤。杜鹃兰即中药山慈菇,最初见于唐代的《本草拾遗》:“山慈菇,有小毒,生山中湿地,惟处州遂昌县所产者良,叶似车前,根如慈菇。”其主要分布在云南、四川、贵州等长江以南各省区。药用部位主要为植物的干燥假鳞茎^[1],生于海拔 1 950~2 100 m 的松林下、草地或田野,也分布于缅甸、印度、斯里兰卡、印度尼西亚、菲律宾和澳大利亚等国家。本课题组前期研究发现,杜鹃兰的乙醇提取物具有抑制人骨髓神经母细胞瘤 (SH-SY5Y) 凋亡的作用^[2]。为了进一步探索杜鹃兰中的活性成分,为其有效部位和单体化合物的药理学研究奠定基础,本实验对杜鹃兰的化学成分进行了进一步的研究,从其 55%乙醇提取物的醋酸乙酯萃取部位中分离鉴定出 20 个化合物,通过理化性质和波谱学数据确定了其化学结构,分别为双 [4-(β-D-吡喃葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸酯 (militarine, **1**)、1-[4-(β-D-吡喃葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基-4-甲基苹果酸酯 [1-(4-β-D-glucopyranosyloxybenzyl)-4-methyl-2-isobutylmalate, **2**]、1-[4-(β-D-吡喃葡萄糖氧)苄基]-4-甲基-2-苄基苹果酸酯 {1-[4-(β-D-glucopyranosyloxy)benzyl]-4-methyl-2-benzylmalate, **3**}、山药素 III-3-葡萄糖苷 (batatasin III-3-O-glucoside, **4**)、红果酸 (eucomic acid, **5**)、橙皮苷 (hesperidin, **6**)、1,3-二甲氧基酰胺基-4-甲基苯 [(4-methyl-1,3-phenylene) dicarbamic acid methyl ester, **7**]、(3-甲氧基酰胺基-2-甲基苯)-氨基甲酸甲酯 [(3-meth-oxycarbonylamino-2-methyl-phenyl)-cabamic acid metylester, **8**]、4,4'-二甲氧基酰胺基二苯甲烷 [4,4'-diphenylmethanebis (methyl) carbamate **9**]、3,3'-二羟基-2,6-双 (*p*-羟基苄基)-5-甲氧基苯 [3,3'-dihydroxy-2,6-bis (*p*-hydroxybenzyl)-5-methoxybibenzyl, **10**]、3',5-二羟基-2-(4-羟基苄基)-3-甲氧基苯 [3',5-

dihydroxy-2-(4-hydroxybenzyl)-3-methoxybibenzyl, **11**]、3,3'-二羟基-2-(4-羟基苄基)-5-甲氧基苯 [3,3'-dihydroxy-2-(4-hydroxybenzyl)-5-methoxybibenzyl, **12**]、补骨脂宁 (corylin, **13**)、山药素 III (batatasin III, **14**)、新补骨脂异黄酮 (neobavaisoflavone, **15**)、异补骨脂查耳酮 (isobavachalcone, **16**)、2,6,2',6'-四甲基-4,4'-双(2,3-环氧基-1-羟基丙基)联苯 [2,6,2',6'-tetramethoxy-4,4'-bis(2,3-epoxy-1-hydroxypropyl)biphenyl, **17**]、coelonin (**18**)、石斛酚 (gigantol, **19**)、β-谷甾醇 (β-sitosterol, **20**)。其中化合物 **7**~**9**、**13**、**15**~**17** 为首次从该属植物中分离得到,化合物 **5**、**6** 为首次从该植物中分离得到。体外实验结果显示化合物 **1** 和 **17** 可以剂量依赖性地抑制由 H₂O₂ 诱导产生的神经细胞凋亡,并且推测其发挥神经保护作用的机制可能是通过减轻氧化损伤实现的。

1 仪器与材料

JASCO 制备型高效液相色谱仪,PU-2087 Pump 加压泵,SPD-10 AV 紫外检测器(日本 Jasco 公司);Bruker ARX-300 核磁共振光谱仪(瑞士 Bruker 公司);EYELA-N1000、N1100 旋转蒸发仪(日本东京理化);CO₂ 培养箱(日本 Sanyo 公司);水平层流洁净工作台(上海上净净化设备有限公司);倒置显微镜(日本 Olympus 公司);低/高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂);酶标仪(伯乐生命医学产品有限公司);紫外线分析灯(德国 Heruens 公司);Shimadzu AUW120D 十万分之一分析天平(日本 Himadzu 公司);YMC-Pack Pro ODS-A C₁₈ 制备反相色谱柱(250 mm×10 mm, 10 μm)。

药材于 2013 年 12 月购自辽宁省沈阳市,经沈阳药科大学路金才教授鉴定为杜鹃兰的假鳞茎,标本(LS2013CA)保存于沈阳军区总医院药剂科。

神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞株(由沈阳药科大学杨静玉教授实验室惠赠);DMEM 培养液(美国 Hyclone 公司);胎牛血清(56 °C 灭活 30 min, 美国 Hyclone 公司);胰酶(美国 Sigma 公司);EDTA(美国 Sino 公司);台盼蓝(美国 Amresco 公司);四甲基偶氮唑蓝(MTT, 美国 Sigma 公司);LDH 检测试剂盒(南京建成生物科技有限公司);H₂O₂

(国药集团); 薄层色谱硅胶 G、硅胶 GF₂₅₄、柱色谱硅胶(青岛海洋化工厂); Sephadex LH-20(美国 Amersham Biosciences 公司); 氘代试剂(美国 CIL 公司); HPLC 使用的试剂为色谱纯(美国 Sigma 公司); 活性测试中使用的 DMSO 为生物级; 其他化学试剂均为分析纯(国药集团化学试剂有限公司, 天津博迪化工股份有限公司)。

2 提取与分离

山慈菇(10.0 kg)干燥后粉碎, 药材粉末加 3 倍体积 55%乙醇加热回流提取 3 次, 每次 2 h, 合并提取液, 减压回收溶剂, 浓缩后得总浸膏。总浸膏用水分散后, 依次用石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯、正丁醇萃取 3 次, 收集石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯和正丁醇层, 减压浓缩回收溶剂, 蒸干, 最终得到石油醚部位浸膏 20 g、二氯甲烷部位浸膏 22 g、醋酸乙酯部位浸膏 42 g、正丁醇部位浸膏 91 g。

取醋酸乙酯部位浸膏 42 g, 经硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇(100:0→0:100)梯度洗脱, 得到 8 个流分 Fr. 1~8。其中 Fr. 5 经 ODS 柱色谱, 甲醇-水(100:0→0:100)梯度洗脱, Sephadex LH-20 甲醇-水(1:1)等度洗脱, 半制备高效液相分离纯化, 得到化合物 **1**(12.3 mg)、**2**(10.2 mg)和 **3**(9.8 mg); Fr. 4 经 ODS 柱色谱, 甲醇-水(100:0→0:100)梯度洗脱, 半制备高效液相分离纯化, 得到化合物 **4**(20.4 mg)、**5**(6.4 mg)、**6**(17.4 mg)和 **7**(14.8 mg); Fr. 6 经 ODS 柱色谱, 甲醇-水(100:0→0:100)梯度洗脱, Sephadex LH-20 甲醇-水(1:1)等度洗脱, 半制备高效液相分离纯化, 得到化合物 **11**(11.6 mg)、**12**(21.3 mg)、**13**(7.8 mg)和 **14**(6.9 mg); Fr. 3 经硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇(100:0→0:100)梯度洗脱, Sephadex LH-20 二氯甲烷-甲醇(1:1)等度洗脱, 半制备高效液相分离纯化, 得到化合物 **15**(17.4 mg)、**16**(14.8 mg)、**17**(10.2 mg)和 **18**(9.8 mg)。Fr. 8 经 ODS 柱色谱, 甲醇-水(100:0→0:100)梯度洗脱, 半制备高效液相分离纯化, 得到化合物 **8**(11.3 mg)、**9**(14.4 mg)、**10**(13.2 mg)和 **19**(8.5 mg)。其中 Fr. 2 用硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇(100:0→0:100)梯度洗脱, 经重结晶得化合物 **20**(26.3 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: C₃₄H₄₆O₁₇, 黄色油状物(甲醇), GF₂₅₄薄层板在 254 nm 紫外下有暗斑, 365 nm 下为蓝色荧光。¹H-NMR(400 MHz, CD₃OD) δ : 2.64(1H,

$J = 15.7$ Hz, H-3a), 2.93(1H, d, $J = 15.7$ Hz, H-3b), 1.56(1H, m, H-5a), 1.71(1H, m, H-5b), 1.64(1H, m, H-6), 0.79(3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-7), 0.91(3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-8), 7.07(4H, m, H-3', 3'', 5', 5''), 7.25(4H, m, H-2', 2'', 6', 6''), 4.99(4H, s, H-7', 7''), 4.90(2H, m, H-1''', 1'''), 3.40~3.90(12H, m) 为 2 个糖上的氢信号; ¹³C-NMR(100 MHz, CD₃OD) δ : 171.6(C-1), 76.6(C-2), 46.1(C-3), 176.0(C-4), 46.1(C-5), 24.7(C-6), 23.9(C-7), 25.0(C-8), 130.8(C-1'), 131.0(C-2'), 117.5(C-3'), 159.1(C-4'), 117.5(C-5'), 131.0(C-6'), 67.9(C-7'), 131.1(C-1''), 131.2(C-2''), 117.5(C-3''), 159.2(C-4''), 117.5(C-5''), 131.2(C-6''), 67.2(C-7''), 102.2(C-1''', 1'''), 74.8(C-2''', 2'''), 77.9(C-3''', 3'''), 71.3(C-4''', 4'''), 78.1(C-5''', 5'''), 62.5(C-6''', 6''')。以上数据与文献报道^[3]基本一致, 故鉴定化合物 **1** 为双[4-(β -D-吡喃葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸酯。

化合物 **2**: C₂₃H₃₂O₁₁, 黄色油状物(甲醇), GF₂₅₄薄层板在 254 nm 紫外下有暗斑, 365 nm 下为蓝色荧光。¹H-NMR(400 MHz, CD₃OD) δ : 2.64(1H, d, $J = 15.7$ Hz, H-3a), 2.93(1H, d, $J = 15.7$ Hz, H-3b), 1.56(1H, m, H-5a), 1.71(1H, m, H-5b), 1.64(1H, m, H-6), 0.79(3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-7), 0.91(3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-8), 3.57(3H, s, H-OCH₃), 7.34(2H, d, $J = 8.60$ Hz, C-2', 6'), 7.10(2H, d, $J = 8.60$ Hz, C-3', 5'), 5.12(2H, dd, $J = 12.2, 18.4$ Hz, H-7'a, 7'b), 4.91(1H, m, H-1'''), 3.40~3.90(6H, m) 为糖上的氢信号; ¹³C-NMR(100 MHz, CD₃OD) δ : 171.6(C-1), 76.6(C-2), 46.1(C-3), 176.0(C-4), 46.1(C-5), 24.7(C-6), 23.9(C-7), 25.0(C-8), 52.1(-OCH₃), 130.8(C-1'), 131.0(C-2'), 117.5(C-3'), 159.1(C-4'), 117.5(C-5'), 131.0(C-6'), 67.9(C-7'), 102.2(C-1''), 74.8(C-2''), 77.9(C-3''), 71.3(C-4''), 78.1(C-5''), 62.5(C-6'')。以上数据与文献报道^[4]基本一致, 故鉴定化合物 **2** 为 1-[4-(β -D-吡喃葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基-4-甲基苹果酸酯。

化合物 **3**: C₂₅H₃₀O₁₁, 黄色油状物(甲醇), GF₂₅₄薄层板在 254 nm 紫外下有暗斑, 365 nm 下为蓝色荧光。¹H-NMR(400 MHz, CD₃OD) δ : 2.62(1H, d, $J = 15.7$ Hz, H-3a), 2.98(1H, d, $J = 15.7$ Hz, H-3b), 7.28(2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2', 6'), 7.11(2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', 5'), 5.07(2H, s, H-7'), 7.08(2H, m, H-2'', 6''), 7.20(2H, m, H-3'', 5''), 3.00(1H, d, $J = 13.7$ Hz,

H-7''a), 2.93 (1H, d, $J = 13.7$ Hz, H-7''b), 3.38 (3H, s, H-OCH₃), 4.93 (1H, m, H-1'''), 3.40~3.90 (6H, m) 为糖上的氢信号; ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 175.2 (C-1), 71.1 (C-2), 44.1 (C-3), 172.3 (C-4), 130.8 (C-1'), 131.0 (C-2'), 117.5 (C-3'), 159.1 (C-4'), 117.5 (C-5'), 131.0 (C-6'), 136.6 (C-1''), 131.5 (C-2''), 129.1 (C-3''), 127.9 (C-4''), 129.1 (C-5''), 131.5 (C-6''), 46.4 (C-7''), 102.3 (C-1'''), 74.9 (C-2'''), 78.0 (C-3'''), 71.4 (C-4'''), 78.2 (C-5'''), 62.5 (C-6'''). 以上数据与文献报道^[4]基本一致, 故鉴定化合物 **3** 为 1-[4-(β -D-吡喃葡萄糖氧)苄基]-4-甲基-2-苄基苹果酸酯。

化合物 **4**: C₂₁H₂₆O₈, 黄色油状物 (甲醇), GF₂₅₄ 薄层板在 254 nm 紫外下有暗斑, 365 nm 下为蓝色荧光。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 6.51 (2H, m, H-2, 4), 6.40 (1H, m, H-6), 6.62 (3H, m, H-2', 4', 6'), 7.05 (1H, t, $J = 7.7$ Hz, H-5'), 3.72 (3H, s, 5-OCH₃), 2.81 (4H, m, -CH₂-CH₂-), 4.81 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1''), 3.35~3.88 (6H, m) 为糖上其余的氢信号; ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 144.6 (C-1), 110.3 (C-2), 158.3 (C-3), 102.4 (C-4), 162.0 (C-5), 109.4 (C-6), 145.4 (C-1'), 116.4 (C-2'), 160.2 (C-3'), 113.8 (C-4'), 130.2 (C-5'), 120.9 (C-6'), 38.7, 39.1 (-CH₂-CH₂-), 55.7 (-OCH₃), 101.6 (C-1''), 78.1 (C-2''), 78.0 (C-3''), 74.9 (C-4''), 71.4 (C-5''), 62.5 (C-6''). 以上数据与文献报道^[5]基本一致, 故鉴定化合物 **4** 为山药素 III-3-葡萄糖苷。

化合物 **5**: C₁₁H₁₂O₆, 无色针状晶体 (甲醇), GF₂₅₄ 薄层板在 254 nm 紫外下有暗斑, 365 nm 下为蓝色荧光。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 2.96 (1H, d, $J = 16.2$ Hz, H-3a), 2.56 (1H, d, $J = 16.2$ Hz, H-3b), 7.07 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2', 6'), 6.69 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3', 5'), 2.95 (1H, d, $J = 14.0$ Hz, H-7'a), 2.85 (1H, d, $J = 14.0$ Hz, H-7'b); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 174.2 (C-1), 76.8 (C-2), 43.6 (C-3), 177.6 (C-4), 127.6 (C-1'), 132.5 (C-2', 6'), 115.8 (C-3', 5'), 157.3 (C-4')。以上数据与文献报道^[6]基本一致, 故鉴定化合物 **5** 为红果酸。

化合物 **6**: C₂₈H₃₄O₁₅, 白色无定形粉末 (甲醇), GF₂₅₄ 薄层板在 254 nm 紫外下有暗斑, 365 nm 下为蓝色荧光。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 5.50 (1H, m, H-3a), 2.77 (1H, dd, $J = 3.1, 7.2$ Hz, H-3b), 12.02 (1H, s, 5-OH), 6.11 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-6), 6.13 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-8), 6.93 (3H, m, H-2', 5',

6'), 3.37 (3H, s, 4'-OCH₃), 4.98 (1H, t, $J = 6.8$ Hz, H-1''), 4.51 (1H, brs, H-1'''), 1.08 (3H, dd, $J = 6.1, 2.0$ Hz, H-6''), 3.15~3.63 (12H, m) 为糖上其余的质子信号; ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 78.3 (C-2), 42.2 (C-3), 197.0 (C-4), 162.5 (C-5), 96.3 (C-6), 163.0 (C-7), 95.6 (C-8), 165.1 (C-9), 103.3 (C-10), 130.9 (C-1'), 118.0 (C-2'), 146.4 (C-3'), 148.0 (C-4'), 112.0 (C-5'), 114.1 (C-6'), 55.7 (-OCH₃), 99.4 (C-1''), 73.0 (C-2''), 70.2 (C-3''), 75.5 (C-4''), 76.2 (C-5''), 66.0 (C-6''), 100.6 (C-1'''), 69.6 (C-2'''), 70.7 (C-3'''), 72.0 (C-4'''), 68.3 (C-5'''), 17.8 (C-6'''). 以上数据与文献报道^[7]基本一致, 故鉴定化合物 **6** 为橙皮苷。

化合物 **7**: C₁₁H₁₄N₂O₄, 淡黄色无定形粉末 (甲醇), GF₂₅₄ 薄层板在 254 nm 紫外下有暗斑, 365 nm 下为蓝色荧光。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.52 (1H, s, H-2), 7.17 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5), 7.09 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-6), 3.73 (3H, s, 2''-OCH₃), 3.72 (3H, s, 2'-OCH₃), 2.18 (3H, s, 4-CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 137.2 (C-1), 115.0 (C-2), 136.5 (C-3), 125.6 (C-4), 130.3 (C-5), 115.0 (C-6), 17.1 (4-CH₃), 154.8 (C-2''), 154.0 (C-2'), 51.6 (2''-OCH₃), 51.5 (2'-OCH₃)。以上数据与文献报道^[8]基本一致, 故鉴定化合物 **7** 为 1,3-二甲氧基酰胺基-4-甲基苯。

化合物 **8**: C₁₁H₁₄N₂O₄, 淡黄色粉末 (甲醇), GF₂₅₄ 薄层板在 254 nm 紫外下有暗斑, 365 nm 下为蓝色荧光。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.12 (3H, s, H-4, 5, 6), 2.03 (3H, s, 2-CH₃), 3.63 (6H, s, 2', 2''-OCH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 136.8 (C-1, 3), 127.6 (C-2), 125.3 (C-5), 22.3 (C-4, 6), 155.0 (C-2', 2''), 51.6 (2', 2''-OCH₃), 17.1 (2-CH₃)。以上数据与文献报道^[9]基本一致, 故鉴定化合物 **8** 为 (3-甲氧基酰胺基-2-甲基苯)-氨基甲酸甲酯。

化合物 **9**: 淡黄色粉末 (甲醇), GF₂₅₄ 薄层板在 254 nm 紫外下有暗斑, 365 nm 下为蓝色荧光。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.31 (4H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2, 6, 2', 6'), 7.09 (4H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3, 5, 3', 5'), 3.86 (2H, s, H-9), 3.71 (6H, s, 8, 8'-OCH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 137.1 (C-1, 1'), 135.5 (C-4, 4'), 128.9 (C-2, 6, 2', 6'), 118.4 (C-3, 5, 3', 5'), 154.0 (C-8, 8'), 51.6 (C-OCH₃), 17.1 (C-9)。以上数据与文献报道^[10]基本一致, 故鉴定化合物 **9** 为 4,4'-二甲氧基酰胺基二苯甲烷。

化合物 **10**: C₂₉H₂₈O₅, 无色粉末 (甲醇), GF₂₅₄

薄层板在 254 nm 紫外下有暗斑, 365 nm 下为蓝色荧光。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 2.29 (2H, m, α -CH₂-), 2.69 (2H, m, β -CH₂-), 3.91 (2H, s, 2-CH₂-), 3.94 (2H, s, 6-CH₂-), 3.76 (3H, s, 5-OCH₃), 6.48 (1H, s, H-4), 6.62 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3'', 5''), 6.86 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2'', 6''), 6.64 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3''', 5'''), 6.93 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2''', 6'''), 7.02 (1H, t, J = 7.8 Hz, H-5'), 6.50 (1H, m, H-2'), 6.46 (1H, m, H-4'), 6.56 (1H, m, H-6'); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 142.7 (C-1), 120.3 (C-2), 158.3 (C-3), 98.1 (C-4), 158.4 (C-5), 119.6 (C-6), 145.2 (C-1'), 113.7 (C-2'), 155.9 (C-3'), 116.0 (C-4'), 130.2 (C-5'), 120.5 (C-6'), 55.9 (-OCH₃), 37.7, 33.3 (-CH₂-CH₂-), 31.3 (6-CH₂-), 31.1 (2-CH₂-), 134.3 (C-1''), 115.9 (C-3'', 5''), 129.9 (C-2'', 6''), 155.9 (C-4'', 4'''), 134.4 (C-1'''), 116.0 (C-3''', 5'''), 130.0 (C-2''', 6'''). 以上数据与文献报道^[11]基本一致, 故鉴定化合物 **10** 为 3,3'-二羟基-2,6-双 (*p*-羟基苄基)-5-甲氧基苯。

化合物 **11**: 白色粉末 (甲醇), GF₂₅₄ 薄层板在 254 nm 紫外下有暗斑, 365 nm 下为蓝色荧光。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 6.30 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-4), 6.35 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-6), 6.65 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3', 5'), 6.88 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2', 6'), 3.85 (2H, s, -CH₂-), 2.57 (2H, m, α -CH₂-), 2.71 (2H, m, β -CH₂-), 3.76 (3H, s, H-OCH₃), 6.55 (1H, s, H-2'), 6.57 (1H, m, H-4'), 7.05 (1H, t, J = 8.5 Hz, H-5'), 6.59 (1H, m, H-6'); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 143.7 (C-1), 119.9 (C-2), 160.1 (C-3), 97.9 (C-4), 157.5 (C-5), 109.3 (C-6), 144.9 (C-1'), 113.7 (C-2'), 158.3 (C-3'), 116.2 (C-4'), 130.2 (C-5'), 120.7 (C-6'), 134.2 (C-1''), 130.0 (C-2'', 6''), 115.9 (C-3'', 5''), 156.0 (C-4''), 38.6, 36.4 (-CH₂-CH₂-), 30.5 (-CH₂-), 55.9 (-OCH₃)。以上数据与文献报道^[12]基本一致, 故鉴定化合物 **11** 为 3',5'-二羟基-2-(4-羟基苄基)-3-甲氧基苯。

化合物 **12**: C₂₂H₂₂O₄, 白色粉末 (甲醇), GF₂₅₄ 薄层板在 254 nm 紫外下有暗斑, 365 nm 下为蓝色荧光。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 6.32 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-2), 6.25 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-4), 6.66 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3', 5'), 6.95 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2', 6'), 3.89 (2H, s, -CH₂-), 2.56 (2H, m, α -CH₂-), 2.73 (2H, m, β -CH₂-), 3.72 (3H, s, H-OCH₃), 6.56 (1H, s, H-2'), 6.57 (1H, m, H-4'), 7.05 (1H, t, J = 8.5 Hz, H-5'), 6.60 (1H, m, H-6'); ¹³C-NMR (100 MHz,

CD₃OD) δ : 143.7 (C-1), 119.9 (C-2), 157.5 (C-3), 100.1 (C-4), 160.0 (C-5), 107.2 (C-6), 144.9 (C-1'), 113.7 (C-2'), 158.3 (C-3'), 116.2 (C-4'), 130.2 (C-5'), 120.7 (C-6'), 134.2 (C-1''), 130.0 (C-2'', 6''), 115.9 (C-3'', 5''), 156.0 (C-4''), 38.5, 36.6 (-CH₂-CH₂-), 30.7 (-CH₂-), 55.5 (-OCH₃)。以上数据与文献报道^[12]基本一致, 故鉴定化合物 **12** 为 3,3'-二羟基-2-(4-羟基苄基)-5-甲氧基苯。

化合物 **13**: C₂₀H₁₆O₄, 黄色针状结晶 (甲醇), GF₂₅₄ 薄层板在 254 nm 紫外下有暗斑, 365 nm 下为蓝色荧光。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.33 (1H, s, H-2), 7.96 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-5), 7.20 (2H, m, H-6, 8), 6.86 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.78 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5'), 6.93 (1H, dd, J = 2.0, 8.2 Hz, H-6'), 5.77 (1H, d, J = 9.9 Hz, H-8'), 6.42 (1H, d, J = 9.9 Hz, H-7'), 1.39 (6H, s, -CH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 152.2 (C-2), 123.1 (C-3), 174.5 (C-4), 127.3 (C-5), 115.5 (C-6), 162.6 (C-7), 102.1 (C-8), 157.4 (C-9), 115.5 (C-10), 123.1 (C-1'), 129.6 (C-2'), 116.6 (C-3'), 153.1 (C-4'), 121.7 (C-5'), 131.2 (C-6'), 121.7 (C-7'), 129.6 (C-8'), 76.2 (C-9'), 27.7 (-CH₃)。以上数据与文献报道^[12]基本一致, 故鉴定化合物 **13** 为补骨脂宁。

化合物 **14**: C₁₅H₁₆O₃, 无色粉末 (甲醇), GF₂₅₄ 薄层板在 254 nm 紫外下有暗斑, 365 nm 下为蓝色荧光。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 6.24 (1H, s, H-2), 6.20 (1H, s, H-4), 6.26 (1H, s, H-6), 6.64 (1H, s, H-2'), 6.61 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-4'), 7.07 (1H, t, J = 8.1 Hz, H-5'), 6.66 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-6'), 3.71 (3H, s, H-OCH₃), 2.78 (4H, m, -CH₂-CH₂-); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 145.4 (C-1), 109.0 (C-2), 159.3 (C-3), 99.9 (C-4), 162.2 (C-5), 106.5 (C-6), 144.7 (C-1'), 116.3 (C-2'), 158.3 (C-3'), 113.7 (C-4'), 130.2 (C-5'), 120.8 (C-6'), 55.5 (-OCH₃), 38.8, 39.2 (-CH₂-CH₂-)。以上数据与文献报道^[13]基本一致, 故鉴定化合物 **14** 为山药素 III。

化合物 **15**: C₂₀H₁₈O₄, 白色粉末 (甲醇), GF₂₅₄ 薄层板在 254 nm 紫外下有暗斑, 365 nm 下为蓝色荧光。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 8.23 (1H, s, H-2), 7.95 (1H, d, J = 8.3 Hz, H-5), 6.81 (1H, d, J = 8.3 Hz, H-6), 6.84 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 7.23 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.93 (1H, dd, J = 2.0, 8.3 Hz, H-5'), 7.20 (1H, dd, J = 2.0, 8.3 Hz, H-6'), 5.30 (1H,

m, H-1''), 3.23 (2H, d, $J = 7.4$ Hz, H-2''), 1.68 (6H, s, -CH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 152.7 (C-2), 123.7 (C-3), 174.7 (C-4), 127.3 (C-5), 115.1 (C-6), 162.6, (C-7), 102.1 (C-8), 157.4 (C-9), 116.7 (C-10), 131.1 (C-1'), 122.5 (C-2'), 127.2 (C-3'), 154.8 (C-4'), 114.5 (C-5'), 127.1 (C-6'), 28.2 (C-1''), 122.9 (C-2''), 130.0 (C-3''), 17.6 (C-4''), 25.5 (C-5''). 其余碳信号均为查耳酮骨架上碳的信号。以上数据与文献报道^[14]基本一致, 故鉴定化合物 **15** 为新补骨脂异黄酮。

化合物 **16**: C₂₀H₂₀O₄, 黄色粉末 (甲醇), GF₂₅₄ 薄层板在 254 nm 紫外下有暗斑, 365 nm 下为蓝色荧光。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.02 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-5), 6.47 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-6), 6.83 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', 5'), 7.47 (4H, m, H- α , β , 2', 6'), 3.23 (2H, d, $J = 7.0$ Hz, H-1''), 5.17 (1H, t, $J = 7.0$ Hz, H-2''), 1.61 (3H, s, H-4''), 1.72 (3H, s, H-5''); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 191.8 (-C=O-), 117.4 (C- α), 144.1 (C- β), 129.8 (C-1'), 131.2 (C-2', 6'), 115.9 (C-3', 5'), 160.3 (C-4'), 114.5 (C-1), 163.6 (C-2), 117.4 (C-3), 162.3 (C-4), 107.3 (C-5), 129.8 (C-6), 25.5 (C-1''), 122.3 (C-2''), 130.5 (C-3''), 17.7 (C-4''), 21.3 (C-5''). 其余碳信号均为查耳酮骨架上碳的信号。以上数据与文献报道^[14]基本一致, 故鉴定化合物 **16** 为异补骨脂查耳酮。

化合物 **17**: C₂₂H₂₆O₈, 无定形粉末 (甲醇), GF₂₅₄ 薄层板在 254 nm 紫外下有暗斑, 365 nm 下为蓝色荧光。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.60 (4H, m, H-3, 3', 5, 5'), 4.61 (2H, d, $J = 4.2$ Hz, H-7, 7'), 3.05 (2H, m, H-8a, 8a'), 3.78 (2H, m, H-9a, 9a'), 4.16 (2H, m, H-9b, 9b'), 3.75 (12H, s, 4 $\times$ -OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 131.4 (C-1, 1'), 147.9 (C-2, 2', 6, 6'), 103.6 (C-3, 3', 5, 5'), 134.9 (C-4, 4'), 85.3 (C-7, 7'), 53.6 (C-8, 8'), 71.1 (C-9, 9'), 56.0 (4 $\times$ -OCH₃)。以上数据与文献报道^[15]基本一致, 故鉴定化合物 **17** 为 2,6,2',6'-四甲基-4,4-双(2,3-环氧基-1-羟基丙基)联苯。

化合物 **18**: C₁₅H₁₄O₃, 无色粉末 (甲醇), GF₂₅₄ 薄层板在 254 nm 紫外下有暗斑, 365 nm 下为蓝色荧光。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 6.41 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-1), 6.31 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-3), 8.02 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-5), 6.64 (1H, m, H-6), 6.62 (1H, m, H-8), 2.63 (4H, m, -CH₂-CH₂-), 3.82 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 108.3

(C-1), 156.0 (C-2), 99.2 (C-3), 159.1 (C-4), 116.8 (C-4a), 126.2 (C-4b), 130.0 (C-5), 115.0 (C-6), 157.4 (C-7), 113.6 (C-8), 141.8 (C-8a), 31.2 (C-9), 31.8 (C-10), 140.5 (C-10a), 55.8 (-OCH₃)。以上数据与文献报道^[16]基本一致, 故鉴定化合物 **18** 为 coelonin。

化合物 **19**: C₁₆H₁₈O₄, 白色粉末 (甲醇), GF₂₅₄ 薄层板在 254 nm 紫外下有暗斑, 365 nm 下为蓝色荧光。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 6.68 (1H, s, H-2''), 6.61 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5''), 6.70 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-6''), 6.23 (2H, m, H-2', 6'), 6.19 (1H, d, $J = 1.3$ Hz, H-4'), 2.77 (4H, m, -CH₂-CH₂-), 3.79 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.71 (3H, s, 3''-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 38.5 (C-1), 39.6 (C-2), 145.5 (C-1'), 109.2 (C-2'), 159.4 (C-3'), 99.99 (C-4'), 162.2 (C-5'), 106.7 (C-6'), 134.7 (C-1''), 116.0 (C-2''), 148.6 (C-3''), 145.5 (C-4''), 113.4 (C-5''), 121.9 (C-6'')。以上数据与文献报道^[17]基本一致, 故鉴定化合物 **19** 为石斛酚。

化合物 **20**: 无色针晶 (二氯甲烷), 薄层 TLC 检测, 365 nm 下无荧光, 254 nm 处无暗斑, 10% 硫酸乙醇均成紫红色, 与 β -谷甾醇对照品共薄层, 不同的展开系统氯仿-丙酮、石油醚-丙酮、环己烷-醋酸乙酯中展开, 其薄层斑点 R_f 值和显色均一致, 故鉴定化合物 **20** 为 β -谷甾醇。

4 神经保护实验

4.1 SH-SY5Y 细胞株 H₂O₂ 损伤模型的建立

取对数生长期的 SH-SY5Y 细胞, 接种于 96 孔培养板中, 调整细胞密度为 8×10^4 个/mL, 每孔加入 100 μ L 含细胞的培养液, 置 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h 使其贴壁。然后分别对其进行损伤时间和损伤浓度的考察。

4.1.1 损伤浓度考察 设定 6 个浓度梯度 (25~800 μ mol/L), 每个浓度设 3 个复孔, 每孔分别给予 100 μ L 不同浓度的含 H₂O₂ 的培养液, 置 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中培养。同时设定 3 个空白对照孔。2 h 后弃去上清, 每孔中加入 MTT (5 mg/mL) 150 μ L, 继续在孵箱中孵育 4 h。弃去上清, 每孔加入 150 μ L DMSO, 震荡 10 min 后, 在 490 nm 处测定吸光度 (*A*) 值。实验平行重复 3 次。按照公式计算各浓度损伤组的细胞存活率, 结果如图 1 所示。

细胞存活率 = 样品组 *A* 值平均值 / 对照组 *A* 值平均值

4.1.2 损伤时间考察 设定 6 个时间点 (30~180 min), 每个点设 3 个复孔, 每孔中分别给予 100 μ L

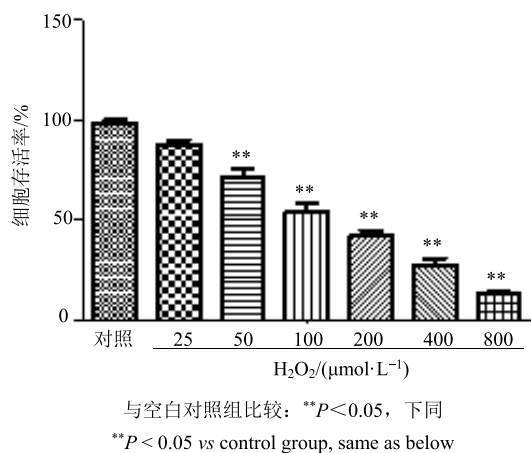


图 1 不同浓度的 H₂O₂ 对细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Fig. 1 Effect of H₂O₂ at different concentration on cell survival rate ($\bar{x} \pm s, n=3$)

浓度为 200 μmol/L 的含 H₂O₂ 的培养液, 置 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中培养不同时间。同时设定 3 个空白对照孔。弃去上清, 每孔中加入 MTT (5 mg/mL) 150 μL, 继续在孵箱中孵育 4 h。弃去上清, 每孔加入 150 μL DMSO, 震荡 10 min 后, 在 490 nm 处测定 A 值。实验平行重复 3 次。按照公式计算各浓度损伤组的细胞存活率, 结果如图 2 所示。

根据实验结果选取 200 μmol/L 的 H₂O₂ 与 SH-SY5Y 细胞作用 2 h 作为造模条件。

4.2 MTT 实验测试单体化合物的神经保护活性

每个化合物加 DMSO 溶解配制浓度为 100 mmol/L 的储备液备用, 取对数生长期的 SH-SY5Y 细胞, 接种于 96 孔培养板中, 细胞数密度为 8×10^4 个/mL, 每孔加入 100 μL 含细胞培养液, 置于培养箱中培养 24 h。然后对照组和造模组加入单纯培养液, 其余加入待测药物, 给药终浓度设置为 25、50、100 μmol/L, 每个浓度设 3 个复孔。置于 CO₂ 培养

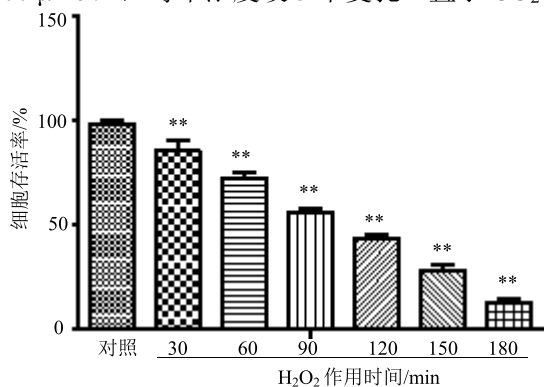


图 2 H₂O₂ 不同作用时间对细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Fig. 2 Effect of H₂O₂ in different acting time on cell survival rate ($\bar{x} \pm s, n=3$)

箱中培养 4 h 后, 对照组加单纯培养液, 其余各组给予 100 μL 含 H₂O₂ 的培养液使 H₂O₂ 终浓度为 200 μmol/L, 放入培养箱中继续培养 2 h 后吸去每孔中的上清液, 再向每孔加入含 MTT (5 mg/mL) 的培养液 150 μL, 培养箱中孵育 4 h。弃去上清, 每孔加入 150 μL DMSO 震荡 10 min, 在 490 nm 处测定 A 值。结果见图 3。

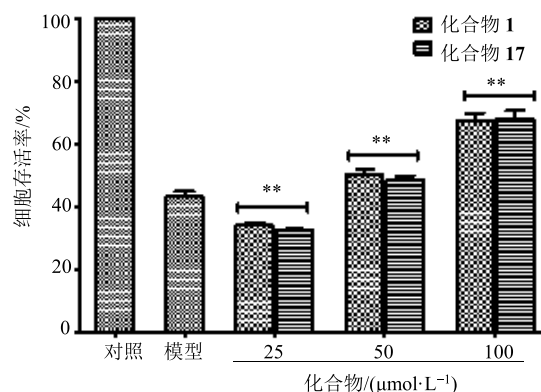


图 3 MTT 实验结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Fig. 3 MTT assay ($\bar{x} \pm s, n=3$)

实验结果显示, 化合物 1 和 17 可以剂量依赖性地减轻由 H₂O₂ 诱导产生的氧化损伤, 表现出显著的神经保护活性。

5 结论

在分离鉴定的化合物中, 化合物 7~9、13、15~17 为首次从该属植物中分离得到, 化合物 5、6 为首次从该植物中分离得到。MTT 实验结果显示, 化合物 1 和 17 可以显著地剂量依赖性地抑制由 H₂O₂ 诱导产生的神经细胞凋亡, 其发挥神经保护作用的机制很可能是通过减轻氧化损伤实现的, 但具体的作用靶点以及影响的信号通路还需进一步实验证实。

参考文献

- [1] 董海玲, 郭顺星, 王春兰, 等. 山慈菇的化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2007, 38(11): 1734-1737.
- [2] 隋爽. 山慈菇提取物抑制兴奋性神经毒作用的研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2014.
- [3] Cai M, Zhou Y, Gesang S, et al. Chemical fingerprint analysis of rhizomes of *Gymnadenia conopsea* by HPLC-DAD-MSⁿ [J]. *J Chromatogr B*, 2006, 844: 301-307.
- [4] Wang Y, Guan S H, Meng Y H, et al. Phenanthrenes, 9,10-dihydrophenanthrenes, bibenzyls with their derivatives, and malate or tartrate benzyls ester glucosides from tubers of *Cremastra appendiculata* [J]. *Phytochemistry*, 2013, 94: 268-276.

- [5] Li B, Masukawa N, Yamaki M, *et al.* Two bibenzyl glucosides from *Pleione bulbocoides* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 44(8): 1565-1567.
- [6] Jiang J Q, Ye W C, Chen Z, *et al.* Two new phenolic carboxylic acid esters from *Opuntia vulgaris* [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2002, 11(1): 1-3.
- [7] 王培培, 罗俊, 杨鸣华, 等. 半边莲的化学成分研究 [J]. 中草药, 2013, 44(7): 794-797.
- [8] 王文泽, 赵燕燕, 李锐, 等. 椒目化学成分研究 [J]. 中草药, 2008, 39(2): 184-186.
- [9] 刘晓秋, 李维维, 华会明, 等. 拳参的化学成分研究 [J]. 中草药, 2006, 37(10): 1476-1478.
- [10] Feng L, Xu Y H, Wang S S, *et al.* Preventative effects of 4, 4'-diphenylmethanebis (methyl) carbamate isolated from *Cortex Mori* on human umbilical vein endothelial cell dysfunction induced by advanced glycation end products [J]. *Phytother Res*, 2012, 26(3): 412-419.
- [11] Takagi S, Yamaki M, Inoue K. Antimicrobial agents from *Bletilla striata* [J]. *Phytochemistry*, 1983, 22(4): 1011-1015.
- [12] Matsuda H, Morikawa T H, Yoshikawa M. Antiallergic phenanthrenes and stilbenes from the tubers of *Gymnadenia conopsea* [J]. *Planta Med*, 2004, 70(9): 847-855.
- [13] Yang J Z, Jiang J H, Wang W J, *et al.* Isolation and characterization of batatasin iii and 3,4'-dihydroxy-5-methoxybibenzyl: A pair of positional isomers from *Sunipia scariosa* [J]. *Trop J Pharm Res*, 2014, 13(4): 533-535.
- [14] 陈业高, 于丽丽, 黄荣. 补骨脂化学成分的分离与鉴定 [J]. 云南化工, 2005, 32(2): 3-8.
- [15] Day S H, Wang J P, Won S J, *et al.* Bioactive constituents of the roots of *Cynanchum atratum* [J]. *Nat Prod*, 2001, 64(5): 608-611.
- [16] Majumder P L, Banerjee S, Maitid C, *et al.* Stilbenoids from the orchids *Agrostophyllum callosum* and *Coelogyne flaccida* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 39(3): 649-653.
- [17] 詹睿, 刘莹, 陈业高. 尾尖石仙桃化学成分的研究 [J]. 海南师范大学学报: 自然科学版, 2010, 23(1): 72-75.