

睡菜醋酸乙酯部位化学成分及其神经保护作用研究

金冠¹, 何芷芸^{1#}, 张志麒², 刘呈雄¹, 陈剑锋¹, 邹坤¹, 程凡^{1*}

1. 三峡大学生物与制药学院 天然产物研究与利用湖北省重点实验室(三峡大学), 湖北 宜昌 443002

2. 神农架国家公园管理局, 湖北 神农架林区 442400

摘要: 目的 研究神农架产睡菜 *Menyanthes trifoliata* 全草醋酸乙酯部位的化学成分及其神经保护作用。方法 采用薄层色谱, 正相硅胶、AB-8 大孔树脂、Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶及制备型 HPLC 等柱色谱方法分离纯化, 利用 NMR、MS 等波谱学方法鉴定化合物结构。采用体外建立皮质酮诱导 PC12 细胞损伤模型, 就单体化合物对皮质酮诱导 PC12 细胞损伤的保护作用进行初步确认。结果 从睡菜醋酸乙酯部位中得到了 21 个化合物, 分别鉴定为 4-*O*-咖啡酰奎尼酸甲酯(1)、绿原酸甲酯(2)、绿原酸(3)、异秦皮素(4)、异秦皮啶(5)、7*R*,7'*R*,8*S*,8'*S*-(+)-新-橄榄脂素-4-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷(6)、肿柄雪莲苷(7)、丁香脂素(8)、苏式-(7*R*,8*R*)-愈创木基丙三醇-8-香草醛醚(9)、(7*S*,8*R*)-二氢去氢二松柏醇-4-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷(10)、(-)-落叶松脂素-4-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷(11)、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷(12)、槲皮素-3-*O*-芸香糖苷(13)、去氢吐叶醇(14)、布卢门醇 A(15)、黑麦草内酯(16)、(E)-6-羟基-2,6-二甲基辛-2,7-二烯酸甲酯(17)、3-甲氧基酚-1-*O*-α-*L*-吡喃鼠李糖基-(1→6)-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷(18)、2-羟基苯并咪唑(19)、丁香醛(20)、1-苯基-1,2-乙二醇(21)。皮质酮诱导 PC12 细胞损伤的神经保护作用研究显示, 化合物 1~3、7、9 对皮质酮诱导 PC12 细胞损伤具有显著的保护作用, 化合物 4、5、10、11、15~17 表现出中等的保护作用。结论 化合物 1~9、11~12、14~21 为首次从该植物中分离得到; 部分化合物对皮质酮诱导 PC12 细胞损伤具有保护作用。

关键词: 睡菜; 抗焦虑; PC12 细胞; 神经保护; 4-*O*-咖啡酰奎尼酸甲酯; 绿原酸; 异秦皮素; 苏式-(7*R*,8*R*)-愈创木基丙三醇-8-香草醛醚

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2022)04-0985-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.04.004

Chemical constituents of ethyl acetate extract from *Menyanthes trifoliata* and their neuroprotective activity

JIN Guan¹, HE Zhi-yun¹, ZHANG Zhi-qi², LIU Cheng-xiong¹, CHEN Jian-feng¹, ZOU Kun¹, CHENG Fan¹

1. Hubei Key Laboratory of Natural Products Research and Development, College of Biological and Pharmaceutical Sciences, China Three Gorges University, Yichang 443002, China

2. Shengnongjia National Park Administration, Shengnongjia Forestry District 442400, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents of the ethyl acetate extract from the whole herb of *Menyanthes trifoliata* of Gentianaceae. **Methods** various chromatographic techniques, including positive phase silica gel column chromatography, thin-layer chromatography, AB-8 macroporous resin column chromatography, Sephadex LH-20 and preparative HPLC were used to separate and purify the chemical constituents. *In vitro* cell model was used for preliminary confirmation of the neuroprotective ability of compounds on corticosterone (CORT)-induced neurotoxicity in differentiated PC12 cells. **Results** Their structures were determined by various spectral data. Finally, 21 compounds were isolated from the acetic ether extract of *M. trifoliata* and the structures were identified as 4-*O*-caffeoylquinic acid methyl ester (1), methylchlorogenate (2), chlorogenic acid (3), isofraxetin (4), isofraxidin (5), 7*R*,7'*R*,8*S*,8'*S*-(+)-neo-olivul-4-*O*-β-*D*-glucopyranoside (6), conicaoside (7), (-)-syringaresinol (8), *threo*-(7*R*,8*R*)-guaiacylglycerol

收稿日期: 2021-10-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81773952); 国家自然科学基金资助项目(81803383); 湖北省神农架林区自然科学基金(SNJKJ2016029)

作者简介: 金冠(1996—), 硕士研究生, 研究方向为天然药物化学。E-mail: 1026102943@qq.com

*通信作者: 程凡(1973—), 副教授, 硕士生导师, 研究方向为天然药物化学。E-mail: chengf@ctgu.edu.cn

#共同第一作者: 何芷芸(1997—), 硕士研究生, 研究方向为天然药物化学。E-mail: 373389451@qq.com

8-vanillin ether (9), (7*S*,8*R*)-dihydrodehydrodiconiferyl alcohol-4-*O*- β -*D*-glucopyranoside (10), (-)-lariciresinol-4-*O*- β -*D*-glucopyranoside (11), kaempferol-3-*O*-rutinoside (12), quercetin-3-*O*-rutinoside (13), dehydrovomifoliol (14), blumenol A (15), loliolide (16), (*E*)-6-hydroxy-2,6-dimethylocta-2,7-dienoic acid methyl ester (17), 3-methoxyphenol 1-*O*- α -*L*-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-*O*- β -*D*-glucopyranoside (18), 2-hydroxybenzimidazole (19), syringaldehyde (20), 1-phenyl-1,2-ethanediol (21). The neuroprotective effects investigation of compounds on CORT-induced neurotoxicity in differentiated PC12 cells showed that compounds 1—3, 7, 9 had significant protective effects on PC12 cells, and compounds 4, 5, 10, 11, 15—17 showed moderate protective effects. **Conclusion** Compounds 1—9, 11—12, 14—21 are isolated from *M. trifoliata* for the first time. Some compounds exert neuroprotective activity to corticosterone-induced injury of PC12 cells.

Key words: *Menyanthes trifoliata* L.; anxiolytic activity; PC12 cell; neuroprotective activity; 4-*O*-caffeoylquinic acid methyl ester; chlorogenic acid; isofraxetin; *threo*-(7*R*,8*R*)-guaiacylglycerol 8-vanillin ether

睡菜 *Menyanthes trifoliata* L. 为龙胆科睡菜属多年生水生植物, 广布于北半球温带地区, 我国西藏、云南、四川、贵州、黑龙江、吉林、辽宁及鄂西地区均有分布^[1]。又名醉草、绰菜、瞿菜。《本草纲目》记载, 睡菜性甘微苦, 寒, 无毒, 以单方入药, 治心膈邪热, 不得眠; 《北方常用中草药手册》曰: 睡菜味甘微苦, 性温, 无毒, 能健脾消食、养心安神, 治胃炎、胃痛、消化不良、心悸失眠、心神不安^[2]。据《南方草木状》记载: “睡菜, 夏生于池沼间, 叶类慈姑, 根如藕条, 南海人食之, 云令人思睡, 呼为瞿菜”^[3]。睡菜在民间药食两用, 我国民间部分省市有采集睡菜做泡菜的习俗, 吃后较为嗜睡, 可以治疗失眠, 有养心安神的功效。睡菜中主要含有环烯醚萜、挥发油、生物碱、甾体等类成分。

本课题组在前期研究中已证实睡菜提取物毒性较小且具有良好的镇静催眠活性, 其中的醋酸乙酯部位具有显著地镇静催眠活性^[4]。《问斋医案》所云: “动甚则怔忡, 令人惶惕不安, 凄惶不乐, 甚至心烦虑乱, 不知所从, 无故多思, 寤不成寐”。阐明了焦虑与失眠有着密切联系, 并在病因病机方面有着共通之处。有研究显示, 失眠作为一项独立的危险因素, 在焦虑状态的发病过程中起着决定性的作用^[5-6]。PC12 细胞株来源于一种可移植的鼠嗜铬细胞瘤, 分化的 PC12 细胞具有典型的神经元的功能, 被广泛用于神经细胞分化、离子通道、受体、递质等研究领域^[7]。皮质酮是一种糖皮质激素, 可导致海马神经元的病理损伤, 从而诱导焦虑行为。这一特点使得高浓度皮质酮诱导 PC12 细胞损伤可模拟焦虑症神经细胞损伤状态^[8]。因此本研究从睡菜全草醋酸乙酯部位分离并鉴定得到 21 个化合物, 并通过建立皮质酮损伤的 PC12 细胞模型探究睡菜中抗焦虑活性物质, 该研究结果为深入开发利用睡菜植物资源, 发现具有抗焦虑活性的天

然活性物质奠定基础。

1 材料与仪器

1.1 仪器与试剂

Bruker AV 400 型核磁共振波谱仪 (瑞士布鲁克公司); Thermo ISQ LT 单四极杆气质联用仪 (美国赛默飞公司); Dionex Ultimate 3000 型高效液相色谱仪 (美国戴安公司); Waters 1525 EF 高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司); Venusil XBP C₁₈ 色谱柱 (半制备型; 250 mm $\times$ 10 mm, 10 μ m; 分析型: 250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m, 天津博纳艾杰尔科技有限公司); 低温冷冻干燥机 (美国 Labconco 公司); TECAN infinite F200 PRO 酶标仪 (瑞士帝肯公司); 荧光显微镜 (宁波舜宇仪器有限公司 XD30A-RFL); CO₂ 培养箱 (德国 binder 公司); 低温离心机 (德国 Eppendorf 公司); SZ-93 型自动双重纯水蒸馏器 (上海亚荣生化仪器厂); MS-TS 万分之一电子天平 (上海梅特勒-托利多有限公司); 正相色谱硅胶 (烟台化学工业研究所); 反相色谱硅胶 (日本 YMC 公司); Sephadex LH-20 (美国 Pharmacia 公司); MCI GEL (日本三菱化学); 1640 培养基 (美国 Gibco 公司); 胎牛血清 (浙江天杭生物科技股份有限公司); 皮质酮 (美国 Medchemexpress 公司); MTT (美国 Amersco 公司); DMSO (美国 Sigma 公司); 高效液相用乙腈、甲醇均为色谱纯 (美国 Tedia 公司); 水为三蒸水; 其他试剂均为分析纯 (国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 材料

实验用睡菜全草于 2018 年 9 月采自湖北省神农架大九湖, 经三峡大学生物与制药学院王玉兵博士鉴定为龙胆科睡菜属植物睡菜 *M. thestrifoliata* L. 的全草。植物标本现保存于三峡大学天然产物研究与利用湖北省重点实验室。

实验所用细胞: PC12 高分化细胞, 为三峡大学

医学院提供。接种于含 10%胎牛血清, 2%谷氨酰胺的 DMEM 培养液中, 在 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养。

2 方法

2.1 提取分离

睡菜干燥全草 (6.3 kg) 粉碎, 用 95%乙醇回流提取 3 次 (60 L×3), 每次 2 h。将乙醇提取液减压浓缩干燥, 得到睡菜醇提总浸膏 1514 g, 总浸膏加水均匀混悬, 依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取, 萃取液减压浓缩, 得到石油醚萃取部位 102 g、醋酸乙酯萃取部位 172 g、正丁醇萃取部位 350 g。

取醋酸乙酯萃取部位 160 g, 纯水溶解后, AB-8 大孔吸附树脂柱色谱分离, 依次用纯水及 20%、40%、60%、80%、100%乙醇洗脱, 减压浓缩干燥, 得到纯水洗脱部位 (13 g)、20%乙醇水洗脱部位 (6 g)、40%乙醇水洗脱部位 (34 g)、60%乙醇水洗脱部位 (23 g)、60%乙醇水洗脱部位 (30 g)、100%乙醇洗脱片段 (50 g)。取 40%乙醇水洗脱部位, 用 C₁₈ 反相硅胶柱色谱分离, 水-甲醇梯度洗脱, 经 HPLC 分析合并, 得到 10 个组分 Fr. C1~C10。Fr. C3 (1500 mg) 经 HW-20F 凝胶柱分离, 得到 Fr. C3a~C3i; Fr. C3a 经制备型 HPLC [乙腈-水 (18:82)] 纯化, 得到化合物 **7** (2.1 mg)、**13** (9.1 mg)、**18** (1.1 mg)、**21** (5.2 mg); Fr. C3b 经制备型 HPLC [乙腈-水 (20:80)] 纯化, 得到化合物 **2** (24.4 mg)、**5** (5.3 mg); Fr. C3e 经制备型 HPLC [乙腈-水 (22:78)] 纯化, 得到化合物 **1** (3.3 mg)、**4** (3.2 mg)、**14** (4.9 mg)、**15** (3.8 mg); Fr. C3i 经制备型 HPLC [乙腈-水 (23:77)] 纯化, 得到化合物 **12** (3.1 mg)、**16** (3.2 mg)、**19** (2.5 mg)。Fr. C6 经 Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱色谱分离, 得到 Fr. C6a~C6d。Fr. C6c 经制备型 HPLC [乙腈-水 (24:75)] 纯化, 得到化合物 **3** (11.7 mg)、**8** (3.1 mg)、**9** (3.1 mg)、**10** (8.1 mg)、**11** (30.1 mg); Fr. C6d 经制备型 HPLC [乙腈-水 (24:76)] 纯化, 得到化合物 **6** (10.1 mg)、**17** (3.9 mg)、**20** (2.3 mg)。

2.2 生物活性评价

2.2.1 皮质酮对 PC12 细胞的浓度选择 将浓度为 1.5×10^5 个/mL 的处于对数生长期 PC12 细胞接种于 96 孔板, 培养 24 h 后, 分别加入终浓度为 450、550、650、750、850、950、1050、1150 $\mu\text{mol/L}$ 皮质酮溶液, 培养 48 h 后, 每孔加入 25 μL MTT (5 mg/mL) 继续培养 4 h 后, 弃上清, 每孔加入 150 μL 二甲基

亚砷, 震荡 10 min 后, 于酶标仪 570 nm 波长处检测吸光度值。

2.2.2 实验分组及药物处理 将对数生长期的 PC12 细胞以 1.5×10^5 个/mL 细胞密度接种于 96 孔板中, 培养 24 h 后, 随机分为对照组 (只加细胞)、模型组 (650 $\mu\text{mol/L}$ 皮质酮)、实验组 (650 $\mu\text{mol/L}$ 皮质酮+200 $\mu\text{mol/L}$ 化合物 **1**~**21**), 继续培养 48 h。

2.2.3 MTT 法检测单体化合物对皮质酮诱导的 PC12 细胞的保护作用 PC12 细胞按照 “2.2.1” 项方法处理后, 每孔加入 25 μL MTT (5 mg/mL) 继续作用 4 h 后, 弃上清, 每孔加入 150 μL 二甲基亚砷, 震荡 10 min 后, 于酶标仪 570 nm 波长处检测吸光度值。

2.2.4 数据分析 所有实验数据进行 One-way ANOVA 比较分析, 并采用数据分析软件 Graphpad Prism 5.03 Turkey's *t* 检验进行组间显著性分析, 实验数据表示为 $\bar{x} \pm s$, $P < 0.05$ 时, 不同实验组间存在统计学意义。

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末, EI-MS m/z : 368 [M]⁺, 分子式为 C₁₇H₂₀O₉。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.51 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-7'), 7.06 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2'), 7.02 (1H, dd, $J = 8.1, 1.9$ Hz, H-6'), 6.78 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5'), 6.28 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8'), 4.74 (1H, m, H-4), 4.08 (1H, m, H-5), 3.95 (1H, m, H-3), 3.63 (3H, s, -OCH₃), 1.81~2.09 (4H, m, H-2, 6); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 173.7 (C-7), 166.5 (C-9'), 148.5 (C-4'), 145.6 (C-7'), 144.8 (C-3'), 125.7 (C-1'), 121.3 (C-6'), 115.9 (C-5'), 114.7 (C-2'), 114.5 (C-8'), 75.6 (C-4), 73.5 (C-1), 65.4 (C-5), 64.5 (C-3), 51.7 (-OCH₃), 40.9 (C-2), 38.1 (C-6)。以上数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 **1** 为 4-*O*-咖啡酰奎尼酸甲酯。

化合物 **2**: 白色粉末, EI-MS m/z : 368 [M]⁺, 分子式为 C₁₇H₂₀O₉。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.51 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-7'), 7.05 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2'), 6.95 (1H, dd, $J = 8.1, 1.9$ Hz, H-6'), 6.79 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5'), 6.20 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8'), 5.26 (1H, m, H-3), 4.13 (1H, m, H-5), 3.72 (1H, dd, $J = 7.5, 3.1$ Hz, H-4), 3.69 (3H, s, -OCH₃), 2.00~2.23 (4H, m, H-2, 6); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 175.5 (C-7), 168.3 (C-9'), 149.6 (C-4'), 147.4 (C-7),

146.6 (C-3'), 127.5 (C-1'), 123.1 (C-6'), 116.2 (C-5'), 115.2 (C-2'), 115.0 (C-8'), 75.7 (C-1), 72.3 (C-4), 72.1 (C-3), 70.1 (C-5), 53.0 (-OCH₃), 38.1 (C-6), 37.6 (C-2)。以上数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **2** 为绿原酸甲酯。

化合物 **3**: 白色粉末, EI-MS m/z : 354 [M]⁺, 分子式为 C₁₈H₁₈O₉。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.58 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-7'), 7.02 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.95 (1H, dd, J = 8.1, 2.0 Hz, H-6'), 6.76 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 6.32 (1H, t, J = 15.9 Hz), 5.35 (1H, m, H-3), 4.15 (1H, m, H-5), 3.65 (1H, dd, J = 8.5, 3.4 Hz, H-4), 1.96~2.22 (4H, m, H-2, 6); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 178.3 (C-7), 169.1 (C-9'), 149.5 (C-4'), 146.6 (C-7'), 146.6 (C-3'), 127.8 (C-1'), 122.8 (C-6'), 116.5 (C-5'), 115.9 (C-8'), 115.1 (C-2'), 75.5 (C-1), 74.8 (C-4), 73.1 (C-3), 68.3 (C-5), 41.6 (C-6), 36.6 (C-2)。以上数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **3** 为绿原酸。

化合物 **4**: 白色粉末, EI-MS m/z : 220 [M]⁺, 分子式为 C₁₁H₁₀O₅。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.89 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-4), 6.77 (1H, s, H-5), 6.32 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-3), 3.81 (3H, s, 6-OCH₃), 3.77 (3H, s, 7-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 160.3 (C-2), 149.9 (C-6), 144.9 (C-4), 140.3 (C-7), 138.5 (C-9), 138.4 (C-8), 114.6 (C-3), 114.5 (C-10), 100.4 (C-5), 60.7 (7-OCH₃), 56.1 (6-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 **4** 为异秦皮素。

化合物 **5**: 白色粉末, EI-MS m/z : 222 [M]⁺, 分子式为 C₁₁H₁₀O₅。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.83 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-4), 6.91 (1H, s, H-5), 6.20 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-3), 3.94 (3H, s, 6-OCH₃), 3.88 (3H, s, 8-OCH₃)。 ¹³C-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 163.4 (C-2), 147.8 (C-8), 146.6 (C-4), 146.3 (C-9), 144.8 (C-7), 136.7 (C-8), 112.2 (C-3), 112.1 (C-10), 104.9 (C-5), 61.7 (8-OCH₃), 56.7 (6-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 **5** 为异秦皮啉。

化合物 **6**: 白色无定形粉末, EI-MS m/z : 538 [M]⁺, 分子式为 C₂₆H₃₄O₁₂。 ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.14 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5), 7.12 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-2), 7.02 (1H, d, J = 1.7 Hz, H-2'), 6.97 (1H, dd, J = 8.2, 1.9 Hz, H-6), 6.87 (1H, dd, J = 8.1, 1.7 Hz, H-6'), 6.78 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-5'), 4.98 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-7'), 4.93 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-7),

4.89 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-1''), 3.89 (3H, s, 3-OCH₃), 3.88 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.56~3.73 (4H, m, H-9, 9'), 2.32 (2H, m, H-8, 8'); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 151.1 (C-3), 149.2 (C-3'), 147.6 (C-4), 147.4 (C-4'), 138.8 (C-1), 134.7 (C-1'), 120.5 (C-6), 120.3 (C-6'), 118.1 (C-5), 116.2 (C-5'), 111.7 (C-2), 111.2 (C-2'), 103.0 (C-1''), 84.9 (C-7'), 84.2 (C-7), 78.2 (C-5''), 77.9 (C-3''), 74.4 (C-2''), 71.4 (C-4''), 62.6 (C-2''), 61.9 (C-9), 61.7 (C-9'), 56.8 (3-OCH₃), 56.5 (3'-OCH₃), 55.4 (C-8'), 55.2 (C-8); 以上数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 **6** 为 7*R*,7'*R*,8*S*,8'*S*-(+)-新-橄榄脂素-4-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **7**: 白色无定形粉末, EI-MS m/z : 552 [M]⁺, 分子式为 C₂₇H₃₆O₁₂。 ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 6.77 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2'), 6.71 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 6.66 (2H, s, H-2, 6), 6.61 (1H, dd, J = 8.0, 1.8 Hz, H-6'), 4.86 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-1''), 4.75 (1H, d, J = 7.0 Hz, H-7), 3.99 (1H, m, H-9'a), 3.88 (1H, m, H-9'a), 3.84 (6H, s, 3, 5-OCH₃), 3.82 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.71 (1H, m, H-9'b), 3.58 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-7'), 2.88 (1H, dd, J = 13.4, 5.1 Hz, H-7'a), 2.67 (1H, m, H-8'), 2.48 (1H, dd, J = 13.4, 2.4 Hz, H-7'b), 2.32 (1H, m, H-8); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 154.3 (C-3, 5), 147.5 (C-3'), 144.6 (C-4'), 141.4 (C-4), 135.4 (C-1), 133.6 (C-1'), 122.2 (C-6'), 116.4 (C-5'), 113.2 (C-2'), 105.1 (C-1''), 104.5 (C-2, 6), 83.9 (C-7), 78.2 (C-5''), 77.7 (C-3''), 75.6 (C-2''), 73.8 (C-9'), 71.2 (C-4''), 62.6 (C-6''), 60.8 (C-9), 57.1 (3, 5-OCH₃), 56.2 (3'-OCH₃), 54.2 (C-8), 43.8 (C-8'), 33.5 (C-7')。以上数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 **7** 为肿柄雪莲苷。

化合物 **8**: 白色无定形粉末, EI-MS m/z : 418 [M]⁺, 分子式为 C₂₂H₂₆O₈。 ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 6.60 (4H, s, H-2, 2', 6, 6'), 4.72 (2H, d, J = 3.9 Hz, H-7, 7'), 4.29 (2H, dd, J = 8.9, 6.4 Hz, H-9a, 9a'), 3.88 (12H, s, 4×OCH₃), 3.86~3.92 (2H, m, H-9b, 9b'), 3.10 (2H, m, H-8, 8'); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 147.2 (C-3, 3', 5, 5'), 134.5 (C-4, 4'), 132.3 (C-1, 1'), 102.6 (C-2, 2', 6, 6'), 86.4 (C-7, 7'), 71.8 (C-9, 9'), 56.5 (4×OCH₃), 54.6 (C-8, 8')。以上数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 **8** 为丁香脂素。

化合物 **9**: 白色无定形粉末, EI-MS m/z : 348 [M]⁺, 分子式为 C₁₈H₂₀O₇。 ¹H-NMR (400 MHz,

DMSO- d_6) δ : 9.80 (1H, s, H-7'), 7.46 (1H, dd, $J = 8.4$, 2.0 Hz, H-6'), 7.35 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2'), 7.23 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 7.01 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2), 6.80 (1H, dd, $J = 8.1$, 1.9 Hz, H-6), 6.67 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 4.71 (1H, d, $J = 5.6$ Hz, H-7), 4.65~4.51 (1H, m, H-8), 3.80 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.73 (3H, s, 3-COH₃), 3.65 (1H, dd, $J = 11.9$, 5.9 Hz, H-9a), 3.51 (1H, dd, $J = 11.9$, 3.4 Hz, H-9b); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 191.2 (C-7'), 154.1 (C-4'), 149.6 (C-4), 147.0 (C-3'), 145.5 (C-3), 132.8 (C-1), 129.2 (C-1'), 125.6 (C-6'), 119.2 (C-6), 114.5 (C-5'), 113.7 (C-5), 111.1 (C-2), 110.3 (C-2'), 83.5 (C-8), 71.4 (C-7), 60.3 (C-9), 56.1 (3'-OCH₃), 55.9 (3-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 **9** 为苏式-(7*R*,8*R*)-愈创木基丙三醇-8-香草醛醚。

化合物 **10**: 白色无定形粉末, EI-MS m/z : 522 [M]⁺, 分子式为 C₂₆H₃₄O₁₁。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.13 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 7.01 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-2), 6.94 (1H, dd, $J = 8.4$, 1.7 Hz, H-6), 6.73 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-6'), 6.71 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-2'), 5.53 (1H, d, $J = 5.8$ Hz, H-7), 4.89 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, Glc-H-1''), 3.83 (3H, s, 3-OCH₃), 3.82 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.75 (1H, m, H-9a), 3.66 (1H, m, H-9b), 3.54 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H-9'), 3.45 (1H, m, H-8), 2.62 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-7'), 1.81 (2H, m, H-8'); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 149.4 (C-3), 146.3 (C-4), 146.1 (C-4'), 143.7 (C-3'), 137.1 (C-1), 135.6 (C-1'), 128.3 (C-5'), 118.0 (C-6), 116.8 (C-5), 116.5 (C-6'), 112.7 (C-2'), 109.7 (C-2), 101.3 (C-1''), 87.2 (C-7), 76.9 (C-5''), 76.4 (C-3''), 73.4 (C-2''), 70.1 (C-4''), 63.6 (C-9), 61.2 (C-6''), 60.7 (C-9'), 55.5 (3-OCH₃), 55.2 (3'-OCH₃), 54.3 (C-8), 34.5 (C-8'), 31.5 (C-7')。以上数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 **10** 为 (7*S*,8*R*)-二氢去氢二松柏醇-4- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **11**: 白色粉末, EI-MS m/z : 522 [M]⁺, 分子式为 C₂₆H₃₄O₁₁。¹H-NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.01 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-5'), 6.89 (1H, brs, H-2), 6.76 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-6'), 6.75 (1H, s, H-6), 6.65 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5), 6.55 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 4.85 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, Glc-H-1''), 4.73 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-7'), 3.89 (1H, m, 6.0 Hz, H-9'), 3.73 (6H, s, 2×OCH₃), 3.45 (2H, m, H-9), 2.21 (1H, m, H-8'), 3.66 (1H, m, H-8'), 3.59 (1H, t, $J = 7.4$ Hz,

H-9'), 2.82 (1H, m, H-7'), 2.56 (1H, m, H-8), 2.40 (1H, m, H-7'), 2.20 (1H, m, H-8'); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 148.6 (C-3'), 147.5 (C-3), 145.4 (C-4'), 144.5 (C-4), 137.1 (C-1'), 131.7 (C-1), 120.7 (C-6), 117.6 (C-6'), 115.4 (C-5), 115.4 (C-5'), 112.6 (C-2'), 112.6 (C-2), 100.2 (C-1''), 81.6 (C-7'), 77.0 (C-5''), 71.8 (C-2''), 71.8 (C-9), 69.7 (C-4''), 60.4 (C-6''), 58.4 (C-9'), 56.2 (-OCH₃), 55.3 (-OCH₃), 52.6 (C-8'), 41.8 (C-8), 32.2 (C-7)。以上数据与文献报道一致^[18], 故鉴定化合物 **11** 为(-)-落叶松脂素-4- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **12**: 黄色粉末, EI-MS m/z 594 [M]⁺, 分子式为 C₂₇H₃₀O₁₅。¹H-NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.99 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2', 6'), 6.86 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3', 5'), 6.35 (1H, s, H-8), 6.16 (1H, s, H-6), 5.29 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, Glc-H-1''), 4.40 (1H, brs, Rha-H-1'''), 1.00 (3H, d, $J = 7.5$ Hz, Rha-H-6'''); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 177.3 (C-4), 165.4 (C-7), 161.2 (C-5), 160.1 (C-4), 156.5 (C-2), 133.3 (C-3), 131.0 (C-2', 6'), 120.8 (C-1), 115.2 (C-3', 5'), 103.4 (C-10), 101.5 (C-1''), 100.7 (C-1'''), 99.0 (C-6), 93.8 (C-8), 76.3 (C-3''), 75.9 (C-5''), 74.1 (C-2''), 71.9 (C-4''), 70.5 (C-4''), 70.4 (C-2''), 69.8 (C-3''), 68.2 (C-5''), 67.0 (C-6''), 17.7 (C-6'')。以上数据与文献报道一致^[19], 故鉴定化合物 **12** 为山柰酚-3- α -芸香糖苷。

化合物 **13**: 黄色粉末, EI-MS m/z : 624 [M]⁺, 分子式为 C₂₈H₃₂O₁₆。¹H-NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.87 (1H, s, H-2'), 7.53 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6'), 6.93 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.41 (1H, s, H-8), 6.20 (1H, s, H-6), 5.45 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, Glc-H-1''), 4.44 (1H, brs, Rha-H-1'''), 3.27 (3H, s, -OCH₃), 0.99 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, Rha-H-6'''), 0.99 (3H, d, $J = 6.1$ Hz, Rha-H-6''); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 177.3 (C-4), 164.5 (C-7), 161.2 (C-5), 157.1 (C-2), 156.1 (C-9), 149.1 (C-4'), 147.5 (C-3'), 133.1 (C-3), 122.4 (C-6'), 121.2 (C-1'), 115.4 (C-5'), 113.4 (C-2'), 103.4 (C-10), 102.2 (C-1''), 101.0 (C-1'''), 99.6 (C-6), 94.4 (C-8), 76.7 (C-3''), 76.1 (C-5''), 74.5 (C-2''), 72.1 (C-4''), 70.9 (C-2''), 70.7 (C-4''), 70.3 (C-3''), 68.5 (C-5''), 67.2 (C-6''), 56.0 (-OCH₃), 18.0 (C-6'')。以上数据与文献报道一致^[20], 故鉴定化合物 **13** 为槲皮素-3- α -芸香糖苷。

化合物 **14**: 黄色粉末, EI-MS m/z : 222 [M]⁺,

分子式为 $C_{13}H_{18}O_3$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.01 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-7), 6.46 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-8), 5.97 (1H, m, H-4), 2.65 (1H, d, $J = 17.8$ Hz, H-2), 2.32 (3H, s, H-10), 1.91 (3H, d, $J = 1.4$ Hz, H-13), 1.07 (3H, s, H-12), 1.01 (3H, s, H-11); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 199.2 (C-9), 199.0 (C-3), 163.1 (C-5), 147.0 (C-7), 130.4 (C-8), 126.5 (C-4), 78.4 (C-6), 49.2 (C-2), 41.7 (C-1), 26.3 (C-10), 23.4 (C-12), 22.1 (C-11), 17.5 (C-13)。以上数据与文献报道一致^[21], 故鉴定化合物 **14** 为去氢吐叶醇。

化合物 **15**: 无色油状物, EI-MS m/z : 224 $[M]^+$, 分子式为 $C_{13}H_{20}O_3$ 。 1H -NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 5.70 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, H-7), 5.63 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, H-8), 5.78 (1H, brs, H-4), 4.19 (1H, d, $J = 6.4$ Hz, H-9), 2.35 (1H, d, $J = 16.6$ Hz, H-2a), 2.05 (1H, d, $J = 16.6$ Hz, H-2b), 1.82 (3H, d, $J = 1.2$ Hz, H-13), 1.11 (3H, s, H-10), 0.93 (3H, s, H-11), 0.91 (3H, s, H-12); ^{13}C -NMR (100 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 197.5 (C-3), 164.5 (C-5), 135.8 (C-7), 127.9 (C-8), 125.5 (C-4), 77.9 (C-6), 65.9 (C-9), 49.4 (C-2), 41.0 (C-1), 24.1 (C-10), 23.7 (C-12), 23.1 (C-11), 19.0 (C-13)。以上数据与文献报道一致^[22], 故鉴定化合物为布卢门醇 A。

化合物 **16**: 白色无定形粉末, EI-MS m/z : 196 $[M]^+$, 分子式为 $C_{11}H_{16}O_3$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 5.73 (1H, s, H-7), 4.18 (1H, m, H-3), 2.42 (1H, dt, $J = 14.0, 2.8$ Hz, H-4b), 2.01 (1H, dt, $J = 14.5, 2.8$ Hz, H-2b), 1.77 (3H, s, H-11), 1.75 (1H, dd, $J = 14.0, 3.8$ Hz, H-4a), 1.51 (1H, dd, $J = 14.5, 3.8$ Hz, H-2a), 1.47 (3H, s, H-9), 1.27 (3H, s, H-10); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 185.4 (C-6), 174.4 (C-8), 113.2 (C-7), 88.8 (C-5), 67.2 (C-3), 47.7 (C-2), 46.3 (C-4), 37.2 (C-1), 30.7 (C-10), 27.1 (C-11), 26.6 (C-9)。以上数据与文献报道一致^[23], 故鉴定化合物 **16** 为黑麦草内酯。

化合物 **17**: 黄色油状物, EI-MS m/z : 196 $[M]^+$, 分子式为 $C_{12}H_{20}O_2$ 。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.75 (1H, dd, $J = 7.1, 1.3$ Hz, H-3), 5.88 (1H, dd, $J = 17.2, 10.7$ Hz, H-7), 5.21 (1H, dd, $J = 17.2, 1.4$ Hz, H-8a), 5.08 (1H, dd, $J = 10.7, 1.4$ Hz, H-8b), 3.71 (3H, s, $-OCH_3$), 2.19 (2H, m, H-4), 1.81 (3H, s, H-10), 1.62 (2H, m, H-5), 1.28 (3H, s, H-9); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 168.7 (C-1), 144.4 (C-7), 142.1 (C-3), 127.6 (C-2), 112.2 (C-8), 73.1 (C-6), 51.7

($-OCH_3$), 40.7 (C-5), 27.9 (C-9), 23.5 (C-4), 12.2 (C-10)。以上数据与文献报道一致^[24], 故鉴定化合物 **17** 为 (*E*)-6-羟基-2, 6-二甲基辛-2, 7-二烯酸甲酯。

化合物 **18**: 白色无定形粉末, EI-MS m/z : 432 $[M]^+$, 分子式为 $C_{19}H_{28}O_{11}$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.15 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, H-6), 7.03 (1H, d, $J = 2.9$ Hz, H-2), 6.95~7.02 (2H, m, H-4, 5), 4.86 (1H, d, $J = 6.6$ Hz, Glc-H-1'), 4.72 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, Rha-H-1''), 3.86 (3H, s, 3- OCH_3), 1.21 (3H, d, $J = 5.2$ Hz, Rha-H-6''); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 150.7 (C-3), 147.8 (C-1), 124.3 (C-2), 122.2 (C-5), 118.5 (C-6), 113.5 (C-4), 102.5 (C-1'), 102.2 (C-1''), 77.9 (C-3'), 76.8 (C-5'), 75.0 (C-2'), 74.1 (C-3''), 72.3 (C-4''), 72.2 (C-2''), 71.5 (C-4'), 70.1 (C-5''), 67.9 (C-6'), 56.8 ($-OCH_3$), 17.9 (C-6'')。以上数据与文献报道一致^[25], 故鉴定化合物 **18** 为 3-甲氧基苯酚-1-*O*- α -L-吡喃鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 6)-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **19**: 浅黄色粉末, EI-MS m/z : 134 $[M]^+$, 分子式为 $C_7H_6N_2O$ 。 1H -NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 10.71 (2H, s, 2 $\times$ NH), 7.04~6.97 (4H, m, H-5, 6, 7, 8); ^{13}C -NMR (100 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 155.3 (C-2), 129.7 (C-4, 9), 120.4 (C-6, 7), 108.5 (C-5, 8)。以上数据与文献报道一致^[26], 故鉴定化合物 **19** 为 2-羟基苯并咪唑。

化合物 **20**: 无色针状晶体 (氯仿), EI-MS m/z : 182 $[M]^+$, 分子式为 $C_9H_{10}O_4$ 。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 9.79 (1H, s, 1-CHO), 7.13 (2H, s, H-2, 6), 3.91 (6H, s, 3, 5- OCH_3); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 190.5 (C-1), 147.1 (C-3, 5), 141.0 (C-4), 128.2 (C-1), 106.8 (C-6), 56.3 (3, 5- OCH_3)。以上数据与文献报道一致^[27], 故鉴定化合物 **20** 为 syringaldehyde。

化合物 **21**: 无色粉末, EI-MS: m/z 138 $[M]^+$, 分子式为 $C_8H_{10}O_2$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.25~7.38 (5H, m, H-2~6), 4.67 (1H, dd, $J = 7.4, 4.7$ Hz, H-1'), 3.64 (2H, m, H-2'); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 143.4 (C-1), 129.1 (C-3, 5), 128.4 (C-4), 127.5 (C-2, 6), 76.1 (C-1'), 68.5 (C-2')。以上数据与文献报道一致^[28], 故鉴定化合物 **21** 为 1-苯基-1, 2-乙二醇。

3.2 皮质酮对 PC12 细胞损伤的浓度选择

结果 (图 1) 显示, 皮质酮对 PC12 细胞的损伤程度随浓度呈相关性上升, 450、550、650、750、850、950、1050、1150 μ mol/L 皮质酮作用 PC12 细

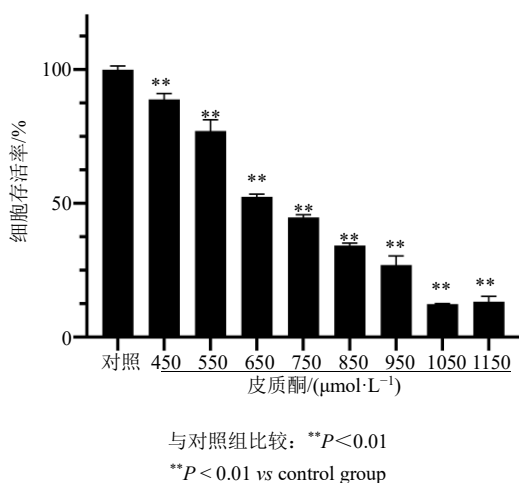


图 1 不同浓度皮质酮对 PC12 细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 1 Effect of different concentrations of CORT on cell viability in PC 12 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

胞 48 h 后, 其细胞存活率分别为 (88.81 ± 2.21) %、(77.07 ± 4.21) %、(52.47 ± 0.99) %、(44.78 ± 0.95) %、(34.26 ± 0.91) %、(26.96 ± 3.36) %、(12.32 ± 0.22) %、

(13.21 ± 2.02) %。本结果验证了一定浓度的皮质酮确实能损伤神经元, 650 μmol/L 皮质酮作用 48 h 对高分化 PC12 细胞的抑制率接近 50%, 故选择以体外 650 μmol/L 皮质酮 48 h 作用于 PC12 细胞以模拟焦虑症神经细胞损伤状态, 构建抗焦虑活性成分体外细胞筛选模型。

3.3 单体化合物对皮质酮诱导的 PC12 细胞损伤的保护作用

结果显示, 与模型组相比, 化合物 1~5、7、9~11、15~17 与 650 μmol/L 皮质酮共同作用 PC12 细胞 48 h 后, 细胞存活率分别提高至 (92.29 ± 2.31) %、(90.74 ± 1.61) %、(91.62 ± 1.83) %、(63.11 ± 2.30) %、(61.01 ± 1.21) %、(101.18 ± 1.56) %、(105.23 ± 1.11) %、(67.77 ± 1.89) %、(65.66 ± 1.06) %、(75.94 ± 0.24) %、(64.39 ± 1.47) %、(72.88 ± 1.82) %。苯丙素、木脂素、黄酮、单萜类均有不同程度的促进皮质酮(650 μmol/L)诱导的 PC12 细胞增殖的作用。其中, 化合物 1~3、7、9 对皮质酮(650 μmol/L)诱导的 PC12 细胞损伤保护作用最为显著, 见图 2。

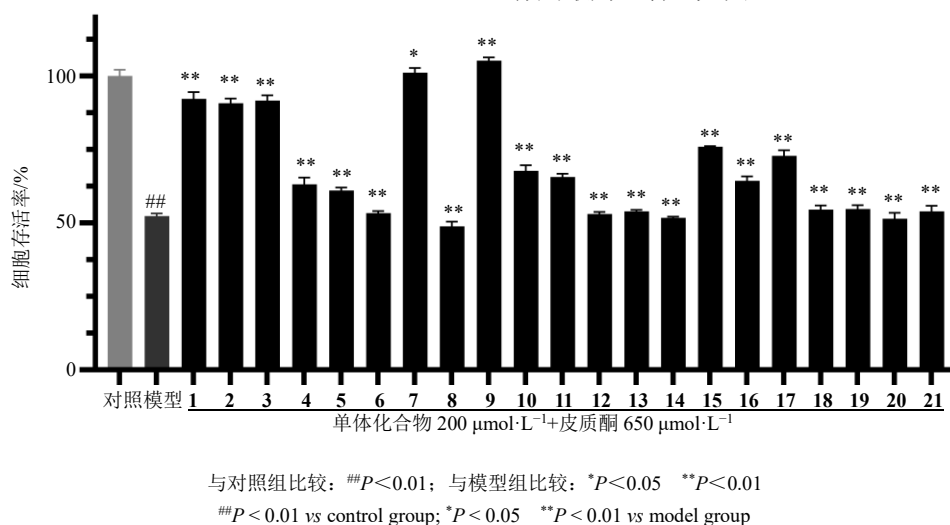


图 2 睡菜提取单体化合物对皮质酮诱导受损 PC12 细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Effects of compounds isolated from *M. trifoliata* on cell viability in corticosterone-treated PC 12 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

4 讨论

本研究从睡菜全草醋酸乙酯部位分离并鉴定得到 21 个化合物, 包括 3 个苯丙素类 (1~3), 2 个香豆素类 (4 和 5), 6 个木脂素类 (6~11), 2 个黄酮类 (12 和 13), 4 个单萜类 (14~17), 4 个其他类 (18~21)。同时考察了 21 个化合物对皮质酮诱导损伤的 PC12 细胞的保护作用。结果表明化合物 1~3、7、9 表现出显著的保护作用, 化合物 4、5、10、11、15~17 表现出中等的保护作用。

北五味子作为我国传统的安神药, 近年来的研究报道了北五味子木脂素具有显著的中枢抑制与安神作用^[29]。合欢皮研究也证明其抗焦虑的主要活性成分是(-)-丁香树脂酚-4-O-β-D-葡萄糖苷, 其作用机制可能与抑制 PC12 细胞线粒体凋亡有关^[30]。后续将进一步探索睡菜主要活性成分对皮质酮损伤的 PC12 细胞的抗凋亡及保护作用机制, 阐明睡菜抗焦虑活性的药效物质基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1989, 75(2): 300-301.
- [2] 中国医学科学院药物研究所. 中药志 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993: 105-108.
- [3] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草(第七册) [M]. 上海: 科学技术出版社, 1999(19): 757.
- [4] 林芳, 陈静文, 张志麒, 等. 睡菜提取物对小鼠急性毒性及镇静催眠活性研究 [J]. 食品研究与开发, 2019, 40(11): 31-35.
- [5] Hertenstein E, Johann A, Baglioni C, *et al.* Treatment of insomnia - A preventive strategy for cardiovascular and mental disorders [J]. *Ment Heal Prev*, 2016, 4(2): 96-103.
- [6] 世界中医药学会联合会, 中华中医药学会. 国际中医临床实践指南 焦虑症(2020-10-11) [J]. 世界中医药, 2021, 16(8): 1188-1191.
- [7] Anderson D J, Michelsohn A. Role of glucocorticoids in the chromaffin-neuron developmental decision [J]. *Int J Dev Neurosci*, 1989, 7(5): 475-487.
- [8] Zhou H, Li X, Gao M. Curcumin protects PC12 cells from corticosterone-induced cytotoxicity: Possible involvement of the ERK1/2 pathway [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2009, 104(3): 236-240.
- [9] 赵珊, 张宝, 熊丹丹, 等. 苗药黑骨藤的化学成分研究 [J]. 中草药, 2017, 48(8): 1513-1518.
- [10] Jung H A, Park J C, Chung H Y, *et al.* Antioxidant flavonoids and chlorogenic acid from the leaves of *Eriobotrya japonica* [J]. *Arch Pharm Res*, 1999, 22(2): 213-218.
- [11] 刘卫卫, 张于, 郝小江, 等. 佛肚树的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(12): 1953-1956.
- [12] 张宝, 姚成芬, 汪洋, 等. 耳叶牛皮消水溶性部位的化学成分研究 [J]. 中草药, 2018, 49(4): 786-790.
- [13] Kikuchi M, Kikuchi M. Studies on the constituents of *Swertia japonica* Makino II. On the structures of new glycosides [J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2005, 53(1): 48-51.
- [14] 冯卫生, 何玉环, 郑晓珂, 等. 望春玉兰蕾中木脂素类化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(5): 970-976.
- [15] 冯凯, 华沛, 顾琼, 等. 大叶土蜜树化学成分及抗神经炎活性研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(2): 264-268.
- [16] Sakushima A, Ohno K, Maoka T, *et al.* Guaiacylglycerol-7'-O-methyl 8'-vanillic acid ether and related compounds from *Boreava orientalis* [J]. *Phytochem Anal*, 2003, 14(1): 48-53.
- [17] Zhao X C, Du J L, Xie Y G, *et al.* Chemical constituents of the flowers of *Hemerocallis minor* [J]. *Chem Nat Compd*, 2018, 54(3): 556-558.
- [18] Su J, Wu Z J, Shen Y H, *et al.* Lignans from *Daphne giraldii* [J]. *Chem Nat Compd*, 2008, 44(5): 648-650.
- [19] Sawabe A, Nesumi C, Morita M, *et al.* Glycosides in African dietary leaves, *Hibiscus sabdariffa* [J]. *J Oleo Sci*, 2005, 54(3): 185-191.
- [20] Ni L, Qiu Y T, Shi Y, *et al.* Chemical constituents of the roots of *Ormosia hosiei* [J]. *Chem Nat Compd*, 2019, 55(5): 972-974.
- [21] Demmak R G, Bordage S, Bensegueni A, *et al.* Chemical constituents from *Solenostemma argel* and their cholinesterase inhibitory activity [J]. *Nat Prod Sci*, 2019, 25(2): 115.
- [22] 阎新佳, 郑威, 温静, 等. 白花败酱草的化学成分研究 [J]. 中草药, 2017, 48(2): 247-251.
- [23] 文庆, 王宝杰, 高雨秋, 等. 香港鹰爪花枝叶中的化学成分研究 [J]. 中草药, 2019, 50(3): 551-556.
- [24] Marco J A, Sanz-Cervera J F, Sancenon F, *et al.* Oplopanone derivatives monoterpene glycosides from *Artemisia sieberi* [J]. *Phytochemistry*, 1993, 34(4): 1061-1065.
- [25] Zhang Y M, Xu J, Xiao L, *et al.* A New Phenolic Glycoside from *Chamaecyparis obtusa* var. *breviramea* f. *crippsii* [J]. *Molecules*, 2013, 18(1): 1255-1261.
- [26] Liu P, Wang Z M, Hu X M. Highly efficient synthesis of ureas and carbamates from amides by iodosylbenzene-induced Hofmann rearrangement [J]. *Eur J Org Chem*, 2012, 2012(10): 1994-2000.
- [27] Niu X M, Li S H, Peng L Y, *et al.* Constituents from *Limonia crenulata* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2001, 3(4): 299-311.
- [28] 卢辛甜, 邵莉, 赵碧清, 等. 苦笋化学成分及其抗炎活性 [J]. 中成药, 2019, 41(11): 2663-2667.
- [29] Kim S R, Lee M K, Koo K A, *et al.* Dibenzocyclooctadiene lignans from *Schisandra chinensis* protect primary cultures of rat cortical cells from glutamate-induced toxicity [J]. *J Neurosci Res*, 2004, 76(3): 397-405.
- [30] 吴婉琴. 合欢皮抗焦虑活性部位作用机理研究及主要活性成分对 PC12 细胞凋亡的影响 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2017.

[责任编辑 王文倩]