

## “太白七药”朱砂七化学成分研究

李 鑫, 徐浩南, 李世兴, 张化为, 姜 祎, 李玉泽, 宋小妹, 张东东\*, 王 薇\*

陕西中医药大学药学院, 陕西 咸阳 712046

**摘要:** 目的 研究朱砂七(毛脉首乌 *Fallopia multiflora* var. *cillinerve* 根)的化学成分及其细胞毒活性和抗病毒活性。方法 采用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱以及半制备 HPLC 等方法进行分离纯化, 根据理化性质及其波谱数据鉴定所得化合物的结构。采用 MTT 法测定其细胞毒活性, CCK-8 法测定其抗病毒活性。结果 从朱砂七 75%乙醇提取物中分离得到 20 个化合物, 分别鉴定为大黄素甲醚(1)、大黄素(2)、 $\beta$ -谷甾醇(3)、1,8-二羟基蒽醌(4)、1-methyl emodin(5)、(+)-丁香树脂酚(6)、(+)-lirioresinol A(7)、反式对羟基肉桂酸(8)、大黄素-1-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷(9)、 $\omega$ -羟基大黄素(10)、(+)-儿茶素(11)、(-)-表儿茶素(12)、南烛木糖苷(13)、(+)-异落叶松脂素-9-O- $\beta$ -D-吡喃木糖苷(14)、反式-4-甲氧基肉桂酸(15)、顺式-4-甲氧基肉桂酸(16)、槲皮素(17)、槲皮素-3-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷(18)、胡萝卜苷(19)、dermolutein(20)。化合物 1、2、10 对人肺癌 A549 细胞的半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration,  $IC_{50}$ )为 21.77~46.71  $\mu\text{mol/L}$ ; 化合物 2 对人结肠癌 HCT116 细胞的  $IC_{50}$  值为 24.21  $\mu\text{mol/L}$ ; 化合物 2、5、10 对人结肠癌 SW620 细胞的  $IC_{50}$  值为 14.61~90.13  $\mu\text{mol/L}$ ; 化合物 2 对人类肠道病毒 A71 型(enterovirus-A71, EV-A71)病毒的抑制率为 65.16%。结论 化合物 5、20 为首次从蓼科植物中分离得到。化合物 4、6、7、13~16 为首次从何首乌属植物中分离得到, 化合物 8、9、11、12、17、18 为首次从朱砂七中分离得到, 化合物 1 对 A549 细胞具有细胞毒活性, 化合物 2 对 A549、HCT116、SW620 细胞具有细胞毒活性, 化合物 5 对 SW620 细胞具有细胞毒活性, 化合物 10 对 A549、SW620 细胞具有细胞毒活性, 此外, 化合物 2 对 EV-A71 病毒有一定的抑制作用。

**关键词:** 朱砂七; 细胞毒活性; 抗病毒活性; 大黄素甲醚; 大黄素; 1-methyl emodin;  $\omega$ -羟基大黄素; 1,8-二羟基蒽醌

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)04-1043-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.04.004

## Study on chemical constituents of “Taibai Qi Yao” *Fallopia multiflora* var. *ciliinervis*

LI Xin, XU Hao-nan, LI Shi-xing, ZHANG Hua-wei, JIANG Yi, LI Yu-ze, SONG Xiao-mei, ZHANG Dong-dong, WANG Wei

School of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

**Abstract: Objective** To study the chemical constituents of *Fallopia multiflora* var. *cillinerve* and its cytotoxic and antiviral activities. **Methods** The compounds were isolated and purified by silica, Sephadex LH-20 and semi-preparative HPLC, and the structures were identified based on the physicochemical properties and spectral data analysis. The cytotoxic activity was determined by MTT method and the antiviral activity was determined by CCK-8 method. **Results** Twenty compounds were isolated from 75% ethanol extract of *F. multiflora* var. *cillinerve* and identified as physcion (1), emodin (2),  $\beta$ -sitosterol (3), 1,8-dihydroxy-anthraquinone (4), 1-methyl emodin (5), (+)-syringaresinol (6), (+)-lirioresinol A (7), *p*-hydroxy-cinnamic acid (8), emodin-1-O- $\beta$ -D-glucoside (9),  $\omega$ -hydroxyemodin (10), (+)-catechin (11), (-)-epicatechin (12), lyoniside (13), (+)-isolariciresinol-9-O- $\beta$ -D-xylopyranoside (14), *trans*-4-methoxycinnamic acid (15), *cis*-4-methoxycinnamic acid (16), quercetin (17), quercetin-3-O- $\beta$ -D-glucoside (18), daucosterol (19) and dermolutein (20). The half maximal inhibitory concentration ( $IC_{50}$ ) of compounds 1, 2 and 10 for human lung cancer A549 cells was 21.77—46.71  $\mu\text{mol/L}$ , The  $IC_{50}$  value of compound 2 against human colon cancer HCT116 cells was 24.21  $\mu\text{mol/L}$ , and The  $IC_{50}$  values of compounds 2, 5 and 10 against human colon cancer SW620 cells were

收稿日期: 2022-06-18

基金项目: 陕西省科技厅重点研发计划项目(2022SF-254); 陕西中医药大学学科创新团队项目(2019-YL12)

作者简介: 李 鑫(1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药检验与质量分析。E-mail: 2463763362@qq.com

\*通信作者: 王 薇(1972—), 女, 博士, 教授, 从事中药药效物质基础及中药炮制研究。Tel: (029)38185165 E-mail: 2051003@sntcm.edu.cn

张东东(1990—), 男, 博士, 副教授, 从事中药药效物质基础研究。Tel: (029)38185165 E-mail: zhangnatprod@163.com

14.61—90.13  $\mu\text{mol/L}$ 。The inhibitory rate of compound **2** against human enterovirus-A71 (EV-A71) virus was 65.16%。Conclusion Compounds **5**, **20** were first isolated from Polygonaceae, compounds **4**, **6**, **7**, **13**—**16** were isolated from the genus *Pleuropterus* for the first time, and compounds **8**, **9**, **11**, **12**, **17**, **18** were isolated from this plant for the first time, compounds **1**, **2**, **5** and **10** showed cytotoxic activities against A549, HCT116 and SW620 cells, compound **2** showed inhibitory effect on EV-A71 virus.

**Key words:** *Fallopia multiflora* Thunb. var. *cillinerve* (Nakai) Yonekura & H. Ohashi; cytotoxic activity; antiviral activity; physcion; emodin; 1-methyl emodin;  $\omega$ -hydroxyemodin; 1,8-dihydroxy-anthraquinone

朱砂七为蓼科 (Polygonaceae) 何首乌属 *Pleuropterus* Turcz. 植物毛脉首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. var. *cillinerve* (Nakai) Yonekura & H. Ohashi 的干燥块根, 是陕西秦巴山区特色“太白七药”之一<sup>[1-3]</sup>。性凉, 味苦、微涩, 具有清热解暑、凉血止血、祛风湿、强腰膝、滋养肝肾的效果<sup>[2]</sup>。临床用于扁桃体炎、胃炎、肠炎、尿路感染; 外用治跌打损伤、外伤出血等<sup>[3]</sup>。国内对朱砂七的研究主要集中于抗炎、抗肿瘤、抗病毒等药理研究, 而对朱砂七化学成分的报道较少<sup>[4-6]</sup>。课题组在前期研究基础上对朱砂七进行系统性研究<sup>[7]</sup>, 从朱砂七 75% 乙醇提取物中分离鉴定出 20 个化合物, 分别为大黄素甲醚 (physcion, **1**)、大黄素 (emodin, **2**)、 $\beta$ -谷甾醇 ( $\beta$ -sitosterol, **3**)、1,8-二羟基蒽醌 (1,8-dihydroxy-anthraquinone, **4**)、1-methyl emodin (**5**)、(+)-丁香树脂酚 [(+)-syringaresinol, **6**]、(+)-lirioresinol A (**7**)、反式对羟基肉桂酸 (*p*-hydroxy-cinnamic acid, **8**)、大黄素-1-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷 (emodin-1-*O*- $\beta$ -D-glucoside, **9**)、 $\omega$ -羟基大黄素 ( $\omega$ -hydroxyemodin, **10**)、(+)-儿茶素 [(+)-catechin, **11**]、(-)-表儿茶素 [(-)-epicatechin **12**]、南烛木糖苷 (lyoniside, **13**)、(+)-异落叶松脂素-9-*O*- $\beta$ -D-吡喃木糖苷 [(+)-isolariciresinol-9-*O*- $\beta$ -D-xylopyranoside, **14**]、反式-4-甲氧基肉桂酸 (*trans*-4-methoxycinnamic acid, **15**)、顺式-4-甲氧基肉桂酸 (*cis*-4-methoxycinnamic acid, **16**)、槲皮素 (quercetin, **17**)、槲皮素-3-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷 (quercetin-3-*O*- $\beta$ -D-glucoside, **18**)、胡萝卜苷 (daucosterol, **19**)、dermolutein (**20**)。其中化合物 **5**、**20** 为首次从蓼科中分离得到, 化合物 **4**、**6**、**7**、**13**—**16** 为首次从何首乌属中分离得到, 化合物 **8**、**9**、**11**、**12**、**17**、**18** 为首次从该植物中分离得到。化合物 **1** 对人肺癌 A549 细胞具有细胞毒活性, 化合物 **2** 可抑制 A549 细胞、人结肠癌 HCT116 和 SW620 细胞增殖, 化合物 **5** 对 SW620 细胞具有细胞毒活性, 化合物 **10** 对 A549、SW620 细胞均有细胞毒活性, 此外, 化合物 **2** 对人类肠道病毒 A71 型病

毒 (enterovirus A71, EV-A71) 具有一定的抑制作用。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

AVANCE 型核磁共振波谱仪 (德国 Burkert 公司); YMC-Pack Pro C<sub>18</sub> 半制备色谱柱 (250 mm $\times$ 10 mm, 5  $\mu\text{m}$ , 日本 YMC 公司); LC-6AD 型半制备液相色谱仪 (日本岛津公司); Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (GE Healthcare Bio-Sciences AB 公司); Rudolph Autopol VI 型旋光分析仪 (美国鲁道夫公司); NU-5800E 型细胞培养箱 (美国 Nuair 公司); MultiskanGO 型酶标仪 (美国赛默飞公司); DLSB series 型低温冷凝循环泵 (郑州长城科工贸公司); 硅胶柱色谱 (100~200、200~300 目, 青岛海洋化工厂); 薄层硅胶板 (烟台江友硅胶发展有限公司); 其他试剂均为分析纯; 水为超纯水。

### 1.2 材料

顺铂 (批号 H20023460) 购自齐鲁医药公司; Peptide 2 由武汉病毒研究所自制的病毒抑制靶向肽; 单纯疱疹病毒 1 型 (herpes simplex virus-1, HSV-1, 批号 VR-733)、EV-A71 (批号 VR-1432) 购自 ATCC; 寨卡病毒 (zika virus, ZIKV, 批号 GZ01) 购自武汉病毒学研究所。

朱砂七于 2021 年 5 月采自陕西秦岭太白山地区, 经陕西中医药大学药学院王薇教授鉴定为蓼科何首乌属植物毛脉首乌 *P. multiflorum* Thunb. var. *cillinerve* (Nakai) Yonekura & H. Ohashi 的干燥块根。标本 (20180627) 保存于陕西中医药大学药用植物标本室。

## 2 提取与分离

朱砂七药材干燥根 10.0 kg, 用 100 L 75% 乙醇回流提取 3 次, 每次 1.5 h。合并提取液, 减压浓缩, 分别用石油醚、水饱和正丁醇萃取 3 次, 浓缩干燥得石油醚部位 15 g, 正丁醇部位 570 g。取石油醚部位采用硅胶柱色谱分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (80:1 $\rightarrow$ 0:1) 梯度洗脱, 得到 4 个组分 Fr. 1~4。其中 Fr. 2 (7.20 g) 经硅胶柱色谱以石油醚-醋酸乙酯 (50:1 $\rightarrow$ 0:100) 梯度洗脱, 得到 3 个组分 Fr. 2.1~

2.3. Fr. 2.2 (1.20 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(二氯甲烷-甲醇 1:1) 反复纯化, 得到化合物 **1** (200 mg) 和 **2** (300 mg)。取正丁醇部位经硅胶柱色谱, 以二氯甲烷-甲醇(100:0→0:1) 梯度洗脱, 得到 8 个组分 FE. 1~8。FE. 1 (5.00 g) 硅胶柱色谱以二氯甲烷-甲醇(100:1→10:1) 梯度洗脱, 得到 4 个组分 FE. 1.1~1.4。FE. 1.1 (0.74 g) 经凝胶柱色谱(二氯甲烷-甲醇 1:1) 分离、重结晶得到化合物 **3** (30 mg), FE. 1.2 (0.50 g) 经凝胶柱色谱(二氯甲烷-甲醇 1:1) 分离, 重结晶得到化合物 **4** (18 mg)。FE. 3 (43 g) 经硅胶柱色谱以二氯甲烷-甲醇(80:1→0:100) 梯度洗脱得到 5 个组分 FE. 3.1~3.5。FE. 3.3 (11.27 g) 经半制备 HPLC 纯化(甲醇-水 75:25, 1.50 mL/min, 检测波长 203 nm) 得到化合物 **20** (25 mg,  $t_R=26.6$  min)、**10** (10 mg,  $t_R=30.1$  min)、**5** (25 mg,  $t_R=35.3$  min)。FE. 4 (58.40 g) 经硅胶柱色谱以二氯甲烷-甲醇(80:1→0:100) 梯度洗脱得到 5 个组分 FE. 4.1~4.5。FE. 4.2 (20.20 g) 经硅胶柱色谱以二氯甲烷-甲醇(80:1→0:1) 梯度洗脱得到 3 个组分 FE. 4.2.1~4.2.3。FE. 4.2.1 经半制备 HPLC 纯化(甲醇-水 70:30, 1.50 mL/min, 检测波长 203 nm), 得到化合物 **11** (13 mg,  $t_R=25.7$  min)、**7** (5 mg,  $t_R=32.6$  min)、**6** (10 mg,  $t_R=33.7$  min)。FE. 4.2.2 经半制备 HPLC 纯化(甲醇-水 65:35, 1.50 mL/min, 检测波长 203 nm), 得到化合物 **17** (25 mg,  $t_R=23.9$  min)、**12** (13 mg,  $t_R=29.4$  min)。FE. 4.2.3 经重结晶得到化合物 **19** (50 mg)。FE. 5 (50.1 g) 采用硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇(60:1→0:100) 梯度洗脱, 得到 5 个组分 FE. 5.1~5.5。FE. 5.1 (7.50 g) 采用凝胶柱色谱分离(甲醇), 再经半制备 HPLC 纯化(甲醇-水 60:40, 1.50 mL/min, 检测波长为 203 nm) 分离, 得到化合物 **8** (9 mg,  $t_R=19.3$  min)、**15** (13 mg,  $t_R=20.9$  min)、**16** (13 mg,  $t_R=35.1$  min)。FE. 5.3 (15.80 g) 采用凝胶柱色谱分离(甲醇), 再经半制备 HPLC 纯化(甲醇-水 55:45, 1.50 mL/min, 检测波长 254 nm) 分离, 得到化合物 **13** (30 mg,  $t_R=25.0$  min)、**9** (15 mg,  $t_R=32.7$  min)。FE. 6 (150 g) 采用硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇(60:1→0:1) 梯度洗脱, 得到 5 个组分 FE. 6.1~6.5。FE. 6.2 (23 g) 采用凝胶柱色谱分离(甲醇), 经半制备 HPLC 纯化(甲醇-水 40:60, 1.50 mL/min, 检测波长 203 nm) 分离, 得到化合物 **18** (25 mg,

$t_R=24.2$  min)、**14** (16 mg,  $t_R=35.5$  min)。

### 3 结构鉴定

化合物 **1**: 橙黄色针状结晶(甲醇), ESI-MS  $m/z$ : 285.1  $[M+H]^+$ , 分子式为  $C_{16}H_{12}O_5$ 。 $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 6.65 (1H, d,  $J=2.6$  Hz, H-2), 7.32 (1H, d,  $J=2.6$  Hz, H-4), 7.58 (1H, d,  $J=1.6$  Hz, H-5), 7.05 (1H, d,  $J=1.6$  Hz, H-7), 2.44 (3H, s, 6-CH<sub>3</sub>), 3.93 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 165.3 (C-1), 106.9 (C-2), 166.7 (C-3), 108.3 (C-4), 121.4 (C-5), 148.6 (C-6), 124.6 (C-7), 162.3 (C-8), 190.8 (C-9), 182.1 (C-10), 133.3 (C-9a), 113.8 (C-9b), 110.4 (C-10a), 135.4 (C-10b), 22.3 (6-CH<sub>3</sub>), 56.2 (3-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道进行对比<sup>[8]</sup>, 鉴定化合物 **1** 为大黄素甲醚。

化合物 **2**: 黄色粉末, ESI-MS  $m/z$ : 271.1  $[M+H]^+$ , 分子式为  $C_{15}H_{10}O_5$ 。 $^1H$ -NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 11.95 (1H, s, 1-OH), 11.31 (1H, s, 3-OH), 12.07 (1H, s, 8-OH), 7.21 (1H, d,  $J=1.0$  Hz, H-2), 7.47 (1H, d,  $J=1.0$  Hz, H-4), 7.04 (1H, d,  $J=2.5$  Hz, H-5), 6.51 (1H, d,  $J=2.5$  Hz, H-7), 2.40 (3H, s, 6-CH<sub>3</sub>);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 164.5 (C-1), 107.3 (C-2), 166.0 (C-3), 109.2 (C-4), 120.0 (C-5), 147.8 (C-6), 124.4 (C-7), 161.2 (C-8), 190.0 (C-9), 181.7 (C-10), 134.4 (C-4a), 133.1 (C-4b), 113.8 (C-8a), 108.3 (C-8b), 22.8 (6-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献对照基本一致<sup>[9]</sup>, 鉴定化合物 **2** 为大黄素。

化合物 **3**: 白色针状结晶(三氯甲烷), ESI-MS  $m/z$ : 413.4  $[M-H]^-$ , 分子式为  $C_{29}H_{50}O$ 。 $^1H$ -NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 3.54 (1H, m, H-3), 5.37 (1H, d,  $J=5.0$  Hz, H-6), 0.70 (3H, s, H-18), 1.03 (3H, s, H-19), 0.94 (3H, d,  $J=6.5$  Hz, H-21);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 36.0 (C-1), 28.6 (C-2), 71.3 (C-3), 39.3 (C-4), 140.3 (C-5), 121.2 (C-6), 31.2 (C-7, 8), 49.6 (C-9), 35.7 (C-10), 19.3 (C-11), 36.8 (C-12), 41.8 (C-13), 56.3 (C-14), 22.6 (C-15), 25.6 (C-16), 55.6 (C-17), 11.5 (C-18), 18.5 (C-19), 33.4 (C-20), 18.3 (C-21), 31.4 (C-22), 23.8 (C-23), 45.3 (C-24), 27.8 (C-25), 18.9 (C-26, 27), 20.6 (C-28), 11.4 (C-29)。以上数据与文献一致<sup>[10]</sup>, 鉴定化合物 **3** 为  $\beta$ -谷甾醇。

化合物 **4**: 黄色粉末, ESI-MS  $m/z$ : 241.1  $[M+H]^+$ , 分子式为  $C_{14}H_8O_4$ 。 $^1H$ -NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 7.74 (2H, t,  $J=7.9$  Hz, H-3, 6), 7.59 (2H, d,  $J=7.5$  Hz, H-4, 5), 7.29 (2H, d,  $J=8.3$  Hz,

H-2, 7);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 161.8 (C-1, 8), 124.9 (C-2, 7), 137.9 (C-3, 6), 119.7 (C-4, 5), 181.3 (C-9), 192.4 (C-10), 116.3 (C-8a, 9a), 133.8 (C-4a, 10a)。以上数据与文献一致<sup>[11]</sup>, 鉴定化合物 4 为 1,8-二羟基蒽醌。

化合物 5: 粉色针状结晶 (甲醇), ESI-MS  $m/z$ : 285.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$ 。  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 6.77 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-2), 7.13 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-4), 7.32 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-5), 7.03 (1H, s, H-7), 3.88 (3H, s, 8- $\text{OCH}_3$ ), 2.35 (3H, s, 6- $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 164.5 (C-1), 104.9 (C-2), 161.7 (C-3), 106.9 (C-4), 119.1 (C-5), 146.6 (C-6), 124.1 (C-7), 163.4 (C-8), 186.3 (C-9), 182.3 (C-10), 114.4 (C-9a), 112.6 (C-9b), 132.0 (C-10a), 136.8 (C-10b), 56.3 (8- $\text{OCH}_3$ ), 21.4 (6- $\text{CH}_3$ )。以上数据与文献报道进行对比<sup>[12]</sup>, 鉴定化合物 5 为 1-methyl emodin。

化合物 6: 白色粉末,  $[\alpha]_D^{20} + 17.8^\circ$  ( $c$  0.05, MeOH); ESI-MS  $m/z$ : 419.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_8$ 。  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 6.61 (4H, s, H-2, 6, 2', 6'), 4.62 (2H, d,  $J = 4.0$  Hz, H-7, 7'), 3.05 (1H, m, H-8, 8'), 4.16 (4H, m, H-9, 9'), 3.78 (12H, s, 3, 5, 3', 5'- $\text{OCH}_3$ );  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 131.9 (C-1, 1'), 104.1 (C-2, 6, 2', 6'), 148.4 (C-3, 5, 3', 5'), 135.3 (C-4, 4'), 85.8 (C-7, 7'), 54.1 (C-8, 8'), 71.6 (C-9, 9'), 56.5 (3, 5, 3', 5'- $\text{OCH}_3$ )。以上数据与文献对照基本一致<sup>[13]</sup>, 鉴定化合物 6 为 (+)-丁香树脂酚。

化合物 7: 白色粉末,  $[\alpha]_D^{20} + 72.3^\circ$  ( $c$  0.05,  $\text{CHCl}_3$ ); ESI-MS  $m/z$ : 419.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_8$ 。  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 6.61 (1H, s, H-2, 6), 4.33 (1H, d,  $J = 7.0$  Hz, H-7), 2.82 (1H, m, H-8), 4.10 (1H, d,  $J = 9.2$  Hz, H-9a), 3.68~3.84 (1H, m, H-9b), 6.63 (1H, s, H-2', 6'), 4.77 (1H, d,  $J = 6.0$  Hz, H-7'), 3.09 (1H, m, H-8'), 3.79 (1H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-9'a), 3.50~3.52 (1H, m, H-9'b), 3.78 (3H, s, 3', 5', 3, 5- $\text{OCH}_3$ );  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 135.0 (C-1), 103.4 (C-2, 6), 148.4 (C-3, 5), 139.2 (C-4), 87.6 (C-7), 55.6 (C-8), 72.9 (C-9), 128.8 (C-1'), 104.1 (C-2', 6'), 148.3 (C-3', 5'), 136.2 (C-4'), 82.0 (C-7'), 49.3 (C-8'), 68.9 (C-9'), 57.1 (3', 5'- $\text{OCH}_3$ ), 56.9 (3, 5- $\text{OCH}_3$ )。以上数据与文献对照基本一致<sup>[14]</sup>, 鉴定化合物 7 为 (+)-lirioresinol A。

化合物 8: 淡黄色粉末, ESI-MS  $m/z$ : 163.0  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , 分子式为  $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$ 。  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.44 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-2, 6), 6.80 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-3, 5), 7.62 (1H, d,  $J = 16.0$  Hz, H-7), 6.33 (1H, d,  $J = 16.0$  Hz, H-8);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 127.3 (C-1), 131.3 (C-2, 6), 116.9 (C-3, 5), 161.4 (C-4), 146.7 (C-7), 115.1 (C-8), 169.9 (C-9)。以上数据与文献对照基本一致<sup>[15]</sup>, 鉴定化合物 8 为反式对羟基肉桂酸。

化合物 9: 黄色针状结晶 (甲醇), ESI-MS  $m/z$ : 433.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$ 。  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 7.16 (1H, d,  $J = 1.7$  Hz, H-2), 7.46 (1H, d,  $J = 1.7$  Hz, H-4), 7.28 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-5), 7.0 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-7), 2.40 (3H, s, 6- $\text{CH}_3$ ), 5.05 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz, H-1'), 3.35 (1H, m, H-2'), 3.43 (1H, m, H-3'), 3.49 (1H, m, H-4'), 3.56 (1H, m, H-5'), 3.94 (1H, dd,  $J = 2.3, 12.1$  Hz, H-6'), 3.75 (1H, dd,  $J = 5.7, 12.1$  Hz, H-6');  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 161.0 (C-1), 124.1 (C-2), 164.2 (C-3), 119.2 (C-4), 108.3 (C-5), 146.9 (C-6), 108.3 (C-7), 161.7 (C-8), 186.4 (C-9), 182.1 (C-10), 113.3 (C-9a), 114.5 (C-9b), 136.5 (C-10a), 132.1 (10b), 21.4 (6- $\text{CH}_3$ ), 100.8 (C-1'), 73.2 (C-2'), 76.4 (C-3'), 69.4 (C-4'), 77.3 (C-5'), 60.6 (C-6')。以上数据与文献对照基本一致<sup>[16]</sup>, 鉴定化合物 9 为大黄素-1- $O$ - $\beta$ - $D$ -葡萄糖苷。

化合物 10: 橙黄色针状结晶 (甲醇), ESI-MS  $m/z$ : 287.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$ 。  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 6.57 (1H, d,  $J = 2.5$  Hz, H-2), 7.10 (1H, d,  $J = 2.5$  Hz, H-4), 7.61 (1H, d,  $J = 1.6$  Hz, H-5), 7.23 (1H, d,  $J = 1.6$  Hz, H-7), 4.61 (2H, s, 6- $\text{CH}_2\text{OH}$ );  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 164.5 (C-1, 3), 107.9 (C-2), 108.8 (C-4), 117.0 (C-5), 152.8 (C-6), 120.8 (C-7), 161.4 (C-8), 189.6 (C-9), 181.3 (C-10), 108.9 (C-9a), 114.0 (C-9b), 135.1 (C-10a), 132.9 (C-10b), 62.0 (6- $\text{CH}_2\text{OH}$ )。以上数据与文献对照基本一致<sup>[17]</sup>, 鉴定化合物 10 为  $\omega$ -羟基大黄素。

化合物 11: 白色针晶 (甲醇),  $[\alpha]_D^{20} + 16.9^\circ$  ( $c$  0.05, MeOH); ESI-MS  $m/z$ : 289.1  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , 分子式为  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$ 。  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 4.55 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz, H-2), 3.97 (1H, m, H-3), 2.85 (1H, dd,  $J = 16.1, 5.4$  Hz, H-4), 2.50 (1H, dd,  $J = 16.1, 8.1$

Hz, H-4), 5.85 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-6), 5.92 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-8), 6.84 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-2'), 6.70 (1H, dd,  $J = 8.1, 2.0$  Hz, H-5'), 6.75 (1H, d,  $J = 8.1$  Hz, H-6');  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 82.9 (C-2), 68.9 (C-3), 28.5 (C-4), 157.9 (C-5), 96.3 (C-6), 157.6 (C-7), 95.6 (C-8), 100.9 (C-4a), 157.0 (C-8a), 132.3 (C-1'), 116.1 (C-2'), 146.3 (C-3'), 146.3 (C-4'), 115.3 (C-5'), 120.1 (C-6')。以上数据与文献对照基本一致<sup>[18]</sup>, 鉴定化合物 **11** 为 (+)-儿茶素。

化合物 **12**: 无定形粉末,  $[\alpha]_D^{20} -23.4^\circ$  ( $c$  0.05, MeOH); ESI-MS  $m/z$ : 291.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$ 。  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 4.89 (1H,  $J = 7.5$  Hz, H-2), 2.71 (2H,  $J = 16.5$  Hz, H-4), 6.05 (1H,  $J = 2.0$  Hz, H-6), 5.94 (1H,  $J = 2.0$  Hz, H-8), 6.99 (1H, H-2'), 6.76 (2H, H-5', 6');  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 78.5 (C-2), 67.2 (C-3), 28.9 (C-4), 156.6 (C-5), 95.0 (C-6), 157.3 (C-7), 95.5 (C-8), 157.0 (C-9), 99.7 (C-10), 132.9 (C-1'), 114.5 (C-2'), 144.5 (C-3'), 144.4 (C-4'), 118.9 (C-5'), 115.0 (C-6')。以上数据与文献对照基本一致<sup>[19]</sup>, 鉴定化合物 **12** 为 (-)-表儿茶素。

化合物 **13**: 黄色油状物, ESI-MS  $m/z$ : 553.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{O}_{12}$ 。  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 6.54 (1H, s, H-6), 2.67 (2H, m, H-7), 1.70 (1H, m, H-8), 3.63 (1H, m, H-9), 6.40 (1H, s, H-2', 6'), 4.22 (1H, d,  $J = 7.0$  Hz, H-7'), 1.98 (1H, m, H-8'), 3.79 (2H, m, H-9'), 4.10 (1H, d,  $J = 7.2$  Hz, H-1''), 3.12 (2H, m, H-2''), 3.23 (1H, m, H-3''), 3.55 (1H, m, H-4''), 3.16 (1H, m, H-5''), 3.83 (3H, s, 3', 5'-OCH<sub>3</sub>), 3.23 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>), 3.74 (3H, s, 5-OCH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 130.2 (C-1), 126.4 (C-2), 148.6 (C-3), 138.9 (C-4), 147.5 (C-5), 107.7 (C-6), 34.1 (C-7), 40.4 (C-8), 65.9 (C-9), 139.6 (C-1'), 106.8 (C-2', 6'), 148.9 (C-3', 5'), 134.4 (C-4'), 43.0 (C-7'), 46.8 (C-8'), 70.8 (C-9'), 105.8 (C-1''), 74.8 (C-2''), 78.0 (C-3''), 71.2 (C-4''), 67.0 (C-5''), 56.7 (3', 5'-OCH<sub>3</sub>), 56.5 (3-OCH<sub>3</sub>), 60.0 (5-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献对照基本一致<sup>[20]</sup>, 鉴定化合物 **13** 为南烛木糖苷。

化合物 **14**: 白色粉末,  $[\alpha]_D^{20} +43.0^\circ$  ( $c$  0.05, MeOH); ESI-MS  $m/z$ : 493.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{O}_{10}$ 。  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 6.65 (1H, s, H-3), 6.18 (1H, s, H-6), 2.82 (2H, m, H-7), 2.06

(1H, m, H-8), 3.69 (1H, dd,  $J = 11.0, 3.7$  Hz, H-9a), 3.75 (1H, dd,  $J = 11.0, 3.7$  Hz, H-9b), 6.78 (1H, d,  $J = 1.7$  Hz, H-2'), 6.74 (1H, d,  $J = 8.1$  Hz, H-5'), 6.63 (1H, dd,  $J = 8.1, 1.7$  Hz, H-6'), 4.40 (1H, m, H-7'), 1.86 (1H, m, H-8'), 3.78 (1H, dd,  $J = 9.8, 2.6$  Hz, H-9'), 3.98 (1H, dd,  $J = 9.8, 2.6$  Hz, H-9'), 4.06 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz, H-1''), 3.13 (2H, m, H-2''), 3.22 (1H, m, H-3''), 3.52 (1H, m, H-4''), 3.19 (1H, m, H-5''), 3.81 (3H, s, 3'-OCH<sub>3</sub>), 3.80 (3H, s, 5-OCH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 129.1 (C-1), 112.4 (C-2), 117.4 (C-3), 145.9 (C-4), 148.9 (C-5), 134.3 (C-6), 33.8 (C-7), 39.7 (C-8), 65.2 (C-9), 138.6 (C-1'), 114.3 (C-2'), 147.2 (C-3'), 145.2 (C-4'), 116.1 (C-5'), 123.1 (C-6'), 48.0 (C-7'), 45.9 (C-8'), 69.5 (C-9'), 105.8 (C-1''), 75.0 (C-2''), 77.9 (C-3''), 71.3 (C-4''), 66.9 (C-5''), 56.4 (3'-OCH<sub>3</sub>), 56.5 (5-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献对照基本一致<sup>[21]</sup>, 鉴定化合物 **14** 为 (+)-异落叶松脂素-9-*O*- $\beta$ -D-吡喃木糖苷。

化合物 **15**: 白色粉末, ESI-MS  $m/z$ : 177.1  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , 分子式为  $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_3$ 。  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.44 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-2, 6), 6.80 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-3, 5), 7.62 (1H, d,  $J = 15.9$  Hz, H-7), 6.33 (1H, d,  $J = 15.9$  Hz, H-8), 3.75 (3H, s, 4-OCH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 127.1 (C-1), 131.3 (C-2, 6), 116.9 (C-3, 5), 161.4 (C-4), 146.7 (C-7), 115.1 (C-8), 169.9 (C-9), 52.1 (4-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献对照基本一致<sup>[22]</sup>, 鉴定化合物 **15** 为反式-4-甲氧基肉桂酸。

化合物 **16**: 白色粉末, ESI-MS  $m/z$ : 177.1  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , 分子式为  $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_3$ 。  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.21 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-2, 6), 6.58 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-3, 5), 7.63 (1H, d,  $J = 12.8$  Hz, H-7), 6.45 (1H, d,  $J = 12.8$  Hz, H-8), 3.73 (3H, s, 4-OCH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 127.7 (C-1), 133.6 (C-2, 6), 116.3 (C-3, 5), 160.1 (C-4), 145.1 (C-7), 115.9 (C-8), 168.9 (C-9), 51.7 (4-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献对照基本一致<sup>[23]</sup>, 鉴定化合物 **16** 为顺式-4-甲氧基肉桂酸。

化合物 **17**: 白色粉末, ESI-MS  $m/z$ : 303.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$ 。  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 6.38 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-6), 6.18 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-8), 7.38 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-2'), 6.52 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-5'), 7.24 (1H, dd,  $J = 8.5,$

2.2 Hz, H-6');  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 147.5 (C-2), 136.5 (C-3), 178.3 (C-4), 156.3 (C-5), 98.5 (C-6), 162.4 (C-7), 94.3 (C-8), 162.5 (C-9), 102.5 (C-10), 122.3 (C-1'), 118.2 (C-2', 6'), 144.3 (C-3'), 148.6 (C-4'), 115.2 (C-5')。以上数据与文献对照基本一致<sup>[24]</sup>, 鉴定化合物 **17** 为槲皮素。

化合物 **18**: 白色粉末, ESI-MS  $m/z$ : 465.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$ 。  $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 6.38 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-6), 6.18 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-8), 7.38 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-2'), 6.52 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-5'), 7.24 (1H, dd,  $J = 8.5$ , 2.2 Hz, H-6'), 5.50 (1H, d,  $J = 7.3$  Hz, H-1'), 3.08 (1H, m, H-2''), 3.19 (1H, m, H-3''), 3.25 (1H, m, H-4''), 3.31 (1H, m, H-5''), 3.92 (1H, m, H-6''a), 3.64 (1H, m, H-6''b);  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 147.5 (C-2), 136.5 (C-3), 178.3 (C-4), 156.3 (C-5), 98.5 (C-6), 162.4 (C-7), 94.3 (C-8), 162.5 (C-9), 102.5 (C-10), 122.3 (C-1'), 118.2 (C-2'), 144.3 (C-3'), 148.6 (C-4'), 115.2 (C-5'), 118.2 (C-6'), 102.8 (C-1''), 74.9 (C-2''), 78.0 (C-3''), 71.4 (C-4''), 78.2 (C-5''), 62.6 (C-6'')。以上数据与文献对照基本一致<sup>[25]</sup>, 鉴定化合物 **18** 为槲皮素-3-*O*- $\beta$ -*D*-葡萄糖苷。

化合物 **19**: 白色粉末, ESI-MS  $m/z$ : 575.4  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , 分子式为  $\text{C}_{35}\text{H}_{60}\text{O}_6$ 。  $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 4.42 (1H, t,  $J = 5.8$  Hz, H-3), 5.33 (1H, s, H-6), 0.66 (3H, s, H-18), 0.96 (3H, s, H-19), 0.90 (3H, d,  $J = 6.5$  Hz, H-21), 0.80 (3H, d,  $J = 6.9$  Hz, H-27), 0.84 (3H, t,  $J = 6.2$  Hz, H-29), 4.23 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-1');  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 36.8 (C-1), 29.2 (C-2), 76.8 (C-3, 3'), 38.3 (C-4), 140.4 (C-5), 121.2 (C-6), 31.4 (C-7), 31.3 (C-8), 49.6 (C-9), 36.3 (C-10), 20.6 (C-11), 41.8 (C-13), 56.1 (C-14), 23.8 (C-15), 27.8 (C-16), 55.4 (C-17), 11.8 (C-18), 19.0 (C-19), 35.4 (C-20), 18.7 (C-21, 26), 33.3 (C-22), 25.4 (C-23), 45.1 (C-24), 28.6 (C-25), 19.6 (C-27), 22.6 (C-28), 11.6 (C-29), 100.7 (C-1'), 73.4 (C-2'), 70.0 (C-4'), 76.7 (C-5'), 61.0 (C-6')。以上数据与文献对照基本一致<sup>[15,26]</sup>, 鉴定化合物 **19** 为胡萝卜苷。

化合物 **20**: 橙黄色固体 (甲醇), ESI-MS  $m/z$ : 329.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{O}_7$ 。  $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 6.71 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-2), 7.07 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-4), 7.36 (1H, s, H-5), 3.82 (3H, s, 1- $\text{OCH}_3$ ), 2.30 (3H, s, 6- $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$ -NMR (100

MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 158.1 (C-1), 107.1 (C-2), 164.6 (C-3, 8), 104.9 (C-4), 119.2 (C-5), 141.9 (C-6), 136.6 (C-7), 186.0 (C-9), 181.7 (C-10), 112.5 (C-9a), 114.6 (C-9b), 131.6 (C-10a), 130.6 (C-10b), 167.3 (7- $\text{COOH}$ ), 56.3 (1- $\text{OCH}_3$ ), 19.4 (6- $\text{CH}_3$ )。以上数据与文献对照基本一致<sup>[27]</sup>, 鉴定化合物 **20** 为 dermolutein。

## 4 生物活性测定

### 4.1 MTT 法检测化合物抗肿瘤活性

采用 MTT 法测定化合物 **1**~**20** 对 A549、HCT116、SW620 细胞的细胞毒活性。A549、HCT116 和 SW620 细胞保存在 RPMI 1640 培养基中, 添加 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  青霉素和 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  链霉素以及 10% 胎牛血清, 然后将培养基放入 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  的细胞培育箱中培养, 待细胞贴壁后, 去除培养基, 用 PBS 清洗培养基中的细胞, 加入适量胰蛋白酶使细胞消化。在显微镜下观察培养基中细胞消化情况, 待细胞间隙增大, 细胞质回缩时停止消化, 用移液枪吸出消化液, 然后 PBS 清洗细胞去除残液, 加入培养基将细胞转移置离心管进行离心, 去掉上清液, 加入新鲜培养基吹打形成细胞悬浮液。在 96 孔板上每孔接种  $5 \times 10^4$  个细胞 (100  $\mu\text{L}$  培养基) 培养 24 h, 将化合物用 DMSO 溶解, 加入不同浓度 (1、3、10、30、50  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ) 的化合物, 每个浓度设置 5 个复孔, 以顺铂为阳性对照药, 在培养箱中继续培养 48 h, 然后去除培养基, 每孔加入 100  $\mu\text{L}$  MTT, 同样条件培养 4 h 后, 吸出上清液, 然后加入 100  $\mu\text{L}$  DMSO, 振荡使其溶解, 用酶标仪 (530 nm) 测每孔的吸光度 ( $A$ ) 值, 并计算药物的半数抑制浓度 (half maximal inhibitory concentration,  $\text{IC}_{50}$ )<sup>[28-29]</sup>。

### 4.2 CCK-8 法检测化合物抗病毒活性

采用 CCK-8 法测定化合物 **1**~**20** 对 HSV-1、ZIKV 和 EV-A71 病毒的抗病毒活性。将病毒宿主细胞 (A549、人脑胶质瘤 U373 细胞、人恶性胚胎横纹肌瘤 RD 细胞) 保存在 RPMI 1640 培养基中, 分别添加 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  青霉素和链霉素以及 10% 胎牛血清, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  的细胞培育箱中培养, 待细胞贴壁后, 去除旧的培养基, 用 PBS 清洗培养基中的细胞, 加入适量胰蛋白酶使细胞消化。显微镜下观察培养基中细胞消化情况, 待细胞间隙增大, 细胞质回缩时停止消化, 用移液枪吸出消化液, 然后 PBS 清洗细胞, 加入培养基将细胞转移置离心管进行离心, 去除上清液, 加入新鲜培养基吹打形成细胞

胞悬浮液。在 96 孔板上每孔接种  $5 \times 10^4$  个细胞(100  $\mu\text{L}$  培养基)培养 24 h, 将 ZIKV、HSV-1、EV-A71 病毒分别感染于生长状态良好的 A549、U373 和 RD 细胞上, 加入含 10% 胎牛血清的培养基中, 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  的细胞培育箱中培养 24 h, 在显微镜下观察细胞的病变效应, 待病变效应达到 90% 时停止病毒细胞的培养, 即完成病毒扩增。将培养好单层 A549 细胞的 96 孔板取出, 每孔加入 100  $\mu\text{L}$  化合物(1、5、10、30、50  $\mu\text{mol/L}$ ), 每组设置 3 个复孔, 然后加入 100 倍细胞半数感染量的 EV-A71 病毒悬浮液, 阳性对照为 P2<sup>[30]</sup>, 在 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  条件下培养 4 h, 当细胞病变效应达到“++++”(80% 左右的细胞病变), 弃去上清液, 加入 100  $\mu\text{L}$  5 mg/mL 的 CCK-8 溶液, 置细胞培育箱中培育 2 h, 弃去上清液, 加入 100  $\mu\text{L}$  DMSO, 振荡摇匀, 用酶标仪在波长 530 nm 下测每孔的  $A$  值, 计算化合物的病毒抑制率。

$$\text{抑制率} = (A_{\text{药物实验}} - A_{\text{药物对照孔平均}}) / (A_{\text{细胞对照孔平均}} - A_{\text{药物对照孔平均}})$$

### 4.3 实验结果

**4.3.1 MTT 法检测化合物抗肿瘤活性实验** 结果显示, 化合物 1 对 A549 细胞具有细胞毒活性,  $\text{IC}_{50}$  值为  $(26.98 \pm 2.69) \mu\text{mol/L}$ ; 化合物 2 对 A549、HCT116 和 SW620 细胞均有细胞毒活性,  $\text{IC}_{50}$  值分别为  $(21.77 \pm 1.07)$ 、 $(24.21 \pm 0.8)$ 、 $(14.61 \pm 0.53) \mu\text{mol/L}$ ; 化合物 5 对 SW620 细胞具有细胞毒活性,  $\text{IC}_{50}$  值为  $(75.65 \pm 0.16) \mu\text{mol/L}$ ; 化合物 10 对 A549 和 SW620 细胞具有细胞毒活性,  $\text{IC}_{50}$  值分别为  $(46.71 \pm 0.63)$ 、 $(90.13 \pm 0.41) \mu\text{mol/L}$ , 阳性对照顺铂对 A549、HCT116 和 SW620 细胞的  $\text{IC}_{50}$  值分别为  $(32.06 \pm 1.31)$ 、 $(43.54 \pm 3.30)$ 、 $(32.47 \pm 3.39) \mu\text{mol/L}$ , 其余化合物均未表现出细胞毒活性。

**4.3.2 CCK-8 法检测化合物抗病毒活性实验** 结果显示, 化合物 2 在 10  $\mu\text{mol/L}$  对 EV-A71 病毒表现出抑制作用, 抑制率为  $(65.16 \pm 2.31) \%$ , 阳性对照 P2 的抑制率为  $(100.91 \pm 2.63) \%$ , 其余化合物均未表现出抗病毒活性。

### 5 讨论

本研究综合运用多种现代色谱分离技术和波谱鉴定手段对“太白七药”朱砂七的化学成分进行了系统研究, 从中分离鉴定了 20 个化合物, 其中化合物 5、20 首次从蓼科中分离得到, 化合物 4、6、7、13~16 首次从何首乌属中分离得到, 化合物 8、9、11、12、17、18 首次从朱砂七中分离得到, 进一步丰富了朱砂七的化学成分。细胞毒活性实验显示化

合物 1、2、5、10 具有细胞毒活性, 化合物 2 具有抗病毒活性, 但本研究仅测定了 20 个化合物的体外细胞毒活性及抗病毒活性, 关于这些化合物的其他活性有待于进一步研究。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参考文献

- [1] 中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第二十五卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1998: 103.
- [2] 宋小妹, 刘海静. 太白七药研究与应用 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 114-117.
- [3] 乔燕, 穆毅, 何方, 等. 太白草医临床用药规律初谈 [J]. 陕西中医药大学学报, 2021, 44(4): 21-26.
- [4] 戚欢阳, 张朝凤, 张勉, 等. 毛脉蓼化学成分及抑菌活性的研究 [J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(11): 819-822.
- [5] 曹晓晖. 毛脉蓼化学成分及其生物活性研究 [D]. 西安: 陕西科技大学, 2018.
- [6] 任慧, 张红, 崔小敏, 等. 朱砂七化学成分、药理作用及质量控制研究进展 [J]. 现代中药研究与实践, 2022, 36(1): 91-97.
- [7] Zhang Z L, Li Y Z, Cheng Q F, et al. Chemical constituents from the roots of *Fallopia multiflora* var. *ciliinerve* [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2021, 99: 104340.
- [8] 刘理燕, 廖永娥, 何燕玲, 等. 钩毛茜草的化学成分研究 [J]. 中药材, 2021, 44(4): 853-857.
- [9] 周立晓, 黄薇, 张雅婷, 等. 苞叶大黄的化学成分研究 [J]. 云南民族大学学报: 自然科学版, 2022, 31(1): 1-7.
- [10] 乔竹稳. 马齿苋化学成分研究 [D]. 齐齐哈尔: 齐齐哈尔大学, 2012.
- [11] 孟颖. 青龙衣化学成分及其体内外抗肿瘤实验研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2015.
- [12] Hawas U W, El-Beih A A, El-Halawany A M. Bioactive anthraquinones from endophytic fungus *Aspergillus versicolor* isolated from red sea algae [J]. *Arch Pharm Res*, 2012, 35(10): 1749-1756.
- [13] 曹月香, 卢凤来, 颜小捷, 等. 对叶百部茎叶化学成分的研究 [J]. 中药材, 2020, 43(7): 1626-1630.
- [14] Liu Q, Li J, Chai X Y, et al. Chemical constituents from Qianliang tea [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2013, 22(5): 427-430.
- [15] 刘志华, 王金兰, 赵明, 等. 工业大麻地上部分化学成分研究 [J]. 中草药, 2021, 52(15): 4463-4472.
- [16] 栗杰, 冯艳, 林炳锋, 等. 刺五加化学成分的分离与鉴定 [J]. 中草药, 2021, 52(16): 4783-4788.
- [17] 郭京华. 夜叉藤的化学成分研究分析 [J]. 中国实用医药, 2012, 7(13): 240-241.
- [18] 张思巨, 王怡薇, 刘丽, 等. 锁阳化学成分研究 II [J].

- 中国药学杂志, 2007, (13): 975-977.
- [19] 钱纯果, 金路, 朱龙平, 等. 桂枝中化学成分及抗肿瘤和抗炎活性研究 [J]. 中草药, 2022, 53(1): 31-40.
- [20] 林晓婉, 金燕, 孙万莹, 等. 潺槁树根皮化学成分的研究 [J]. 中草药, 2019, 50(12): 2817-2821.
- [21] 张静娇, 马跃平, 袁久志, 等. 红松松针中木脂素类成分的分离与鉴定 [J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(10): 797-802.
- [22] 姚发壮. 山柰根茎的化学成分研究 [D]. 广州: 广东药科大学, 2018.
- [23] 罗川, 张万年, 杨美灵. 米邦塔仙人掌化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2011, 23(6): 1038-1040.
- [24] 娜黑芽, 张晓玲, 陈怡璇, 等. 药用沙棘果汁中 1 个新的黄酮苷类化合物 [J]. 中草药, 2022, 53(3): 659-666.
- [25] 周惠祯, 汤良杰, 龚宇, 等. 瑞香狼毒花化学成分及其抗氧化活性研究 [J]. 中草药, 2020, 51(9): 2395-2401.
- [26] 刘艳, 王彦夫, 杨诗惠, 等. 洋金花中化学成分的分离鉴定 [J]. 世界中医药, 2022, 17(3): 359-364.
- [27] Gill M, Morgan P M, White J M, *et al.* Pigments of Fungi. XLVII. Cardinalic acid, a new anthraquinone carboxylic acid from the New Zealand toadstool *dermocybe cardinalis* and the synthesis and X-ray crystal structure of methyl 1,7,8-tri-*O*-methyldcardinalate [J]. *Aust J Chem*, 1998, 51(3): 213.
- [28] Sun Y, Ding C, Wang F R, *et al.* Pregnane alkaloids with BRD4 inhibitory and cytotoxic activities from *Pachysandra terminalis* [J]. *Phytochem Lett*, 2021, 45: 63-67.
- [29] Huang S Q, Liu Y Y, Li Y Z, *et al.* Dibenzocyclooctadiene lignans from the root bark of *Schisandra sphenanthera* [J]. *Phytochem Lett*, 2021, 45: 137-141.
- [30] Fang Y, Liu Z Z, Qiu Y, *et al.* Inhibition of viral suppressor of RNAi proteins by designer peptides protects from enteroviral infection *in vivo* [J]. *Immunity*. 2021, 54(10): 2231-2244.

[责任编辑 王文倩]

## • 封面图片介绍 •

### 铁皮石斛



铁皮石斛 *Dendrobium officinale* Kimura et Migo 为兰科石斛属草本植物。俗名云南铁皮、黑节草。茎直立，圆柱形，不分枝，具多节，常在中部以上互生 3~5 枚叶；叶二列，纸质，长圆状披针形；叶鞘常具紫斑，老时其上缘与茎分离而张开，并且与节留下 1 个环状铁青的间隙。总状花序常从落了叶的老茎上部发出，具 2~3 朵花；花苞片干膜质，浅白色，卵形，长 5~7 mm，萼片和花瓣黄绿色，近相似，长圆状披针形，唇瓣白色，基部具 1 个绿色或黄色的胼胝体，卵状披针形，比萼片稍短，中部反折。蕊柱黄绿色，长约 3 mm，先端两侧各具 1 个紫点；药帽白色，长卵状三角形，长约 2.3 mm，顶端近锐尖并且 2 裂。花期 3~6 月。

生于海拔达 1600 m 的山地半阴湿的岩石上。主要分布于中安徽、浙江、福建、云南等地。其茎入药，属补益药中的补阴药，具有益胃生津、滋阴清热的功效。