

## 月见草中一个新的核苷类化合物

刘娟娟<sup>1,2</sup>, 张靖柯<sup>1,2</sup>, 张钦钦<sup>1,2</sup>, 李孟<sup>1,2</sup>, 朱登辉<sup>1,2</sup>, 魏俊俊<sup>1,2</sup>,  
郑晓珂<sup>1,2</sup>, 冯卫生<sup>1,2\*</sup>

(1. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046; 2. 河南省中药开发工程技术研究中心, 河南 郑州 450046)

**摘要:** 运用大孔吸附树脂、硅胶、凝胶 Sephadex LH-20、MCI 等柱色谱并结合半制备高效液相等分离纯化技术, 从月见草中分离得到 7 个核苷类化合物, 根据化合物的理化性质和波谱特征对其结构进行鉴定, 分别为 9-(3'-carbonyl methyl)hydroxypurine (1)、1-(3'-carbonyl methyl)purine-6,8-dione (2)、*N*-methyl-2-pyridone-5-carboxamide (3)、尿嘧啶 (4)、尿嘧啶核苷 (5)、胸腺嘧啶脱氧核苷 (6) 和 2'-*O*-甲氧基尿嘧啶核苷 (7)。其中化合物 1 为新化合物, 化合物 2~7 为首次从月见草中分离得到。化合物 1、2 可显著提高 TGF- $\beta$ 1 诱导 BEAS-2B 细胞的活力, 说明其具有潜在的抗肺纤维化活性。

**关键词:** 月见草; 化学成分; 核苷类; BEAS-2B 细胞; MTT

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2022)06-1840-05

## A new nucleoside from the *Oenothera biennis* L.

LIU Juan-juan<sup>1,2</sup>, ZHANG Jing-ke<sup>1,2</sup>, ZHANG Qin-qin<sup>1,2</sup>, LI Meng<sup>1,2</sup>, ZHU Deng-hui<sup>1,2</sup>,  
WEI Jun-jun<sup>1,2</sup>, ZHENG Xiao-ke<sup>1,2</sup>, FENG Wei-sheng<sup>1,2\*</sup>

(1. College of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. The Engineering and Technology Center for Chinese Medicine Development of Henan Province, Zhengzhou 450046, China)

**Abstract:** Seven nucleoside compounds were isolated from the *Oenothera biennis* L. by various chromatographic techniques such as Diaion HP-20, silica gel, Sephadex LH-20, MCI and semi-preparative HPLC. Their structures were identified by analysis of physicochemical properties and spectral data, and determined as 9-(3'-carbonyl methyl)hydroxypurine (1), 1-(3'-carbonyl methyl)purine-6,8-dione (2), *N*-methyl-2-pyridone-5-carboxamide (3), uracil (4), uridine (5), thymidine (6) and 2'-*O*-methoxy uridine (7). Compound 1 is a new nucleoside and compounds 2–7 were newly isolated from the *Oenothera biennis* L. Compounds 1–2 can significantly increase the viability of BEAS-2B cells induced by TGF- $\beta$ 1, showing potent anti-pulmonary fibrosis activity.

**Key words:** *Oenothera biennis* L.; chemical constituent; nucleoside; BEAS-2B cell; MTT

月见草 *Oenothera biennis* L. 为柳叶菜科月见草属多年生草本植物, 最早出自《贵州草药》, 全草入药<sup>[1]</sup>。性温、味甘, 具有强筋壮骨、祛风除湿、活血通络的功效。可用于治疗胸痹心痛, 中风偏瘫, 虚风内动, 小儿多动等症<sup>[2]</sup>。现代药理研究表明, 月见草具有抗

菌<sup>[3]</sup>、抗炎<sup>[4]</sup>、抗氧化<sup>[5]</sup>、降血脂<sup>[6,7]</sup>、降血糖<sup>[8,9]</sup>、抗肿瘤<sup>[10]</sup>等药理作用。原产于北美洲, 在我国主要产于东北部及东部山区等地。其中在河南伏牛山区的山坡、荒地、河岸等地随处可见, 资源分布十分丰富。目前国内对于月见草的研究主要集中在其种子上, 而对月见草的化学成分缺乏系统的研究。为了进一步对月见草化学成分进行系统的研究, 为其后续药效物质基础研究提供理论依据, 本实验利用大孔树脂、硅胶、ODS、Sephadex LH-20、MCI 等柱色谱并结合半制备高效液

收稿日期: 2021-12-06; 修回日期: 2022-01-04.

基金项目: 河南省重大科技专项 (171100310500); 国家重点研发计划-中医药现代化研究 (2019YFC1708802).

\*通讯作者 Tel: 86-371-60190296, E-mail: fwsh@hactcm.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2021-1735

相等分离纯化技术,从月见草50%含水丙酮提取物中分离得到7个核苷类化合物,根据化合物的理化性质及波谱特征对其结构进行鉴定。分别为9-(3'-carbonyl methyl)hydroxypurine (**1**)、1-(3'-carbonyl methyl)purine-6,8-dione (**2**)、*N*-methyl-2-pyridone-5-carboxamide (**3**)、尿嘧啶 (**4**)、尿嘧啶核苷 (**5**)、胸腺嘧啶脱氧核苷 (**6**) 和 2'-*O*-甲氧基尿嘧啶核苷 (**7**)。其中化合物**1**为新化合物,化合物**2**~**7**为首次从月见草中分离得到,化合物的结构见图1。

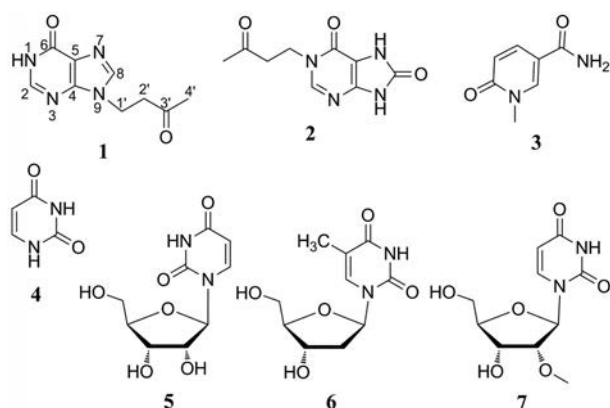


Figure 1 Structures of compounds 1-7

肺纤维化 (pulmonary fibrosis, PF) 是一种慢性、不可逆性和致死性的肺间质病<sup>[11]</sup>, 研究表明, 多种呼吸道病毒 (包括常见的流感以及突发的新冠病毒) 感染均可能导致肺纤维化的发生<sup>[12]</sup>。目前, 对于该病的治疗尚无效果显著的药物, 临床常用的激素、尼达尼布等都存在一定的不良反应<sup>[13]</sup>。中药具有悠久的历史, 其作用广泛、不良反应少、药物依赖性低等, 且越来越多的研究表明中药及其提取物对肺纤维化有治疗作用<sup>[14-16]</sup>。本研究采用 TGF- $\beta$ 1 诱导 BEAS-2B 细胞建立肺纤维化体外模型, 基于 MTT 法检测化合物**1**~**7**对 TGF- $\beta$ 1 诱导 BEAS-2B 细胞损伤的影响。结果表明, 化合物**1**、**2**可显著提高 TGF- $\beta$ 1 诱导 BEAS-2B 细胞的活力, 说明其具有潜在的抗肺纤维化活性。

## 结果与讨论

### 1 结构鉴定

化合物**1**, 白色粉末,  $[\alpha]_D^{20} -3.062$  ( $c$  0.080 4, CH<sub>3</sub>OH), HR-ESI-MS  $m/z$ : 207.087 7 [M+H]<sup>+</sup> (C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub> 计算值 207.088 2), 提示化合物的分子式为 C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>。UV  $\lambda_{\max}$  (CH<sub>3</sub>OH)/nm (log $\epsilon$ ): 203 (1.90)、249 (0.96), IR 光谱中 3 358 cm<sup>-1</sup>为伯胺 N-H 伸缩振动特征峰, 1 640 cm<sup>-1</sup>有 C=N 双键伸缩振动特征峰。

在 <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) 谱中,  $\delta_H$  8.06 (1H,

s, H-8)、8.04 (1H, brs, H-2) 推测为氮杂环上饱和和氢的信号;  $\delta_H$  12.3 (1H, brs, -NH) 为一个活泼氢的信号;  $\delta_H$  4.30 (2H, t,  $J = 6.8$  Hz, H-1')、3.08 (2H, t,  $J = 6.8$  Hz, H-2') 为两个亚甲基的氢信号;  $\delta_H$  2.10 (3H, s, H-4') 为一个甲基的氢信号。在 <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) 谱中, 共有 9 个碳信号, 结合 DEPT135 谱可知, 共有 4 个季碳信号 [ $\delta_C$  123.6 (C-5)、148.2 (C-4)、156.5 (C-6)、206.2 (C-3')], 其中  $\delta_C$  156.5 (C-6)<sup>[17]</sup>、206.2 (C-3') 为两个酮羰基的碳信号, 2 个叔碳信号 [ $\delta_C$  140.4 (C-8)、145.5 (C-2)], 2 个仲碳信号 [ $\delta_C$  38.4 (C-1')、42.2 (C-2')], 1 个伯碳信号 [ $\delta_C$  29.8 (C-4')]

<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY 谱中,  $\delta_H$  4.30 (2H, t,  $J = 6.8$  Hz, H-1') 与 3.08 (2H, t,  $J = 6.8$  Hz, H-2') 相关, 确定 -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- 的结构片段。通过 HSQC 谱, 进一步将化合物的 C-H 数据予以归属 (表 1)。HMBC 谱中  $\delta_H$  2.10 (3H, s, H-4') 与  $\delta_C$  38.4 (C-1')、42.2 (C-2')、206.2 (C-3') 具有远程相关, 可以确定 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COCH<sub>3</sub> 的结构片段;  $\delta_H$  8.04 (1H, brs, H-2) 与  $\delta_C$  148.2 (C-4)、123.6 (C-5)、156.5 (C-6) 具有远程相关, 且  $\delta_H$  8.06 (1H, brs, H-8) 与  $\delta_C$  148.2 (C-4)、123.6 (C-5) 也具有远程相关, 说明存在一个次黄嘌呤的结构片段; 同时根据  $\delta_H$  4.30 (2H, t,  $J = 6.8$  Hz, H-1') 与  $\delta_C$  148.2 (C-4)、140.4 (C-8) 具有远程相关, 说明 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COCH<sub>3</sub> 连在次黄嘌呤 9 位 N 原子上 (图 2)。根据以上数据, 结合文献 NMR 数据<sup>[18]</sup>, 与文献中已知化合物相比差别仅在于 C-4' 位酮羰基, 确定为新化合物, 结构为 9-(3'-carbonyl methyl)hydroxypurine。

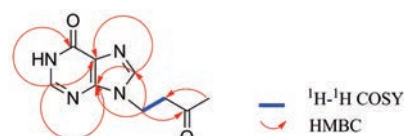


Figure 2 Key <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY and HMBC correlations of compound 1

Table 1 <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) and <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) spectral data of compound 1

No.	$\delta_H$	$\delta_C$
1	12.3 (1H, brs)	-
2	8.04 (1H, brs)	145.5
3	-	-
4	-	148.2
5	-	123.6
6	-	156.5
7	-	-
8	8.06 (1H, s)	140.4
9	-	-
1'	4.30 (2H, t, $J = 6.8$ Hz)	38.4
2'	3.08 (2H, t, $J = 6.8$ Hz)	42.2
3'	-	206.2
4'	2.10 (3H, s)	29.8

## 2 化合物活性检测

采用 TGF- $\beta$ 1 诱导 BEAS-2B 细胞建立肺纤维化体外模型, 基于 MTT 法检测化合物 1~7 对 TGF- $\beta$ 1 诱导 BEAS-2B 细胞损伤的影响。结果表明, 化合物 1、2 可显著提高 TGF- $\beta$ 1 诱导 BEAS-2B 细胞的活力, 提示其可能具有潜在的抗肺纤维化活性 (表 2)。

**Table 2** The effect of compounds 1–7 on BEAS-2B cell injury induced by TGF- $\beta$ 1 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 4$ ). Con: Normal group; M: Model group. \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$  vs M group

Group	Cell index
Con	1.000 $\pm$ 0.009**
M	0.835 $\pm$ 0.068
1	0.945 $\pm$ 0.020*
2	0.946 $\pm$ 0.025**
3	0.833 $\pm$ 0.012
4	0.861 $\pm$ 0.073
5	0.891 $\pm$ 0.031
6	0.912 $\pm$ 0.036
7	0.905 $\pm$ 0.032

## 小结

本研究从月见草中分离并鉴定了 7 个核苷类化合物, 其中化合物 1 为新化合物, 化合物 2~7 为首次从月见草中分离得到。化合物 1、2 可显著提高 TGF- $\beta$ 1 诱导 BEAS-2B 细胞的活力, 说明其具有潜在的抗肺纤维化活性, 为月见草进一步的研究与开发提供了一定的理论依据。

## 实验部分

Bruker AVANCE III 500 型核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); Bruker maxis HD 型飞行时间质谱 (德国 Bruker 公司); OSB-21000 型旋转蒸发器 (上海爱朗仪器有限公司); 赛谱锐思 LC-52 型高压制备液相色谱仪 (赛谱锐思北京科技有限公司, SP-5030 型半制备型高压输液泵, UV200 型紫外检测器, Easychrom 型色谱工作站; 色谱柱为 COSMOSIL C18-MS-II, 250 mm  $\times$  20 mm, 5  $\mu$ m); 薄层色谱硅胶 GF 254; Sephadex LH-20 (Pharmacia Biotech 公司); 柱色谱所用硅胶 H (200~300 目) 为青岛海洋化工厂生产; 所用色谱纯试剂为天津市富宇精细化工有限公司生产; 所用分析纯试剂为北京化工厂和天津第三化学试剂厂生产; 二氧化碳 3111 型培养箱 (Thermo, USA); Multiskan MK3 酶标仪 (Thermo Fisher, USA); Advantage A10 超纯水仪 (Sartorius, Germany); ECTGF-B1E TS100 倒置显微镜 (Nikon, Japan); TGF- $\beta$ 1 (PeproTech, 美国); 噻唑蓝 (北京索莱宝科技有限公司); 二甲基亚砜 (上海麦克林生物科技有限公司)。

月见草采自于河南省伏牛山区, 经河南中医药大学

学董诚明教授鉴定为柳叶菜科月见草属植物月见草 (*Oenothera biennis* L.) 的干燥全草。

## 1 提取与分离

取干燥月见草 40 kg, 用 50% 含水丙酮组织破碎提取 2 次, 过滤, 合并滤液, 减压浓缩, 得到总浸膏 3.3 kg。总浸膏加等量水分散, 依次用石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯以及水饱和正丁醇进行萃取, 各部位经减压浓缩, 回收溶剂, 得到石油醚部位 (5.0 g)、二氯甲烷部位 (49.6 g)、乙酸乙酯部位 (161.0 g) 及正丁醇部位 (457.0 g)。对正丁醇部位上 Diaion HP-20 大孔吸附树脂柱, 按照极性由大到小依次用水、10% EtOH、20% EtOH、30% EtOH、50% EtOH、70% EtOH、95% EtOH 进行梯度洗脱, 得到 7 个洗脱组分, 即 Fr.1~Fr.7。

Fr.2 (52.0 g) 加水溶解, 进行凝胶 Sephadex LH-20 柱色谱, 用不同比例的甲醇-水 (甲醇:水 = 0:100  $\rightarrow$  100:0) 梯度洗脱, 洗脱组分经薄层硅胶检识, 合并相同组分, 得到 6 个洗脱组分: Fr.2-1~Fr.2-6。其中 Fr.2-2 经凝胶 Sephadex LH-20 柱色谱, 70% 含水甲醇等度洗脱, 经硅胶薄层检识, 合并相同组分, 得到 4 个洗脱组分, 即 Fr.2-2-1~Fr.2-2-4, Fr.2-2-2 反复经过凝胶 Sephadex LH-20 柱色谱分离并结合半制备高效液相 (乙腈-水洗脱体系) 最终得到化合物 1 (4.02 mg)、化合物 5 (12.15 mg) 和化合物 7 (3.25 mg); Fr.2-2-4 加适量水溶解, 进行 MCI 柱色谱分离, 用不同比例的甲醇-水 (甲醇:水 = 0:100  $\rightarrow$  100:0) 梯度洗脱, 最终得到 4 个洗脱组分, 即 Fr.2-2-4-1~Fr.2-2-4-4, Fr.2-2-4-2 进行制备薄层分离纯化, 以二氯甲烷-甲醇-水系统为展开剂 (二氯甲烷:甲醇:水 = 10:1:0.1), 最终得到化合物 4 (5.56 mg)、化合物 6 (8.89 mg); Fr.2-3 采用 Fr.2-2-2 相同的洗脱方法, 得到 3 个洗脱组分, 即 Fr.2-3-1~Fr.2-3-3, Fr.2-3-3 加适量甲醇溶解, 硅胶 (200~300 目) 拌样后进行硅胶柱色谱分离, 用二氯甲烷-甲醇系统 (二氯甲烷:甲醇 = 30:1) 洗脱, 得到 3 个洗脱组分 Fr.2-3-3-1~Fr.2-3-3-3, Fr.2-3-3-2 使用半制备高效液相 (乙腈-水洗脱体系) 最终得到化合物 2 (9.84 mg); Fr.2-4 加适量水溶解, 进行 ODS 柱色谱分离, 用不同比例的甲醇-水 (甲醇:水 = 0:100  $\rightarrow$  100:0) 梯度洗脱, 最终得到 5 个洗脱组分, 即 Fr.2-4-1~Fr.2-4-5, Fr.2-4-1 反复经过 Sephadex LH-20、Toyopearl HW-40 凝胶柱色谱分离, 结合使用半制备高效液相 (乙腈-水洗脱体系), 最终得到化合物 3 (6.35 mg)。

## 2 结构鉴定

化合物 1 白色粉末, 溶于甲醇, HR-ESI-MS  $m/z$ : 207.087 7 [M+H]<sup>+</sup> (C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub> 计算值 207.088 2), 提示化合物的分子式为 C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>。UV  $\lambda_{\max}$  (CH<sub>3</sub>OH)/nm (log $\epsilon$ ): 203 (1.90)、249 (0.96), IR (CH<sub>3</sub>OH)  $\nu_{\max}$ : 3 358、

1 640  $\text{cm}^{-1}$ 。 $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ ) 和  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO- $d_6$ ) 数据见表 1。

**化合物 2** 白色粉末, 溶于甲醇, ESI-MS  $m/z$ : 223  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_3$ 。 $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{H}}$  7.88 (1H, s, H-2), 4.32 (2H, t,  $J = 6.6$  Hz, H-1'), 3.06 (2H, t,  $J = 6.6$  Hz, H-2'), 2.09 (3H, s, H-4');  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{C}}$  142.8 (C-2), 149.5 (C-4), 106.1 (C-5), 155.5 (C-6), 151.2 (C-8), 41.1 (C-1'), 43.0 (C-2'), 206.2 (C-3'), 29.8 (C-4')。根据以上数据, 结合参考文献<sup>[17]</sup>, 鉴定该化合物为 1-(3'-carbonylbutyl) purine-6,8-dione。

**化合物 3** 白色粉末, 溶于甲醇, ESI-MS  $m/z$ : 153  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2$ 。 $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{H}}$  8.46 (1H, d,  $J = 2.5$  Hz, H-6), 7.77 (1H, dd,  $J = 2.5, 9.4$  Hz, H-4), 6.40 (1H, d,  $J = 9.4$  Hz, H-3), 3.49 (3H, s, H-7);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{C}}$  162.0 (C-2), 118.1 (C-3), 138.8 (C-4), 109.0 (C-5), 144.9 (C-6), 37.3 (C-7), 165.4 (C-8)。根据以上数据, 结合参考文献<sup>[19]</sup>, 确定化合物为 *N*-methyl-2-pyridone-5-carboxamide。

**化合物 4** 白色无定形粉末, 溶于甲醇, ESI-MS  $m/z$ : 135  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_2$ 。 $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{H}}$  11.01 (1H, s, NH-3), 10.81 (1H, s, NH-1), 7.38 (1H, d,  $J = 7.7$  Hz, H-6), 5.44 (1H, d,  $J = 7.7$  Hz, H-5);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{C}}$  151.5 (C-2), 164.4 (C-4), 100.2 (C-5), 142.2 (C-6)。根据以上数据, 结合参考文献<sup>[20]</sup>, 确定化合物为尿嘧啶。

**化合物 5** 白色针晶, 溶于甲醇, ESI-MS  $m/z$ : 267  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_6$ 。 $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{H}}$  8.01 (1H, d,  $J = 8.1$  Hz, H-6), 5.90 (1H, d,  $J = 4.6$  Hz, H-1'), 5.69 (1H, d,  $J = 8.1$  Hz, H-5), 4.16 (2H, m, H-2'), 4.00 (1H, m, H-3'), 3.84 (1H, m, H-4'), 3.73 (1H, m, H-5');  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{C}}$  152.4 (C-2), 166.2 (C-4), 102.6 (C-5), 142.7 (C-6), 90.7 (C-1'), 71.3 (C-2'), 75.7 (C-3'), 86.4 (C-4'), 62.3 (C-5')。根据以上数据, 结合参考文献<sup>[21]</sup>, 确定化合物为尿嘧啶核苷。

**化合物 6** 白色粉末, 溶于甲醇, ESI-MS  $m/z$ : 265  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_5$ 。 $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{H}}$  11.25 (1H, s, -NH), 7.69 (1H, s, H-6), 6.16 (1H, t,  $J = 6.3$  Hz, H-1'), 4.23 (1H, m, H-3'), 3.75 (1H, m, H-4'), 3.56 (2H, m, H-5'), 2.07 (2H, m, H-2'), 1.76 (3H, s, -CH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{C}}$  150.5 (C-2), 163.7 (C-4), 109.4 (C-5), 136.1 (C-6), 83.7 (C-1'), 39.4 (C-2'), 70.4 (C-3'), 87.2 (C-4'), 61.3 (C-5'), 12.31

(-CH<sub>3</sub>)。根据以上数据, 结合参考文献<sup>[22]</sup>, 确定化合物为胸腺嘧啶脱氧核苷。

**化合物 7** 白色粉末, 溶于甲醇, ESI-MS  $m/z$ : 281  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_6$ 。 $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{H}}$  8.08 (1H, d,  $J = 8.1$  Hz, H-6), 5.94 (1H, d,  $J = 3.6$  Hz, H-1'), 5.68 (1H, d,  $J = 8.1$  Hz, H-5), 4.33 (1H, t,  $J = 6.0$  Hz, H-3'), 3.97 (1H, m, H-4'), 3.86 (2H, m, H-5'), 3.74 (1H, dd,  $J = 3.0, 12.4$  Hz, H-2'), 3.52 (3H, s, 2'-OCH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{C}}$  152.2 (C-2), 166.2 (C-4), 102.5 (C-5), 142.4 (C-6), 88.8 (C-1'), 85.0 (C-2'), 69.8 (C-3'), 86.1 (C-4'), 61.6 (C-5'), 58.8 (2'-OCH<sub>3</sub>)。根据以上数据, 结合参考文献<sup>[23]</sup>, 确定化合物为 2'-*O*-甲基尿嘧啶核苷。

### 3 化合物 1~7 对 TGF- $\beta$ 1 诱导 BEAS-2B 细胞损伤的影响

采用 MTT 法探究 7 个化合物对 TGF- $\beta$ 1 诱导 BEAS-2B 细胞损伤的影响<sup>[24]</sup>。将 BEAS-2B 细胞置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养至对数生长期, 按照细胞密度每毫升  $2.5 \times 10^4$  个细胞, 每孔 200  $\mu\text{L}$  接种于 96 孔板中, 24 h 后分为正常组 (Control)、模型组 (TGF- $\beta$ 1, 1  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 及各给药组 (10  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  + TGF- $\beta$ 1, 1  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), 继续培养 24 h 后, 每孔加入 MTT 溶液 (5  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 20  $\mu\text{L}$ , 再继续培养 4 h, 小心吸净培养液, 每孔加入 DMSO 150  $\mu\text{L}$ , 振荡 10 min 使孔内蓝紫色结晶完全溶解。酶标仪 490 nm 测定各孔吸光度值 (OD), 计算细胞活力。实验数据以均值  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 应用 SPSS 26.0 进行统计学分析, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**作者贡献:** 刘娟娟主要负责月见草化学成分的提取、分离、化合物结构鉴定和文章的整理; 张靖柯对月见草化学成分提取、分离、结构鉴定以及文章写作时提供帮助; 张钦钦对从月见草中分离得到的化合物进行活性筛选; 李孟对月见草化学成分分离以及化合物结构鉴定出现困难时进行指导; 朱登辉、魏俊俊、郑晓柯对月见草的文献查找、化学成分提取、分离提供帮助; 冯卫生为通讯作者, 对稿件负总责。

**利益冲突:** 本文不存在利益冲突。

### References

- [1] Yu SQ, Tian YQ. Research progress on breeding, development and cultivation of the *Oenothera biennis* L. in China [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2000, 31: 72-74.
- [2] China State Administration of Traditional Chinese Materia Medica Editorial. Traditional Chinese Materia Medica (中华本草) [M]. Vol 5. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2000: 717-717.
- [3] Fecker R, Buda V, Alexa E, et al. Phytochemical and biological screening of *Oenothera biennis* L. hydroalcoholic extract [J].

- Biomolecules, 2020, 10: 1-21.
- [4] Sergio M, Ángeles FA, María ÁM, et al. The sterols isolated from evening primrose oil modulate the release of proinflammatory mediators [J]. *Phytomedicine*, 2012, 19: 1072-1076.
- [5] Soheila RF, Fatemeh K, Sharam S, et al. Hemp seed/evening primrose oil affects expression of STAT3, IL-17, and FOXP3<sup>+</sup> in experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *Res Pharm Sci*, 2019, 14: 146-154.
- [6] Fukushima M, Ohhashi T, Ohno S, et al. Effects of diets enriched in *n*-6 or *n*-3 fatty acids on cholesterol metabolism in older rats chronically fed a cholesterol-enriched diet [J]. *J Lipids*, 2001, 36: 261-266.
- [7] Zeng XP, He HM, Hu YJ. Study on the mechanism of evening primrose in lowering blood sugar, blood lipid and inhibiting thrombosis and platelet aggregation [J]. *Nat Sci J Hai'an Univ (海南大学学报自然科学版)*, 2008, 26: 78-80.
- [8] Mert H, İrak K, Cibuk S, et al. The effect of evening primrose oil (*Oenothera biennis*) on the level of adiponectin and some biochemical parameters in rats with fructose induced metabolic syndrome [J]. *Arch Physiol Biochem*, 2020, 27: 1-9.
- [9] Mehri J, Maryam K, Mohsen T, et al. Vitamin D and evening primrose oil administration improve glycemia and lipid profiles in women with gestational diabetes [J]. *J Lipids*, 2016, 51: 349-356.
- [10] Rahbeeni F, Hendrikse AS, Smuts CM, et al. The effect of evening primrose oil on the radiation response and blood flow of mouse normal and tumour tissue [J]. *Int J Radiat Biol*, 2000, 76: 871-877.
- [11] Wang X, Luo ZC, Xie D, et al. Mechanism of *Platycodon grandiflorum* in the treatment of pulmonary fibrosis based on network pharmacology [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2021, 56: 2957-2967.
- [12] Spagnolo P, Balestro E, Aliberti S, et al. Pulmonary fibrosis secondary to COVID-19: a call to arms? [J]. *Lancet Respir Med*, 2020, 8: 750-752.
- [13] Gao FL, Sun LL, Li ZY. Research progress on related mechanism regulation by traditional Chinese herbal medicine in pulmonary fibrosis [J]. *Shanghai J Tradit Chin Med (上海中医药杂志)*, 2021, 55: 91-95.
- [14] Chen JH, Shi YY, He L, et al. Protective roles of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats [J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 92: 278-281.
- [15] Meng LH, Wang H, Dong H, et al. Intervention mechanism of Yangyin Yiqi Heji to alveolus epithel mesenchymal transition in rats with pulmonary fibrosis [J]. *J Beijing Univ Tradit Chin Med (北京中医药大学学报)*, 2021, 42: 52-57.
- [16] Wang Q, Yang WH. Effect of integrin petal rhodiola herb on the expression of MMP-2 and TIMP-1 in rats with pulmonary fibrosis [J]. *J Chongqing Med Univ (重庆医科大学学报)*, 2010, 35: 689-691.
- [17] Qi SH, Zhang S, Huang H. Purine alkaloids from the South China Sea gorgonian *Subergorgia suberosa* [J]. *J Nat Prod*, 2008, 71: 716-718.
- [18] Salamone SJ, Jordan F. Synthesis of 9-(3,4-dioxopentyl)hypoxanthine, the first arginine-directed purine derivative: an irreversible inactivator for purine nucleoside phosphorylase [J]. *Biochemistry*, 1982, 21: 6383-6388.
- [19] Céline R, Hong VNT, Hoai NN, et al. *N*-Methyl-5-carboxamide-2-pyridone from *Mallotus barbatus*: a chemosystematic marker of the Euphorbiaceae genus *Mallotus* [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2012, 44: 212-215.
- [20] Yang SY, Li ZL, Zhao YM, et al. Chemical constituents from flowers of *Abelmoschus manihot* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs (中草药)*, 2017, 48: 2827-2831.
- [21] Wang B, Liu P, Shen YM, et al. Chemical constituents from *Rhodobryum roseum* (Hedw.) Limpr [J]. *China J Chin Mater Med (中国中药杂志)*, 2005, 30: 895-897.
- [22] Yao CF, Wang Y, Jiang L, et al. Chemical constituents of *Sedum bulbiferum* [J]. *J Chin Med Mater (中药材)*, 2018, 41: 1369-1371.
- [23] Li DD, Ding LQ, Yang L, et al. Nitrogenous compounds from *Sargassum pallidum* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs (中草药)*, 2017, 48: 1735-1739.
- [24] Chu N, Zhang X, Chen SY, et al. Luteolin has a significant protective effect against cadmium-induced injury in lung epithelial BEAS-2B cells [J]. *J South Med Univ (南方医科大学学报)*, 2021, 41: 729-735.