

小黄构的化学成分及生物活性研究

侯泉杰^{1,2}, 宋 驰², 沈云亨², 蔡梅超^{1*}, 祖先鹏^{1,2*}

1. 山东中医药大学药学院, 山东 济南 250355

2. 海军军医大学药学院, 上海 200433

摘要: **目的** 研究瑞香科茛花属小黄构 *Wikstroemia micrantha* 的化学成分及生物活性。**方法** 利用正相硅胶柱色谱、ODS 反相色谱和 Sephadex LH20 凝胶渗透色谱等色谱分离技术进行分离纯化, 根据理化性质、¹D NMR 和 ESI-MS 等波谱手段鉴定化合物结构。利用 CCK-8 法进行化合物的肿瘤细胞毒(人乳腺癌 MCF-7 细胞、人卵巢癌 SKOV3 细胞、人结肠癌 HCT-116 细胞、人骨髓细胞白血病 HL-60 细胞、人肝癌 HepG2 细胞)筛选; 采用酶活性抑制法评估化合物对 α -葡萄糖苷酶、丁酰胆碱酯酶(butrylcholinesterase, BChE)及乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)的抑制作用。**结果** 从小黄构干燥枝叶乙醇提取物中分离得到 10 个化合物, 分别鉴定为 6,8-二甲基芹菜苷元(1)、2-(*p*-hydroxyphenoxy)-6,8-dimethyl-5,7-dihydroxychromone(2)、茛花素(3)、木犀草素(4)、伞形花内酯(5)、西瑞香素(6)、瑞香素(7)、2,2'-oxybis(1,4-di-tert-butylbenzene)(8)、(+)-3-hydroxy-1,5-diphenylpentan-1-one(9)、1,5-diphenylpentan-1-one(10)。体外抗肿瘤活性筛选实验表明化合物 2、4 对不同肿瘤细胞有弱的细胞毒性, 其半数抑制浓度(median inhibition concentration, IC₅₀)值在 18~50 μ mol/L。在 α -葡萄糖苷酶活性体外抑制实验中, 化合物 1、2、7 表现出中等抑制活性, 其 IC₅₀ 分别为(15.51 $\pm$ 0.49)、(15.99 $\pm$ 1.15)、(19.65 $\pm$ 1.71) μ mol/L。BChE 活性体外抑制实验的结果揭示了化合物 7 表现较强抑制活性, IC₅₀ 为(5.63 $\pm$ 0.20) μ mol/L, 化合物 9 表现出中等抑制活性, IC₅₀ 为(13.22 $\pm$ 0.84) μ mol/L。化合物 1~10 无明显抑制 AChE 活性。**结论** 化合物 1~10 为首次从该植物中分离得到。生物活性筛选实验发现多个化合物具有一定的抗肿瘤活性与选择性丁酰胆碱酯酶抑制活性, 为小黄构药材的进一步研究开发提供了化学物质基础与实验数据支持。

关键词: 茛花属; 小黄构; 抗肿瘤活性; 酶体外抑制活性; 茛花素; 木犀草素; 伞形花内酯; 瑞香素

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2026)19-7541-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.19.005

Chemical constituents and bioactivities of *Wikstroemia micrantha*

HOU Quanjie^{1,2}, SONG Chi², SHEN Yunheng², CAI Meichao¹, ZU Xianpeng^{1,2}

1. School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

2. School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents and biological activities of *Wikstroemia micrantha*(Thymelaeaceae). **Methods** The chemical constituents were isolated and purified via multiple chromatographic techniques including normal-phase silica gel column chromatography, ODS reversed-phase column chromatography and Sephadex LH-20 gel permeation chromatography. The structures of isolated compounds were elucidated by physicochemical properties, ¹D NMR, and ESI-MS spectroscopic analyses. The cytotoxic activities of all compounds against five human tumor cell lines (human breast cancer MCF-7 cells, human ovarian cancer SKOV3 cells, human colon cancer HCT-116 cells, human promyelocytic leukemia HL-60 cells, and human hepatocellular carcinoma HepG2 cells) were screened by the CCK-8 assay. Enzyme inhibition assays were performed to evaluate the inhibitory effects of the compounds on α -glucosidase, butyrylcholinesterase (BChE) and acetylcholinesterase (AChE). **Results** A total of ten compounds were isolated from the ethanol extract of the dried branches and leaves of *W. micrantha*, and their structures were identified as syzalterin (1), 2-(*p*-hydroxyphenoxy)-6,8-dimethyl-5,7-dihydroxychromone (2), genkwanin (3), luteolin (4), 7-hydroxycoumarin (5), daphnoretin (6), daphnetin (7), 2,2'-oxybis(1,4-di-tert-butylbenzene) (8), (+)-3-hydroxy-1,5-diphenylpentan-1-one (9), 1,5-diphenylpentan-1-one

收稿日期: 2026-06-09

基金项目: 上海市卫生健康委员会中医药科研项目(2024QN057); 海军军医大学“深蓝”工程启航人才计划; 海军军医大学教学成果立项培育项目(JPY2024B06); 山东省中医药科技项目(M20251701); 山东中医药大学科学研究基金项目(KYZK2024M21)

作者简介: 侯泉杰, 硕士研究生, 研究方向为中药药效物质基础与药物创新。E-mail: quanjiehou0511@163.com

***通信作者:** 蔡梅超, 副教授, 研究方向为中药药效物质基础与药物创新。Tel: (0531)89628234 E-mail: caimeichao@sducm.edu.cn

祖先鹏, 副教授, 研究方向为中药系统生物学及军事特殊环境药物研究。Tel: (021)81871249 E-mail: zuxianpeng@163.com

(10). *In vitro* antitumor activity screening revealed that compounds **2** and **4** exhibited weak cytotoxicity against various tumor cell lines, with their median inhibitory concentration (IC_{50}) values ranging from 18 to 50 $\mu\text{mol/L}$. In α -glucosidase inhibitory assay, compounds **1**, **2** and **7** displayed moderate inhibitory activity, with IC_{50} values of (15.51 ± 0.49) , (15.99 ± 1.15) and (19.65 ± 1.71) $\mu\text{mol/L}$, respectively. Results from the *in vitro* BChE inhibitory assay indicated that compound **7** exerted potent inhibitory activity with an IC_{50} value of (5.63 ± 0.20) $\mu\text{mol/L}$, whereas compound **9** exhibited moderate inhibitory activity [$IC_{50} = (13.22 \pm 0.84)$ $\mu\text{mol/L}$]. None of the isolated compounds **1**—**10** showed notable inhibitory activity against AChE. **Conclusion** Compounds **1**—**10** were isolated from *W. micrantha* for the first time. Bioactivity screening demonstrated that several isolates possessed favorable antitumor activity and selective BChE inhibitory effects. This study provides chemical material basis and experimental data support for further research and development of the medicinal material *W. micrantha*.

Key words: *Wikstroemia* Endl.; *Wikstroemia micrantha* Hemsl.; antitumor activity; *in vitro* enzyme inhibitory activity; genkwanin; luteolin; 7-hydroxycoumarin; daphnetin

茺花属 *Wikstroemia* Endl. 是瑞香科 (Thymelaeaceae Juss.) 中应用最为广泛的药用植物类群之一。目前已从该属植物中分离并鉴定出大量结构丰富多样的次生代谢产物, 包括萜类、黄酮类、香豆素类等化合物^[1-2]。该属植物 (如南岭茺花) 自古作为民间草药, 用于医治梅毒、关节炎、百日咳及肿瘤等病症^[3-4]。作为结构新颖、活性独特的重要天然药物资源, 茺花属植物的研究正受到广泛关注。小黄构 *Wikstroemia micrantha* Hemsl. 为茺花属灌木, 主要分布于我国西北和西南地区^[5]。民间常以其茎皮与根入药, 有止咳化痰功效^[6]。但目前针对小黄构的化学成分与生物活性研究仍鲜有报道。为进一步开发研究该药用植物中的活性成分, 本研究对小黄构枝叶进行系统的化学成分分离与生物活性评价, 从中分离到 10 个化合物, 分别鉴定为 6,8-二甲基芹菜素 (syzalterin, **1**)、2-(*p*-hydroxyphenoxy)-6,8-dimethyl-5,7-dihydroxychromone (**2**)、茺花素 (genkwanin, **3**)、木犀草素 (luteolin, **4**)、伞形花内酯 (7-hydroxycoumarin, **5**)、西瑞香素 (daphnoretin, **6**)、瑞香素 (daphnetin, **7**)、2,2'-oxybis(1,4-di-*tert*-butylbenzene) (**8**)、(+)-3-hydroxy-1,5-diphenylpentan-1-one (**9**)、1,5-diphenylpentan-1-one (**10**)。化合物 **1**~**10** 为首次从该植物中分离得到。通过对分离得到的化学成分以及生物活性的研究, 完善了小黄构的化学物质基础研究; 对其在抗肿瘤, 降血糖以及治疗神经系统疾病方面进行了初步的筛选, 结果表明其化学成分是潜在的 BChE 选择性抑制剂, 为其质量评价、资源开发及创新药物研发提供了重要的化学与药理学实验依据。

1 仪器与材料

Bruker DRX-500 核磁共振仪 (德国 Bruker 公司)、BUCHI C605 中压制备液相色谱仪 (瑞士

BUCHI 公司)、薄层色谱硅胶 (GF₂₅₄) 与柱色谱硅胶 (200~300 目) (青岛海洋化工有限公司); 氘代试剂 (美国剑桥 CIL 公司); 其余试剂均为分析纯, 上海润捷化学试剂有限公司生产; DMEM 培养基 (美国 Gibco 公司); CCK-8 试剂 (中国碧云天公司); 紫杉醇 (paclitaxel, PTX, 中国源叶公司)、对硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷 (PNPG, 批号 A425944-0500)、DNS 试剂 (批号 A500420-0100)、阿卡波糖 (Acarbose, 批号 A430789-0100)、 α -葡萄糖苷酶 (批号 A417192-0010); 乙酰胆碱酯酶 (acetylcholinesterase, AChE, 批号 A1520586)、丁酰胆碱酯酶 (butyrylcholinesterase, BChE, 批号 A001628-0500)、5,5-二巯基-2,2-二硝基苯甲酸 (DTNB, 批号 A620113-0005)、Tris-HCl 缓冲液 (批号 B546022-0250)、碘代硫代乙酰胆碱 (批号 A360272-0100)、氯化丁酰胆碱 (批号 A428961-0500)、加兰他敏 (Galantamine, 批号 A419777-0100)、卡巴拉汀 (Rivastigmine, 批号 A430807-0100)、十二烷基硫酸钠 (Sodium dodecyl sulfate, SDS, 批号 A600485-0100), 以上试剂均来自上海史伽生物科技有限公司。

人乳腺癌 MCF-7 细胞、人卵巢癌 SKOV3 细胞、人结肠癌 HCT-116 细胞、人骨髓细胞白血病 HL-60 细胞、人肝癌 HepG2 细胞 (上海拜力生物技术有限公司)。

小黄构药材由昆明植分生物技术有限公司提供, 采集于贵州省遵义市绥阳县。参照中国科学院植物研究所标本 (01068251), 由海军军医大学沈云亨副教授确定为瑞香科茺花属植物小黄构 *W. micrantha* Hemsl. 的枝叶。标本 (20230531) 存放于海军军医大学药理学系天然药化教研室。

2 方法

2.1 提取与分离

小黄构干燥枝叶 30 kg, 将枝叶混合切为片状

后使用 95%乙醇 240 L 冷浸提取 5 次,首次提取时浸泡 48 h,后 4 次各浸泡 24 h,随后将提取液合并,60 °C 减压浓缩得到 4.1 kg 总浸膏。采用硅胶柱色谱,以石油醚-醋酸乙酯(100:0、200:1、100:1、50:1、30:1、10:1、2:1、1:1、0:100)进行梯度洗脱,通过 TLC 和 HPLC 分析,将各相似组分合并得到 3 个组分,分别为 Fr. A~C。组分 Fr. A (110.5 g) 经中压制备液相,使用 MCI 树脂柱色谱进行脱色处理,以甲醇-水(10%→30%、30%→60%、60%→90%、90%→100%)进行分段梯度洗脱,分别获得 Fr. A-1 (5.6 g)、Fr. A-2 (9.5 g)、Fr. A-3 (10.2 g)、Fr. A-4 (4.8 g) 4 个组分。Fr. A-1、Fr. A-2 和 Fr. A-4 组分经减压浓缩后静置在室温中均出现黄色颗粒状沉淀,经过滤取固体干燥后获得化合物 1 (50 mg) 和 3 (23 mg)。Fr. A3 使用中压制备液相,经 ODS C₁₈ 反相柱色谱进行分离,以甲醇-水(10%~80%)进行梯度洗脱,经 TLC 分析后在碘蒸汽中显色有 2 个明显主点分别在组分 Fr. A-3-2、Fr. A-3-5 中。Fr. A-3-5 经减压浓缩析出黄色沉淀,经滤取及干燥处理后获得化合物 2 (24 mg); Fr. A-3-2 通过正相硅胶柱色谱,采用二氯甲烷-甲醇梯度洗脱(100:1→1:1)得到化合物 5 (16 mg)。经合并后得到 Fr. A-3-3 在室温中静置析出大量沉淀,将其过滤干燥后获得化合物 7 (510 mg),将其母液使用半制备 HPLC 分离,采用 28%甲醇-水等度洗脱(体积流量 2 mL/min),于保留时间 33 min 获得化合物 6 (11 mg)。Fr. B (90.3 g) 中含有大量植物色素,经中压制备液相,使用 MCI 树脂柱色谱进行脱色处理,以甲醇-水(5%→30%、30%→60%、60%→90%、90%)进行进行分段梯度洗脱得到 3 个组分 Fr. B-1 (2.1 g)、Fr. B-2 (4.2 g)、Fr. B-3 (12.1 g)。Fr. B-3 通过中压制备液相,经 ODS C₁₈ 反相柱色谱进行分离,以甲醇-水(30%)进行等度洗脱,得到化合物 4 (32 mg)。经前期分离后,对 Fr. C (34.8 g) 及水相组分进行系统分离纯化,Fr. C (34.8 g) 中分离得到化合物 9 (12 mg) 与 10 (25 mg); 水相部分获得化合物 8 (10 mg)。

2.2 化合物生物活性测定

2.2.1 体外抗肿瘤活性 通过 CCK-8 法检测所有化合物对肿瘤细胞株的细胞毒性^[7]。将肿瘤细胞(MCF-7、SKOV3、HCT-116、HL-60 和 HepG2)以每孔约 5 000 个细胞接种于 96 孔板,培养 24 h 后分组处理,设对照组、模型组及待测样品组(1.562 5、

3.125、6.25、12.5、25、50 μmol/L),以 PTX (0.625、1.25、2.5、5、10、20 μmol/L) 为阳性对照。加入待测化合物继续孵育 72 h。每孔加入 10 μL CCK-8 溶液,避光孵育 1~2 h,采用酶标仪于 450 nm 波长处测定吸光度(A)值,计算细胞抑制率,每组设 3 个复孔。以化合物浓度对数为横坐标,细胞抑制率为纵坐标,采用非线性回归拟合量效曲线,计算各化合物对不同肿瘤细胞的半数抑制浓度(median inhibition concentration, IC₅₀)。

$$\text{细胞抑制率} = 1 - (A_{\text{样品/PTX}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

$A_{\text{样品}}$ 为待测化合物组或 PTX 阳性对照组 A 值, $A_{\text{空白}}$ 为空白组 A 值, $A_{\text{对照}}$ 为对照组 A 值; 若以模型组为参照,则将公式中的 $A_{\text{对照}}$ 替换为 $A_{\text{模型}}$

2.2.2 体外抗 α-葡萄糖苷酶活性 采用 96 孔板评价各样品对 α-葡萄糖苷酶的体外抑制活性^[8]。设空白组、对照组、空白-对照组、待测样品组及阿卡波糖组。空白组每孔加入 50 μL 样品溶液和 2 U/mL 的酶液 50 μL; 对照组每孔加入 50 μL 样品和 50 μL 缓冲液代替酶液; 空白-对照组每孔加入 50 μL 样品溶液并以等体积缓冲液代替底物溶液、酶液; 待测样品组每孔分别加入 50 μL 对应浓度(1.562 5、3.125、6.25、12.5、25、50 μmol/L)的样品和 50 μL 酶液; 阿卡波糖组每孔分别加入 50 μL 对应浓度(0.625、1.25、2.5、5、10、20 μmol/L)的阿卡波糖溶液和 50 μL 酶液。将样品溶液与 2 U/mL 的酶液在 37 °C 下预孵育 10 min,随后加入 2% 的 PNPG 底物溶液,于 37 °C 继续反应 30 min。反应结束后,加入 100 μL 0.1 mol/L 碳酸钠溶液终止反应,使用酶标仪测定 405 nm 处的 A 值。每组设置 3 个复孔,抑制率取平均值。所有样品初筛浓度为 50 μmol/L,阳性对照浓度为 10 μmol/L。根据上述实验结果,计算各化合物的 IC₅₀。

$$\text{抑制率} = 1 - (A_{\text{样品/阿卡波糖}} - A_{\text{对照}}) / (A_{\text{空白}} - A_{\text{空白-对照}})$$

2.2.3 体外抗 BChE 与 AChE 活性

(1) 抗 BChE 活性: 采用 96 孔板评价各样品对 BChE 的体外抑制活性^[9]。在含 140 μL Tris-HCl 缓冲液的 96 孔板中,空白组加入 20 μL 1 U/mL 的 BChE、10 μL 5 mmol/L 的 DTNB 和 10 μL 样品溶液; 对照组加入 20 μL 缓冲液代替酶液、10 μL 5 mmol/L 的 DTNB 10 μL 样品; 空白-对照组加入 20 μL 缓冲液代替酶液、10 μL 5 mmol/L 的 DTNB 和 10 μL 样品溶液; 待测样品组每孔分别加入 10 μL 对应浓度(1.562 5、3.125、6.25、12.5、25、50 μmol/L)

的样品、20 μL 1 U/mL 的 BChE 和 10 μL 5 mmol/L 的 DTNB; 卡巴拉汀组每孔加入 10 μL 对应浓度 (15、30、60、120、240、480 $\mu\text{mol/L}$) 的卡巴拉汀溶液、20 μL 1 U/mL 的 BChE 和 10 μL 5 mmol/L 的 DTNB。于 25 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 15 min。随后加入 20 μL 1 mmol/L 的氯化丁酰胆碱底物, 继续在 25 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 15 min。反应结束后加入 50 μL 0.4% SDS 终止反应。使用酶标仪测定 405 nm 处的 A 值, 计算抑制率, 每组设置 3 个复孔, 取平均值。根据上述实验结果, 计算各化合物的 IC_{50} 。

$$\text{抑制率} = 1 - (A_{\text{样品/卡巴拉汀}} - A_{\text{对照}}) / (A_{\text{空白}} - A_{\text{空白-对照}})$$

(2) 抗 AChE 活性: 采用 96 孔板评价各样品对 AChE 的体外抑制活性^[10]。在含 140 μL Tris-HCl 缓冲液的 96 孔板中, 空白组加入 20 μL 1 U/mL 的 AChE、10 μL 5 mmol/L 的 DTNB 和 10 μL 样品溶液; 对照组加入 20 μL 缓冲液代替酶液、10 μL 5 mmol/L 的 DTNB 10 μL 样品; 空白-对照组加入 20 μL 缓冲液代替酶液、10 μL 5 mmol/L 的 DTNB 和 10 μL 样品溶液; 待测样品组每孔分别加入 10 μL 对应浓度 (1.5625、3.125、6.25、12.5、25、50 $\mu\text{mol/L}$) 的样品、20 μL 1 U/mL 的 AChE 和 10 μL 5 mmol/L 的 DTNB; 加兰他敏组每孔加入 10 μL 对应浓度 (15、30、60、120、240、480 $\mu\text{mol/L}$) 的加兰他敏溶液、20 μL 1 U/mL 的 AChE 和 10 μL 5 mmol/L 的 DTNB。于 25 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 15 min。随后加入 20 μL 1 mmol/L 的碘代硫代乙酰胆碱底物, 继续在 25 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 15 min。反应结束后加入 50 μL 0.4% SDS 终止反应。使用酶标仪测定 405 nm 处的 A 值。每组设置 3 个复孔, 抑制率取平均值。根据上述实验结果计算各化合物对 AChE 的 IC_{50} 。

$$\text{抑制率} = 1 - (A_{\text{样品/加兰他敏}} - A_{\text{对照}}) / (A_{\text{空白}} - A_{\text{空白-对照}})$$

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 1: 淡黄色固体, 可溶于水, 甲醇; ESI-MS m/z 299.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式 $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_5$, 不饱和度 11。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 13.14 (1H, s, 5-OH), 10.37 (1H, s, 4'-OH), 9.71 (1H, s, 7-OH), 7.94 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-2', 6'), 6.95 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-3', 5'), 6.80 (1H, s, H-3), 2.29 (3H, s, H-11), 2.06 (3H, s, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 182.2 (C-4), 163.4 (C-7), 161.1 (C-4'), 159.7 (C-2), 156.1 (C-5), 152.4 (C-9), 128.4 (C-2', 6'), 121.6 (C-1'), 116.1 (C-3', 5'), 107.0 (C-10), 103.6 (C-6), 102.5 (C-3), 101.9 (C-

8), 8.4 (C-11), 8.1 (C-12)。以上数据与文献报道一致^[11], 故鉴定该化合物为 6,8-二甲基芹菜苷元。

化合物 2: 黄色固体, 可溶于水, 甲醇; ESI-MS m/z 315.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_6$, 不饱和度 11。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 12.90 (1H, s, 5-OH), 9.66 (1H, s, 4'-OH), 9.59 (1H, s, 7-OH), 7.10 (2H, d, $J=8.9$ Hz, H-3', 5'), 6.77 (2H, d, $J=8.9$ Hz, H-2', 6'), 4.97 (1H, s, H-3), 1.97 (3H, s, H-12), 1.92 (3H, s, H-11); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 183.5 (C-4), 167.6 (C-2), 159.4 (C-7), 156.1 (C-4'), 156.1 (C-5), 150.1 (C-9), 143.1 (C-1'), 122.0 (C-2', 6'), 116.5 (C-3', 5'), 107.4 (C-6), 101.9 (C-8), 101.8 (C-10), 86.5 (C-3), 8.0 (C-11), 8.0 (C-12)。以上数据与文献报道一致^[12], 故鉴定该化合物为 2-(*p*-hydroxyphenoxy)-6,8-dimethyl-5,7-dihydroxychromone。

化合物 3: 淡黄色粉末, 可溶于水, 甲醇; ESI-MS m/z 285.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$, 不饱和度 11。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 12.95 (1H, s, 5-OH), 10.41 (1H, s, 4'-OH), 7.93 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-2', 6'), 6.93 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-3', 5'), 6.82 (1H, s, H-3), 6.72 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-8), 6.34 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-6), 3.85 (3H, s, 7-OCH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 182.0 (C-4), 165.1 (C-7), 164.0 (C-2), 161.3 (C-5), 161.2 (C-4'), 157.2 (C-9), 128.6 (C-2', 6'), 121.1 (C-1'), 116.0 (C-3', 5'), 104.7 (C-10), 103.0 (C-3), 98.0 (C-6), 92.6 (C-8), 56.0 (7-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[13], 故鉴定该化合物为芫花素。

化合物 4: 淡黄色粉末, 可溶于水, 微溶于甲醇; ESI-MS 显示 m/z 287.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$, 不饱和度 11。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.41 (1H, dd, $J=7.8, 2.3$ Hz, H-6'), 7.40 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-2'), 6.92 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-5'), 6.56 (1H, s, H-3), 6.46 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8), 6.23 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 183.9 (C-4), 166.4 (C-7), 166.1 (C-2), 163.3 (C-5), 159.5 (C-9), 151.0 (C-4'), 147.1 (C-3'), 123.7 (C-6'), 120.3 (C-1'), 116.8 (C-5'), 114.2 (C-2'), 105.4 (C-10), 103.9 (C-3), 100.1 (C-6), 95.0 (C-8)。以上数据与文献报道一致^[14], 故鉴定该化合物为木犀草素。

化合物 5: 白色针状结晶 (水-甲醇), 可溶于水, 微溶于甲醇; ESI-MS m/z 163.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3$, 不饱和度 7。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 10.61 (1H, s, 7-OH), 7.94 (1H, d, $J=9.4$

Hz, H-4), 7.53 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 6.79 (1H, dd, $J = 8.4, 2.3$ Hz, H-6), 6.72 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-8), 6.21 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-3); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 161.4 (C-7), 160.5 (C-2), 155.5 (C-9), 144.6 (C-4), 129.8 (C-5), 113.2 (C-6), 111.4 (C-3), 111.3 (C-10), 102.2 (C-8)。以上数据与文献报道一致^[15], 故鉴定该化合物为伞形花内酯。

化合物 6: 黄色粉末, 可溶于水, 甲醇; ESI-MS m/z 353.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{O}_7$, 不饱和度 14。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 7.80 (1H, s, H-4), 7.66 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-4'), 7.57 (1H, s, H-5), 7.47 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 7.21 (1H, brs, H-8), 7.15 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-8'), 7.14 (1H, d, $J = 8.5, 2.4$ Hz, H-6'), 6.35 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3'); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 160.4 (C-2'), 160.3 (C-2), 157.6 (C-7'), 155.8 (C-9'), 152.2 (C-7), 148.7 (C-9), 146.7 (C-6), 143.4 (C-4'), 136.5 (C-3), 131.0 (C-4), 129.7 (C-5'), 114.8 (C-10'), 114.4 (C-3'), 113.6 (C-6'), 110.4 (C-10), 109.1 (C-5), 104.4 (C-8'), 104.0 (C-8), 56.1 (6-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[16], 故鉴定该化合物为西瑞香素。

化合物 7: 黄色粉末, 可溶于水、甲醇; ESI-MS m/z 179.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_4$, 不饱和度 7。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.14 (1H, s, 7-OH), 9.36 (1H, s, 8-OH), 7.88 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-4), 7.01 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5), 6.80 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-6), 6.18 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-3); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 160.4 (C-2), 149.7 (C-7), 145.1 (C-4), 143.7 (C-9), 132.1 (C-8), 118.8 (C-5), 112.5 (C-10), 112.1 (C-6), 111.2 (C-3)。以上数据与文献报道一致^[17], 故鉴定该化合物为瑞香素。

化合物 8: 无色针状结晶 (水-丙酮), 可溶于水、甲醇; ESI-MS m/z 395.6 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{O}$, 不饱和度 8。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.38 (2H, d, $J = 2.5$ Hz, H-3, 3'), 7.30 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6, 6'), 7.11 (2H, dd, $J = 8.4, 2.5$ Hz, H-5, 5'), 1.40 (18H, s, H-8, 8', 9, 9', 10, 10'), 1.31 (18H, s, H-12, 12', 13, 13', 14, 14'); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 149.2 (C-2), 149.2 (C-2'), 145.5 (C-1, 1'), 139.0 (C-4, 4'), 124.4 (C-3, 3'), 123.5 (C-5, 5'), 119.1 (C-6), 118.9 (C-6'), 35.0 (C-7, 7'), 34.5 (C-11, 11'), 31.6 (C-8, 8', 9, 9', 10, 10'), 30.2 (C-12, 12', 13, 13', 14, 14')。以上数据与文献报道一致^[18], 故鉴定该化合物为 2,2'-

oxybis(1,4-di-tert-butylbenzene)。

化合物 9: 黄色无定型固体, 可溶于甲醇、三氯甲烷; ESI-MS m/z 255.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_2$, 不饱和度 9。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.97 (2H, m, H-2', 6'), 7.61 (1H, m, H-4'), 7.50 (2H, m, H-3', 5'), 7.32 (2H, m, H-2'', 6''), 7.28 (2H, m, H-3'', 5''), 7.22 (1H, m, H-4''), 4.28 (1H, m, H-3), 3.19 (1H, dd, $J = 17.7, 2.7$ Hz, H-2a), 3.11 (1H, dd, $J = 17.7, 8.9$ Hz, H-2b), 2.92 (1H, m, H-5a), 2.79 (1H, m, H-5b), 1.98 (1H, m, H-4a), 1.85 (1H, m, H-4b); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 200.9 (C-1), 141.9 (C-1'), 136.7 (C-1'), 133.6 (C-4'), 128.7 (C-2', 6'), 128.5 (C-2'', 6''), 128.4 (C-4''), 128.1 (C-3', 5'), 125.9 (C-3'', 5''), 67.0 (C-3), 45.0 (C-2), 38.2 (C-4), 31.9 (C-5)。以上数据与文献报道一致^[19], 故鉴定该化合物为 (+)-3-hydroxy-1,5-diphenylpentan-1-one。

化合物 10: 黄色膏状物, 可溶于甲醇、三氯甲烷; ESI-MS m/z 239.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}$, 不饱和度 9。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.99 (2H, m, H-2', 6'), 7.59 (1H, m, H-4'), 7.49 (2H, m, H-3', 5'), 7.32 (2H, m, H-2'', 6''), 7.25 (1H, m, H-4''), 7.23 (2H, m, H-3'', 5''), 3.03 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-2), 2.72 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-5), 1.85 (2H, m, H-4), 1.77 (2H, m, H-3); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 200.3 (C-1), 142.2 (C-1''), 137.0 (C-1'), 132.9 (C-4'), 128.6 (C-2', 6'), 128.4 (C-3', 5'), 128.3 (C-2'', 6''), 128.0 (C-4''), 125.7 (C-3'', 5''), 38.4 (C-2), 35.8 (C-5), 31.1 (C-4), 24.0 (C-3)。以上数据与文献报道一致^[19], 故鉴定该化合物为 1,5-diphenylpentan-1-one。

3.2 生物活性

3.2.1 体外抗肿瘤活性 对所分离得到的 10 个化合物开展了抗肿瘤活性测试, 部分活性结果如表 1 所示。化合物 2 仅对 MCF-7 细胞呈现弱细胞毒性, IC_{50} 值为 $(30.45 \pm 1.48) \mu\text{mol/L}$; 化合物 4 对 MCF-7 细胞显示中等强度的细胞毒性, 对 HepG2 细胞显示弱细胞毒性, IC_{50} 值分别为 $(18.62 \pm 1.27) \mu\text{mol/L}$ 和 $(33.45 \pm 1.52) \mu\text{mol/L}$ 。其他化合物在 $50 \mu\text{mol/L}$ 浓度下未表现出明显抗肿瘤活性。

3.2.2 体外抗 α -葡萄糖苷酶活性 对所分离得到的 10 个化合物开展了 α -葡萄糖苷酶抑制活性测试, 部分活性结果如表 2 所示。化合物 1 和 2 对 α -葡萄糖苷酶具有较强的抑制作用, 其 IC_{50} 值分别为 (15.51 ± 0.49) 、 $(15.99 \pm 1.15) \mu\text{mol/L}$; 化合物 7 和

表 1 化合物 1~10 与阳性药 PTX 对 5 种人肿瘤细胞株的细胞毒作用 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 1 Cytotoxicities of compounds 1–10 and positive control PTX against five human tumor cell lines ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

化合物	IC ₅₀ /($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)				
	HepG2	SKOV3	MCF-7	HCT-116	HL-60
2	>50.00	>50.00	30.45 ± 1.48	>50.00	>50.00
4	33.45 ± 1.52	>50.00	18.62 ± 1.27	>50.00	>50.00
其他	>50.00	>50.00	>50.00	>50.00	>50.00
PTX	35.59 ± 1.55	43.50 ± 1.64	0.09 ± 1.05	>50.00	13.99 ± 1.15

表 2 化合物 1~10 与阳性药 Acarbose 对 α -葡萄糖苷酶的体外抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 2 Inhibitory effects of compounds 1–10 and positive control acarbose against α -glucosidase *in vitro* ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

化合物	IC ₅₀ /($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)
1	15.51 ± 0.49
2	15.99 ± 1.15
7	19.65 ± 1.71
10	20.28 ± 1.89
其他	>50.00
阿卡波糖	1.38 ± 0.18

10 则显示中等强度的抑制作用, IC₅₀ 值依次为 (19.65 ± 1.71) $\mu\text{mol/L}$ 和 (20.28 ± 1.89) $\mu\text{mol/L}$ 。其他化合物在 50 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下未表现出明显抗 α -葡萄糖苷酶活性。

3.2.3 体外抗 BChE 与 AChE 活性 对所分离得到的 10 个化合物开展了 BChE 和 AChE 抑制活性测试, 部分活性结果如表 3 所示。化合物 7 和 9 对 BChE 表现出高抑制活性, 其 IC₅₀ 值分别为 (5.63 ± 0.20) $\mu\text{mol/L}$ 和 (13.22 ± 0.84) $\mu\text{mol/L}$ 。其他化合物在 50 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下未表现出明显抗 BChE 活性。化合物 1~10 均未出现明显抗 AChE 活性。

4 讨论

本研究通过对小黄构干燥枝叶的乙醇提取物

表 3 化合物 1~10 与阳性药对 BChE 与 AChE 的体外抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 3 *In vitro* BChE and AChE inhibitory effects of compounds 1–10 and positive control drugs ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

化合物	IC ₅₀ /($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	
	BChE	AChE
7	5.63 ± 0.20	>100
9	13.22 ± 0.84	>100
其他	>100	>100
卡巴拉汀	58.65 ± 3.92 (nmol·L ⁻¹)	
加兰他敏		5.21 ± 0.37

开展了系统的化合物分离纯化和结构鉴定, 得到了 10 个化合物, 且化合物 1~10 均为首次从该植物中分离鉴定, 完善并明晰了其化学组成特征。本研究从抗肿瘤、降血糖、神经保护 3 个维度对所有化合物开展体外生物活性评价, 结果表明, 分离得到的化合物对肿瘤细胞无显著的细胞毒活性, 对 α -葡萄糖苷酶仅表现出微弱抑制效果; 其中化合物 7 和 9 可选择性较强抑制 BChE 活性且无 AChE 抑制作用, 经文献调研, 二者的 BChE 抑制活性均为本研究首次报道。对比阳性药卡巴拉汀, 化合物 7 虽抑制活性稍弱, 但仅靶向 BChE、无胆碱能相关不良反应, 且香豆素母核修饰位点丰富, 具备良好的结构优化与先导药物开发潜力, 化合物 9 也为全新活性骨架, 可用于新型 BChE 抑制剂构效研究。但本研究仍存在一定的局限性与不足之处。本研究仅开展了体外细胞水平及酶水平活性筛选, 缺乏体内药效学及毒性数据支持, 并且化合物 7 和 9 对 BChE 的抑制作用尚未在分子层面明确其直接靶点及结合模式。针对上述不足, 后续研究将围绕化合物 7 和 9 开展 BChE 直接作用靶点确证 (如分子对接) 及分子作用机制解析, 同步评价其体内药理活性 (包括药效学、药动学) 与用药安全性, 以期系统阐明其抗阿尔茨海默症潜力, 推动该天然活性成分向创新药物转化。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Huan D Q, Hop N Q, Son N T. *Wikstroemia*: A review on its phytochemistry and pharmacology [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2024, 25(5): 563-598.
- [2] Nunome S, Ishiyama A, Kobayashi M, *et al.* *In vitro* antimalarial activity of biflavonoids from *Wikstroemia indica* [J]. *Planta Med*, 2004, 70(1): 76-78.
- [3] Song C, Luo D J, Zu X P, *et al.* Sesquiterpenes and lignans from the branches and leaves of *Wikstroemia micrantha* [J]. *Chem Biodivers*, 2025, 22(6): e202500047.
- [4] Guo J R, Zhang J W, Shu P H, *et al.* Two new diterpenoids

- from the buds of *Wikstroemia chamaedaphne* [J]. *Molecules*, 2012, 17(6): 6424-6433.
- [5] 尹永芹, 张鑫, 黄峰, 等. 了哥王的化学成分研究 [J]. 中国现代应用药学, 2012, 29(8): 697-699.
- [6] 邵萌, 刘俊珊, 王启瑞, 等. 瑞香科五属植物中酚性聚合物的结构特征、分布及药理活性研究进展 [J]. 中草药, 2014, 45(6): 864-873.
- [7] Gavanji S, Bakhtari A, Famurewa A C, et al. Cytotoxic activity of herbal medicines as assessed *in vitro*: A review [J]. *Chem Biodivers*, 2023, 20(2): e202201098.
- [8] 薛俊娟, 叶国华, 魏国栋, 等. 芫花枝叶三萜类化学成分及其 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究 [J]. 中草药, 2024, 55(8): 2524-2532.
- [9] Chen Y, Zhang W T, Li Q, et al. Discovery of 4-benzylpiperazinequinoline BChE inhibitor that suppresses neuroinflammation for the treatment of Alzheimer's disease [J]. *Eur J Med Chem*, 2024, 272: 116463.
- [10] Chen H Q, Zheng H, Cai C H, et al. New indole derivatives from endophytic fungus *Colletotrichum* sp. HK-08 originated from leaves of *Nerium indicum* [J]. *Chin Herb Med*, 2024, 16(2): 235-238.
- [11] Yao H K, Yuan Z H, Wei G M, et al. Thevetiaflavone from *Wikstroemia indica* ameliorates PC12 cells injury induced by OGD/R via improving ROS-mediated mitochondrial dysfunction [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(6): 9197-9202.
- [12] Shao M, Huang X J, Liu J S, et al. A new cytotoxic biflavonoid from the rhizome of *Wikstroemia indica* [J]. *Nat Prod Res*, 2016, 30(12): 1417-1422.
- [13] Zhang X L, Wang G C, Huang W H, et al. Biflavonoids from the roots of *Wikstroemia indica* [J]. *Nat Prod Commun*, 2011, 6(8): 1111-1114.
- [14] Hu K, Kobayashi H, Dong A, et al. Antifungal, antimitotic and anti-HIV-1 agents from the roots of *Wikstroemia indica* [J]. *Planta Med*, 2000, 66(6): 564-567.
- [15] Wang Q R, Jiang Y P, Luo C H, et al. Cytotoxic oligophenols from the rhizome of *Wikstroemia indica* [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2018, 28(4): 626-629.
- [16] Shao M, Lou D D, Yang J B, et al. Curcumin and wikstroflavone B, a new biflavonoid isolated from *Wikstroemia indica*, synergistically suppress the proliferation and metastasis of nasopharyngeal carcinoma cells via blocking FAK/STAT3 signaling pathway [J]. *Phytomedicine*, 2020, 79: 153341.
- [17] Ko Y C, Feng H T, Lee R J, et al. The determination of flavonoids in *Wikstroemia indica* C. A. Mey. by liquid chromatography with photo-diode array detection and negative electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2013, 27(1): 59-67.
- [18] Chang H, Wang Y W, Gao X, et al. Lignans from the root of *Wikstroemia indica* and their cytotoxic activity against PANC-1 human pancreatic cancer cells [J]. *Fitoterapia*, 2017, 121: 31-37.
- [19] Inger N, Bombarda I, Herbette G, et al. Oleodaphnoic acid and coriaceol, two new natural products from the stem bark of *Wikstroemia coriacea* [J]. *Molecules*, 2013, 18(3): 2988-2996.

[责任编辑 王文倩]