

## 毛大丁草中一对新的香豆素类对映异构体

高 哈<sup>1,2</sup>, 赵晨旭<sup>1,2</sup>, 罗心遥<sup>2,3</sup>, 李靖荣<sup>2,4</sup>, 孙彦君<sup>1</sup>, 张 涛<sup>2\*</sup>, 邹忠梅<sup>1,2\*</sup>

(1. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046; 2. 中国医学科学院、北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193; 3. 湖北中医药大学药学院中药资源与中药化学省级重点实验室, 湖北 武汉 430065; 4. 贵州医科大学, 贵州 贵阳 550000)

**摘要:** 采用硅胶柱色谱、MCI柱色谱、半制备高效液相色谱等技术从毛大丁草 (*Gerbera piloselloides*) 全草 95% 乙醇提取物中分离纯化得到 10 个化合物。根据其理化性质、波谱数据 (UV、IR、MS、NMR)、圆二色谱 (CD) 和单晶 X 射线衍射等技术鉴定化合物结构, 分别为 3'*R*-毛大丁香素 A (**1a**)、3'*S*-毛大丁香素 A (**1b**)、gymnastone (**2**)、大丁苷 (**3**)、divaricataester C (**4**)、木犀草素 (**5**)、咖啡酸甲酯 (**6**)、绿原酸乙酯 (**7**)、6-( $\beta$ -D-glucopyranosyloxy)-7-methoxy-5-benzoranpropanoic acid methyl ester (**8**) 和 glucozaluzanin C (**9**)。其中化合物 **1a** 和 **1b** 为新化合物且为光学对映异构体, 通过手性拆分得到, 并经量子化学计算 ECD 确定了其绝对构型。化合物 **1** 和 **1a/1b** 能显著提高 LPS 损伤后的大鼠小肠隐窝上皮细胞 IEC-6 的存活率。

**关键词:** 菊科; 毛大丁草; X 射线衍射; 对映异构体; 存活率

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2022)09-2774-06

## A new pair of coumarin-like enantiomeric isomers from *Gerbera piloselloides*

GAO Ha<sup>1,2</sup>, ZHAO Chen-xu<sup>1,2</sup>, LUO Xin-yao<sup>2,3</sup>, LI Jing-rong<sup>2,4</sup>, SUN Yan-jun<sup>1</sup>,  
ZHANG Tao<sup>2\*</sup>, ZOU Zhong-mei<sup>1,2\*</sup>

(1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union College, Beijing 100193, China; 3. Pharmacy Faculty Hubei University of Chinese Medicine, Hubei Provincial Key Laboratory of Chinese Medicine Resource, Wuhan 430065, China; 4. Guizhou Medical University, Guizhou 550000, China)

**Abstract:** Ten compounds were isolated from the 95% ethanol extract of the whole plant of *Gerbera piloselloides* by silica gel column chromatography, MCI column chromatography and semi-preparative HPLC methods. Their structures were identified on the basis of physicochemical properties, spectral data (UV, IR, MS and NMR), circular dichroism (CD) spectra and single crystal X-ray diffraction analysis as 3'*R*-gerpiloscoumarin A (**1a**), 3'*S*-gerpiloscoumarin A (**1b**), gymnastone (**2**), gerberinside (**3**), divaricataester C (**4**), luteolin (**5**), caffeic acid methyl ester (**6**), ethyl chlorogenate (**7**), 6-( $\beta$ -D-glucopyranosyloxy)-7-methoxy-5-benzoranpropanoic acid methyl ester (**8**) and glucozaluzanin C (**9**). Among them, new compounds **1a** and **1b** were new compounds and optical enantiomers, which were obtained by chiral resolution, and their absolute configurations were determined by quantum chemical calculation ECD. Compounds **1** and **1a/1b** significantly increased the survival of IEC-6 in rat small intestinal crypt epithelial cells after LPS injury.

**Key words:** compositae; *Gerbera piloselloides*; X-ray; enantiomer; survival rate

收稿日期: 2022-04-08; 修回日期: 2022-04-19.

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目 (2021-I2M-1-028); 国家“重大新药创制”科技重大专项 (2019ZX09735002).

\*通讯作者 Tel: 86-10-57833281, E-mail: tzhang@implad.ac.cn;

Tel: 86-10-57833290, E-mail: hbzmzou@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2022-0407



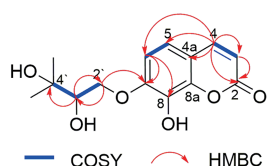


Figure 2  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY and key HMBC correlations of **1**

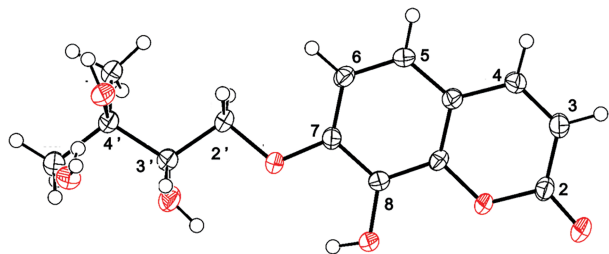


Figure 3 X-ray crystal structure of **1**

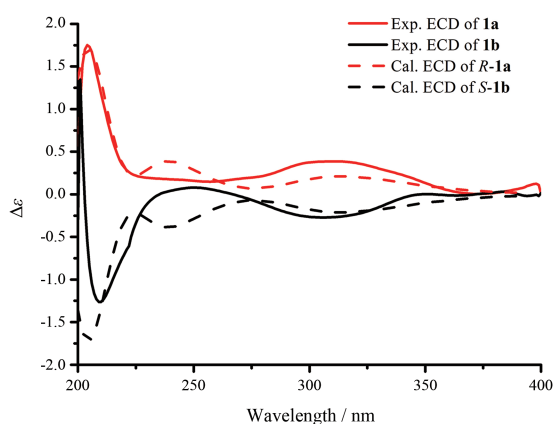


Figure 4 Experimental and calculated ECD spectra of **1a/1b**

培养溶剂为: 二氯甲烷-甲醇 (1:1, v/v), 晶体数据为:  $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_7$ ,  $M = 298.28$ ,  $T = 100.00$  K, 空间群是 P-1, 晶胞参数:  $a = 7.1806(3)$  Å,  $b = 9.5570(3)$  Å,  $c = 11.4830(3)$  Å,  $\alpha = 112.1281(3)^\circ$ ,  $\beta = 93.259(3)^\circ$ ,  $\gamma = 107.820(3)^\circ$ ,  $V = 681.59(4)$  Å<sup>3</sup>,  $Z = 2$ ,  $\rho = 1.322$  g·cm<sup>-3</sup>,  $\mu$  (Cu K $\alpha$ ) = 0.997 mm<sup>-1</sup>; 最终一致因子 [ $I > 2\sigma(I)$ ]:  $R_1 = 0.0484$ , 和  $wR_2 = 0.1459$ ; Flack 参数为  $N$ 。最后, 单晶数据提交保存至 Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC) 数据库, CCDC 号为 2143556。

## 2 化合物活性测试

采用 CCK-8 法对化合物 **1** 和 **1a/1b** 进行了肿瘤细胞毒活性测试, 结果显示, 化合物 **1** 和 **1a/1b** 对人乳腺癌细胞 MCF-7 和胃癌细胞 SGC-7091 均未表现出明显的抑制作用 ( $\text{IC}_{50} > 100$   $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )。此外, 还采用 CCK-8 法考察了化合物 **1** 和 **1a/1b** 对大鼠小肠隐窝上皮细胞 IEC-6 增殖的影响, 结果表明, 化合物 **1** 和 **1a/1b** 在  $50$   $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  剂量下对 IEC-6 未表现出毒性作用。在 LPS 诱导的 IEC-6 细胞损伤模型中, 当剂量为  $25$   $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$

时, 化合物 **1** 和 **1a/1b** 组的细胞存活率分别提高了 1.08 倍、1.09 倍和 1.07 倍; 当剂量为  $50$   $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 化合物 **1** 和 **1a/1b** 组的细胞存活率分别提高了 1.16 倍、1.17 倍和 1.15 倍 (图 5)。结果显示, 化合物 **1** 和 **1a/1b** 能显著提高 LPS 损伤后的 IEC-6 细胞存活率, 并呈现出一定程度的剂量依赖关系, 表明化合物 **1** 和 **1a/1b** 能显著提高 LPS 损伤后 IEC-6 细胞的存活率。

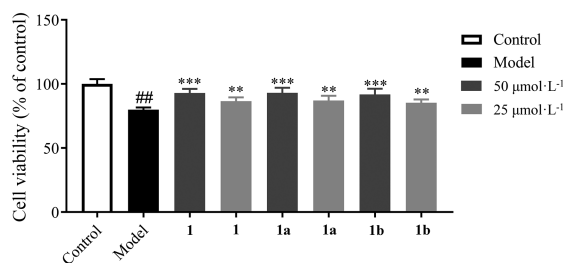


Figure 5 Effect of compound **1** and **1a/1b** on the survival rate of IEC-6 cells under the effect of LPS. ## $P < 0.01$  vs Control; \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  vs Model

## 实验部分

Bio-Rad FTS-65A 红外光谱仪 (Bio-Rad, 美国), UV2501 紫外分光光度仪 (Shimadzu, 日本), Bruker AM 600 型核磁共振仪 (Bruker, 瑞士), LTQ Orbitrap XL Mass (Thermo, 美国), Waters 2535 型 semi-PHPLC (配置 2489 型 UV 检测器) (Waters, 美国), YMC-Pack ODS-A 色谱柱 ( $5$   $\mu\text{m}$ ,  $30$  mm  $\times$   $250$  mm, YMC, 日本), YMC-Pack ODS-A 色谱柱 ( $5$   $\mu\text{m}$ ,  $20$  mm  $\times$   $250$  mm, YMC, 日本), YMC-Pack ODS-A 色谱柱 ( $5$   $\mu\text{m}$ ,  $10$  mm  $\times$   $250$  mm, YMC, 日本), Chiralpak<sup>®</sup>IBN-5 手性柱 ( $5$   $\mu\text{m}$ ,  $4.6$  mm  $\times$   $250$  mm, Daicel corporation, 日本), Buchi Heating Both II490 型旋转蒸发仪 (Buchi, 瑞士), 柱色谱用硅胶 ( $60\sim 100$  目,  $100\sim 200$  目,  $200\sim 300$  目) 和薄层色谱用硅胶 GF<sub>254</sub> (青岛海洋化工厂), 真空隔膜泵 (ILMVAC, 德国), SHB-B 型循环水式真空泵 (郑州长城科工贸有限公司), JY02S 型紫外分析仪 (北京君意设备有限公司), 色谱甲醇 (天津市永大化学试剂有限公司), 色谱乙腈 (天津市永大化学试剂有限公司), 常规试剂均为分析级 (北京化工厂), H1 多功能酶标仪 (Biotek, 美国), BE-9008 酶标仪恒温振荡器 (其林贝尔), CKX41 显微镜 (OLYMPUS, 日本), 洁净工作台 (北京东联哈尔仪器), MCO-15AC 细胞孵育箱 (SANYO, 日本)。脂多糖 (LPS, SIGMA-Aldrich, 美国), 细胞级 DMSO、DMEM 培养基、胎牛血清 (FBS) (Gibco 生物技术有限公司), 大鼠小肠隐窝上皮细胞 (IEC-6, 上海酶研生物科技有限公司, 源自美国 ATCC 公司), 乳腺癌细胞 (MCF-7) 与胃癌细胞 (SCG-7901) (中国医学科学院基础医学研

究所国家实验细胞资源共享平台), Pen Strep (缩写 PS, 北京索莱宝科技有限公司), 胰岛素 (insulin, SIGMA 公司, 美国), 细胞增殖及毒性检测试剂盒 (CCK-8, 大连美仑生物技术有限公司)。

毛大丁草于 2019 年 11 月采自广西省玉林市, 经广西中医药研究院中药资源研究所黄云峰研究员鉴定为菊科大丁草属植物毛大丁草 *Gerbera piloselloides* (L.) Cass 干燥全草。标本 (SCI-NCL006379-1) 现存于中国医学科学院药用植物研究所国家中药化合物库。

## 1 提取分离

毛大丁草全草 30 kg, 粉碎后用 10 倍量的 95% 乙醇加热回流提取 2 次, 每次 2 h, 过滤后合并提取液, 减压浓缩得总浸膏 2.1 kg, 浸膏加水混悬至 5 L, 分别用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、水进行萃取, 最后得到石油醚部位 Fr. A (171 g)、乙酸乙酯部位 Fr. B (1 067 g)、正丁醇部位 Fr. C (287 g)、水部位 Fr. D (343 g)。

取乙酸乙酯部位 Fr. B (1 045 g) 进行硅胶柱色谱 (60~100 目) 分离, 以石油醚-乙酸乙酯系统 (40:1~0:100) 梯度洗脱, 通过 TLC 检识合并得到 6 个组分, 即 Fr. B<sub>1</sub>~Fr. B<sub>6</sub>。Fr. B<sub>5</sub> (202 g) 经硅胶柱色谱 (100~200 目) 分离, 以二氯甲烷-甲醇系统 (80:1~0:100) 洗脱, 通过 TLC 检识合并得到 4 个组分, 即 Fr. B<sub>5,1</sub>~Fr. B<sub>5,4</sub>。Fr. B<sub>5,4</sub> (56 g) 经硅胶柱色谱 (200~300 目) 分离, 以二氯甲烷-甲醇系统 (25:1) 等度洗脱, 通过 TLC 合并得到 2 个组分, 即 Fr. B<sub>5,4,1</sub> 和 Fr. B<sub>5,4,2</sub>。Fr. B<sub>5,4,1</sub> (26 g) 经 MCI 柱色谱后再经半制备高效液相 (甲醇-水 50:50) 分离得到 6 个组分, 即 Fr. B<sub>5,4,1,1</sub>~Fr. B<sub>5,4,1,6</sub>。Fr. B<sub>5,4,1,2</sub> 经半制备高效液相分离得到 7 个组分, 即 Fr. B<sub>5,4,1,2,1</sub>~Fr. B<sub>5,4,1,2,7</sub>。Fr. B<sub>5,4,1,2,3</sub> 经半制备高效液相分离得到化合物 **2** (甲醇-水 35:65,  $t_R = 20.5$  min, 10.5 mg)。Fr. B<sub>5,4,1,2,4</sub> 经半制备高效液相分离得到化合物 **3** (甲醇-水 35:65,  $t_R = 30.3$  min, 78 mg)。Fr. B<sub>5,4,1,2,6</sub> 经半制备高效液相分离得到化合物 **1** (甲醇-水 35:65,  $t_R = 33.0$  min, 19 mg), **1** 经 Chiralpak<sup>®</sup> IBN-5 手性柱 (5  $\mu$ m, 4.6 mm  $\times$  250 mm) 拆分得到化合物 **1a** (正己烷-异丙醇 80:20,  $t_R = 14.2$  min, 1.5 mg) 和化合物 **1b** (正己烷-异丙醇 80:20,  $t_R = 17.2$  min, 1.3 mg)。Fr. B<sub>5,4,1,4</sub> 经半制备高效液相分离得到 6 个组分, 即 Fr. B<sub>5,4,1,4,1</sub>~Fr. B<sub>5,4,1,4,6</sub>。Fr. B<sub>5,4,1,4,4</sub> 经半制备高效液相分离得到化合物 **4** (甲醇-水 23:77,  $t_R = 77.0$  min, 7.0 mg)。Fr. B<sub>5,4,1,5</sub> 经半制备高效液相分离得到化合物 **5** (甲醇-水 50:50,  $t_R = 33.5$  min, 4.8 mg)。Fr. B<sub>5,4,2</sub> (30 g) 经 MCI 柱色谱分离, 以甲醇-水系统 (70:1~0:100) 洗脱, 通过 TLC 合并得到 4 个组分, 即 Fr. B<sub>5,4,2,1</sub>~Fr. B<sub>5,4,2,4</sub>。Fr. B<sub>5,4,2,2</sub> 经硅胶柱色谱 (200~300 目) 分离, 以二氯甲烷-甲醇系统 (30:1~1:1) 洗脱, 通过

TLC 检识合并得到 4 个组分, 即 Fr. B<sub>5,4,2,2,1</sub>~Fr. B<sub>5,4,2,2,4</sub>。Fr. B<sub>5,4,2,2,1</sub> 经半制备高效液相 (乙腈-水 25:75) 分离得到 3 个组分, 即 Fr. B<sub>5,4,2,2,1,1</sub>~Fr. B<sub>5,4,2,2,1,3</sub>。Fr. B<sub>5,4,2,2,1,1</sub> 经半制备高效液相分离得到化合物 **6** (乙腈-水 25:75,  $t_R = 45.4$  min, 60 mg)。Fr. B<sub>5,4,2,2,3</sub> 经半制备高效液相 (乙腈-水 21:79) 分离得到 5 个组分, 即 Fr. B<sub>5,4,2,2,3,1</sub>~Fr. B<sub>5,4,2,2,3,5</sub>。Fr. B<sub>5,4,2,2,3,2</sub> 经半制备高效液相分离得到化合物 **7** (乙腈-水 24:76,  $t_R = 32.2$  min, 24 mg)。Fr. B<sub>5,4,2,2,3,4</sub> 经半制备高效液相分离得到化合物 **8** (乙腈-水 30:70,  $t_R = 24.4$  min, 2.5 mg) 和化合物 **9** (乙腈-水 25:75,  $t_R = 33.1$  min, 2.0 mg)。

## 2 结构鉴定

化合物 **1** 无色针晶, mp 120~123  $^{\circ}$ C, 易溶于甲醇。254 nm 下显示为暗斑, 10% 浓硫酸乙醇溶液加热后显黄色 (105  $^{\circ}$ C), UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log $\epsilon$ )/nm: 214 (3.89)、260 (3.72)、315 (3.88), IR ( $\nu_{max}$ )/cm<sup>-1</sup>: 3 370、1 714、1 568、1 621。HR-ESI-MS  $m/z$ : 279.086 4 [M-H]<sup>-</sup> (计算值 C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>O<sub>6</sub>, 279.086 9)。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD) 和 <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD) 数据见表 1。

3'R-毛大丁香豆素 A (**1a**): [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> +25 ( $c$  0.1, MeOH), ECD (MeOH) ( $\Delta\epsilon$ )/nm: 204 (+1.75)、257 (+0.15)、311 (+0.39)。

3'S-毛大丁香豆素 A (**1b**): [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> -20 ( $c$  0.1, MeOH), ECD (MeOH) ( $\Delta\epsilon$ )/nm: 209 (-1.26)、250 (-0.08)、306 (-0.27)。

化合物 **2** 黄色油状物, 易溶于甲醇, HR-ESI-MS  $m/z$ : 265.071 9 [M-H]<sup>-</sup> (计算值 265.071 2, C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>O<sub>6</sub>), 推测分子式为 C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta_{H}$ : 12.67 (1H, s, 5-OH), 7.82 (1H, s, H-7), 7.20 (1H, s, H-4), 7.19 (1H, s, H-3), 4.67 (2H, d,  $J = 11.1$  Hz, H-13), 4.63 (2H, d,  $J = 11.1$  Hz, H-14), 2.60 (3H, s, 11-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta_C$  168.9 (C-2), 105.2 (C-3), 107.8 (C-4), 159.1 (C-5), 116.6 (C-6), 113.4 (C-7), 148.6 (C-8), 137.6 (C-9), 204.8 (C-10), 27.2 (C-11), 77.2 (C-12), 66.5 (C-13), 66.5 (C-14)。以上数据与文献<sup>[12]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **2** 为 gymnastone。

化合物 **3** 无定形粉末, 易溶于甲醇, HR-ESI-MS  $m/z$ : 337.095 1 [M-H]<sup>-</sup> (计算值 C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>O<sub>8</sub>, 337.092 3), 推测分子式为 C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>O<sub>8</sub>。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta_{H}$  7.47 (1H, t,  $J = 7.8$  Hz, H-7), 7.19 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-8), 7.14 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-6), 5.98 (1H, s, H-3), 5.24 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-1'); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta_C$  164.9 (C-2), 94.1 (C-3), 169.0 (C-4), 139.0 (C-5), 23.8 (5-CH<sub>3</sub>), 129.2 (C-6), 133.2 (C-7), 116.0 (C-8), 156.1 (C-9), 115.4 (C-10), 101.2 (C-1'), 74.6 (C-2'),

78.6 (C-3'), 70.8 (C-4'), 78.3 (C-5'), 62.2 (C-6')。以上数据与文献<sup>[13]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物**3**为大丁苷。

**化合物4** 棕色固体, 易溶于甲醇, HR-ESI-MS  $m/z$ : 425.146 4 [M-H]<sup>-</sup> (计算值 425.144 8, C<sub>20</sub>H<sub>25</sub>O<sub>10</sub>), 推测分子式为 C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>O<sub>10</sub>。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta_{\text{H}}$  7.66 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-2), 7.05 (1H, s, H-4), 6.70 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-3), 5.05 (1H, d,  $J = 7.4$  Hz, H-1''), 4.08 (3H, s, 7-OCH<sub>3</sub>), 3.06 (1H, m, H-1'), 3.06 (2H, q,  $J = 7.1$  Hz, H-4'), 2.67 (1H, m, H-2'), 1.17 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz, H-5'); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta_{\text{C}}$  147.2 (C-2), 107.6 (C-3), 127.0 (C-3a), 115.8 (C-4), 132.3 (C-5), 144.5 (C-6), 139.0 (C-7), 61.5 (7-OCH<sub>3</sub>), 146.7 (C-7a), 27.6 (C-1'), 36.0 (C-2'), 175.6 (C-3'), 61.4 (C-4'), 14.5 (C-5'), 105.2 (C-1''), 75.8 (C-2''), 78.3 (C-3''), 71.5 (C-4''), 77.9 (C-5''), 62.6 (C-6'')。以上数据与文献<sup>[14]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物**4**为 divaricataester C。

**化合物5** 黄色针晶, mp 329~311 °C, 易溶于甲醇, HR-ESI-MS  $m/z$ : 285.039 7 [M-H]<sup>-</sup> (计算值 285.039 9, C<sub>15</sub>H<sub>9</sub>O<sub>6</sub>), 推测分子式为 C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)  $\delta_{\text{H}}$  7.94 (1H, d,  $J = 1.9$  Hz, H-2'), 7.57 (1H, dd,  $J = 8.3, 1.9$  Hz, H-6'), 7.32 (1H, d,  $J = 8.3$  Hz, H-5'), 6.97 (1H, s, H-3), 6.76 (1H, s, H-6), 6.76 (1H, s, H-8); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)  $\delta_{\text{C}}$  165.5 (C-2), 104.6 (C-3), 183.4 (C-4), 159.2 (C-5), 100.6 (C-6), 166.5 (C-7), 95.4 (C-8), 163.8 (C-9), 105.6 (C-10), 120.2 (C-1'), 115.3 (C-2'), 148.5 (C-3'), 152.4 (C-4'), 117.5 (C-5'), 124.5 (C-6')。以上数据与文献<sup>[15]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物**5**为木犀草素。

**化合物6** 淡黄色固体, 易溶于甲醇, HR-ESI-MS  $m/z$ : 193.051 3 [M-H]<sup>-</sup> (计算值 193.050 1, C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>O<sub>4</sub>), 推测分子式为 C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta_{\text{H}}$  7.49 (1H, d,  $J = 15.9$  Hz, H-8), 6.98 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-2), 6.89 (1H, dd,  $J = 8.2, 2.0$  Hz, H-6), 6.72 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz, H-5), 6.21 (1H, d,  $J = 15.9$  Hz, H-7); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta_{\text{C}}$  127.6 (C-1), 115.1 (C-2), 146.8 (C-3), 149.6 (C-4), 116.5 (C-5), 122.9 (C-6), 114.8 (C-7), 146.9 (C-8), 169.7 (C-9), 52.0 (9-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[16]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物**6**为咖啡酸甲酯。

**化合物7** 淡黄色粉末, 易溶于甲醇, HR-ESI-MS  $m/z$ : 381.121 0 [M-H]<sup>-</sup> (计算值 381.118 6, C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>O<sub>9</sub>), 推测分子式为 C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>O<sub>9</sub>。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta_{\text{H}}$  7.47 (1H, d,  $J = 15.8$  Hz, H-7'), 6.97 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-2'), 6.88 (1H, dd,  $J = 8.2, 1.8$  Hz, H-6'), 6.72 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz, H-5'), 6.17 (1H, d,  $J = 15.8$  Hz, H-8'), 5.22 (1H, m, H-3), 4.09 (2H, m, H-8), 4.04 (1H, m, H-5), 3.68

(1H, dd,  $J = 7.4, 2.9$  Hz, H-4), 2.16 (2H, m, H-6), 2.10 (2H, m, H-2), 1.23 (1H, t,  $J = 7.1$  Hz, H-9); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta_{\text{C}}$  75.7 (C-1), 38.0 (C-2), 72.1 (C-3), 72.5 (C-4), 70.3 (C-5), 37.7 (C-6), 174.9 (C-7), 62.5 (C-8), 14.3 (C-9), 127.6 (C-1'), 115.0 (C-2'), 146.8 (C-3'), 149.7 (C-4'), 116.5 (C-5'), 123.0 (C-6'), 147.2 (C-7'), 115.0 (C-8'), 168.3 (C-9')。以上数据与文献<sup>[17]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物**7**为绿原酸乙酯。

**化合物8** 无色油状, 易溶于甲醇, HR-ESI-MS  $m/z$ : 411.133 7 [M-H]<sup>-</sup> (计算值 411.129 1, C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>O<sub>10</sub>), 推测分子式为 C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>O<sub>10</sub>。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta_{\text{H}}$  7.62 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-2), 7.00 (1H, s, H-4), 6.66 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-3), 5.01 (1H, d,  $J = 7.4$  Hz, H-1'), 4.04 (3H, s, 7-OCH<sub>3</sub>), 3.56 (3H, s, 3'-OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta_{\text{C}}$  147.2 (C-2), 107.6 (C-3), 127.1 (C-3a), 115.7 (C-4), 132.3 (C-5), 144.5 (C-6), 139.0 (C-7), 61.4 (7-OCH<sub>3</sub>), 146.7 (C-7a), 26.2 (C-1'), 35.8 (C-2'), 176.0 (2'-COO<sup>-</sup>), 52.1 (3'-OCH<sub>3</sub>), 105.2 (C-1''), 75.8 (C-2''), 78.3 (C-3''), 71.5 (C-4''), 77.9 (C-5''), 62.5 (C-6'')。以上数据与文献<sup>[18]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物**8**为 6- $\beta$ -D-glucopyranosyloxy)-7-methoxy-5-benzoranpropanoic acid methyl ester。

**化合物9** 无色针晶, mp 103~105 °C, 易溶于甲醇, HR-ESI-MS  $m/z$ : 407.169 9 [M-H]<sup>-</sup> (计算值 407.170 6, C<sub>21</sub>H<sub>27</sub>O<sub>8</sub>), 推测分子式为 C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>O<sub>8</sub>。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta_{\text{H}}$  6.07 (1H, d,  $J = 3.6$  Hz, H-13), 5.53 (1H, d,  $J = 3.6$  Hz, H-13), 5.40 (1H, br s, H-15), 5.32 (1H, br s, H-15), 4.99 (1H, br s, H-14), 4.88 (1H, br s, H-14), 4.62 (1H, m, H-3), 4.43 (1H, d,  $J = 7.9$  Hz, H-1'), 4.25 (1H, dd,  $J = 10.3, 9.0$  Hz, H-6), 2.98 (1H, dd,  $J = 17.2, 9.0$  Hz, H-5), 2.86 (1H, m, H-7), 2.75 (1H, m, H-1), 2.48 (1H, m, H-9), 2.31 (1H, m, H-2), 2.25 (1H, m, H-8), 2.24 (1H, m, H-9), 1.93 (1H, m, H-2), 1.42 (1H, m, H-8); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta_{\text{C}}$  46.4 (C-1), 38.6 (C-2), 81.3 (C-3), 150.8 (C-4), 51.8 (C-5), 85.2 (C-6), 46.2 (C-7), 31.6 (C-8), 34.4 (C-9), 150.1 (C-10), 142.1 (C-11), 172.3 (C-12), 120.4 (C-13), 114.7 (C-14), 113.6 (C-15), 103.1 (C-1'), 75.3 (C-2'), 78.2 (C-3'), 71.8 (C-4'), 77.9 (C-5'), 62.8 (C-6')。以上数据与文献<sup>[19]</sup>报道基本一致, 故鉴定为化合物**9**为 glucozaluzanin C。

### 3 活性测定

**3.1 细胞毒性测定** 采用 CCK-8 法检测化合物**1**和化合物**1a/1b**对乳腺癌细胞 MCF-7 和胃癌细胞 SGC-7091 的细胞毒活性。

**3.2 对正常 IEC-6 细胞增值的影响<sup>[20]</sup>** 取对数生长

期 IEC-6 细胞以每孔  $1 \times 10^4$  接种于 96 孔板中, 培养 24 h 后吸出培养上清, 加入不同浓度 ( $25, 50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 的化合物 **1** 和 **1a/1b**, 对照组加入等量含 0.1% 的 DMSO 的完全培养基; 在  $\text{CO}_2$  孵育箱中继续培育 24 h 后, 每孔加 CCK-8  $10 \mu\text{L}$ , 培养 1 h,  $450 \text{ nm}$  波长处测定每孔吸光度值, 计算细胞增殖率。

**3.3 对 LPS 作用下 IEC-6 细胞增殖的影响**<sup>[20]</sup> 取对数生长期 IEC-6 细胞以每孔  $1 \times 10^4$  接种于 96 孔板中, 培养 24 h。加入 LPS ( $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 和不同浓度 ( $25, 50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 的化合物 **1** 和 **1a/1b**, 模型组加不含药物的等量含 0.1% 的 DMSO 完全培养基; 空白对照组加入等量含 0.1% 的 DMSO 完全培养基; 在  $\text{CO}_2$  孵育箱中继续培育 24 h, 各孔加 CCK-8  $10 \mu\text{L}$ , 培养 1 h,  $450 \text{ nm}$  波长处测定每孔吸光度值, 计算细胞增殖率。

**作者贡献:** 邹忠梅负责研究方案设计、写作建议并最终定稿; 张涛负责指导实验、写作指导及论文修改; 高哈负责实验工作、数据处理分析及文章撰写; 赵晨旭协助对毛大丁草化学成分分离及鉴定; 罗心遥和李靖荣协助活性测试; 孙彦君对实验中遇到的问题给予帮助和指导。

**利益冲突:** 所有作者均声明不存在利益冲突。

## References

- [1] Cheng YQ. Flora of China (中国植物志) [M]. Beijing: Science Press, 1996, 79: 94.
- [2] Zhang BX, Wang JJ, Lei QY, et al. Progress of research on chemical composition and pharmacological effects of the ethnomedicinal plant *Gerbera piloselloides* [J]. Nanjing Univ Tradit Chin Med (南京中医药大学学报), 2019, 35: 351-355.
- [3] Jiangsu New Medical College. Chinese Medicine Dictionary: The First Book (中药大辞典: 上册) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1997: 446.
- [4] Wang JJ. Study on the Plants *Elephantopus scaber* and *Gerbera piloselloides* from Medicinal Marker of Dragon-Boat Festival in Jingxi County, Guangxi Zhuang Autonomous Region (广西靖西壮族端午药市植物地胆草和毛大丁草的研究) [D]. Beijing: Minzu University of China, 2013.
- [5] Luo L, Deng JM, Liao HW, et al. GC-MS analysis of the volatile oil composition of *Gerbera piloselloides* [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2013, 36: 944-945.
- [6] Guo MX, Hu YT, Lu CF, et al. Anti-cough, expectorant and asthma effects of aqueous decoction of *Gerbera piloselloides* root on test animals [J]. J Dali Univ (大理学院学报), 2013, 114: 1-4.
- [7] Zhang T, Wang HH, Che M, et al. Anti-tumor activity study based on reverse target finding [J]. Comput Appl Chem (计算机与应用化学), 2016, 33: 353-358.
- [8] Long CL, Wang JJ, Shi YN, et al. Ethnobotany of and antioxidants from *Gerbera piloselloides* [J]. Planta Med, 2014, 80: 839.
- [9] Liu B, Guo MX, Liu Y, et al. Effects of alcoholic extracts of *Gerbera piloselloides* on rat isolated uterus [J]. J Dali Univ (大理学院学报), 2013, 114: 90-92.
- [10] Huang R, Fu XH. Research on the extraction of flavonoids from the fruits of *Pyracantha fortuneana* and their whitening activity [J]. Chem Res Appl, 2015, 18: 60-62.
- [11] Zhao CX, Gao H, Sun YJ, et al. Study on the chemical constituents of *Gerbera piloselloides* [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2021, 43: 3061-3067.
- [12] Liao PY, Zhang YJ, Wang YF, et al. Chemical constituents of Guangdong Tu-Niu-Xi [J]. Acta Bot Yunnan (云南植物研究), 2010, 32: 183-188.
- [13] He F, Wang M, Gao MH. Chemical composition and biological activities of *Gerbera anandria* [J]. Molecules, 2014, 19: 4046-4057.
- [14] Kang J, Zhou L, Sun JH, et al. Three new compounds from the roots of *Saposhnikovia divaricate* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2008, 10: 971-976.
- [15] Yang Y, Li XZ, Zhang QH, et al. Studies on the chemical components of *Nelumbinis plumula* and the inhibitory activity on protein disulfide isomerase [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2017, 42: 3004-3010.
- [16] Fujioka T, Furumi K, Fujii H, et al. Antiproliferative constituents from Umbelliferae plants. V. A new furanocoumarin and falcariindiol furanocoumarin ethers from the root of *Angelica japonica* [J]. Chem Pharm Bull, 1999, 47: 96-100.
- [17] Chen H, Cao B, Zhu Y, et al. Chemical constituents from root bark of *Lycium chinense* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2019, 50: 1299-1304.
- [18] Elgamal MHA, Shalaby NMM, Duddeck H. Isolation of two adjuncts from the fruits of *Ammi Majus* L [J]. Nat Prod Lett, 1993, 3: 209-212.
- [19] Hofer O, Szab G, Greger H, et al. Leaf coumarins from the *Artemisia laciniata* group [J]. Eur J Org Chem, 1986, 1986: 2142-2149.
- [20] Nie L, Peng L, Zhang H, et al. Anti-inflammatory effect of astragaloside on LPS-induced small intestinal epithelial cells (IEC-6) in rats [J]. Mod Food Sci Technol (现代食品科技), 2020, 36: 17-23.