

牛耳朵全草中化学成分及其生物活性研究

杨丽媛^{1,2,3}, 王朝阳^{1,2}, 陈俊磊^{1,2}, 邱珏琳^{1,2,3}, 杜彩霞^{1,2,3}, 魏英焕^{1,2,3}, 郝小江^{1,2,4*}, 顾 玮^{1,2*}

1. 贵州医科大学 省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室, 贵州 贵阳 550014

2. 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵州 贵阳 550014

3. 贵州医科大学药学院, 贵州 贵阳 550025

4. 中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650201

摘要: 目的 研究牛耳朵 *Primulina eburnea* 干燥全草的化学成分。方法 利用正、反相硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱及半制备 RP-HPLC 等方法进行分离纯化, 利用 NMR、MS 等多种波谱学手段确定化合物结构。随后采用 MTT 法评价部分化合物对人非小细胞肺癌 A549 细胞的细胞毒活性, 并对部分化合物进行抗氧化活性筛选。结果 从牛耳朵全草醋酸乙酯部分分离得到 23 个化合物, 分别鉴定为 1,6-dihydroxy-7-methoxy-2-methylanthraquinone (1)、soranjidiol (2)、1,4,7-trihydroxy-2-methyl-9,10-anthraquinone (3)、digiferruginol (4)、1,4-dihydroxy-2-hydroxymethyl-9,10-anthraquinone (5)、1,6,7-trihydroxy-2-methyl-9,10-anthracenedione (6)、(R)-7,8-dihydroxy- α -dunnione (7)、3-amino-2-methoxy-carbonyl-1,4-naphthoquinone (8)、木犀草素 (9)、异落叶松脂素 (10)、七叶内酯 (11)、酪醇 (12)、对香豆酸 (13)、咖啡酸甲酯 (14)、benzyl *O*- β -D-glucopyranoside (15)、4-*O*-benzyl-D-glucopyranoside (16)、3,4-dihydroxyphenylethyl alcohol 8-*O*- β -glucopyranoside (17)、cuneataside A (18)、对羟基苯甲醛 (19)、尼泊金甲酯 (20)、对羟基苯乙酮 (21)、香草醛 (22) 和香草酸 (23)。化合物 8 对 A549 细胞有显著的细胞毒作用, 其半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 值为 3.866 μ mol/L, 活性高于阳性药顺铂 (IC₅₀=9.895 μ mol/L)。化合物 5~7 和 9~11 表现出显著的抗氧化活性, 其中化合物 9 和 11 的抗氧化活性高于阳性药。结论 化合物 16 为新天然产物, 化合物 1~3、6 和 8~22 为首次从报春苣苔属植物中分离得到, 化合物 23 为首次从牛耳朵中分离得到。部分化合物表现出较好的细胞毒活性和抗氧化活性, 验证了牛耳朵中抗肿瘤和抗氧化的活性物质基础, 为黔产牛耳朵的深度开发利用提供了科学依据。

关键词: 苦苣苔科; 牛耳朵; 细胞毒活性; 抗氧化活性; 木犀草素; 七叶内酯

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)11-3430-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.11.005

Chemical constituents and bioactivities of whole plant of *Primulina eburnea* from Guizhou

YANG Li-yuan^{1,2,3}, WANG Chao-yang^{1,2}, CHEN Jun-lei^{1,2}, QIU Jue-lin^{1,2,3}, DU Cai-xia^{1,2,3}, WEI Ying-huan^{1,2,3}, HAO Xiao-jiang^{1,2,4}, GU Wei^{1,2}

1. State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Guizhou Medical University, Guiyang 550014, China

2. The Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550014, China

3. School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China

4. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China

Abstract: Objective To study the constituents of the whole plant of Niuerduo [*Primulina eburnea* (Hance) Y. Z. Wang]. **Methods** Silica gel column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography, semi-preparative RP-HPLC and other methods were

收稿日期: 2023-01-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31860074); 国家自然科学基金资助项目 (32060081); 国家自然科学基金资助项目 (U1812403); 贵州医科大学学术新苗项目 (19NSP003); 贵州省科技计划项目 (黔科中引地 [2022] 4015)

作者简介: 杨丽媛, 硕士研究生, 研究方向为天然药物化学。Tel: 18377379500 E-mail: 1939244471@qq.com

*通信作者: 郝小江 Tel: (0851)83804492 E-mail: haoxj@mail.kib.ac.cn

顾 玮 Tel: (0851)83804492 E-mail: guwei@mail.kib.ac.cn

used for the separation and purification. NMR and MS were used to identify the structures of the compounds. Subsequently, the cytotoxic activities of some compounds against A549 cell line were evaluated by MTT method, and the antioxidant activities of some compounds were evaluated by DPPH method and ABTS method, respectively. **Results** A total of 23 compounds were isolated from *Primulina eburnea*, which were identified as 1,6-dihydroxy-7-methoxy-2-methylantr-quinone (1), soranjidiol (2), 1,4,7-trihydroxy-2-methyl-9,10-anthraquinone (3), digiferruginol (4), 1,4-dihydroxy-2-hydroxymethyl-9,10-anthraquinone (5), 1,6,7-trihydroxy-2-methyl-9,10-anthracenedione (6), (R)-7,8-dihydroxy- α -dunnione (7), 3-amino-2-methoxycarbonyl-1,4-naphthoquinone (8), luteoline (9), (+)-isolariciresinol (10), esculetin (11), tyrosol (12), *p*-coumaric acid (13), caffeic acid methyl ester (14), benzyl *O*- β -D-glucopyranoside (15), 4-*O*-benzyl-D-glucopyranoside (16), 3,4-dihydroxyphenylethyl alcohol 8-*O*- β -glucopyranoside (17), cuneataside A (18), 4-hydroxybenzaldehyde (19), methyl-4-hydroxybenzoate (20), 1-(4-hydroxyphenyl)-ethanone (21), vanillin (22) and vanillic acid (23). Compound 8 had significant cytotoxic effect on A549 cells, with the IC₅₀ value of 3.866 μ mol/L, and its activity was higher than the positive drug cisplatin (IC₅₀ = 9.895 μ mol/L). Compounds 5—7 and 9—11 showed significant antioxidant activity, and compounds 9 and 11 showed stronger antioxidant activity than positive drugs. **Conclusion** A total of 23 compounds were isolated from the whole plant of *P. eburnea*, of which compound 16 was a new natural product. Compounds 1—3, 6 and 8—22 were isolated from gene *Primulina* for the first time. Compound 23 was isolated from *P. eburnea* for the first time. Some compounds showed good cytotoxic activity and antioxidant activity, which proved the basis of antitumor and antioxidant activities substances in *P. eburnea*, and provided the scientific basis for the in-depth development and utilization of *P. eburnea* from Guizhou.

Key words: Gesneriaceae; *Primulina eburnea* (Hance) Y. Z. Wang; cytotoxic activity; antioxidant activity; luteoline; esculetin

牛耳朵 *Primulina eburnea* (Hance) Y. Z. Wang 是苦苣苔科 (Gesneriaceae) 报春苣苔属 *Primulina* Hance 植物牛耳朵的全草。别名为岩白菜、石三七、石虎耳等, 主产于贵州、广西、广东、湖南、湖北、四川等地。在《贵州民族常用天然药物》记载, 牛耳朵根茎或全草入药, 具有清肺止咳、凉血止血、解毒等功效, 主要用于治疗阴虚肺热、咳嗽咯血、崩漏、带下、痈肿疮毒、外伤出血等症^[1]。对牛耳朵的化学成分研究报道较少, 目前仅有对于广西产牛耳朵的化学成分的研究报道, 共从中鉴定 27 个化合物, 主要涉及苯乙醇苷类、醌类、黄酮类以及萜类等类型^[2-8]。初步药理学研究表明其有抗肿瘤、抗菌、降压和抗氧化等作用^[9-10], 药理活性筛选主要针对牛耳朵乙醇提取物, 且对单体化合物的药理活性研究较少。研究证明牛耳朵中的部分化合物尤其是蒽醌类化合物对人肺癌细胞株 SPC-A1 有一定的细胞毒活性和显著的 DPPH 自由基清除活性^[4-5]。目前尚未见到对黔产牛耳朵进行化学成分研究。因此本研究拟对黔产牛耳朵的化学成分进行系统的分离鉴定, 并重点对其体外细胞毒活性和抗氧化活性进行研究。

从牛耳朵醋酸乙酯萃取部位中共分离 23 个化合物, 分别鉴定为 1,6-dihydroxy-7-methoxy-2-methylantr-quinone (1)、soranjidiol (2)、1,4,7-trihydroxy-2-methyl-9,10-anthraquinone (3)、digiferruginol (4)、1,4-dihydroxy-2-hydroxymethyl-

9,10-anthraquinone (5)、1,6,7-trihydroxy-2-methyl-9,10-anthracenedione (6)、(R)-7,8-dihydroxy- α -dunnione (7)、3-amino-2-methoxycarbonyl-1,4-naphthoquinone (8)、木犀草素 (luteoline, 9)、异落叶松脂素 [(+)-isolariciresinol, 10]、七叶内酯 (esculetin, 11)、酪醇 (tyrosol, 12)、对香豆酸 (*p*-coumaric acid, 13)、咖啡酸甲酯 (caffeic acid methyl ester, 14)、benzyl *O*- β -D-glucopyranoside (15)、4-*O*-benzyl-D-glucopyranoside (16)、3,4-dihydroxyphenylethyl alcohol 8-*O*- β -glucopyranoside (17)、cuneataside A (18)、对羟基苯甲醛 (4-hydroxybenzaldehyde, 19)、尼泊金甲酯 (methyl-4-hydroxybenzoate, 20)、对羟基苯乙酮 [1-(4-hydroxyphenyl)-ethanone, 21]、香草醛 (vanillin, 22)、香草酸 (vanillic acid, 23)。其中, 化合物 16 为新天然产物。化合物 1—3、6 和 8—22 为首次从报春苣苔属植物中分离得到。进一步对分离得到化合物采用 MTT 法筛选对人非小细胞肺癌 A549 细胞的细胞毒活性; 采用 DPPH 法和 ABTS 法筛选其体外抗氧化活性。

1 材料与仪器

柱色谱硅胶 (40~80、200~300、300~400 目) 和薄层色谱硅胶 GF₂₅₄ (青岛海洋化工厂); Sephadex LH-20 凝胶 (Pharmacia 公司, 美国); HITACHI 高效液相色谱仪 (Primade, 日立高新技术集团, 日本); 反相填充材料 RP-18 (Merck 公司,

德国); HPLC 色谱柱为 Zorbax SB-C₁₈ (半制备柱, 250 mm×9.4 mm, 5 μm, 安捷伦公司, 美国); EYELA OSB-2200 旋转蒸发仪 (东京理化器械株式会社, 日本); INOVA-600MHz 核磁共振波谱仪 (Bruker 公司, 德国); HP 1100 型液相色谱质谱联用仪 (惠普公司, 美国); API Qstar Pulsar 质谱仪 BioTek Epoch 全波长酶标仪 (BioTek 公司, 美国)。本实验所用石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯、丙酮、甲醇等有机溶剂均为工业级, 重蒸后使用; 色谱级的甲醇 (云南新蓝景化学工业有限公司); 氘代试剂 (美国 Cambridge Isotope Laboratories 公司)。人肺癌细胞 A549 来源于 ATCC。L-抗坏血酸 (VC) 购于上海麦克林生化科技有限公司; 水溶性维生素 E (VE) 购于上海源叶生物科技有限公司。

牛耳朵全草于 2021 年 3 月采自贵州省安顺市紫云苗族布依族自治县岩上村, 经贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室顾玮副研究员鉴定为牛耳朵 *P. eburnea* (Hance) Y. Z. Wang, 凭证标本 (GZCNP-G-2021-003) 保存在贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室。

2 方法

2.1 提取与分离

牛耳朵干燥全草 30 kg 粉碎后过 40 目筛, 之后用 80% 甲醇水溶液加热回流提取 6 次 (每次 3 h) 过滤, 合并滤液, 减压浓缩得提取物浸膏 (2.9 kg), 用适量的水溶解浸膏成悬浊液, 依次用石油醚, 醋酸乙酯和正丁醇萃取至无色, 减压浓缩各部分萃取液得到石油醚部位 (505.0 g)、醋酸乙酯部位 (210.0 g) 和正丁醇部位 (1.1 kg)。将醋酸乙酯部位 (210.0 g) 用硅胶柱色谱 (40~80 目) 进行分离, 洗脱溶剂为石油醚-醋酸乙酯 (50:1、20:1、10:1、5:1、2:1、1:1) 及三氯甲烷-甲醇 (20:1、10:1、5:1、2:1、1:1), 结合 TLC 检测, 将牛耳朵醋酸乙酯层分离得到 9 个组分 (Fr. A~I)。Fr. D (16.0 g) 用硅胶柱色谱 (200~300 目) 进行分离, 石油醚-醋酸乙酯 (20:1~2:1) 梯度洗脱得到 Fr. D.1~D.6。Fr. D.4 (1.7 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱得到化合物 **2** (10.8 mg) 和 **3** (3.4 mg)。Fr. D.4.4 (215.7 mg) 经半制备 RP-HPLC (甲醇-水-甲酸 40:60:0.04, 2.0 mL/min) 得到化合物 **19** (15.2 mg, $t_R=13.6$ min)、**20** (2.4 mg, $t_R=26.7$ min) 和 **22** (16 mg, $t_R=28.5$ min)。Fr. D.5 (1.8 g) 在滤出不溶性粉末 (Fr. D.5a) 后经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱

得到化合物 **1** (8.1 mg)、**4** (4.1 mg) 和 **21** (15.9 mg)。Fr. D.5a (272.0 mg) 先用硅胶柱色谱 (200~300 目) 进行分离, 石油醚-醋酸乙酯 (30:1~20:1) 梯度洗脱, 后经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱得到化合物 **5** (22.3 mg)。Fr. E (5.4 g) 用硅胶柱色谱 (200~300 目) 进行分离, 石油醚-醋酸乙酯 (10:1~1:1) 梯度洗脱得到 Fr. E.1~E.4。Fr. E.3 (2.5 g) 用硅胶柱色谱 (200~300 目) 进行分离, 三氯甲烷-醋酸乙酯 (200:1~10:1) 梯度洗脱得到化合物 **8** (4.8 mg)、**12** (24.7 mg)、**13** (42 mg) 和 **23** (31 mg)。Fr. F (22.3 g) 先经 RP-C₁₈ 柱色谱, 甲醇-水 (20:80~100:0) 洗脱得到 Fr. F.1~F.14。Fr. F.8 经重结晶得到化合物 **9** (15.4 mg)。Fr. G (15.9 g) 用 RP-C₁₈ 反相柱色谱, 甲醇-水 (10:90~100:0) 洗脱得到 Fr. G.1~G.9。Fr. G.2 (590.0 mg) 先用 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离, 后经硅胶柱色谱 (200~300 目) 分离, 三氯甲烷-甲醇 (60:1~20:1) 洗脱得到化合物 **11** (7 mg)。Fr. G.3 (2.5 g) 用硅胶柱色谱 (200~300 目) 进行分离, 三氯甲烷-甲醇 (100:1~2:1) 洗脱得到 Fr. G.3.1~G.3.7。Fr. G.3.4 (93.0 mg) 经半制备 RP-HPLC (甲醇-水-甲酸 30:70:0.04, 2.0 mL/min) 纯化得到化合物 **10** (59 mg, $t_R=51.6$ min)。Fr. G.3.6 (817 mg) 用硅胶柱色谱 (200~300 目) 进行分离, 三氯甲烷-丙酮 (20:1~1:1) 得到化合物 **14** (4 mg)。Fr. G.3.7 (547.0 mg) 经半制备 RP-HPLC (甲醇-水-甲酸 35:65:0.04, 2.0 mL/min) 得到化合物 **15** (6.7 mg, $t_R=41.4$ min) 和 **16** (8.3 mg, $t_R=89$ min)。Fr. G.6 (967 mg) 用硅胶柱色谱 (200~300 目) 进行分离, 三氯甲烷-甲醇 (100:1~5:1) 洗脱得到化合物 **6** (20 mg)。Fr. H (72.7 g) 用 RP-C₁₈ 柱色谱, 甲醇-水 (10:90~100:0) 洗脱得到 Fr. H.1~H.9。Fr. H.3 (11.9 g) 用硅胶柱色谱 (200~300 目) 进行分离, 三氯甲烷-甲醇 (15:1~1:1) 洗脱得到 Fr. H.3.1~H.3.5。Fr. H.3.5 (8.4 g) 用 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离得到化合物 **17** (2.3 mg) 和 **18** (7.3 mg)。Fr. H.7 (670 mg) 用硅胶柱色谱 (200~300 目) 进行分离, 石油醚-醋酸乙酯 (8:1~1:1) 洗脱得到化合物 **7** (15 mg)。

2.2 细胞毒活性筛选

2.2.1 A549 细胞培养 将 A549 细胞复苏后, 用含有 10% FBS 血清的 DMEM 培养基培养生长, 于 5% CO₂、37 °C 的恒温培养箱中培养。

2.2.2 MTT 法检测牛耳朮化学成分对 A549 的细胞毒活性 该实验参考文献报道的方法^[11]稍加修改, 取对数生长期的非小细胞肺癌 A549 细胞, 以 5×10^3 /孔的密度接种到无菌的 96 孔培养板。待细胞贴壁后, 设置空白组、对照组和实验组。实验组分别加入不同浓度化合物溶液。培养 48 h 后, 每孔分别加入 MTT (5 mg/mL) 溶液 10 μ L, 在细胞培养箱内继续培养 4 h 后加入二甲亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 150 μ L, 充分震荡后溶解结晶, 之后用酶标仪在 490 nm 波长下检测各孔吸光度 (A) 值, 按照下面公式计算细胞生长抑制率。每组设置 3 个复孔, 实验重复 3 次。对于在质量浓度 100 μ g/mL 下抑制率大于 50% 的化合物继续进行浓度梯度实验, 并计算半数抑制浓度 (half maximal inhibitory concentration, IC_{50}) 值。

$$\text{抑制率} = (A_{\text{对照}} - A_{\text{实验}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

2.3 抗氧化活性筛选

本研究分别用 DPPH 方法和 ABTS 方法对化合物的抗氧化活性进行筛选。DPPH 自由基清除活性研究参考本课题组前期报道的方法^[12]。ABTS⁺自由基清除活性实验参考文献报道的方法^[13]。取 7 mmol/L 的 ABTS⁺与 2.6 mmol/L 的过硫酸钾 ($K_2S_2O_8$) 溶液等体积混合均匀后室温避光静置过夜, 临用前用甲醇溶液将 ABTS⁺储备液进行稀释, 使其 A 值在 734 nm 下为 0.70 ± 0.02 , 制成 ABTS 工作液。将不同质量浓度 (30、10、3.333 3、1.111 1、0.370 3、0.123 4 μ g/mL) 的样品溶液添加到稀释的 ABTS⁺溶液中, 混匀, 避光反应 6 min 后, 用酶标仪在 734 nm 下测定 A 值。以 ABTS⁺工作液与无水甲醇溶液混合作为背景组 (A_0)。以 VE 为阳性药, 所有测定均平行重复 3 次, 计算 IC_{50} 值。化合物对 ABTS⁺自由基的清除率可按照公式计算得出。

$$\text{ABTS}^+ \text{清除率} = 1 - (A_0 - A) / A_0$$

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 **1**: 黄色粉末, 分子式 $C_{16}H_{12}O_5$, ESI-MS m/z : 285 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 7.51 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-3), 7.58 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-4), 7.50 (1H, s, H-5), 7.48 (1H, s, H-8), 2.25 (3H, s, $-CH_3$), 3.95 (3H, s, $-OCH_3$), 12.87 (1H, s, 1-OH); ^{13}C -NMR (150 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 159.8 (C-1), 133.5 (C-2), 136.9 (C-3), 114.7 (C-4), 131.2 (C-4a), 118.4 (C-5), 152.9 (C-6), 153.4 (C-7), 108.9 (C-8), 126.6

(C-8a), 188.1 (C-9), 112.1 (C-9a), 180.6 (C-10), 127.4 (C-10a), 15.7 ($-CH_3$), 56.0 ($-OCH_3$)。以上数据与文献报道的基本一致^[14], 鉴定化合物 **1** 为 1,6-dihydroxy-7-methoxy-2-methylanthr-quinone。

化合物 **2**: 橙黄色粉末, 分子式 $C_{16}H_{12}O_5$, ESI-MS m/z : 253 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (600 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 7.54 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-3), 7.62 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-4), 7.48 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-5), 7.22 (1H, dd, $J = 2.5, 8.5$ Hz, H-7), 8.02 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-8), 2.26 (3H, s, $-CH_3$), 12.74 (1H, s, 1-OH); ^{13}C -NMR (150 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 159.7 (C-1), 133.1 (C-2), 137.2 (C-3), 118.2 (C-4), 130.9 (C-4a), 111.8 (C-5), 162.9 (C-6), 125.0 (C-7), 129.6 (C-8), 121.8 (C-8a), 188.4 (C-9), 114.8 (C-9a), 180.1 (C-10), 134.6 (C-10a), 15.4 ($-CH_3$)。以上数据与文献报道的基本一致^[15], 故鉴定化合物 **2** 为 soranjidiol。

化合物 **3**: 红色粉末, 分子式 $C_{15}H_{10}O_5$, ESI-MS m/z : 269 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (600 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 7.24 (1H, s, H-3), 8.04 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5), 7.22 (1H, dd, $J = 2.5, 8.5$ Hz, H-6), 7.47 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-8), 2.22 (3H, s, $-CH_3$), 13.06 (1H, s, 1-OH), 12.94 (1H, s, 4-OH); ^{13}C -NMR (150 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 156.9 (C-1), 112.2 (C-2), 129.3 (C-3), 156.5 (C-4), 110.8 (C-4a), 130.0 (C-5), 122.5 (C-6), 164.0 (C-7), 112.6 (C-8), 135.5 (C-8a), 187.3 (C-9), 139.9 (C-9a), 185.6 (C-10), 125.2 (C-10a), 16.3 ($-CH_3$)。以上数据与文献报道的基本一致^[16], 故鉴定化合物 **3** 为 1,4,7-trihydroxy-2-methyl-9,10-anthraquinone。

化合物 **4**: 黄色粉末, 分子式 $C_{15}H_{10}O_4$, ESI-MS m/z : 253 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (600 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 7.91 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-3), 7.77 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-4), 8.19~8.21 (1H, m, H-5), 7.94~7.97 (2H, m, H-6, 7), 8.24~8.25 (1H, m, H-8), 4.66 (2H, s, H-1'), 12.77 (1H, s, 1-OH), 5.48 (1H, s, 1'-OH); ^{13}C -NMR (150 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 158.4 (C-1), 138.3 (C-2), 133.6 (C-3), 118.9 (C-4), 131.3 (C-4a), 126.6 (C-5), 135.2 (C-6), 134.6 (C-7), 126.9 (C-8), 132.8 (C-8a), 188.7 (C-9), 114.9 (C-9a), 181.8 (C-10), 133.3 (C-10a), 57.5 (C-1')。以上数据与文献报道的基本一致^[16], 故鉴定化合物 **4** 为 digiferruginol。

化合物 **5**: 红色粉末, 分子式 $C_{15}H_{10}O_5$, ESI-MS m/z : 269 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (600 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 7.27 (1H, s, H-3), 8.22 (2H, dd, $J = 5.0, 4.0$ Hz, H-5,

8), 7.99~7.91 (2H, m, H-6, 7), 4.57 (2H, s, H-1'), 12.93 (1H, s, 1-OH), 12.68 (1H, s, 4-OH), 5.57 (1H, s, 1'-OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 154.2 (C-1), 144.7 (C-2), 124.5 (C-3), 157.0 (C-4), 110.7 (C-4a), 126.5 (C-5), 134.9 (C-6), 135.0 (C-7), 126.5 (C-8), 132.8 (C-8a), 186.2 (C-9), 111.4 (C-9a), 186.9 (C-10), 132.6 (C-10a), 57.5 (C-1'). 以上数据与文献报道的基本一致^[16], 故鉴定化合物 **5** 为 1,4-dihydroxy-2-hydroxymethylanthraquinone。

化合物 **6**: 黄色粉末, 分子式 $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$, ESI-MS m/z : 269.1 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.53 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-3), 7.46 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-4), 7.44 (1H, s, H-5), 7.47 (1H, s, H-8), 2.22 (3H, s, -CH₃), 12.97 (1H, s, 1-OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 159.8 (C-1), 133.5 (C-2), 136.7 (C-3), 118.3 (C-4), 131.2 (C-4a), 113.1 (C-5), 151.4 (C-6), 152.2 (C-7), 112.7 (C-8), 127.3 (C-8a), 187.9 (C-9), 114.8 (C-9a), 180.8 (C-10), 126.1 (C-10a), 15.7 (-CH₃)。以上数据与文献报道的基本一致^[17], 故鉴定化合物 **6** 为 1,6,7-trihydroxy-2-methylanthracene-9,10-dione。

化合物 **7**: 红色粉末, 分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_5$, ESI-MS m/z : 273.1 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 5.39 (1H, q, $J = 6.4, 12.9$ Hz, H-2), 8.16 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 7.89 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-6), 2.17 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, 2-CH₃), 2.18 (3H, s, 3 α -CH₃), 1.98 (3H, s, 3 β -CH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 90.9 (C-2), 44.7 (C-3), 131.4 (C-3a), 180.6 (C-4), 124.0 (C-4a), 119.7 (C-5), 119.9 (C-6), 152.1 (C-7), 150.5 (C-8), 115.1 (C-8a), 183.0 (C-9), 157.9 (C-9a), 14.7 (-CH₃), 25.4 (3 α -CH₃), 20.3 (3 β -CH₃)。以上数据与文献报道的基本一致^[5], 故鉴定化合物 **7** 为 (*R*)-7,8-dihydroxy- α -dunnione。

化合物 **8**: 黄色粉末, 分子式 $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{NO}_4$, ESI-MS m/z : 254 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 8.09 (d, $J = 7.8$ Hz, H-5), 7.71 (t, $J = 7.8$ Hz, H-6), 7.82 (t, $J = 7.8$ Hz, H-7), 8.23 (d, $J = 7.8$ Hz, H-8), 3.95 (3H, s, H-12), 9.12 (1H, brs, -NH₂), 6.98 (1H, brs, -NH₂); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ : 172.9 (C-1), 101.6 (C-2), 153.2 (C-3), 180.7 (C-4), 126.4 (C-5), 136.1 (C-6), 132.6 (C-7), 127.6 (C-8), 129.7 (C-9), 134.2 (C-10), 169.6 (C-11), 52.3 (C-12)。以上数据与文献报道的基本一致^[18], 故鉴定化合物 **8** 为

3-amino-2-methoxycarbonyl-1,4-naphthoquinone。

化合物 **9**: 黄色粉末, 分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$, ESI-MS m/z : 285 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 6.66 (1H, s, H-3), 6.18 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6), 6.44 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 7.40 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-2'), 6.89 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5'), 7.41 (1H, dd, $J = 2.3, 8.3$ Hz, H-6'), 12.97 (1H, s, 5-OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 163.9 (C-2), 102.9 (C-3), 181.7 (C-4), 161.5 (C-5), 98.9 (C-6), 164.2 (C-7), 93.9 (C-8), 157.3 (C-9), 103.7 (C-10), 121.5 (C-1'), 113.4 (C-2'), 145.8 (C-3'), 149.8 (C-4'), 116.1 (C-5'), 119.0 (C-6')。以上数据与文献报道的基本一致^[19], 故鉴定化合物 **9** 为木犀草素。

化合物 **10**: 无色油状物, 分子式 $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_6$, ESI-MS m/z : 359 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 1.97~2.03 (1H, m, H-2), 1.74~1.78 (1H, m, H-3), 2.77 (2H, d, $J = 7.7$ Hz, H-4), 6.65 (1H, s, H-5), 6.18 (1H, s, H-8), 6.67 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2'), 6.74 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.61 (1H, dd, $J = 1.8, 8.0$ Hz, H-6'), 3.70 (1H, dd, $J = 4.1, 11.3$ Hz, H-9a), 3.39 (1H, dd, $J = 4.1, 11.3$ Hz, H-9b), 3.64~3.67 (2H, m, H-10), 3.80 (3H, s, -OMe), 3.87 (3H, s, -OMe); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 48.0 (C-1), 47.9 (C-2), 39.9 (C-3), 33.6 (C-4), 129.9 (C-4a), 112.3 (C-5), 147.2 (C-6), 145.9 (C-7), 117.4 (C-8), 138.6 (C-8a), 62.2 (C-9), 65.9 (C-10), 134.1 (C-1'), 113.8 (C-2'), 149.0 (C-3'), 145.2 (C-4'), 116.0 (C-5'), 123.2 (C-6'), 56.3 (-OMe)。以上数据与文献报道的基本一致^[20], 故鉴定化合物 **10** 为异落叶松脂素。

化合物 **11**: 无色片状晶体 (三氯甲烷/甲醇), 分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$, ESI-MS m/z : 177 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.16 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-3), 7.86 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-4), 6.98 (1H, s, H-5), 6.74 (1H, s, H-8); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 160.8 (C-2), 111.5 (C-3), 144.5 (C-4), 112.3 (C-5), 142.9 (C-6), 150.5 (C-7), 102.6 (C-8), 148.5 (C-9), 110.7 (C-10)。以上数据与文献报道的基本一致^[21], 故鉴定化合物 **11** 为七叶内酯。

化合物 **12**: 白色针晶 (甲醇), 分子式 $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_2$, ESI-MS m/z : 137.1 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 3.71 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, H-1), 2.74 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, H-2), 7.06 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-4), 6.71 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5), 6.71 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-7),

6.71 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-8); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 64.6 (C-1), 39.4 (C-2), 130.9 (C-3), 130.9 (C-4), 116.1 (C-5), 156.7 (C-6), 116.1 (C-7), 130.9 (C-8)。以上数据与文献报道的基本一致^[22], 故鉴定化合物 **12** 为酪醇。

化合物 **13**: 白色针晶 (丙酮), 分子式 $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$, ESI-MS m/z : 163 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.42 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2, 6), 6.81 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3, 5), 7.60 (1H, d, $J = 16$ Hz, H-7), 6.28 (1H, d, $J = 16$ Hz, H-8); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 127.2 (C-1), 131.1 (C-2), 116.8 (C-3), 161.1 (C-4), 116.8 (C-5), 131.1 (C-6), 146.7 (C-7), 115.6 (C-8), 171.0 (C-9)。以上数据与文献报道的基本一致^[23], 故鉴定化合物 **13** 为对香豆酸。

化合物 **14**: 棕黄色粉末, 分子式 $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$, ESI-MS m/z : 193 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.07 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 6.81 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 6.97 (1H, dd, $J = 2.0, 8.2$ Hz, H-6), 6.29 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-7), 7.57 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8), 3.78 (3H, s, $-\text{OCH}_3$); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 127.7 (C-1), 115.1 (C-2), 146.8 (C-3), 149.6 (C-4), 116.5 (C-5), 122.9 (C-6), 114.8 (C-7), 147.0 (C-8), 169.8 (C=O), 52.0 ($-\text{OCH}_3$)。以上数据与文献报道的基本一致^[24], 故鉴定化合物 **14** 为咖啡酸甲酯。

化合物 **15**: 淡黄色油状物, 分子式 $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_8$, ESI-MS m/z : 293 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.46 (2H, d, $J = 7.3$ Hz, H-2, 6), 7.36 (2H, t, $J = 7.3$ Hz, H-3, 5), 7.30 (1H, t, $J = 7.3$ Hz, H-4), 4.98 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, overlapped, H-7a), 4.72 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-7b), 4.46 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-1'), 3.40~3.60 (4H, m, H-2'~5'), 3.94 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-6'a), 3.76 (1H, dd, $J = 4.5, 11.4$ Hz, H-6'b); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 138.9 (C-1), 129.3 (C-2, 6), 129.1 (C-3, 5), 128.7 (C-4), 69.9 (C-7), 103.3 (C-1'), 73.5 (C-2'), 77.9 (C-3'), 71.9 (C-4'), 78.9 (C-5'), 62.5 (C-6')。以上数据与文献报道的基本一致^[25], 故鉴定化合物 **15** 为 benzyl *O*- β -D-glucopyranoside。

化合物 **16**: 淡黄色油状物, 分子式 $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_6$, ESI-MS m/z : 293 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.45 (2H, d, $J = 7.2$ Hz, H-2, 6), 7.36 (2H, d, $J = 7.2$ Hz, H-3, 5), 7.31 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-4),

4.98 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-7a), 4.72 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-7b), 4.45 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-1'), 3.42 (1H, m, H-2'), 3.47~3.60 (3H, m, H-3'~5'), 3.94 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-6'a), 3.76 (1H, dd, $J = 4.5, 11.4$ Hz, H-6'b); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 138.9 (C-1), 129.3 (C-2, 6), 129.2 (C-3, 5), 128.7 (C-4), 69.9 (C-7), 103.3 (C-1'), 73.5 (C-2'), 77.9 (C-3'), 71.9 (C-4'), 78.9 (C-5'), 62.5 (C-6')。以上数据与文献报道的基本一致^[26], 故鉴定化合物 **16** 为 4-*O*-benzyl-D-glucopyranoside。

化合物 **17**: 淡黄色油状物, 分子式 $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_8$, ESI-MS m/z : 317 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 6.72 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2), 6.70 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-5), 6.58 (1H, dd, $J = 1.9, 8.0$ Hz, H-6), 2.18 (2H, m, H-7), 4.05 (1H, m, H-8a), 3.71 (2H, m, H-8b, H-6'a), 4.32 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 3.21 (1H, m, H-2'), 3.29 (2H, m, H-3', H-4'), 3.38 (1H, m, H-5'), 3.89 (1H, dd, $J = 2.1, 12$ Hz, H-6'b); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 131.5 (C-1), 116.3 (C-2), 146.1 (C-3), 144.6 (C-4), 117.6 (C-5), 121.2 (C-6), 36.6 (C-7), 72.1 (C-8), 104.3 (C-1'), 75.1 (C-2'), 77.9 (C-3'), 71.6 (C-4'), 78.1 (C-5'), 62.7 (C-6')。以上数据与文献报道的基本一致^[27], 故鉴定化合物 **17** 为 3,4-dihydroxyphenylethyl alcohol 8-*O*- β -glucopyranoside。

化合物 **18**: 无色油状物, 分子式 $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_8$, ESI-MS m/z : 337 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 6.87 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-2), 6.76 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5), 6.74 (1H, dd, $J = 1.5, 8.1$ Hz, H-6), 4.56 (1H, dd, $J = 2.8, 10.6$ Hz, H-7), 3.97 (1H, dd, $J = 2.9, 12$ Hz, H-8a), 3.69 (1H, dd, $J = 10.7, 11.9$ Hz, H-8b), 4.46 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-1'), 3.19 (1H, dd, $J = 7.7, 9.7$ Hz, H-2'), 3.62 (1H, dd, $J = 8.8, 9.4$ Hz, H-3'), 3.43 (1H, dd, $J = 8.8, 9.7$ Hz, H-4'), 3.49 (1H, m, H-5'), 3.92 (1H, dd, $J = 2.1, 12.0$ Hz, H-6'a), 3.75 (1H, dd, $J = 5.5, 12.0$ Hz, H-6'b); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 129.9 (C-1), 115.0 (C-2), 146.3 (C-3), 146.5 (C-4), 116.1 (C-5), 119.4 (C-6), 78.8 (C-7), 72.8 (C-8), 99.5 (C-1'), 80.9 (C-2'), 75.1 (C-3'), 71.8 (C-4'), 79.8 (C-5'), 62.5 (C-6')。以上数据与文献报道的基本一致^[28], 故鉴定化合物 **18** 为 cuneataside A。

化合物 **19**: 无色针晶 (丙酮), 分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$, ESI-MS m/z : 285.1 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 6.16 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-3), 7.86 (1H, d,

$J = 9.4$ Hz, H-4), 6.98 (1H, s, H-5), 6.74 (1H, s, H-8); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 160.8 (C-2), 111.5 (C-3), 144.5 (C-4), 112.3 (C-5), 142.9 (C-6), 150.5 (C-7), 102.6 (C-8), 148.5 (C-9), 110.7 (C-10)。以上数据与文献报道的基本一致^[29], 故鉴定化合物 **19** 为对羟基苯甲醛。

化合物 **20**: 无色针晶 (甲醇), 分子式 $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$, ESI-MS m/z : 151 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.84~7.91 (2H, m, H-2, 6), 6.81~6.86 (2H, m, H-3, 5), 3.86 (3H, s, $-\text{OCH}_3$); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 122.4 (C-1), 132.8 (C-2, 6), 116.2 (C-3, 5), 163.6 (C-4), 168.8 ($-\text{CHO}$), 52.2 ($-\text{OCH}_3$)。以上数据与文献报道的基本一致^[30], 故鉴定化合物 **20** 为尼泊金甲酯。

化合物 **21**: 白色针晶 (氯仿), 分子式 $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_2$, ESI-MS m/z : 135 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.94 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2, 6), 6.97 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3, 5), 2.61 (3H, s, H-2'); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 129.7 (C-1), 131.4 (C-2), 115.7 (C-3), 161.5 (C-4), 115.7 (C-5), 131.4 (C-6), 198.7 (C-1'), 26.4 (C-2')。以上数据与文献报道基本一致^[31], 故鉴定化合物 **21** 为对羟基苯乙酮。

化合物 **22**: 白色针晶 (甲醇), 分子式 $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$, ESI-MS m/z : 151 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.43 (1H, s, H-2), 6.94 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-5), 7.42 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-6), 9.74 (1H, s, $-\text{CHO}$), 3.91 (3H, s, $-\text{OCH}_3$); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 130.6 (C-1), 111.3 (C-2), 149.7 (C-3), 154.7 (C-4), 116.3 (C-5), 127.9 (C-6), 192.9 ($-\text{CHO}$), 56.4 ($-\text{OCH}_3$)。以上数据与文献报道的基本一致^[32], 故鉴定化合物 **22** 为香草醛。

化合物 **23**: 无色针晶 (丙酮), 分子式 $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$, ESI-MS m/z : 167 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 7.44 (1H, s, H-2), 6.84 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 7.44 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6), 3.37 (3H, s, $3-\text{OCH}_3$), 9.87 (1H, s, $4-\text{OH}$), 12.5 (1H, s, $-\text{COOH}$); ^{13}C -NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 121.4 (C-1), 114.8 (C-2), 147.0 (C-3), 150.8 (C-4), 112.5 (C-5), 123.2 (C-6), 167.0 ($-\text{COOH}$), 55.3 ($-\text{OCH}_3$)。以上数据与文献报道的基本一致^[33], 故鉴定化合物 **23** 为香草酸。

3.2 细胞毒活性评价

3.2.1 对 A549 细胞的细胞毒活性初筛结果 根据“2.2”项下方法, 对其中 18 个化合物进行了体外抗

肿瘤活性的实验, 结果如图 1 所示, 在浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$ 时, 化合物 **8** 对 A549 细胞增殖抑制率大于 50%, 其他化合物没有表现出显著的细胞毒活性。因此, 进一步对化合物 **8** 进行浓度梯度实验, 计算其 IC_{50} 值。

3.2.2 化合物 8 对 A549 细胞的 IC_{50} 值 化合物 **8** 对 A549 细胞有显著的抑制作用 ($P < 0.01$), 其 $\text{IC}_{50} = (3.866 \pm 0.011) \mu\text{mol/L}$, 活性高于阳性药顺铂 [$\text{IC}_{50} = (9.895 \pm 0.025) \mu\text{mol/L}$]。

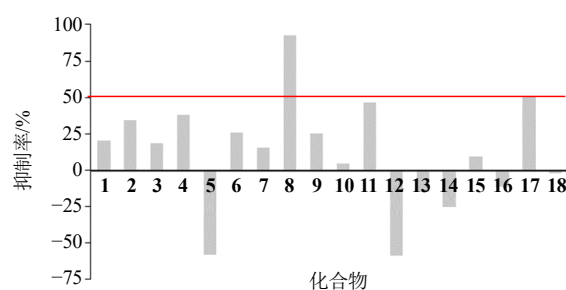


图 1 牛耳朵化合物 ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 对 A549 细胞细胞毒活性初筛结果

Fig. 1 Preliminary screening results of cytotoxic activity of compounds ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$) from *P. eburnea* on A549 cell line

3.3 抗氧化活性筛选结果

根据“2.3”项下方法, 对其中 11 个化合物进行了体外抗氧化活性的实验, 发现有 6 个化合物有显著的抗氧化活性。结果见表 1, 化合物 **5~7**、**9~11** 均表现出显著的抗氧化活性, 其中化合物 **9** 和 **11** 表现出的 DPPH 自由基清除能力和 ABTS 自由基清除能力均高于阳性药 VC 和 VE。

表 1 化合物的 DPPH 和 ABTS 自由基抑制活性的结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Results of DPPH and ABTS⁺ radical inhibitory activities of selected compounds ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

化合物	$\text{IC}_{50}/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	
	DPPH	ABTS ⁺
5	7.270 ± 0.046	2.184 ± 0.005
6	0.548 ± 0.036	0.259 ± 0.049
7	0.625 ± 0.024	0.362 ± 0.020
9	0.161 ± 0.013	0.960 ± 0.041
10	1.190 ± 0.043	0.588 ± 0.023
11	0.024 ± 0.011	0.225 ± 0.012
VC	0.306 ± 0.021	
VE		1.502 ± 0.041

4 讨论

本实验从黔产牛耳朵的醋酸乙酯部位分离鉴定了 23 个化合物, 包含 8 个醌类化合物, 1 个黄酮类化合物, 1 个木质素类化合物, 1 个香豆素类化合物, 8 个酚酸类化合物和 4 个苷类化合物, 其中化合物 1~3、6 和 8~22 为首次从报春苣苔属植物中

分离得到。化合物 8 对 A549 细胞表现出显著的细胞毒活性。化合物 5~7、9~11 均表现出显著的抗氧化活性, 其中化合物 9 和 11 的抗氧化活性高于阳性药 VC 和 VE。本研究揭示了黔产牛耳朵中的化学成分, 并印证了牛耳朵化学成分的抗肿瘤活性和抗氧化活性, 为贵州牛耳朵资源的进一步开发和利用奠定了基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 罗迎春, 孙庆文. 贵州民族常用天然药物 (第二卷) [M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2013: 36.
- [2] 陈文娟, 李典鹏, 陈月圆, 等. 半制备高效液相色谱制备 5 种苯乙醇苷类单体 [J]. 广西植物, 2010, 30(2): 269-273.
- [3] 王晓琴, 白贞芳, 刘勇, 等. 牛耳朵和黄花牛耳朵的显微和化学鉴别 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(14): 99-101.
- [4] 陈文娟. 苦苣苔科植物牛耳朵化学成分及其活性研究 [D]. 桂林: 广西师范大学, 2010.
- [5] Cai X H, Luo X D, Zhou J, et al. Quinones from *Chirita eburnea* [J]. *J Nat Prod*, 2005, 68(5): 797-799.
- [6] Cai X H, Luo X D, Zhou J, et al. A new naphthaquinone derivative from *Chirita eburnea* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2006, 8(4): 351-353.
- [7] 蔡祥海, 邓德山, 马云保, 等. 牛耳朵化学成分的研究 [J]. 中草药, 2005, 36(4): 510-511.
- [8] 陈文娟, 文永新, 陈月圆, 等. 牛耳朵脂溶性成分的 GC-MS 分析 [J]. 广西科学, 2009, 16(2): 174-176.
- [9] 王晓琴, 彭勇, 白贞芳, 等. 苦苣苔科药用植物体外抗菌活性的研究 [J]. 中国民族医药杂志, 2011, 17(1): 37-39.
- [10] 吴建璋, 文永新, 陈月圆, 等. 牛耳朵乙醇提取物对自发性高血压大鼠血压和左心室肥厚的影响 [J]. 时珍国医国药, 2011, 22(1): 184-185.
- [11] 董娅, 赵钰玲, 范亚莉, 等. 红花多糖对人非小细胞肺癌 A549 细胞增殖和凋亡的影响 [J]. 临床肺科杂志, 2017, 22(11): 2045-2048.
- [12] 周立强, 熊燕, 陈俊磊, 等. 艾纳香地上部分化学成分及其抗氧化与酪氨酸酶抑制活性研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2021, 33(7): 1112-1120.
- [13] Li X C, Hu Q P, Jiang S X, et al. *Flos Chrysanthemi Indici* protects against hydroxyl-induced damages to DNA and MSCs via antioxidant mechanism [J]. *J Saudi Chem Soc*, 2015, 19(4): 454-460.
- [14] Núñez Montoya S C, Agnese A M, Cabrera J L. Anthraquinone derivatives from *Heterophyllaea pustulata* [J]. *J Nat Prod*, 2006, 69(5): 801-803.
- [15] Kohei K, Wakako H, Shogo T, et al. Inhibitory effect of anthraquinones isolated from the Noni (*Morinda citrifolia*) root on animal A-, B- and Y-families of DNA polymerases and human cancer cell proliferation [J]. *Food Chem*, 2010, 118(3): 725-730.
- [16] 邱保林, 徐良雄, 魏孝义, 等. 降龙草的蒽醌类化学成分 [J]. 热带亚热带植物学报, 2014, 22(5): 507-510.
- [17] Moody J O, Hylands P J, Bray D H. Droplet countercurrent separation of bioactive constituents of *Morinda lucida* Benth root bark [J]. *Pharm Pharmacol Lett*, 1994, 4(1): 29-31.
- [18] 汪哲, 赵思蒙, 曾广智, 等. 钩毛茜草的化学成分及其细胞毒活性研究 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(22): 4462-4468.
- [19] Rho T, Yoon K. Chemical constituents of *Nelumbo nucifera* seeds [J]. *Nat Prod Sci*, 2017, 23: 253-257.
- [20] Yang B Y, Wang Q H, Xia Y G, et al. Baimantuoluolines D-F, three new withanolides from the flower of *Datura metel* L. [J]. *Helv Chim Acta*, 2008, 91: 964-971.
- [21] 路小利, 乔英, 张宪民, 等. 金鱼藻的化学成分 [J]. 云南植物研究, 2007, 29(2): 263-264.
- [22] 周凌云, 张祥华, 陈昌祥. 丽江产红景天的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2004, 16(5): 410-414.
- [23] Min B S, Youn U J, Bae K H. Cytotoxic compounds from the stem bark of *Magnolia obovate* [J]. *Nat Prod Sci*, 2008, 14(2): 90-94.
- [24] 朴艳, 于畅, 金英今, 等. 尾叶香茶菜的化学成分及其对酪氨酸酶抑制活性的研究 [J]. 延边大学学报: 自然科学版, 2019, 45(4): 312-314.
- [25] Simona D M, Carmen F, Franco Z, et al. Phenolic glycosides from *Cucumis melo* var. *inodorus* seeds [J]. *Phytochem Lett*, 2009, 2(3): 130-133.
- [26] Seib P A. 1,6-anhydro-4-O-benzyl- β -D-glucopyranose [J]. *Carbohydr Res*, 1968, 8(1): 101-109.
- [27] Park H J, Lee M S, Lee K T, et al. Studies on constituents with cytotoxic activity from the stem bark of *Syringa velutina* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1999, 47(7): 1029-1031.
- [28] 谭兴起, 郭良君, 郑巍, 等. 白枪杆的化学成分研究(I) [J]. 中国药房, 2013, 24(43): 4081-4083.
- [29] 刘桂艳, 马双成, 郑健, 等. 深绿山龙眼种子化学成分研究 (I) [J]. 中草药, 2005, 36(6): 814-817.
- [30] 朱玲花, 黄肖生, 叶文才, 等. 海芋的化学成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2012, 47(13): 1029-1031.
- [31] Lu X L, Shen Y H, Zhu Y P, et al. Diketopiperazine constituents of marine *Bacillus subtilis* [J]. *Chem Nat Compd*, 2009, 45(2): 290-292.
- [32] Du J L, Jin Y S, Qiao L M, et al. Chemical investigation of *Ervatamia yunnanensis* [J]. *Chem Nat Compd*, 2010, 46(3): 459-461.
- [33] 陈泉, 吴立军, 王军, 等. 中药淡竹叶的化学成分研究 [J]. 沈阳药科大学学报, 2002, 19(1): 257-259.

[责任编辑 王文倩]