

· 药学基础 ·

## 紫花地丁化学成分分析及其体外抗氧化活性考察

崔雪, 郑重飞, 李莹, 亓超, 王悦, 姚庆强\*

(山东省医学科学院 药物研究所, 山东第一医科大学, 济南 250062)

**[摘要]** 目的:对堇菜科堇菜属植物紫花地丁中的化学成分及其抗氧化活性进行研究。方法:取紫花地丁5 kg,加3倍量95%乙醇回流提取3次,合并提取液,过滤,减压浓缩得总浸膏,上60~100目硅胶柱色谱,用石油醚、二氯甲烷、二氯甲烷-甲醇(50:1,10:1,5:1,2:1)及甲醇洗脱,得到7个相应馏分。各部位依次运用正相硅胶柱色谱,十八烷基硅烷键合硅胶(ODS)柱色谱,LH-20型羟丙基葡聚糖凝胶(Sephadex LH-20)柱色谱和制备型高效液相色谱(HPLC)等方法进行分离纯化,得到的化合物经核磁共振波谱(NMR),质谱(MS),红外光谱(IR)等波谱学方法进行鉴定。同时,对从紫花地丁分离得到的部分化合物进行清除1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基实验。结果:从紫花地丁95%乙醇提取物中分离得到14个化合物,分别为N-acetyl-1-ethyl ester glutamic acid(1),N-acetyl glutamic acid-1-ethyl-5-methyl ester(2),橙黄胡椒酰胺(3),rel-(2 $\alpha$ ,3 $\beta$ )-O-methylcedrusin(4),齐墩果酸(5), $\alpha$ -tocopherol-quinone(6),杨芽黄素(7),异菝葜亭(8),七叶内酯(9),24-ethylcholesta-4,24(28)Z-dien-3-one(10),stigmasta-4,25-dien-3-one(11), $\beta$ -sitostenone(12), $\beta$ -谷甾醇(13),豆甾-5-烯-3 $\beta$ -醇-7-酮(14)。结论:化合物2为新的天然产物,化合物1,4,6,7,10~12为首次从堇菜属植物分离得到。化合物9具有显著的抗氧化活性,化合物2,6,8具有一定的DPPH自由基清除活性。

**[关键词]** 堇菜属;紫花地丁;化学成分;酰胺;香豆素;抗氧化活性;甾体

**[中图分类号]** R22;O652.63;R28;O657.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)05-0117-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20202347

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200902.0756.001.html>

**[网络出版日期]** 2020-9-2 9:19

### Analysis of Chemical Constituents in *Violae Herba* and Investigation of Its Antioxidant Activity *in Vitro*

CUI Xue, ZHENG Zhong-fei, LI Ying, QI Chao, WANG Yue, YAO Qing-qiang\*

(*Institute of Materia Medica, Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences, Ji'nan 250062, China*)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the chemical constituents and antioxidant activities of *Violae Herba* from the *Violaceae*. **Method:** The 5 kg of *Violae Herba* was refluxing extracted with 3 times the amount of 95% ethanol for three times, then the extracting solution was combined, filtrated, concentrated under vacuum to get the total extract. Seven corresponding fractions were eluted with petroleum ether, dichloromethane, dichloromethane-methanol (50:1, 10:1, 5:1, 2:1) and methanol by silica gel column chromatography (60-100 mesh) on the total extract. Each fraction was isolated and purified by normal phase silica gel column chromatography, octadecylsilane chemically bonded silica (ODS) column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography and preparative high performance liquid chromatography (HPLC), respectively. The structures of the obtained compounds were identified by spectroscopic methods of nuclear magnetic resonance

**[收稿日期]** 20200707(015)

**[基金项目]** 山东省创新公共服务平台项目(2018JGX113);山东省农业科技园区产业提升工程项目(2019YQ033)

**[第一作者]** 崔雪,在读硕士,从事天然药物化学研究,E-mail:cuixue\_sunny@163.com

**[通信作者]** \*姚庆强,博士,博士生导师,从事天然药物化学研究,Tel:0531-82595867,E-mail:yao\_imm@163.com

(NMR), mass spectroscopy (MS) and infrared spectroscopy (IR). Meanwhile, some of these compounds isolated from *Violae Herba* were carried on the 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging experiment. **Result:** Fourteen compounds were isolated from the 95% ethanol extract of *Violae Herba*, including *N*-acetyl-1-ethyl ester glutamic acid (1), *N*-acetyl glutamic acid-1-ethyl-5-methyl ester (2), aurantiamide (3), *rel*-(2 $\alpha$ , 3 $\beta$ )-7-*O*-methylcedrusin (4), oleanolic acid (5),  $\alpha$ -tocopherol-quinone (6), tectochrysin (7), isoscopoletin (8), esculetin (9), 24-ethylcholesta-4, 24(28)*Z*-dien-3-one (10), stigmasta-4, 25-dien-3-one (11),  $\beta$ -sitostenone (12),  $\beta$ -sitosterol (13), (24*R*)-3 $\beta$ -hydroxy-ethylcholest-5-en-7-one (14). **Conclusion:** Compound 2 is a new natural product, compounds 1, 4, 6, 7, 10-12 are isolated from the genus *Viola* for the first time. Compound 9 has significant antioxidant activity, while compounds 2, 6 and 8 have certain DPPH free radical scavenging activity.

[**Key words**] *Viola*; *Violae Herba*; chemical constituents; acylamide; coumarin; antioxidant activity; steroid

紫花地丁为堇菜科堇菜属植物紫花地丁的干燥带根全草,是一种多年生草本植物,主要分布于中国、日本、韩国等地,是一种应用广泛的传统中药。其味苦、辛,性寒,主要功效为清热解毒、凉血消肿,临床上主要用于治疗疔疮肿毒、痈疽、丹毒、毒蛇咬伤等<sup>[1]</sup>。国内外学者已从紫花地丁中分离得到了黄酮、香豆素、植物甾醇、生物碱、有机酸、萜类和木脂素等化学成分<sup>[2-5]</sup>,发现其具有抗菌、抗炎、免疫调节、抗病毒、抗氧化、抗肿瘤及抗凝血等生物活性<sup>[6-9]</sup>。

紫花地丁化学成分丰富多样,具有良好的功效,尤其是抗氧化、抗病毒活性。曹捷等<sup>[5]</sup>对从紫花地丁中分离的化合物进行了抗氧化活性检测,发现芹菜素 6, 8-二-C- $\beta$ -D-葡萄糖苷、山柰酚-3-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖-7-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷、山柰酚-3, 7-二-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷、山柰酚-3-*O*- $\beta$ -D-槐糖-7-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷、秦皮乙素和腺苷具有一定的抗氧化活性。但目前关于该药材抗氧化活性成分的报道仍不够充分,故本课题组拟对紫花地丁开展更为深入的研究,筛选其抗氧化活性成分,以期充分发挥该药材的药用价值。基于此,本实验选择对紫花地丁的95%乙醇提取物进行研究,分离并鉴定了14个化合物,分别为 *N*-acetyl-1-ethyl ester glutamic acid (1), *N*-acetyl glutamic acid-1-ethyl-5-methyl ester (2), 橙黄胡椒酰胺 (3), *rel*-(2 $\alpha$ , 3 $\beta$ )-7-*O*-methylcedrusin (4), 齐墩果酸 (5),  $\alpha$ -tocopherol-quinone (6), 杨芽黄素 (7), 异菝葜亭 (8), 七叶内酯 (9), 24-ethylcholesta-4, 24(28)*Z*-dien-3-one (10), stigmasta-4, 25-dien-3-one (11),  $\beta$ -sitostenone (12),  $\beta$ -谷甾醇 (13), 豆甾-5-烯-3 $\beta$ -醇-7-酮 (14)。其中,化合物 2 为新天然产物,化合物 1, 4, 6, 7, 10~12 为首次从堇菜属植物中分离得到。此

外,本实验还对其中9个化合物进行1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基的清除实验,初步考察其抗氧化活性。

## 1 材料

Avance 600型核磁共振仪[瑞士Bruker公司,四甲基硅烷(TMS)内标], X500 QTOF型高分辨质谱仪(美国AB Sciex公司), UltiMate 3000型高效液相色谱仪(美国Thermo Fisher公司), LC-20AR型制备液相色谱仪(日本Shimadzu公司), RZ-9618型全波长酶标分析仪(天津瑞泽分析仪器有限公司)。柱色谱硅胶(青岛海洋化工厂,规格60~100目, 300~400目), 柱色谱硅胶(北京伊诺凯有限公司, 200~300目), 薄层色谱硅胶预制板(烟台市化学工业研究所), LH-20型羟丙基葡聚糖凝胶(Sephadex LH-20, 德国Merck公司, 40~63  $\mu$ m), 十八烷基硅烷键合硅胶(ODS)柱色谱填料(ODS-A-HG, YMC公司, 50  $\mu$ m), 维生素C(天津市大茂化学试剂厂, 批号20191116), DPPH(上海麦克林生化科技有限公司, 批号C10636621), 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。紫花地丁全草于2018年3月采购于湖北聚瑞中药饮片有限公司, 原产地为河南省平顶山市, 经山东中医药大学王厚伟副教授鉴定为堇菜科植物紫花地丁 *Viola yedoensis* 的干燥全草。

## 2 提取与分离

取紫花地丁干燥全草5 kg, 用3倍量95%乙醇加热回流提取3次, 每次2 h, 提取液合并后用滤纸进行过滤, 将滤液减压浓缩得总浸膏600 g。将总浸膏经60~100目硅胶柱色谱分离, 以石油醚, 二氯甲烷, 二氯甲烷-甲醇(50:1), 二氯甲烷-甲醇(10:1), 二氯甲烷-甲醇(5:1), 二氯甲烷-甲醇(2:1), 甲醇作为流动相进行梯度洗脱, 得到Fr. A~Fr. G共7个馏

分。Fr. A 经 200~300 目硅胶柱色谱分离,采用石油醚-二氯甲烷-甲醇系统(100:0:0, 50:1:0, 20:1:0, 10:1:0, 5:1:0, 2:1:0, 0:100:0, 0:50:1, 0:20:1, 0:0:100)梯度洗脱,经薄层色谱法(TLC)检测,将含相似成分的洗脱液合并,得到 5 个组分 Fr. A-1~Fr. A-5。Fr. A-2 经 ODS 柱色谱,以甲醇-水(50:50, 80:20, 92:8, 95:5, 98:2, 100:0)系统梯度洗脱,再经半制备型 HPLC 用甲醇-水(98:2)分离纯化得到化合物 **12**(28.2 mg), 化合物 **11**(22.5 mg) 和化合物 **10**(1.7 mg)。Fr. A-3 经 300~400 目硅胶柱色谱,以石油醚-二氯甲烷系统(100:0, 20:1, 10:1, 5:1, 2:1, 1:1, 1:3, 0:100)梯度洗脱,经 TLC 检测,合并成分相同的洗脱液,得到 4 个组分 Fr. A-3-1~Fr. A-3-4。Fr. A-3-2 经反复 ODS 柱色谱用甲醇-水(98:2)等度洗脱,得到化合物 **13**(56.1 mg)。Fr. A-5 经反复 Sephadex LH-20 柱色谱分离得到 3 个组分 Fr. A-5-1~Fr. A-5-3。Fr. A-5-2 经 ODS 柱色谱,用甲醇-水(50:50, 60:40, 75:25, 80:20, 85:15, 90:10, 92:8, 95:5, 100:0)梯度洗脱,再经中压半制备型 HPLC 用甲醇-水(95:5)分离纯化,得到化合物 **6**(18.6 mg)。Fr. A-5-3 经中压半制备型 HPLC 用甲醇-水(75:25)分离,得到化合物 **7**(21.1 mg)。

Fr. B 经 200~300 目硅胶柱色谱分离,以石油醚-二氯甲烷-甲醇系统(100:0:0, 20:1:0, 10:1:0, 5:1:0, 2:1:0, 1:1:0, 0:100:0, 0:10:1, 0:2:1, 0:0:100)梯度洗脱,根据 TLC 分析结果,合并洗脱液,得到 7 个组分 Fr. B-1~Fr. B-7。Fr. B-3 经 300~400 目硅胶柱色谱分离,以石油醚-二氯甲烷-甲醇系统(100:0:0, 50:1:0, 10:1:0, 2:1:0, 0:100:0, 0:50:1, 0:20:1, 0:10:1, 0:0:100)梯度洗脱,经 TLC 分析,合并相似成分的洗脱液,得到 9 个组分 Fr. B-3-1~Fr. B-3-9。Fr. B-3-4 经 Sephadex LH-20 柱色谱分离,再经中压半制备型 HPLC 用甲醇-水(30:70)分离纯化得到化合物 **8**(16.5 mg)。Fr. B-4 经 300~400 目硅胶柱色谱分离,以石油醚-二氯甲烷-甲醇系统(10:1:0, 5:1:0, 2:1:0, 0:100:0, 0:50:1, 0:20:1, 0:10:1, 0:0:100)梯度洗脱,经 TLC 检测合并洗脱液,得到 8 个组分 Fr. B-4-1~Fr. B-4-8。Fr. B-4-4 经 Sephadex LH-20 柱色谱分离得到 3 个组分 Fr. B-4-4-1~Fr. B-4-4-3。Fr. B-4-4-1 经反复 ODS 柱色谱,以甲醇-水系统(50:50~0:100)梯度洗脱,得化合物 **5**(24.3 mg)。Fr. B-7 经 300~400 目硅胶柱色谱分离,采用二氯甲烷-甲醇系统(100:0, 100:1, 50:1, 20:1, 10:1, 5:1, 2:1, 0:100)梯度洗脱,经 TLC 分析合并洗脱液,得到 15 个

组分 Fr. B-7-1~Fr. B-7-15。Fr. B-7-5 经 Sephadex LH-20 柱色谱和 ODS 柱色谱分离,再经半制备型 HPLC 用甲醇-水(93:7)分离纯化得到化合物 **14**(4.7 mg)。Fr. B-7-7 经 Sephadex LH-20 柱色谱和 ODS 柱色谱分离,再经半制备型 HPLC 用甲醇-水(60:40)分离纯化得到化合物 **3**(3.2 mg)。

Fr. C 经 200~300 目硅胶柱色谱分离,采用二氯甲烷-甲醇系统(100:0, 500:1, 50:1, 20:1, 10:1, 5:1, 2:1, 0:100)梯度洗脱,根据 TLC 分析,合并成分相似的洗脱液,得到 9 个组分 Fr. C-1~Fr. C-9。Fr. C-4 经 300~400 目硅胶柱色谱分离,以二氯甲烷-甲醇系统(100:0, 100:1, 50:1, 20:1, 10:1, 5:1, 0:100)梯度洗脱,经 TLC 分析后合并洗脱液,得到 5 个组分 Fr. C-4-1~Fr. C-4-5。Fr. C-4-2 经 Sephadex LH-20 柱色谱分离,再经半制备型 HPLC 用甲醇-水(30:70)分离纯化得到化合物 **9**(43.8 mg)。Fr. C-5 经 300~400 目硅胶柱色谱,以二氯甲烷-甲醇系统(100:0, 100:1, 50:1, 20:1, 10:1, 5:1, 0:100)梯度洗脱,经 TLC 检测后合并成分相同的洗脱液,得到 4 个组分 Fr. C-5-1~Fr. C-5-4。Fr. C-5-2 经 Sephadex LH-20 柱色谱分离得到 4 个组分 Fr. C-5-2-1~Fr. C-5-2-4。Fr. C-5-2-2 经半制备型 HPLC 用甲醇-水(30:70)分离纯化得到化合物 **1**(8.3 mg) 和化合物 **2**(6.2 mg)。Fr. C-5-2-3 经半制备型 HPLC 用甲醇-水(40:60)分离纯化得到化合物 **4**(2.4 mg)。

### 3 抗氧化活性筛选<sup>[10-11]</sup>

采用 DPPH 自由基清除法对化合物 **1, 2, 5~9, 12, 13** 共 9 个化合物进行抗氧化活性测定。称取 DPPH 样品 8 mg, 加无水乙醇溶解并定容于 100 mL 棕色量瓶中, 配成浓度为  $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 DPPH 溶液, 于  $0\sim4 \text{ }^{\circ}\text{C}$  下避光保存备用。称取待测化合物和维生素 C 分别溶于无水乙醇, 各自配制成 0.001, 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5,  $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  中 5~8 个质量浓度的待测化合物溶液以及维生素 C 溶液。将配制好的 DPPH 溶液  $100 \mu\text{L}$  加入 96 微孔板, 加入不同质量浓度的维生素 C 溶液或待测化合物溶液  $100 \mu\text{L}$ , 振荡, 混合均匀, 在室温下避光放置 30 min, 通过酶标仪在 517 nm 处测量每孔的吸光度  $A$ , 计算样品 DPPH 自由基清除率。以维生素 C 为阳性对照, 平行测定 3 组。计算公式为  $\text{DPPH 自由基清除率} = [1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100\%$ , 式中  $A_1$  表示 DPPH 溶液  $100 \mu\text{L}$  + 待测化合物溶液  $100 \mu\text{L}$  的  $A$ ,  $A_2$  表示待测化合物溶液  $100 \mu\text{L}$  + 无水乙醇  $100 \mu\text{L}$  的  $A$ ,  $A_0$  为 DPPH 溶液  $100 \mu\text{L}$  + 无水乙醇  $100 \mu\text{L}$  的  $A$ 。

#### 4 结构鉴定

化合物 **1** 黄色油状物; ESI-MS  $m/z$  218.10  $[M+H]^+$ , 240.08  $[M+Na]^+$ , 相对分子质量 217。IR (KBr)  $\nu_{\max}$ : 3 323, 2 981, 1 731, 1 653, 1 544, 1 376  $\text{cm}^{-1}$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 4.19 (1H, dd,  $J=8.9, 5.5$  Hz, H-2), 3.95 (2H, q,  $J=7.2$  Hz, H-1'), 2.18 (2H, t,  $J=7.5$  Hz, H-4), 1.91 (1H, m, H-3a), 1.77 (3H, s, H-2''), 1.70 (1H, m, H-3b), 1.04 (3H, t,  $J=7.2$  Hz, H-2');  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 176.3 (C-5), 173.6 (C-1''), 173.4 (C-1), 62.6 (C-1'), 53.4 (C-2), 31.2 (C-4), 27.8 (C-3), 22.0 (C-2''), 14.6 (C-2')。以上数据结合  $^1\text{H-}^1\text{H}$  化学位移相关谱 ( $^1\text{H-}^1\text{HCOSEY}$ ), 异核单量子相干相关谱 (HSQC), 异核多键相关谱 (HMBC) 以及文献 [12] 的报道, 鉴定化合物 **1** 为 *N*-acetyl-1-ethyl ester glutamic acid。

化合物 **2** 黄色油状物; HR-ESI-MS  $m/z$  254.1011  $[M+Na]^+$ 。IR (KBr)  $\nu_{\max}$ : 3 292, 2 984, 1 739, 1 660, 1 545, 1 441, 1 376  $\text{cm}^{-1}$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 4.41 (1H, dd,  $J=5.4, 9.0$  Hz, H-2), 4.17 (2H, q,  $J=7.1$  Hz, H-1'), 3.67 (3H, s, H-6), 2.43 (2H, t,  $J=7.5$  Hz, H-4), 2.15 (1H, m, H-3a), 1.98 (3H, s, H-2''), 1.94 (1H, m, H-3b), 1.27 (3H, t,  $J=7.1$  Hz, H-2');  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 174.8 (C-5), 173.6 (C-1''), 173.3 (C-1), 62.6 (C-1'), 53.3 (C-2), 52.4 (C-6), 31.1 (C-4), 27.8 (C-3), 22.4 (C-2''), 14.6 (C-2')。其结构解析过程为 HR-ESI-MS  $m/z$  254.1011  $[M+Na]^+$  (计算值为 254.1004), 结合  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$ , 推测该化合物分子式为  $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{NO}_5$ , 不饱和度为 3。红外光谱提示该化合物中有羰基 ( $1\ 660\ \text{cm}^{-1}$ ) 基团, 因羰基的红外吸收频率  $< 1\ 690\ \text{cm}^{-1}$ , 提示该化合物可能存在酰胺结构。 $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 谱图中显示有 3 个甲基质子信号 [ $\delta_{\text{H}}$  3.67 (3H, s), 1.98 (3H, s), 1.27 (3H, t,  $J=7.1$  Hz)] 和一系列脂肪氢信号。 $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ), HSQC 和无畸变极化转移增强技术 (DEPT) 谱图中共显示 10 个碳信号, 其中包含 3 个羰基信号 [ $\delta_{\text{C}}$  174.8 (C-5), 173.6 (C-1''), 173.3 (C-1)], 1 个次甲基信号 [ $\delta_{\text{C}}$  53.3 (C-2)], 3 个亚甲基信号 [ $\delta_{\text{C}}$  62.6 (C-1'), 31.1 (C-4), 27.8 (C-3)], 2 个甲基信号 [ $\delta_{\text{C}}$  22.4 (C-2''), 14.6 (C-2')], 1 个甲氧基碳信号 [ $\delta_{\text{C}}$  52.4 (C-6)]。根据  $^1\text{H-}^1\text{HCOSEY}$  可知,  $\delta_{\text{H}}$  4.18 (H-1') 与  $\delta_{\text{H}}$  1.27 (H-2'') 相关, 可以推测存在  $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$  基团;  $\delta_{\text{H}}$  4.41 (H-2) 与  $\delta_{\text{H}}$  2.15 (H-3a),  $\delta_{\text{H}}$  1.93 (H-3b) 相关,  $\delta_{\text{H}}$  2.43 (H-4) 与  $\delta_{\text{H}}$  2.15 (H-3a),  $\delta_{\text{H}}$  1.93 (H-3b) 相关, 可以推

测存在  $-\text{CH-CH}_2-\text{CH}_2-$  片断。在 HMBC 中,  $\delta_{\text{H}}$  3.67 (H-6),  $\delta_{\text{H}}$  2.43 (H-4) 与  $\delta_{\text{C}}$  174.8 (C-5) 相关, 说明 1 个甲氧基与 C-5 的羰基相连,  $-\text{CH-CH}_2-\text{CH}_2-$  以  $-\text{CH}_2-$  端与此碳基相连;  $\delta_{\text{H}}$  4.41 (H-2),  $\delta_{\text{H}}$  4.18 (H-1') 与  $\delta_{\text{C}}$  173.3 (C-1) 相关, 说明  $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$  与 C-1 的羰基相连,  $-\text{CH-CH}_2-\text{CH}_2-$  以  $-\text{CH-}$  端与此碳基相连;  $\delta_{\text{H}}$  1.98 (H-2'') 与  $\delta_{\text{C}}$  173.6 (C-1'') 相关, 说明 1 个甲基与 C-1'' 的羰基相连, 形成了乙酰基, 此乙酰基唯一可能与氮相连。基于此, 鉴定化合物 **2** 为谷氨酸衍生物, 对比化合物 **2** 与化合物 **1** 的核磁数据, 发现这 2 个化合物的结构非常相似, 区别仅在于化合物 **1** 中 C-5 位的羟基, 在化合物 **2** 中被甲氧基  $\delta_{\text{C}}$  52.4 (C-6) 所替代, 其化学结构及其相关分析见图 1。经 SciFinder 检索, CAS 号 1103826-88-5, 但未检索出相关文献及波谱数据, 因此, 化合物 **2** 作为 1 个天然产物首次从植物资源中分离得到, 是首次报道的天然产物。本实验首次对化合物 **2** 的核磁数据进行了归属, 并命名为 *N*-acetyl glutamic acid-1-ethyl-5-methyl ester。

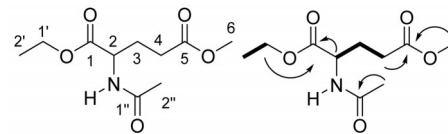


图 1 化合物 **2** 的化学结构和主要的  $^1\text{H-}^1\text{HCOSEY}$  (粗线), HMBC (箭头)

Fig. 1 Chemical structure and key  $^1\text{H-}^1\text{HCOSEY}$  (heavy lines) and HMBC (arrowheads) of compound **2**

化合物 **3** 白色粉末; ESI-MS  $m/z$  403.20  $[M+H]^+$ , 425.18  $[M+Na]^+$ , 相对分子质量 402。IR (KBr)  $\nu_{\max}$ : 3 295, 2 930, 2 859, 1 714, 1 629, 1 551, 1 297  $\text{cm}^{-1}$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.01~7.71 (15H, m, Ar-H), 4.79 (1H, m, H-5), 4.08 (1H, m, H-2), 3.43 (2H, m, H-1), 3.16 (1H, dd,  $J=13.8, 6.2$  Hz, H-8a), 2.99 (1H, dd,  $J=13.8, 9.0$  Hz, H-8b), 2.92 (1H, dd,  $J=13.7, 6.0$  Hz, H-9a), 2.72 (1H, dd,  $J=13.7, 8.2$  Hz, H-9b);  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 173.4 (C-4), 170.1 (C-7), 139.8 (C-1''), 138.8 (C-1'''), 135.4 (C-1'), 133.0 (C-4'), 130.5 (C-3'', 5''), 130.5 (C-3''', 5'''), 129.6 (C-2'', 6''), 129.6 (C-2''', 6'''), 129.5 (C-2', 6'), 128.6 (C-4''), 127.9 (C-3', 5'), 127.4 (C-4'''), 64.1 (C-1), 56.8 (C-5), 54.4 (C-2), 39.0 (C-8), 38.1 (C-9)。以上数据与文献 [13] 对照, 鉴定化合物 **3** 为橙黄胡椒酰胺。

化合物 **4** 淡黄色油状物; ESI-MS  $m/z$  383.14  $[M+Na]^+$ , 相对分子质量 360。IR (KBr)  $\nu_{\max}$ : 3 416,

2 937, 1 601, 1 518, 1 499, 1 383  $\text{cm}^{-1}$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 6.95(1H, d,  $J=1.7$  Hz, H-2'), 6.83(1H, dd,  $J=1.7, 8.2$  Hz, H-6'), 6.76(1H, d,  $J=8.2$  Hz, H-5'), 6.73(2H, s, H-4, H-6), 5.49(1H, d,  $J=6.2$  Hz, H-2), 3.85 [3H, s, 甲氧基(OMe)-7], 3.82(3H, s, OMe-3'), 3.70~3.77(2H, m, H-3a/a'), 3.57(2H, t,  $J=6.5$  Hz, H-5c), 3.47(1H, dt,  $J=6.1, 6.2$  Hz, H-3), 2.63(2H, t,  $J=7.7$  Hz, H-5a), 1.82(2H, tt,  $J=6.5, 7.7$  Hz, H-5b);  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 149.2(C-3'), 147.7(C-7a), 147.6(C-4'), 145.4(C-7), 137.1(C-5), 135.0(C-1'), 130.0(C-4a), 119.8(C-6'), 118.1(C-4), 116.3(C-5'), 114.2(C-6), 110.7(C-2'), 89.1(C-2), 65.2(C-3a/a'), 62.4(C-5c), 56.9(OMe-7), 56.5(OMe-3'), 55.6(C-3), 36.0(C-5b), 33.1(C-5a)。以上数据与文献[14]对照, 鉴定化合物4为 *rel*-(2 $\alpha$ , 3 $\beta$ )-7-*O*-methylcedrusin。

化合物5 白色粉末; ESI-MS  $m/z$  479.35  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 935.71  $[2\text{M}+\text{Na}]^+$ , 相对分子质量 456。IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$ : 3 425, 2 944, 2 603, 1 718, 1 689, 1 464  $\text{cm}^{-1}$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 5.24(1H, t,  $J=3.5$  Hz, H-12), 3.15(1H, dd,  $J=4.6, 11.6$  Hz, H-3), 2.85(1H, dd,  $J=4.1, 13.8$  Hz, H-18), 0.78, 0.82, 0.91, 0.94, 0.95, 0.97, 1.16(21H, s, H-23, 24, 25, 26, 27, 29, 30);  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 182.0(C-28), 145.4(C-13), 123.8(C-12), 79.9(C-3), 56.9(C-5), 49.7(C-9), 47.8(C-17), 47.4(C-19), 43.0(C-14), 42.9(C-18), 40.7(C-8), 40.0(C-1, 4), 38.3(C-10), 35.1(C-21), 34.2(C-7), 34.0(C-22), 33.7(C-29), 31.8(C-20), 29.0(C-15), 28.9(C-23), 28.0(C-2), 26.5(C-27), 24.7(C-16), 24.2(C-11), 24.1(C-30), 19.7(C-6), 17.9(C-26), 16.5(C-24), 16.0(C-25)。以上数据与文献[15]对照, 鉴定化合物5为齐墩果酸。

化合物6 黄色油状物; ESI-MS  $m/z$  447.38  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 469.36  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 相对分子质量 446。IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$ : 3 502, 2 928, 2 867, 1 642, 1 462, 1 376  $\text{cm}^{-1}$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2.52(2H, m, H-1'), 2.01(3H, s, H-7), 1.98(6H, s, H-8, 9), 1.21(3H, s, H-20'), 0.84(9H, d,  $J=6.6$  Hz, H-16', 17', 18'), 0.81(3H, d,  $J=6.6$  Hz, H-19');  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 187.9(CO, C-4), 187.4(CO, C-1), 144.7(C-6), 140.7(C-5), 140.6(C-3), 140.4(C-2), 72.9(C-3'), 42.5(C-4'), 40.5(C-2'), 39.6(C-14'), 37.8(C-6'), 37.7(C-10', C-8'), 37.5(C-12'), 33.0(C-11'), 33.0(C-7'), 28.2(C-15'), 26.8(C-20'), 25.0(C-13'), 24.7(C-9'),

22.9(C-17'), 22.8(C-16'), 21.6(C-1'), 21.5(C-5'), 20.0(C-18'), 19.9(C-19'), 12.6(C-7), 12.5(C-9), 12.2(C-8)。以上数据与文献[16]对照, 鉴定化合物6为  $\alpha$ -tocopherol-quinone。

化合物7 黄色片状结晶; ESI-MS  $m/z$  269.07  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 相对分子质量 268。IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$ : 3 417, 1 717, 1 665, 1 453  $\text{cm}^{-1}$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 12.70(1H, s, -OH), 7.51~7.88(5H, m), 6.66(1H, s, H-3), 6.49(1H, d,  $J=2.2$  Hz, H-8), 6.37(1H, d,  $J=2.2$  Hz, H-6), 3.87(3H, s, -OCH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 182.7(CO, C-4), 165.9(C-7), 164.2(C-2), 162.4(C-5), 158.0(C-9), 132.1(C-4'), 131.6(C-1'), 129.3(C-3', 5'), 126.5(C-2', 6'), 106.1(C-3), 106.0(C-10), 98.4(C-6), 92.9(C-8), 56.1(-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献[17]对照, 鉴定化合物7为杨芽黄素。

化合物8 淡黄色针状结晶; ESI-MS  $m/z$  193.05  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 215.03  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 相对分子质量 192。IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$ : 3 330, 1 725, 1 515  $\text{cm}^{-1}$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.58(1H, d,  $J=9.5$  Hz, H-4), 6.90(1H, s, H-8), 6.82(1H, s, H-5), 6.25(1H, d,  $J=9.5$  Hz, H-3), 6.13(1H, s, 6-OH), 3.93(3H, s, 7-OCH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 161.7(C-2), 150.5(C-9), 149.9(C-6), 144.2(C-7), 143.5(C-4), 113.6(C-3), 111.7(C-10), 107.7(C-5), 103.4(C-8), 56.6(-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献[18-19]对照, 鉴定化合物8为异菝菪亭。

化合物9 淡黄色棱状结晶; ESI-MS  $m/z$  179.03  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 201.01  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 相对分子质量 178。IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$ : 3 207, 1 661, 1 614, 1 524  $\text{cm}^{-1}$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, DMSO)  $\delta$ : 10.21(1H, s, OH-7), 9.39(1H, s, OH-6), 7.86(1H, d,  $J=9.4$  Hz, H-4), 6.97(1H, s, H-5), 6.73(1H, s, H-8), 6.16(1H, d,  $J=9.4$  Hz, H-3);  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz, DMSO)  $\delta$ : 160.8(C-2), 150.4(C-7), 148.5(C-9), 144.4(C-4), 142.9(C-6), 112.3(C-5), 111.5(C-3), 110.8(C-10), 102.6(C-8)。以上数据与文献[20]对照, 鉴定化合物9为七叶内酯。

化合物10 白色结晶; ESI-MS  $m/z$  411.35  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 433.34  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 相对分子质量 410。IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$ : 2 948, 1 731, 1 458, 1 381  $\text{cm}^{-1}$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.70(1H, s, H-4), 5.08(1H, q,  $J=6.8$  Hz, H-28), 2.81(1H, m, H-25), 1.57(3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-29), 1.16(3H, s, H-19), 0.95(6H, d,  $J=6.8$  Hz, H-26, 27), 0.92(3H, d,  $J=6.5$  Hz, H-21), 0.69(3H, s, H-

18) ;  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 200.0 (C-3), 172.0 (C-5), 146.0 (C-24), 123.9 (C-4), 116.7 (C-28), 56.1 (C-14), 56.1 (C-17), 54.0 (C-9), 42.6 (C-13), 39.8 (C-12), 38.8 (C-10), 36.3 (C-20), 36.1 (C-1), 35.9 (C-8), 35.8 (C-22), 34.2 (C-2), 33.2 (C-6), 32.2 (C-7), 28.8 (C-25), 28.4 (C-16), 28.0 (C-23), 24.4 (C-15), 21.3 (C-11), 21.2 (C-26, 27), 18.9 (C-21), 17.6 (C-19), 13.0 (C-29), 12.2 (C-18)。以上数据与文献[21-22]对照, 根据二维 NOE 谱 (NOESY),  $\delta_{\text{H}}$  2.81 (H-25) 与  $\delta_{\text{H}}$  1.57 (H-29) 相关,  $\delta_{\text{H}}$  2.81 (H-25) 也与  $\delta_{\text{H}}$  0.95 (H-26, 27) 相关, 确定 29 位甲基与 H-25 位于同侧, 其构型为 Z 型, 故鉴定化合物为 24-ethylcholesta-4, 24(28)Z-dien-3-one。

化合物 11 白色针状结晶; ESI-MS  $m/z$  411.35  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 433.34  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 相对分子质量 410。IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$ : 1 676, 1 458, 1 377  $\text{cm}^{-1}$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.69 (1H, s, H-4), 4.70 (1H, dq,  $J=2.4, 1.3$  Hz, H-27a), 4.61 (1H, d,  $J=2.4$  Hz, H-27b), 1.53 (3H, s, H-26), 1.15 (3H, s, H-19), 0.87 (3H, d,  $J=6.6$  Hz, H-21), 0.77 (3H, t,  $J=7.4$  Hz, H-29), 0.67 (3H, s, H-18);  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 200.0 (C-3), 172.0 (C-5), 147.7 (C-25), 123.9 (C-4), 111.6 (C-27), 56.2 (C-14), 56.1 (C-17), 54.0 (C-9), 49.7 (C-24), 42.6 (C-13), 39.8 (C-12), 38.8 (C-10), 35.9 (C-1), 35.8 (C-8), 35.7 (C-20), 34.2 (C-2), 33.8 (C-22), 33.2 (C-6), 32.2 (C-7), 29.6 (C-23), 28.3 (C-16), 26.7 (C-28), 24.4 (C-15), 21.2 (C-11), 18.8 (C-21), 18.0 (C-26), 17.6 (C-19), 12.3 (C-29), 12.1 (C-18)。以上数据与文献[23]对照, 鉴定化合物 11 为 stigmasta-4, 25-dien-3-one。

化合物 12 白色结晶; ESI-MS  $m/z$  413.38  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 435.36  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 相对分子质量 412。IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$ : 2 904, 2 726, 1 677, 1 620, 1 467  $\text{cm}^{-1}$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.69 (1H, s, H-4), 1.15 (3H, s, H-19), 0.88 (3H, d,  $J=6.6$  Hz, H-21), 0.81 (3H, t,  $J=7.4$  Hz, H-29), 0.80 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-26), 0.78 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-27), 0.68 (3H, s, H-18);  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 199.9 (C-3), 171.9 (C-5), 123.9 (C-4), 56.2 (C-14), 56.0 (C-17), 54.0 (C-9), 46.0 (C-24), 42.6 (C-13), 39.8 (C-12), 38.8 (C-10), 36.3 (C-20), 35.9 (C-8), 35.8 (C-1), 34.2 (C-22), 34.0 (C-7), 33.1 (C-6), 32.2 (C-2), 29.3 (C-23), 28.4 (C-16), 26.2 (C-25), 24.4 (C-15), 23.2 (C-28), 21.2 (C-11), 20.0 (C-27), 19.2 (C-19), 18.9 (C-21), 17.6 (C-

26), 12.2 (C-29), 12.1 (C-18)。以上数据与文献[24]对照, 鉴定化合物 12 为  $\beta$ -sitostenone。

化合物 13 白色针状结晶; ESI-MS  $m/z$  415.36  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 437.20  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 相对分子质量 414。IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$ : 3 430, 2 967, 2 728, 1 641, 1 459  $\text{cm}^{-1}$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.33 (1H, br. d,  $J=5.2$  Hz, H-6), 3.50 (1H, m, H-3), 0.66 (3H, s, H-18), 0.99 (3H, s, H-19), 0.90 (3H, d,  $J=6.5$  Hz, H-21), 0.79, 0.81 (6H, d,  $J=6.8$  Hz, H-26, 27), 0.82 (3H, d,  $J=7.5$  Hz, H-29);  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 141.0 (C-5), 121.9 (C-6), 72.0 (C-3), 57.0 (C-14), 56.3 (C-17), 50.4 (C-9), 46.1 (C-24), 42.6 (C-13), 42.5 (C-4), 40.0 (C-12), 37.5 (C-1), 36.7 (C-20), 36.4 (C-10), 34.2 (C-22), 32.1 (C-7), 32.1 (C-8), 31.9 (C-2), 29.4 (C-25), 28.5 (C-16), 26.3 (C-23), 24.5 (C-15), 23.3 (C-28), 21.3 (C-11), 20.1 (C-27), 19.6 (C-21), 19.3 (C-19), 19.0 (C-26), 12.2 (C-29), 12.1 (C-18)。结合文献[25-26], 鉴定化合物 13 为  $\beta$ -谷甾醇。

化合物 14 白色针状结晶; ESI-MS  $m/z$  429.37  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 451.35  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 相对分子质量 428。IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$ : 3 388, 2 937, 2 868, 1 673, 1 462, 1 380  $\text{cm}^{-1}$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 6.14 (1H, s, H-6), 4.30 (1H, m, H-3), 1.29 (2H, m, H-28), 1.22 (3H, s, H-19), 0.96 (6H, d,  $J=5.9$  Hz, H-26, 27), 0.86 (3H, t,  $J=7.5$  Hz, H-29), 0.84 (3H, d,  $J=6.7$  Hz, H-21), 0.77 (3H, s, H-18);  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 202.6 (C-7), 176.0 (C-5), 120.4 (C-6), 69.3 (C-3), 57.5 (C-14), 57.2 (C-17), 55.5 (C-9), 47.4 (C-24), 43.8 (C-13), 42.6 (C-4), 41.0 (C-12), 40.5 (C-10), 37.6 (C-1, C-20), 35.6 (C-8), 35.2 (C-22), 34.7 (C-2), 30.5 (C-25), 29.4 (C-16), 27.3 (C-23), 25.4 (C-15), 24.3 (C-28), 22.3 (C-11), 20.4 (C-26), 19.6 (C-27), 19.4 (C-21), 18.7 (C-19), 12.5 (C-29), 12.5 (C-18)。以上数据与文献[27]对照, 鉴定化合物 14 为豆甾-5-烯-3 $\beta$ -醇-7-酮。

## 5 抗氧化活性考察结果

DPPH 自由基清除试验结果显示当质量浓度为  $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 化合物 1, 2, 5~9, 12, 13 及维生素 C 对 DPPH 自由基的清除率分别为 24.61%, 38.96%, 29.52%, 78.02%, 21.53%, 47.98%, 96.20%, 10.99%, 30.28%, 计算化合物 1, 2, 5~9, 12, 13 及维生素 C 的半抑制浓度 ( $\text{IC}_{50}$ ) 分别为  $>100, 9.59, 13.01, 1.09, 31.10, 6.02, 0.022, >100, 12.88, 0.051 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。说明化合物 9 抗氧化活性显著, 清除 DPPH 自由基能

力与维生素C相当,推测其为紫花地丁主要的抗氧化活性成分之一;化合物2,6,8具有一定的DPPH自由基清除能力,但抗氧化活性较弱;其余化合物对DPPH自由基的清除作用则不明显。

## 6 讨论

本实验从紫花地丁95%乙醇提取物中分离并鉴定了14个化合物,包括酰胺、木脂素、三萜、黄酮、香豆素、甾体等。此外,通过对化合物七叶内酯与异菝葜亭的抗氧化活性及结构特点分析发现,7位为酚羟基的七叶内酯抗氧化活性显著高于7位为甲氧基的异菝葜亭,推测化合物结构中酚羟基的位置及数目对抗氧化活性具有较大影响,为紫花地丁抗氧化作用机制研究提供了一定的实验基础,但化合物数量较少,后续将对更多部位的化合物进行抗氧化活性考察,以获得活性更好的单体化合物。

### [参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:352.

[2] CHEN X, VEITCH N C, HOUGHTON P J, et al. Flavone C-glycosides from *Viola yedoensis* Makino [J]. Chem Pharm Bull, 2003, 51(10):1204-1207.

[3] ZHOU H Y, QIN M J, HONG J L, et al. Chemical constituents of *Viola yedoensis* [J]. Chin J Nat Med, 2009, 7(4):290-292.

[4] 黄霁秋,杨敬芝,薛清春,等. 紫花地丁化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(9):1114-1116.

[5] 曹捷,秦艳,尹成乐,等. 紫花地丁化学成分及抗氧化活性[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(21):77-81.

[6] 李永生,何希瑞,杨燕,等. 紫花地丁化学成分与药理活性研究新进展[J]. 环球中医药,2013,6(4):313-318.

[7] 孙艺方,杜利利,周乐,等. 紫花地丁抗菌活性成分研究[J]. 中国中药杂志,2011,36(19):2666-2671.

[8] NGAN F, CHANG R S, TABBA H D, et al. Isolation, purification and partial characterization of an active anti-HIV compound from the Chinese medicinal herb *Viola yedoensis* [J]. Antiviral Res, 1988, 10(1/3):107-116.

[9] HUANG S F, CHU S C, HSIEH Y H, et al. *Viola yedoensis* suppresses cell invasion by targeting the protease and NF- $\kappa$ B activities in A549 and Lewis lung carcinoma cells [J]. Int J Med Sci, 2018, 15(4):280-290.

[10] 王嘉琪,刘洋,杨永芬,等. 白花败酱草抗氧化成分研究[J]. 中草药,2019,50(21):5206-5211.

[11] 张鑫,李建宽,赵玉静,等. 党参化学成分及其体外抗氧化活性分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(24):53-59.

[12] 塔娜. 宽筋藤的化学成分与药理作用研究[D]. 武汉:中南民族大学,2018.

[13] 杨光忠,石宽,甘飞,等. 飞扬草中酚类成分的分离与鉴定[J]. 中南民族大学学报:自然科学版,2017,36(1):43-46.

[14] SEIDEL V, BAILLEUL F, WATERMAN P G. Novel oligorhamnosides from the stem bark of *Cleistopholis glauca* [J]. J Nat Prod, 2000, 63(1):6-11.

[15] 张永红,张婉春,张建刚,等. 弯茎还阳参的化学成分[J]. 应用与环境生物学报,2011,17(4):509-511.

[16] SUNG J H, LEE J O, SON J K, et al. Cytotoxic constituents from *Solidago virga-aurea* var. *gigantea* MIQ [J]. Arch Pharm Res, 1999, 22(6):633-637.

[17] 罗秀珍,余竞光,徐丽珍,等. 中药益智化学成分的研究[J]. 药学学报,2000,35(3):204-207.

[18] 张卫东,孔德云,李惠庭,等. 灯盏花的化学成分研究(I) [J]. 中国医药工业杂志,1998,29(11):498-500.

[19] 周皓,杨亚滨,刘运,等. 链霉菌YIM69228发酵液中化学成分的研究[J]. 天然产物研究与开发,2013,25(3):293-295.

[20] 张文霞,包文芳. 文冠木化学成分的研究[J]. 药学学报,2000,35(2):124-127.

[21] SHEU J H, WANG G H, SUNG P J, et al. New cytotoxic oxygenated fucosterols from the brown alga *Turbinaria conoides* [J]. J Nat Prod, 1999, 62(2):224-227.

[22] 李彦,周宝萍,张皖晋,等. 东北茶藨子化学成分研究[J]. 中草药,2018,49(4):772-779.

[23] CHAVES M H, ROQUE N F, AYRES M C C. Steroids and flavonoids of *Porcelia macrocarpa* [J]. J Brazil Chem Soc, 2004, 15(4):608-613.

[24] LI W H, CHANG S T, CHANG S C, et al. Isolation of antibacterial diterpenoids from *Cryptomeria japonica* bark [J]. Nat Prod Res, 2008, 22(12):1085-1093.

[25] KOIZUMI N, FUJIMOTO Y, TAKESHITA T, et al. Carbon-13 nuclear magnetic resonance of 24-substituted steroids [J]. Chem Pharm Bull, 1979, 27(1):38-42.

[26] 杨鹏鹏,闫福林,梁一兵,等. 紫花地丁化学成分的研究[J]. 新乡医学院学报,2008,25(2):185-187.

[27] 张瑶,陶美华,陈玉婵,等. 白木香内生真菌 *Botryosphaeria rhodina* A13 固体发酵产物的分离鉴定[J]. 天然产物研究与开发,2015,27(5):799-803.

[责任编辑 刘德文]