

Commun, 2002, 67(1): 124-139.

[9] Tan J W, Zhang M, Lin L D, et al. Phytoecdysteroids from the roots of *Achyranthes bidentata* Blume[J]. *Molecules*, 2012, 17: 3324-3332.

[10] Hirayama Y, Okuzumi K, Masubuti H, et al. Stereochemical assignment of C-24 and C-25 of amarasterone A, a putative biosynthetic intermediate of cyasterone[J]. *J Org Chem*, 2014, 79(12): 5471-5477.

[11] Zughdani M, Yusufoglu H S, Ekiz G, et al. Ecdysteroids from the underground parts of *Rhaponticum acaule* (L.) DC[J]. *Phytochemistry*, 2020, 180: 112530.

[12] Hunyadi A, To' th G, Simon A, et al. Two new ecdysteroids from *Serratula wolffii*[J]. *J Nat Prod*, 2004, 67 (6): 1070-1072.

[13] 祖先鹏, 张卫东, 韩竹箴, 等. 宽叶缬草水溶性化学成分研究[J]. 第二军医大学学报, 2014, 35(2): 161-170.

[14] Suksamrarn A, Promrangsang N, Jintasirikul A. Highly oxygenated ecdysteroids from *Vitex canescens* root bark[J]. *Phytochemistry*, 2000, 53(8): 921-924.

[15] Li X Q, Wang J H, Wang S X, et al. A new phytoecdysone from the roots of *Rhaponticum uniflorum*[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2000, 2(3): 225-229.

[16] 景玲, 于能江, 赵毅民, 等. 络石藤中微量化学成分的分离及结构鉴定[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(11): 1581-1585.

[17] Liu X T, Wang Z X, Yang Y, et al. Active components with inhibitory activities on IFN- γ /STAT1 and IL-6/STAT3 signaling pathways from *Caulis trachelospermi*[J]. *Molecules*, 2014, 19(8): 11560-11571.

[18] 郑建宇, 纳智, 胡华斌. 海南山小橘枝叶的化学成分研究[J]. 中草药, 2013, 44(6): 651-654.

[19] Washino T, Yoshikura M, Obata S. New sulfur-containing acetylenic compounds from *Arctium lappa*[J]. *Agri Bio Chem*, 1986, 50(2): 263-269.

[20] Han M H, Yang X W, Zhang M, et al. Phytochemical study of the rhizome of *Pinellia ternata* and quantification of phenylpropanoids in commercial pinellia tuber by RP-LC[J]. *Chromatographia*, 2006, 64(11-12): 647-653.

小米草化学成分及其抗光老化活性研究

边子妍, 郭浩楠, 李花花, 郑琦, 王涛, 韩立峰, 李楠, 张晗, 苗琳, 张鹏*

(天津中医药大学中药现代化国家重点实验室, 中药方剂药理教育部重点实验室, 海河现代中药实验室, 天津 301617)

摘要: 目的 研究小米草化学成分及其抗光老化活性。方法 采用 D101 大孔吸附树脂、硅胶、Sephadex LH-20 及制备型 HPLC 进行分离纯化, 根据理化性质及波谱数据鉴定所得化合物的结构。采用 CCK-8、LDH 试剂盒评估抗光老化活性。结果 从中分离得到 10 个化合物, 分别鉴定为 (5-甲酰基-2-呋喃) 甲基二氢阿魏酸酯 (1)、十六烷-4-内酯 13-O- β -D-吡喃葡萄糖 (1 \rightarrow 2)- β -D-吡喃葡萄糖苷 (2)、芹菜素 (3)、7R, 8R-4, 7, 9, 9'-四羟基-3, 3'-二甲氧基-8-O-4'-新木脂素 (4)、布卢门醇 A (5)、阿魏酸 (6)、3-苯基乳酸 (7)、3-甲氧基-4-羟基苯甲酸 (8)、环(脯氨酸-丙氨酸) (9)、5-羟甲基-2-呋喃甲醛 (10)。化合物 1~2 可显著提高 UVB 照射下 HaCaT 细胞活性, 抑制乳酸脱氢酶释放。结论 化合物 1~2 为新化合物, 3~10 为首次从该植物中分离得到。化合物 1~2 具有抗光老化活性。

关键词: 小米草; 化学成分; 分离鉴定; 抗光老化活性

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)01-0114-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.01.017

收稿日期: 2025-06-23

基金项目: 国家重点研发计划 (2023YFC3504302)

作者简介: 边子妍 (2001—), 女, 硕士在读, 研究方向为天然药物化学。E-mail: akmdgz@163.com

* 通信作者: 张鹏 (1979—), 女, 博士, 副研究员, 研究方向为中药化学与分析。E-mail: zhangpeng@tjutcm.edu.cn

Chemical constituents from *Euphrasia pectinata* and their anti-photoaging activity

BIAN Zi-yan, GUO Hao-nan, LI Hua-hua, ZHENG Qi, WANG Tao, HAN Li-feng, LI Nan, ZHANG Han, MIAO Lin, ZHANG Peng*

(National Key Laboratory for Chinese Medicine Modernization, Ministry of Education Key Laboratory for Pharmacology of Traditional Chinese Medicine Formulae, Haihe Laboratory for Modern Chinese Medicines, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China)

ABSTRACT: AIM To study the chemical constituents from *Euphrasia pectinata* Ten. and their anti-photoaging activity. **METHODS** The separation and purification were carried out by using D101 macroporous adsorption resin, silica gel, Sephadex LH-20 and preparative HPLC, then the structures of obtained compounds were identified by physicochemical properties and spectral data. The anti-photoaging activity was evaluated by CCK-8 method and LDH kits. **RESULTS** Ten compounds were isolated and identified as (5-formyl-2-furanyl) methyl dihydrof erulic acid ester (**1**), 16 alkane-4-olide-13-O- β -D-glucopyranosyl (1→2)- β -D-glucopyranoside (**2**), apigenin (**3**), (7R, 8R-4, 7, 9, 9'-tetrahydroxy-3, 3'-dimethoxy-8-O-4'-neolignan) (**4**), blumenol A (**5**), ferulic acid (**6**), *p*-coumaric acid (**7**), 3-methoxy-4-hydroxybenzo (**8**), cyclo (Pro-Ala) (**9**), 5-hydroxymethyl-2-furfural (**10**). Compounds **1**–**2** could significantly enhance the viability of HaCaT cells under UVB irradiation, and inhibit the release of lactate dehydrogenase. **CONCLUSION** Compounds **1**–**2** are new compounds, **3**–**10** are isolated from this plant for the first time. Compounds **1**–**2** have anti-photoaging activity.

KEY WORDS: *Euphrasia pectinata* Ten.; chemical constituents; isolation and identification; anti-photoaging activity

小米草是列当科小米草属植物小米草 *Euphrasia pectinata* Ten. 全草, 该属植物在我国有 15 种^[1], 分布于内蒙古、河北、山西、宁夏、甘肃、新疆等地, 具有清热解毒、利尿功效, 主治热病口渴、头痛、肺热咳嗽、咽喉肿痛、热淋、小便不利、口疮、痈肿^[2]。小米草作为我国民族药, 具有较大的药用价值及广泛的药理作用, 有着抗炎^[3]、抗氧化^[4]、抗菌^[5]、抗增殖^[6]等活性, 其化学成分主要包括环烯醚萜类^[7]、苯乙醇苷类^[8]、黄酮类^[9]、酚酸类^[10]等类型。随着人们生活品质的提高, 对食品、护肤品等越来越追求天然绿色, 而小米草被开发为中药乳液时安全无害, 受到消费者青睐。为进一步丰富小米草化学成分, 本实验采用现代色谱和波谱技术对其乙酸乙酯部位进行分离鉴定, 并所得化合物进行抗光老化活性研究, 以期揭示其药效物质基础, 并为相关应用提供参考依据。

1 材料

Avance 600 核磁共振仪 (TMS 内标, 德国 Bruker 公司); Agilent 6520 四极杆飞行时间质谱 (Q/TOF-MS)、Agilent 1260 分析型高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); LC-20AR 制备型高效液

相色谱仪、LC-20AR ODS 色谱柱 (250 mm×20 mm, 7 μ m) (日本岛津公司)。Sephadex LH-20 凝胶填料 (瑞士 GE Healthcare 公司); RP-C₁₈ 反相柱 (ODS-A-HG, 5~50 mm, 日本 YMC 株式会社); MCI 凝胶 (CHP 20P/P120, 日本三菱化学株式会社); D101 大孔树脂 (天津市海光化工有限公司); 硅胶 (青岛海洋化工有限公司)。质谱纯试剂均购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; 分析纯试剂均购自天津市康科德科技有限公司。

小米草于 2020 年 9 月购自河北省安国市药材市场, 经天津中医药大学吴红华教授鉴定为正品, 标本 (批号 XMC20200404) 已提交天津市组分中药国家重点实验室保存。

2 提取与分离

取小米草干燥全草 4.5 kg, 加入 8 倍量水浸泡, 回流提取 3 次, 每次 2 h, 过滤, 合并滤液, 减压干燥得水提物, 乙酸乙酯萃取 3 次, 回收溶剂, 得乙酸乙酯部位 (7.6 g); 水部位用 D101 大孔吸附树脂分离, 以纯水和 95% 乙醇洗脱, 回收溶剂, 得 95% 乙醇部位 (97.2 g)。

乙酸乙酯部位 (7 g) 用硅胶柱 (100~200 目) 分离, 以石油醚-乙酸乙酯 (100:0~0:100)

梯度洗脱, 得到 5 个流分 (Fr. 1 ~ Fr. 5)。Fr. 2 (1.23 g) 经硅胶柱 (100~200 目) 分离, 以石油醚-乙酸乙酯 (100:0~0:100) 梯度洗脱, 得到 Fr. 2.1 ~ Fr. 2.2, Fr. 2.1 (358 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱纯化, 以氯仿-甲醇 (0:100) 洗脱, 得到化合物 **8** (10 mg); Fr. 2.2 (834 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱分离, 以氯仿-甲醇 (0:100) 洗脱, 得到 Fr. 2.2.1 ~ Fr. 2.2.2, Fr. 2.2.1 (100 mg) 经 MCI 柱分离, 以甲醇-水 (40:60~100:0) 梯度洗脱, 得到 Fr. 2.2.1.1, 再经制备型 HPLC (流动相乙腈-水, 38:62) 纯化, 得到化合物 **1** (3.2 mg, $t_R = 29.1$ min); Fr. 2.2.2 (215 mg) 经 MCI 柱分离, 以甲醇-水 (40:60~100:0) 梯度洗脱, 得到 Fr. 2.2.2.1 ~ Fr. 2.2.2.2, Fr. 2.2.2.2 (30 mg) 经制备型 HPLC (流动相乙腈-水, 20:80) 分离, 得到化合物 **6** (3.5 mg, $t_R = 27.5$ min)。Fr. 3 (316 mg) 用硅胶柱 (100~200 目) 分离, 以石油醚-乙酸乙酯 (100:0~0:100) 梯度洗脱, 得到流分 Fr. 3.1 ~ Fr. 3.2, Fr. 3.1 (27 mg) 经制备型 HPLC (流动相甲醇-水, 26:74) 纯化, 得到化合物 **7** (1.5 mg, $t_R = 17.5$ min)。Fr. 5 (460 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱分离, 以氯仿-甲醇 (1:1) 洗脱, 得到流分 Fr. 5.1 (139 mg), 经 Sephadex LH-20 凝胶柱层析, 以二氯甲烷-甲醇 (1:1) 洗脱, 得到流分 Fr. 5.1.1 (26 mg), 经制备型 HPLC (流动相甲醇-水, 35:65) 纯化, 得到化合物 **4** (3 mg, $t_R = 41.5$ min)。

95% 乙醇部位 (80 g) 用硅胶柱 (100~200 目) 分离, 以二氯甲烷-甲醇 (100:0~0:100) 梯度洗脱, 得到 4 个流分 (Fr. 6 ~ Fr. 9)。Fr. 7 (1.56 g) 经 MCI 柱分离, 以甲醇-水 (40:60~100:0) 梯度洗脱, 得到 4 个流分 (Fr. 7.1 ~ Fr. 7.4), Fr. 7.1 (103 mg) 经制备型 HPLC (流动相甲醇-水, 8:92) 纯化, 得到化合物 **9** (3.05 mg, $t_R = 35.6$ min); Fr. 7.2 (26 mg) 经制备型 HPLC (流动相乙腈-水, 15:85) 纯化, 得到化合物 **5** (4.85 mg, $t_R = 42.3$ min); Fr. 7.3 (153 mg) 经制备型 HPLC (流动相甲醇-水, 38:62) 纯化, 得到化合物 **10** (1.45 mg, $t_R = 25.7$ min); Fr. 7.4 (78 mg) 经制备型 HPLC (流动相甲醇-水, 55:45) 纯化, 得到化合物 **3** (3.75 mg, $t_R = 15.2$ min)。Fr. 8 (1.25 g) 经 MCI 柱分离, 以甲醇-水 (40:60~100:0) 梯度洗脱, 得到流分 Fr. 8.1 ~

Fr. 8.2, Fr. 8.2 (381 mg) 经制备型 HPLC (流动相乙腈-水, 32:68) 纯化, 得到化合物 **2** (25 mg, $t_R = 23.3$ min)。制备型 HPLC 体积流量均为 5 mL/min, 检测波长均为 254、210 nm。

3 酸水解

取化合物 **2** 1 mg, 加入 2 mL 2 mol/L HCl, 90 °C 水浴加热 1 h, 2 mL 乙酸乙酯萃取 2 次, 水层减压干燥后得到残渣, 加入 1 mL 吡啶溶解, 再加入 1 mg L-半胱氨酸甲酯盐酸盐, 60 °C 加热 1 h, 再加入邻甲苯基异硫氰酸甲酯, 加热 1 h。分析采用 Tosoh ODS-1002 色谱柱 (4.6 mm×150 mm, 5 μ m); 流动相乙腈-水 (5:95~95:5); 体积流量 1 mL/min; 检测波长 250 nm。对照品同法衍生化, 通过与标准单糖保留时间比对, 确定化合物 **2** 中糖基种类为 *D*-葡萄糖。

4 结构鉴定

化合物 **1**: 淡黄色胶状, 溶于甲醇, 10% 硫酸乙醇显色为黑色。UV λ_{max} (MeOH) 235 nm, 270 nm。准分子离子峰 m/z : 303.088 2 [M-H]⁻, 确定其分子式为 $C_{16}H_{16}O_6$, 不饱和度为 9。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) 谱 (表 1) 中, 低场区 δ : 9.58 (1H, s) 显示存在 1 个醛基氢, δ : 8.74 (1H, s, 7-OH) 显示存在 1 个酚羟基氢, δ : 6.77 (1H, d, J =2.0 Hz, H-5), 6.63 (1H, d, J =8.0 Hz, H-8), 6.56 (1H, dd, J =8.0, 2.0 Hz, H-9) 显示结构中存在 1 个 1, 3, 4-三取代的苯环, 此外还存在一对相互耦合的双键氢信号 δ : 7.52 (1H, d, J =3.5 Hz, H-3'), 6.77 (1H, d, J =3.5 Hz, H-4'), 3.71 (3H, s) 显示结构中存在 1 个甲氧基。¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) (表 1)、DEPT 135 谱中, 低场区存在 2 个羰基碳 δ : 178.6 (C-6'), 171.9 (C-1), 苯环芳香区 δ : 144.8 (C-7), 147.4 (C-6), 131.1 (C-4), 120.3 (C-9), 115.3 (C-8), 112.4 (C-5) 为三取代苯环信号, δ : 155.5 (C-2'), 152.4 (C-5'), 123.9 (C-4'), 113.0 (C-3') 为羟甲基糠醛呋喃环上的碳信号, δ : 55.5 (6-OCH₃) 表明存在 1 个甲氧基。HMBC 谱 (图 1) 中, 甲氧基 H- (6-OCH₃) /C-6 的远程相关确定了甲氧基取代在 6 位, 酚羟基 H- (7-OH) 与 C-8、C-6 的远程相关确定了酚羟基取代在 7 位, H-3/C-4、C-9、C-5 的远程相关确定了苯环 4 位被取代, H-3/C-1~2、H-2/C-1, 4 的远程相关确定了二氢阿魏酸结构, H-6'/C-5'、H-4'/C-2'、H-3'/C-5'、H-1'/C-3' 的远程相关确定了 5-羟甲基糠醛结构,

H-1'/C-1'的远程相关确定了二氢阿魏酸中羧基与5-羟甲基糠醛中羟基发生酯化。综上所述, 它为

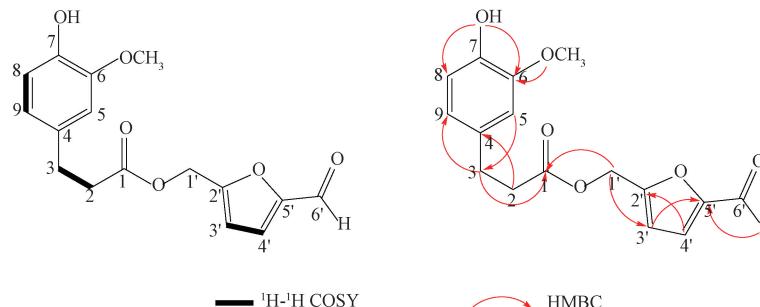


图1 化合物1关键¹H-¹H COSY (—)、HMBC (→) 相关

Fig. 1 Key ¹H-¹H COSY (—) and HMBC (→) correlations of compound 1

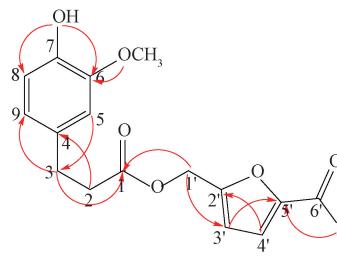
表1 化合物1 ¹H-NMR (600 MHz)、¹³C-NMR (150 MHz) 数据

Tab. 1 ¹H-NMR (600 MHz) and ¹³C-NMR (150 MHz) data on compound 1

位置	δ_{H}	δ_{C}
1	—	171.9
2	2.64 (2H, t, $J=7.6$ Hz)	35.3
3	2.74 (2H, t, $J=7.6$ Hz)	29.9
4	—	131.1
5	6.77 (1H, d, $J=2.0$ Hz)	112.4
6	—	147.4
7	—	144.8
8	6.63 (1H, d, $J=8.0$ Hz)	115.3
9	6.56 (1H, dd, $J=8.0, 2.0$ Hz)	120.3
1'	5.15 (2H, s)	57.5
2'	—	155.5
3'	6.77 (1H, d, $J=3.5$ Hz)	113.0
4'	7.52 (1H, d, $J=3.5$ Hz)	123.9
5'	—	152.4
6'	9.58 (1H, s)	178.6
6-OCH ₃	3.71 (3H, s)	55.5
7-OH	8.74 (1H, s)	—

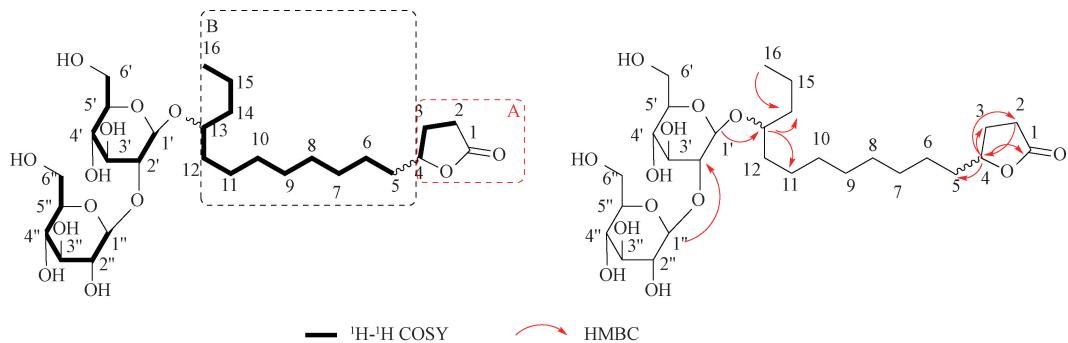
化合物2: 白色无定形粉末, 溶于甲醇, 10%硫酸乙醇显色为紫红色, 比旋光度 $[\alpha]_D^{25} = -8$ ($c = 0.20$, MeOH)。准分子离子峰 $m/z: 593.3145$ [M-H]⁺, 丢失一分子葡萄糖, 产生碎片离子 $m/z: 431.2616$ [M-H-162]⁺, 确定其分子式为 $C_{28}H_{50}O_{13}$, 不饱和度为4。¹H-NMR (pyridine-*d*₅, 600 MHz) (表2) 谱中, $\delta: 5.33$ (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-1'')¹、4.97 (1H, d, $J=7.7$ Hz, H-1')处推测存在2个糖苷, 根据耦合常数推测为 β 构型。在高场区, $\delta: 4.36$ (1H, m, H-4), 2.48 (2H, dd, $J=9.4, 7.0$ Hz, H-2), 2.10 (1H, m, H-3a),

(5-甲酰基-2-呋喃)甲基二氢阿魏酸酯, 是未见报道的新化合物。



1.66 (1H, m, H-3b) 为 γ 内酯环特征氢信号。 $\delta: 1.82 \sim 1.23$ (21H, m) 表明结构中存在脂肪族侧链, $\delta: 0.86$ (3H, t, $J=7.5$ Hz, H-16) 为末端甲基氢信号。¹³C-NMR (pyridine-*d*₅, 150 MHz) (表2)、DEPT 135 谱中, 2个糖的端基碳 $\delta: 106.5$ (C-1''), 102.3 (C-1') 根据化学位移进一步验证糖为 β 构型, $\delta: 84.2 \sim 72.0$ 为糖上次甲基 C-2' ~ C-5''的碳信号, $\delta: 63.3, 63.1$ 为糖上亚甲基 C-6'' 和 C-6'的碳信号, 以上为 β -D-吡喃葡萄糖 (1→2) - β -D-吡喃葡萄糖苷信号。 $\delta: 177.6, 81.2, 29.3, 28.5$ 为 γ 内酯环特征碳信号。在高场区 $\delta: 36.1 \sim 23.5$ 为- $[\text{CH}_2]_{12}$ -碳信号, $\delta: 14.6$ (C-16) 为末端甲基碳信号。¹H-¹H COSY 谱 (图2) 中, H-4/H-3、H-3/H-2 相关表明存在 γ 内酯环 (片断A); H-13/H-12a, 12b, 14 相关, $\delta: 1.82 \sim 1.23$ 处各个氢相关及 H-15/H-16 相关, 表明存在12烷的结构 (片断B); $\delta: 5.33 \sim 3.89$ 各个氢相关, 表明存在 β -D-吡喃葡萄糖结构。HMBC 谱 (图2) 中, H-4/C-1~3、H-2/C-1, 4、H-3/C-1 的远程相关确定了五元环内酯结构, H-3/C-5、H-4/C-5、H-5/C-3 的远程相关确定了12烷取代在五元环内酯4位, H-1'/C-13、H-13/C-1' 的相关确定了葡萄糖取代于碳链上13位, H-1''/C-2'、H-2''/C-1'' 的相关确定了2个葡萄糖为1→2取代, 经酸水解、L-半胱氨酸甲酯盐酸盐和邻甲苯基异硫氰酸甲酯衍生化后鉴定为D-葡萄糖。综上所述, 它为十六烷-4-内酯13-O- β -D-吡喃葡萄糖 (1→2) - β -D-吡喃葡萄糖苷, 是未见报道的新化合物。

化合物3: 淡黄色粉末, 溶于甲醇, ESI-MS $m/z: 271.0339$ [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) $\delta: 6.77$ (1H, s, H-3), 12.96 (1H, s,

图2 化合物2关键¹H-¹H COSY (-)、HMBC (→) 相关Fig. 2 Key ¹H-¹H COSY (-) and HMBC (→) correlations for compound 2表2 化合物2 ¹H-NMR (600 MHz)、¹³C-NMR (150 MHz) 数据Tab. 2 ¹H-NMR (600 MHz) and ¹³C-NMR (150 MHz) data on compound 2

位置	δ_{H}	δ_{C}
1	—	177.6
2	2.48 (2H, dd, $J=9.4, 7.0$ Hz)	29.3
3	2.10 (1H, m), 1.66 (1H, m)	28.5
4	4.36 (1H, m)	81.2
5	1.34 (1H, m), 1.26 (1H, m)	25.9
6	1.59 (1H, m), 1.44 (1H, m)	36.1
7	1.23 (2H, m)	30.2
8	1.23 (2H, m)	30.0
9	1.82 (1H, m), 1.76 (1H, m)	34.5
10	1.29 (2H, m)	30.6
11	1.55 (2H, m)	25.6
12	1.79 (1H, m), 1.72 (1H, m)	35.1
13	3.96 (1H, m)	80.0
14	1.50 (2H, m)	27.8
15	1.30 (2H, m)	23.5
16	0.86 (3H, t, $J=7.3$ Hz)	14.6
1'	4.97 (1H, d, $J=7.7$ Hz)	102.3
2'	4.16 (1H, m)	84.2
3'	4.33 (1H, m)	78.5
4'	4.26 (1H, m)	72.1
5'	4.23 (1H, m)	78.4
6'	4.49 (1H, m), 4.40 (1H, m)	63.3
1''	5.33 (1H, d, $J=7.8$ Hz)	106.5
2''	4.08 (1H, m)	77.2
3''	3.93 (1H, m)	78.8
4''	4.18 (1H, m)	72.0
5''	3.89 (1H, m)	78.4
6''	4.49 (1H, m), 4.34 (1H, m)	63.1

H-5), 6.18 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 6.47 (1H, d, $J=1.9$ Hz, H-8), 7.92 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-

2'), 6.92 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-3'), 6.92 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-5'), 7.92 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-6'); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 164.3 (C-2), 102.8 (C-3), 181.7 (C-4), 161.4 (C-5), 98.9 (C-6), 163.7 (C-7), 94.0 (C-8), 157.3 (C-9), 103.6 (C-10), 121.2 (C-1'), 128.4 (C-2'), 116.0 (C-3'), 161.6 (C-4'), 116.4 (C-5'), 128.9 (C-6')。以上数据与文献 [11] 报道一致, 因此鉴定该化合物为芹菜素。

化合物4: 无色针状结晶, 溶于甲醇, ESI-MS *m/z*: 377.162 4 [M-H]⁻。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.83 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2), 6.76 (1H, dd, $J=8.1, 1.9$ Hz, H-6), 4.70 (1H, d, $J=4.7$ Hz, H-7), 4.16 (1H, q, $J=4.8$ Hz, H-8), 5.68 (1H, dd, $J=15.0, 2.4$ Hz, H-8), 3.56 (1H, dd, $J=11.5, 4.1$ Hz, H-9a), 3.22 (1H, dd, $J=11.5, 6.3$ Hz, H-9b), 6.97 (1H, d, $J=1.9$ Hz, H-2'), 6.89 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-5'), 2.41~2.35 (2H, m, H-7'), 2.73 (2H, t, $J=7.8$ Hz, H-9'), 5.22 (1H, s, 7-OH), 3.72 (3H, s, 3-OCH₃), 3.75 (3H, s, 3'-OCH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 133.0 (C-1), 112.8 (C-2), 147.0 (C-3), 146.4 (C-4), 111.0 (C-5), 119.0 (C-6), 71.0 (C-7), 60.1 (C-8), 60.1 (C-9), 134.8 (C-1'), 114.7 (C-2'), 149.5 (C-3'), 145.4 (C-4'), 116.0 (C-5'), 120.1 (C-6'), 30.8 (C-7'), 35.2 (C-8'), 60.1 (C-9'), 55.6 (3-OCH₃), 55.4 (3'-OCH₃)。以上数据与文献 [12] 报道一致, 因此鉴定该化合物为7R, 8R-4, 7, 9, 9'-四羟基-3, 3'-二甲氧基-8-O-4'-新木脂素。

化合物5: 无色针状结晶, 溶于甲醇, ESI-MS *m/z*: 223.135 2 [M + H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 5.78 (1H, s, H-2), 2.35 (1H, d,

$J=16.2$ Hz, H-6a), 2.07 (1H, d, $J=16.2$ Hz, H-6b), 5.66 (1H, d, $J=15.0$ Hz, H-7), 5.68 (1H, dd, $J=15.0$, 2.4 Hz, H-8), 4.18 (1H, s, H-9), 1.11 (3H, d, $J=6.4$ Hz, H-10), 0.93 (3H, s, H-11), 0.91 (3H, d, $J=5.6$ Hz, H-12), 1.81 (3H, dd, $J=4.3$, 1.3 Hz, H-13), 4.98 (1H, s, 4-OH), 4.71 (1H, s, 9-OH); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 197.8 (C-1), 125.9 (C-2), 164.9 (C-3), 78.2 (C-4), 41.4 (C-5), 49.8 (C-6), 136.3 (C-7), 128.3 (C-8), 66.6 (C-9), 24.5 (C-10), 24.4 (C-11), 23.5 (C-12), 19.4 (C-13)。以上数据与文献 [13] 报道一致, 因此鉴定该化合物为布卢门醇 A。

化合物 6: 无色针状结晶, 溶于甲醇, ESI-MS m/z : 193.084 3 [M + H] $^+$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.25 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2), 6.78 (1H, d, $J=8.1$ Hz, H-5), 7.06 (1H, dd, $J=8.1$, 2.0 Hz, H-6), 6.35 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-7), 7.45 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-8); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 125.9 (C-1), 111.1 (C-2), 149.0 (C-3), 147.9 (C-4), 115.5 (C-5), 122.6 (C-6), 143.8 (C-7), 115.5 (C-8), 168.5 (C-9), 55.7 (3-OCH₃)。以上数据与文献 [14] 报道一致, 因此鉴定该化合物为阿魏酸。

化合物 7: 白色粉末, 溶于甲醇, ESI-MS m/z : 165.055 6 [M-H] $^-$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.22 (1H, m, H-1), 7.22 (4H, m, H-2, 3, 5, 6), 2.97 (1H, dd, $J=13.8$, 4.1 Hz, H-7a), 2.74 (1H, dd, $J=13.8$, 4.1 Hz, H-7b), 4.08 (dd, $J=8.6$, 4.2 Hz, H-8); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 126.0 (C-1), 128.1 (C-2), 129.4 (C-3), 138.5 (C-4), 129.4 (C-5), 128.1 (C-6), 40.1 (C-7), 71.3 (C-8), 175.3 (C-9)。以上数据与文献 [15] 报道一致, 因此鉴定该化合物为 3-苯基乳酸。

化合物 8: 淡黄色固体, 溶于甲醇, ESI-MS m/z : 167.035 5 [M-H] $^-$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.44 (1H, d, $J=1.2$ Hz, H-2), 6.84 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5), 7.43 (1H, dd, $J=1.2$, 8.4 Hz, H-6), 3.80 (3H, s, 1-OCH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 121.7 (C-1), 115.1 (C-2), 151.1 (C-3), 147.3 (C-4), 112.7 (C-5), 123.5 (C-6), 167.3 (4-CO), 55.6 (1-OCH₃)。以上数据与文献 [16] 报道一致, 因此

鉴定该化合物为 3-甲氧基-4-羟基苯甲酸。

化合物 9: 无色固体, 溶于甲醇, ESI-MS m/z : 168.055 5 [M+H] $^+$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 4.08 (1H, m, H-3), 8.14 (1H, s, H-4), 4.16 (1H, m, H-6), 1.82 (2H, m, H-7), 2.11 (2H, m, H-8), 1.21 (3H, d, $J=6.9$ Hz, H-10); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 166.5 (C-2), 50.1 (C-3), 170.0 (C-5), 58.7 (C-6), 27.7 (C-7), 22.4 (C-8), 44.8 (C-9), 15.3 (C-10)。以上数据与文献 [17] 报道一致, 因此鉴定该化合物为环(脯氨酸-丙氨酸)。

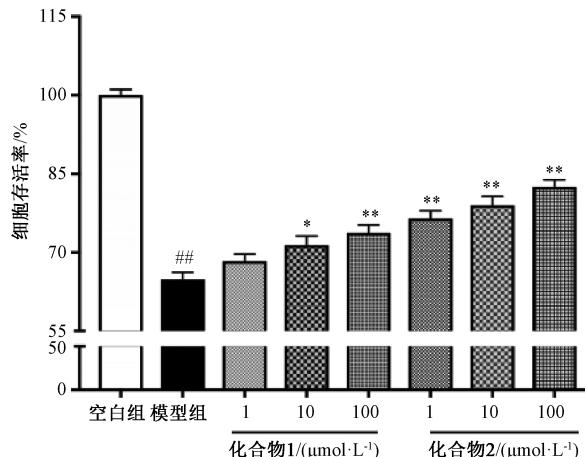
化合物 10: 淡黄色固体, 溶于甲醇, ESI-MS m/z : 125.024 1 [M-H] $^-$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.54 (1H, s, H-1), 7.50 (1H, d, $J=3.4$ Hz, H-3), 6.60 (1H, d, $J=3.5$ Hz, H-4), 4.50 (2H, s, H-6), 5.60 (1H, s, 6-OH); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.5 (C-1), 152.2 (C-2), 125.0 (C-3), 110.2 (C-4), 162.7 (C-5), 56.4 (C-6)。以上数据与文献 [18] 报道一致, 因此鉴定该化合物为 5-羟甲基 2-呋喃甲醛。

5 抗光老化活性研究

紫外线辐射是皮肤老化的主要外源因素^[19]。角质层由角质形成细胞组成, 为皮肤表面屏障, 负责吸收 UVB 辐射。HaCaT 细胞是角质形成细胞的一种, 常用来研究药物体外抗光老化活性^[20]。乳酸脱氢酶 (LDH) 在正常情况下不能穿过细胞膜, 但在细胞遭遇 UVB 辐射损伤后可被释放到细胞外, 故细胞活性和 LDH 释放量可以反映抗光老化活性^[21]。

本研究采用 CCK-8 试剂盒检测不同浓度化合物 1~2 对 HaCaT 细胞的毒性, 结果 1、10、100 $\mu\text{mol/L}$ 下均无明显毒性。随后, 采用 CCK-8、LDH 试剂盒评估化合物 1~2 对 UVB 照射下 HaCaT 细胞活性及 LDH 释放的影响。取对数生长期 HaCaT 细胞, 以 10/mL 的密度接种于 96 孔板中, 贴壁生长达 70%~80% 后设置对照组 (无 UVB 照射)、模型组 (UVB 照射) 和给药组, 加入不同浓度药物, 培养 24 h 后进行 UVB 照射 (辐射剂量 60 mJ/cm^2), 继续培养 24 h, 吸取上清液, 置于另一新 96 孔板中, 按说明书检测 LDH 释放量。原 96 孔板用 PBS 润洗 1 次, 每孔加入 100 μL 1×CCK-8 工作液, 37 °C 孵育 1 h, 于 450 nm 处测定 OD 值, 计算细胞存活率, 结果 UVB 照射后 HaCaT 细胞活性明显降低, 而 2 种新化合物均能不同程度地提高

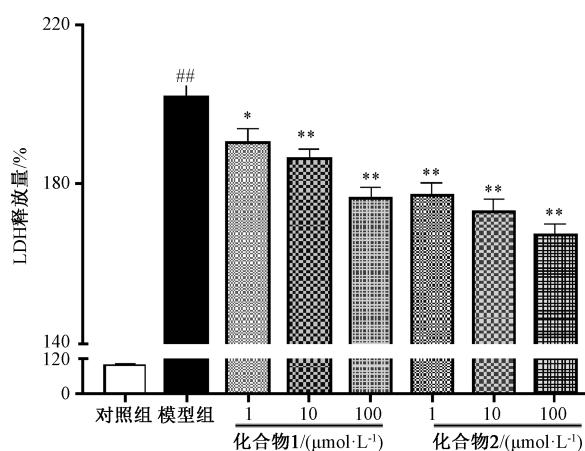
其活性,其中化合物1在10、100 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下对细胞损伤有抑制作用,化合物2在1、10、100 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下对细胞损伤有抑制作用,并均呈剂量依赖性,见图3。图4显示,UVB诱导后HaCaT细胞中LDH释放明显增加,而2种化合物均可不同程度地减少其释放。综上所述,上述2个新化合物可有效保护HaCaT细胞免受UVB诱导的损伤。



注:与对照组比较,## $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$, * $P<0.05$ 。

图3 不同浓度化合物对UVB损伤HaCaT细胞活性的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=12$)

Fig.3 Effects of different concentrations of compounds on viability of UVB-damaged HaCaT cells ($\bar{x}\pm s$, $n=12$)



注:与对照组比较,## $P<0.01$;与模型组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

图4 不同浓度化合物对UVB损伤HaCaT细胞LDH释放的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=12$)

Fig.4 Effects of different concentrations of compounds on LDH release from UVB-damaged HaCaT cells ($\bar{x}\pm s$, $n=12$)

6 结论

本研究从小米草中分离得到10个化合物,包

括1个苯丙素、3个酚酸、2个黄酮、1个单萜、1个脂肪族聚酯糖苷、2个其他类,其中化合物1~2为新化合物,3~10为首次从该植物中发现。然后,对化合物1~2的抗光老化活性进行了评价,结果两者可增强HaCaT细胞活性并减少LDH释放量,对UVB诱导的细胞损伤具有保护作用,有望成为预防和治疗皮肤光老化的药物。上述结果丰富了小米草化学成分,揭示了其抗光老化的药效物质基础,可为它在食品、护肤品、医药领域的开发利用提供参考。

参考文献:

- 王刚,周生荟.甘肃玄参科药用植物资源研究[J].中兽医医药杂志,2008,27(6):71-73.
- 国家中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草[M].上海:上海科学技术出版社,1999:336-337.
- Liu Y, Hwang E, Ngo H T T, et al. Protective effects of *Euphrasia officinalis* extract against ultraviolet b-induced photoaging in normal human dermal fibroblasts[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(11): 3327-3341.
- Paduch R, Woźniak A, Rejdak R, et al. Assessment of eyebright (*Euphrasia Officinalis* L.) extract activity in relation to human corneal cells using *in vitro* test[J]. *Balkan Med J*, 2014, 31(1): 29-36.
- Teixeira R, Silva L R. Bioactive compounds and *in vitro* biological activity of *Euphrasia rostkoviana* Hayne extracts[J]. *Ind Crops Prod*, 2013, 50: 680-689.
- Marcotullio M C, Loizzo M R, Messina F, et al. Bioassay-guided fractionation of *Euphrasia pectinata* Ten. and isolation of iridoids with antiproliferative activity[J]. *Phytochem Lett*, 2015, 12: 252-256.
- Ersöz T, Berkman M Z, Tasdemir D, et al. An iridoid glucoside from *Euphrasia pectinata*[J]. *J Nat Prod*, 2000, 63(10): 1449-1450.
- D'Ambrosio M, Ciocarlan A, Aricu A. Minor acetylated metabolites from *Euphrasia rostkoviana*[J]. *Nat Prod Res*, 2020, 34(2): 290-295.
- Blazics B, Ludanyi K, Szarka S, et al. Investigation of *Euphrasia rostkoviana* Hayne using GC-MS and LC-MS [J]. *Chromatographia*, 2008, 68(5): 119-124.
- Teixeira R, Silva L R. Bioactive compounds and *in vitro* biological activity of *Euphrasia rostkoviana* Hayne extracts[J]. *Ind Crops Prod*, 2013, 50: 680-689.
- 达娃卓玛,周燕,白央,等.绵头雪莲花的化学成分研究[J].中国中药杂志,2008,33(9):1032-1035.
- 王景丽,马燕子,赵春雪,等.三尖杉茎叶的木脂素类化合物研究[J].中草药,2020,51(1):36-42.
- 张婷婷,马国需,许福泉,等.诸葛菜水溶性化学成分的研究[J].中国药学杂志,2014,49(24):2165-2167.

[14] 刘希达, 韩 娜, 刘志惠, 等. 覆盆子抗氧化和 α -葡萄糖苷酶抑制活性成分研究[J]. 中草药, 2021, 52(17): 5226-5232.

[15] Zahoor M, Khan I, Zeb A, et al. Pharmacological evaluation and *in-silico* modeling study of compounds isolated from *Ziziphus oxyphylla*[J]. *Heliyon*, 2021, 7(2): e06367.

[16] Gubiani J R, Habeck T R, Chapla V M, et al. One strain-many compounds (OSMAC) method for production of phenolic compounds using *Camarops* sp., an endophytic fungus from *Alibertia macrophylla* (Rubiaceae) [J]. *Quim Nova*, 2017, 39(10): 1221-1224.

[17] 王心龙, 向 斌, 李亚美, 等. 虫药美洲大蠊水溶性成分及其促血管生成活性[J]. 天然产物研究与开发, 2017, 29(12): 2004-2009.

[18] 邵立军, 王建农. 芒麻根化学成分研究[J]. 中药材, 2010, 33(7): 1091-1093.

[19] Cavinato M, Jansen-Dürr P. Molecular mechanisms of UVB-induced senescence of dermal fibroblasts and its relevance for photoaging of the human skin[J]. *Exp Gerontol*, 2017, 94: 78-82.

[20] Hwang Y P, Oh K N, Yun H J, et al. The flavonoids apigenin and luteolin suppress ultraviolet a-induced matrix metalloproteinase-1 expression via MAPKs and AP-1-dependent signaling in HaCaT cells[J]. *J Dermatol Sci*, 2011, 61(1): 23-31.

[21] Liu T, Xia Q M, Lv Y S, et al. ErZhiFormula prevents UV-induced skin photoaging by Nrf2/HO-1/NQO1 signaling: an *in vitro* and *in vivo* studies[J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 309: 115935.

华山参化学成分及其抗炎活性研究

张佳宁, 赵佳欣, 暱 云, 李建丽, 程艳刚, 王颖莉*, 谭金燕*
(山西中医药大学中药与食品工程学院, 山西 晋中 030619)

摘要: 目的 研究华山参化学成分及其体外抗炎活性。方法 采用硅胶、ODS 及制备型 HPLC 进行分离纯化, 根据理化性质及波谱数据鉴定所得化合物的结构。采用 RAW264.7 模型评价其抗炎活性。结果 从中分离得到 15 个化合物, 分别鉴定为 *N*-acetyl-*N'*-*trans*-feruloylputrescine (1)、*N*-反式-对香豆酰酷胺 (2)、*N*-反式-阿魏酰酷胺 (3)、*N*-对香豆酰真蛸胺 (4)、xylogranatinin (5)、*N*-(*N*-benzoyl-*L*-phenylalanyl)-*L*-phenylalanol (6)、esculentoside G (7)、oct-1-en-3-yl arabinopyranosyl-(1→6)- β -glucopyranoside (8)、3-(2-羟基-4, 5 二甲氧基苯基)丙酸 (9)、3, 4-二羟基苯甲酸 (10)、苯基乙基- β -D-吡喃葡萄糖苷 (11)、phenethanol- β -D-gentiobioside (12)、对羟基苯甲醛 (13)、9, 12, 13-trihydroxyoctadeca-10 (*E*), 15 (*Z*) -dienoic acid (14)、methyl (9S, 10R, 11E, 13R) -9, 10, 13- trihydroxyoctadec-11-enoate (15)。化合物 1~2、7、10 对 RAW264.7 细胞 NO 释放量的 IC_{50} 值为 $(23.46 \pm 1.85) \sim (42.48 \pm 3.52) \mu\text{mol/L}$ 。结论 化合物 6~9 为首次从茄科植物中分离得到, 2、4~5、14~15 为首次从该植物中分离得到。化合物 1~2、7、10 具有抗炎活性。

关键词: 华山参; 化学成分; 分离鉴定; 抗炎活性

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)01-0121-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.01.018

收稿日期: 2025-04-23

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (82505004); 山西省基础研究计划 (自由探索类) 面上项目 (202503021211209); 山西中医药大学博士科研启动基金 (2022BK13, 2022BKS05); 山西省科技创新人才团队专项计划 (202204051002028)

作者简介: 张佳宁 (2000—), 女, 硕士生, 研究方向为中药制剂技术及其质量评价。Tel: 13007040792, E-mail: 13007040792@163.com

*通信作者: 王颖莉 (1967—), 女, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药、天然药物化学。Tel: (0351) 3179432, E-mail: wyl@sxtcm.edu.cn

谭金燕 (1991—), 女, 博士, 副教授, 研究方向为中药药效物质基础及其作用机制。Tel: (0351) 3179903, E-mail: 15636833827@163.com