

云南野独活的化学成分研究

刘志莹¹, 葛 格¹, 刘庭亮², 郑文琳², 郭亚萍², 王书云^{1*}, 吴 炎^{2*}

(1. 河南大学药学院, 河南 开封 475004; 2. 深圳技术大学药学院, 广东 深圳 518118)

摘要: 采用硅胶柱色谱、LH-20 葡聚糖凝胶柱色谱及半制备液相等色谱分离技术, 从云南野独活 (*Milium tenuistipitata* W. T. Wang) 枝叶的 95% 乙醇提取物中分离得到 20 个化合物。通过多种现代波谱学方法鉴定化合物结构, 分别为 tenuistone L (1)、tenuistone K (2)、樱花素 (3)、藿香黄酮醇 (4)、雷杜辛黄酮醇 (5)、垂叶黄素 (6)、蔓荆子黄素 (7)、3,7-二甲氧基-5,3',4'-三羟基黄酮 (8)、泽兰黄酮 (9)、(+)-miliusol (10)、miliusane XIX (11)、miliusane XVIII (12)、miliusolide (13)、19,20-dihydromiliusolide (14)、debilisone C (15)、goniothalamusin (16)、2,10-dihydroxy-3,9-dimethoxy-8-oxo-protoberberine (17)、consanguine B (18)、6-羟基豆甾-4,22-二烯-3-酮 (19) 和 6-羟基豆甾-4-烯-3-酮 (20), 其中化合物 1 和 2 为新化合物, 化合物 6、9、18 和 20 为首次从番荔枝科植物中分离得到, 化合物 5、7、17 和 19 为首次从野独活属植物中分离得到。采用 MTT 法进行抗肿瘤活性测试, 结果发现化合物 10 和 11 可以显著抑制 MDA-MB-231 和 BT-549 细胞增殖, 其半数抑制浓度 (IC₅₀) 为 0.98~4.85 μmol·L⁻¹。

关键词: 云南野独活; 番荔枝科; 化学成分; 抗肿瘤活性

中图分类号: R284

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870(2025)03-0646-09

Chemical constituents from *Milium tenuistipitata*

LIU Zhi-ying¹, GE Ge¹, LIU Ting-liang², ZHENG Wen-lin², GUO Ya-ping²,
WANG Shu-yun^{1*}, WU Yan^{2*}

(1. School of Pharmacy, Henan University, Kaifeng 475004, China; 2. College of Pharmacy, Shenzhen Technology University, Shenzhen 518118, China)

Abstract: Twenty compounds were isolated from the twigs and leaves of the 95% ethanol extract of *Milium tenuistipitata* W. T. Wang by various chromatographic techniques including silica gel column chromatography, sephadex LH-20 and preparative HPLC. Their structures were determined by analysis of spectral data as tenuistone L (1), tenuistone K (2), sakuranetin (3), pachypodol (4), retusin (5), penduletin (6), casticine (7), 3,7-dimethoxy-5,3',4'-tri-hydroxyflavone (8), eupatin (9), (+)-miliusol (10), miliusane XIX (11), miliusane XVIII (12), miliusolide (13), 19,20-dihydromiliusolide (14), debilisone C (15), goniothalamusin (16), 2,10-dihydroxy-3,9-dimethoxy-8-oxo-protoberberine (17), consanguine B (18), 6β-hydroxystigmasta-4,22-dien-3-one (19) and 6β-hydroxystigmast-4-en-3-one (20), respectively. Among them, compounds 1 and 2 are new compounds, compounds 6, 9, 18 and 20 are isolated from Annonaceae plants for the first time and compounds 5, 7, 17 and 19 are isolated from the genus *Milium* for the first time. Human triple negative breast cancer cells (MDA-MB-231 and BT-549) were used to evaluate the antitumor activity of these isolates by MTT assay. Compounds 10 and 11 showed significant anti-proliferation activity against the test cells with half inhibition concentration (IC₅₀) of 0.98-4.85 μmol·L⁻¹.

Key words: *Milium tenuistipitata*; Annonaceae; chemical constituent; antitumor activity

收稿日期: 2024-08-12; 修回日期: 2024-11-22.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82004061).

*通讯作者 E-mail: wangshuyun0426@163.com; wuyan1219@yeah.net

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2024-0772

云南野独活 (*Milusa tenuistipitata* W. T. Wang) 为番荔枝科 (Annonaceae) 野独活属 (*Milusa*) 植物, 俗称短柄密榴木, 主要分布于贵州晴隆、云南勐海及勐腊、西藏墨脱等地区, 生于海拔 1 500 m 山地阔叶林中或山谷灌木丛中。野独活属植物民间用于散寒止痛、祛风除湿, 也用于治疗下肢发凉、麻木、疼痛、抽筋等^[1]。该属植物主要含有高龙胆酸衍生物^[2]、黄酮^[3]及生物碱^[4]等化学成分^[5], 具有抗肿瘤^[6,7]、抗炎^[8,9]及抗菌^[10,11]等药理活性。目前对云南野独活的化学成分和药理作用研究较少, 为进一步探索其化学内涵、揭示其活性成分, 本研究对云南野独活枝叶的化学成分进行系统研究, 共从中分离得到 20 个化合物, 包括 2 个查尔酮类化合物 (1 和 2), 1 个二氢黄酮类化合物 (3), 6 个黄酮类化合物 (4~9), 3 个高龙胆酸衍生物 (10~12), 4 个番荔枝内酯类化合物 (13~16), 2 个生物碱类化合物 (17 和 18) 和 2 个甾醇类化合物 (19 和 20), 化合物结构见图 1。其中化合物 1 和 2 为新化合物, 化合物 6、9、18 和 20 为首次从番荔枝科植物中分离得到, 化合物 5、7、17 和 19 为首次从野独活属植物中分离得到。以人三阴性乳腺癌细胞 MDA-MB-231 和 BT-549 为供试细胞株, 采用 MTT 法对部分化合物进行抗肿瘤活性测试, 结果

发现, 化合物 10 和 11 可以显著抑制供试细胞增殖, 其 IC₅₀ 值为 0.98~4.85 μmol·L⁻¹。

结果与讨论

1 结构鉴定

化合物 1 为淡黄色固体, 易溶于甲醇。HR-ESI-MS 谱中显示分子离子峰 m/z 419.169 6 [M+H]⁺ (计算值为 C₂₂H₂₇O₈⁺, 419.170 0), 提示化合物分子式为 C₂₂H₂₆O₈, 不饱和度为 10。UV 光谱 (MeOH) 显示在 242 (log ε = 2.15) 和 340 (log ε = 2.33) nm 处有最大吸收, 且带 I 强而带 II 弱, 提示化合物 1 为查尔酮类化合物。¹H NMR 谱中 (表 1), δ_H 6.88 (1H, d, *J* = 16.0 Hz) 和 δ_H 7.27 (1H, d, *J* = 16.0 Hz) 为查尔酮的 α 和 β 特征质子信号。此外, ¹H NMR 谱中还有: 7 个甲氧基质子信号 [δ_H 3.99 (3H, s), 3.91 (3H, s), 3.91 (3H, s), 3.91 (3H, s), 3.91 (3H, s), 3.80 (3H, s), 3.80 (3H, s)], 1 组 ABX 耦合系统质子信号 [δ_H 7.10 (1H, dd, *J* = 8.2, 2.2 Hz), 7.07 (1H, d, *J* = 2.2 Hz), 6.85 (1H, d, *J* = 8.2 Hz)], 此耦合关系经 ¹H-¹H COSY 谱 (图 2) 所证实 [H-5 (δ_H 6.85) 与 H-6 (δ_H 7.10) 相关]。¹³C NMR 谱给出 22 个碳信号, 包括 1 个羰基碳信号 (δ_C 193.7), 14 个 sp² 杂化碳信号 (δ_C

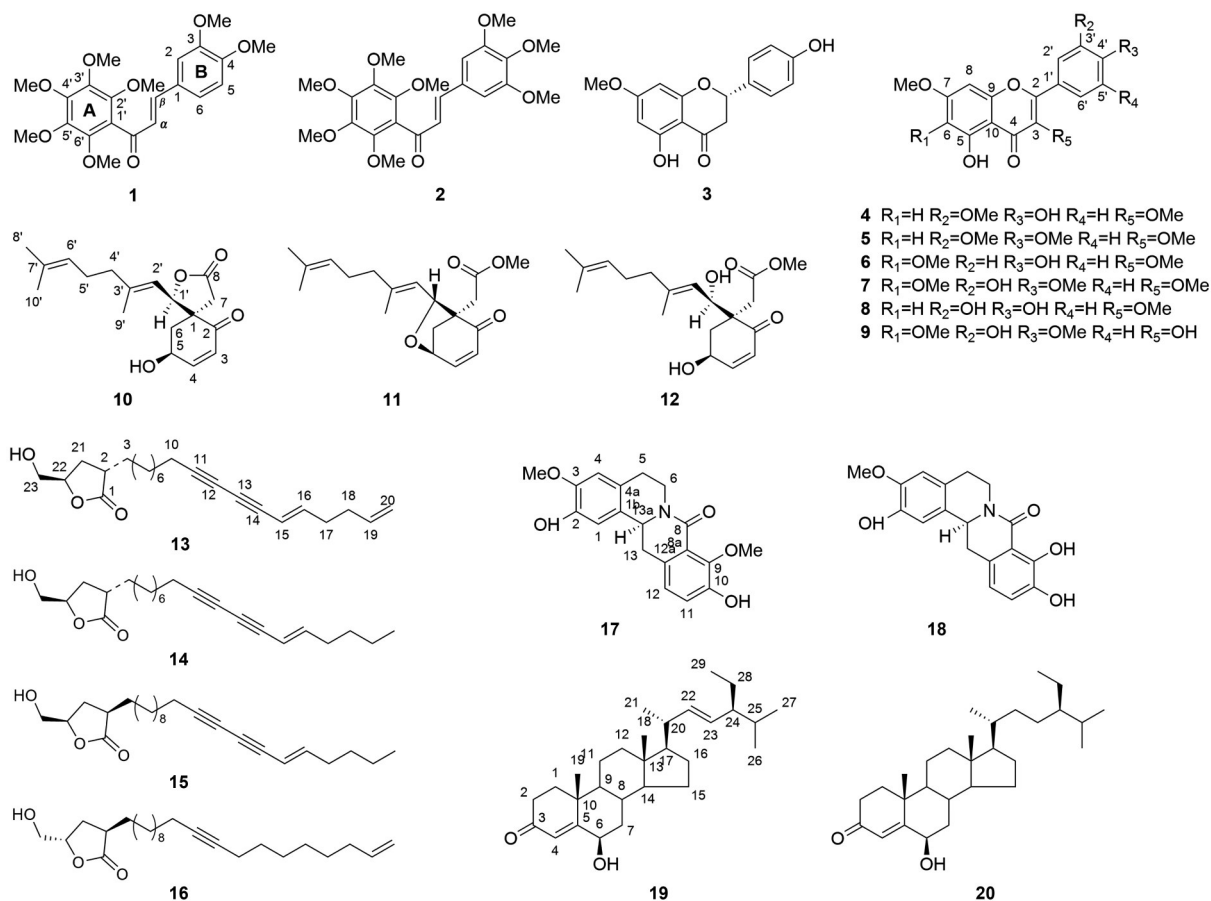


Figure 1 Structures of compounds 1-20

151.6, 149.4, 148.8, 146.3, 146.2, 146.2, 143.2, 143.2, 127.6, 126.8, 124.3, 123.6, 111.1, 110.0) 和 7 个甲氧基碳信号 (δ_{C} 62.2, 62.2, 61.6, 61.4, 61.4, 56.1, 56.1)。通过与文献^[12,13]数据比对,进一步确证化合物 **1** 为查尔酮类化合物。HMBC 谱 (图 2) 中,通过 H-2 (δ_{H} 7.07) 和 H-6 (δ_{H} 7.10) 分别与 C-1 (δ_{C} 127.6)、C-4 (δ_{C} 151.6)、C- β (δ_{C} 146.3) 相关, H-5 (δ_{H} 6.85) 与 C-4 (δ_{C} 151.6) 相关,以及 3-OMe (δ_{H} 3.91) 与 C-3 (δ_{C} 149.4) 相关和 4-OMe (δ_{H} 3.91) 与 C-4 (δ_{C} 151.6) 相关,提示 ABX 耦合系统在 B 环,并确定了取代基在 B 环的位置。HMBC 谱中,通过 2'-OMe (δ_{H} 3.80) 和 6'-OMe (δ_{H} 3.80) 与 C-2' (δ_{C} 146.2) 和 C-6' (δ_{C} 146.2) 相关, 3'-OMe (δ_{H} 3.91) 和 5'-OMe (δ_{H} 3.91) 与 C-3' (δ_{C} 143.2) 和 C-5' (δ_{C} 143.2) 相关, 4'-OMe (δ_{H} 3.99) 与 C-4' (δ_{C} 148.8) 相关,可确定 A 环取代基位置。通过 HMBC 谱中, H- α (δ_{H} 6.88) 分别与 C-1 (δ_{C} 127.6)、C-1' (δ_{C} 124.3)、羰基碳 (δ_{C} 193.7) 相关, H- β (δ_{H} 7.27) 分别与 C-2 (δ_{C} 110.0)、C-6 (δ_{C} 123.6)、羰基碳 (δ_{C} 193.7) 相关,最终确定化合物的结构。综上所述,化合物 **1** 结构为 3,4,2',3',4',5',6'-heptamethoxychalcone。经文献检索,化合物 **1** 为一未见报道的新化合物,命名为 tenuistone L。

化合物 **2** 为淡黄色固体,易溶于甲醇。HR-ESI-MS 谱中显示分子离子峰 m/z 449.179 1 [M+H]⁺ (计算值为 C₂₃H₂₉O₉⁺, 449.180 6),提示化合物分子式为 C₂₃H₂₈O₉,不饱和度为 10。UV 光谱 (MeOH) 中显示最大吸收在 250 (log ϵ = 2.74) 和 348 (log ϵ = 3.10) nm 处。

对比化合物 **2** 与化合物 **1** 的质谱和核磁数据发现,化合物 **2** 比化合物 **1** 多一个甲氧基信号 (δ_{H} 3.88, δ_{C} 56.4),且化合物 **2** 的 H-2 (δ_{H} 6.76 1H, s) 和 H-6 (δ_{H} 6.76 1H, s) 均为单峰, C-5 化学位移向低场移动 42.5,提示该甲氧基位于 C-5。此外, HMBC 谱 (图 2) 中, δ_{H} 3.88 与 C-5 (δ_{C} 153.6) 相关,进一步证实上述推测。因此,确定化合物 **2** 结构为 3,4,5,2',3',4',5',6'-octamethoxychalcone。经文献检索,化合物 **2** 为未报道的新化合物,命名为 tenuistone K。

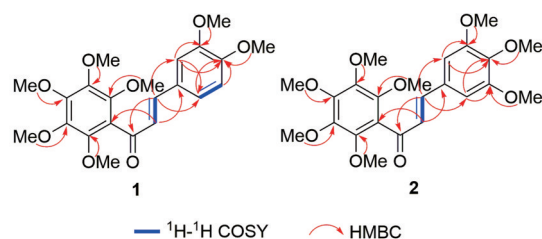


Figure 2 Key HMBC (—) and ¹H-¹H COSY (—) correlations of compounds **1** and **2**

2 抗肿瘤活性研究

采用 MTT 法,以人三阴性乳腺癌细胞 MDA-MB-231 和 BT-549 为供试细胞株,对化合物 **2**、**5**~**11**、**13**~**17** 进行抗肿瘤活性测试。结果表明,化合物 **10** 和 **11** 可以显著抑制供试细胞增殖,详细结果如表 2 所示。

3 结论

本研究从云南野独活枝叶中分离鉴定到了 20 个化合物,其中化合物 **1** 和 **2** 为新化合物,化合物 **6**、**9**、

Table 1 ¹H (600 MHz in CDCl₃) and ¹³C (150 MHz in CDCl₃) NMR data of compounds **1** and **2**

No.	1		2	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1		127.6		130.1
2	7.07 (1H, d, J = 2.2 Hz)	110.0	6.76 (1H, s)	105.8
3		149.4		153.6
3-OMe	3.91 (3H, s)	56.1	3.88 (3H, s)	56.4
4		151.6		140.6
4-OMe	3.91 (3H, s)	56.1	3.88 (3H, s)	61.2
5	6.85 (1H, d, J = 8.2 Hz)	111.1		153.6
5-OMe			3.88 (3H, s)	56.4
6	7.10 (1H, dd, J = 8.2, 2.2 Hz)	123.6	6.76 (1H, s)	105.8
1'		124.3		124.2
2'		146.2		146.3
2'-OMe	3.80 (3H, s)	62.2	3.81 (3H, s)	62.2
3'		143.2		143.2
3'-OMe	3.91 (3H, s)	61.4	3.91 (3H, s)	61.5
4'		148.8		148.9
4'-OMe	3.99 (3H, s)	61.6	3.99 (3H, s)	61.6
5'		143.2		143.2
5'-OMe	3.91 (3H, s)	61.4	3.91 (3H, s)	61.5
6'		146.2		146.3
6'-OMe	3.80 (3H, s)	62.2	3.81 (3H, s)	62.2
α	6.88 (1H, d, J = 16.0 Hz)	126.8	6.90 (1H, d, J = 15.9 Hz)	128.1
β	7.27 (1H, d, J = 16.0 Hz)	146.3	7.25 (1H, d, J = 15.9 Hz)	146.0
C=O		193.7		193.5

Table 2 Anti-proliferative effects of compounds **2**, **5**–**11**, and **13**–**17**

Compound	IC ₅₀ /μmol·L ⁻¹	
	MDA-MB-231	BT-549
2	> 100	93.65
5	> 100	> 100
6	> 100	> 100
7	32.55	34.15
8	> 100	> 100
9	> 100	27.64
10	4.19	4.85
11	1.91	0.98
13	59.73	75.72
14	> 100	> 100
15	> 100	> 100
16	> 100	82.12
17	> 100	> 100

18和**20**为首次从番荔枝科植物中分离得到, 化合物**5**、**7**、**17**和**19**为首次从野独活属植物中分离得到。抗肿瘤活性测试发现, 化合物**10**和**11**可以显著抑制MDA-MB-231和BT-549细胞增殖, 其IC₅₀值为0.98~4.85 μmol·L⁻¹。本研究进一步丰富了云南野独活的化学库, 发现了具有显著抗肿瘤细胞增殖的活性化合物, 为该植物的进一步研究奠定了物质基础。

实验部分

BUCHI Rotavapor R-100旋转蒸发仪(瑞士BUCHI公司); BCE224-1CCN万分之一分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]; Bruker AV-400和Bruker AV-600核磁共振波谱仪(德国Bruker公司); ThermoFisher高分辨质谱仪(美国赛默飞世尔科技公司); Agilent 1260和UNIMICRO-EasySep[®]-3050型半制备型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技公司和上海通微分析技术有限公司); Agilent 1260和ThermoFisher分析型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技公司和美国赛默飞世尔科技公司)。GF₂₅₄薄层色谱硅胶板(烟台新诺新材料技术有限公司); 柱层析硅胶(100~200和200~300目, 青岛海洋化工有限公司); Sephadex LH-20柱层析色谱填料(日本Tosoh Bioscience公司); ODS柱层析填料(Spherical C18 Monomeric, 120A, 50 μm, 加拿大SILICYCLE公司); 分析型HPLC色谱柱(Global Chromatography C18, 4.6 mm × 250 mm, 10 μm, 上海通微分析技术有限公司)和Cosmosil 5C18-MS-II(4.6 mm × 250 mm, 5 μm, 日本Nacalai Tesque公司); 半制备HPLC色谱柱(Global Chromatography C18, 10 mm × 250 mm, 10 μm, 上海通微分析技术有限公司)和Cosmosil 5C18-MS-II(10 mm × 250 mm, 5 μm, 日本Nacalai Tesque公司); 所用化学试剂均为色谱纯(安耐吉化学公司)或分析纯(上海泰坦科技股份有限公司)。

云南野独活植物材料于2022年6月采集于中国云南省, 经深圳技术大学药学院姚大红博士鉴定为番荔枝科野独活属植物云南野独活(*Milisia tenuistipitata* W. T. Wang), 植物标本(No. 20220925)保存于深圳技术大学中药标本室。

1 提取分离

取干燥云南野独活(*Milisia tenuistipitata*)枝叶29 kg, 粉碎后经95%乙醇渗漉提取4次, 合并滤液并减压回收, 得浸膏0.8 kg; 浸膏使用1.5倍硅胶(1.2 kg)拌样, 依次用石油醚、二氯甲烷和乙酸乙酯各15 L固相萃取, 获得二氯甲烷萃取物150.0 g。二氯甲烷萃取物进一步经硅胶柱色谱分离, 以石油醚-乙酸乙酯为洗脱剂(100:0~0:100), 获得7个组分(A1~A7)。

A2(56.0 g)经硅胶柱色谱(石油醚-乙酸乙酯, 100:0~0:100)分离, 共获得10个组分A2C1~A2C10。A2C4部分经半制备液相(乙腈-水, 60:40)纯化得到化合物**11**($t_R = 18$ min; 66.9 mg); A2C5(6.0 g)部分经ODS(甲醇-水, 60:40~100:0)分离再经半制备液相(乙腈-水, 46:54)纯化, 得到化合物**5**($t_R = 43$ min; 1.0 mg)。A2C7(20.0 g)部分经ODS(甲醇-水, 60:40~100:0)分离, 获得12个组分A2C7D1~A2C7D12, A2C7D3经半制备液相(乙腈-水, 45:55)纯化得到化合物**1**($t_R = 21$ min; 8.1 mg)及**3**($t_R = 16$ min; 1.0 mg); A2C7D6经半制备液相(乙腈-水, 60:40)纯化得到化合物**13**($t_R = 58$ min; 3.0 mg); A2C7D7经半制备液相(乙腈-水, 65:35)纯化得到化合物**14**($t_R = 47$ min; 5.4 mg); A2C7D8经半制备液相(乙腈-水, 74:26)纯化得到化合物**15**($t_R = 51$ min; 9.0 mg); A2C7D9经半制备液相(乙腈-水, 75:25)纯化得到化合物**16**($t_R = 42$ min; 17.2 mg); A2C7D10经半制备液相(乙腈-水, 85:15)纯化得到化合物**19**($t_R = 93$ min; 4.3 mg)和**20**($t_R = 100$ min; 11.5 mg)。A2C8部分经Sephadex LH-20柱(甲醇)分离后进一步经半制备液相(乙腈-水, 25:75)纯化, 得到化合物**18**($t_R = 56$ min; 2.0 mg)。

A5(70.0 g)部分经ODS(甲醇-水, 60:40~100:0)分离, 获得13个组分(A5B1~A5B13)。A5B2(56.0 g)再经ODS(甲醇-水, 40:60~100:0)洗脱, 得到8个组分(A5B2C1~A5B2C8), A5B2C6进一步通过硅胶柱色谱(二氯甲烷-甲醇, 100:1)纯化得到化合物**10**(25.0 g); A5B2C3经Sephadex LH-20柱(甲醇)分离再经半制备液相(乙腈-水, 28:72)纯化, 得到化合物**17**($t_R = 18$ min; 5.3 mg); A5B2C4经Sephadex LH-20柱(甲醇)分离后再经半制备液相(甲醇-水, 54:46)纯化, 得到化合物**9**($t_R = 23$ min; 1.0 mg); A5B2C7经Sephadex LH-20柱(甲醇)、半制备液相(甲醇-水, 62:

38) 纯化, 得到化合物 **12** ($t_R = 47$ min; 1.9 mg)、**7** ($t_R = 27$ min; 4.0 mg) 和 **8** ($t_R = 33$ min; 8.7 mg)。A5B4 (10.6 g) 经 ODS (甲醇-水, 40:60~100:0) 分离, 得到 43 个组分 (A5B4C1~A5B4C43), A5B4C14 经 Sephadex LH-20 柱 (甲醇)、半制备液相 (乙腈-水, 50:50) 纯化, 得到化合物 **2** ($t_R = 21$ min; 4.4 mg); A5B4C16 经 Sephadex LH-20 柱 (甲醇) 后经半制备液相 (乙腈-水, 30:70) 纯化, 得到化合物 **6** ($t_R = 76$ min; 1.3 mg); A5B4C24 析出黄色晶体, 经半制备液相 (乙腈-水, 50:50) 纯化, 得到化合物 **4** ($t_R = 27$ min; 2.5 mg)。

2 结构鉴定

化合物 **1** 淡黄色固体; HR-ESI-MS m/z 419.169 6 $[M+H]^+$ (计算值为 $C_{22}H_{27}O_8^+$, 419.170 0), 分子式为 $C_{22}H_{26}O_8$ 。UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ): 242 (2.15), 330 (2.33) nm。 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) 和 ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) 数据见表 1。

化合物 **2** 淡黄色固体; HR-ESI-MS m/z 449.179 1 $[M+H]^+$ (计算值为 $C_{23}H_{29}O_9^+$, 449.180 6), 分子式为 $C_{23}H_{28}O_9$ 。UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ): 250 (2.74), 348 (3.10) nm。 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) 和 ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) 数据见表 1。

化合物 **3** 淡黄色固体; HR-ESI-MS m/z 287.091 2 $[M+H]^+$ (计算值为 $C_{16}H_{15}O_5^+$, 287.091 4), 分子式为 $C_{16}H_{14}O_5$ 。 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ_H 12.02 (1H, br s, 5-OH), 7.34 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2', H-6'), 6.89 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', H-5'), 6.07 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-8), 6.04 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-6), 5.36 (1H, dd, $J = 13.0, 3.0$ Hz, H-2), 3.81 (3H, s, 7-OMe), 3.09 (1H, dd, $J = 17.1, 13.0$ Hz, H-3), 2.79 (1H, dd, $J = 17.0, 3.0$ Hz, H-3); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ_C 79.1 (C-2), 43.4 (C-3), 196.2 (C-4), 164.3 (C-5), 95.3 (C-6), 168.1 (C-7), 94.4 (C-8), 163.0 (C-9), 103.3 (C-10), 130.8 (C-1'), 128.1 (C-2'), 115.8 (C-3'), 156.3 (C-4'), 115.8 (C-5'), 128.1 (C-6'), 55.8 (7-OMe)。以上波谱数据与文献^[14]报道数据基本一致, 故鉴定化合物 **3** 为樱花素。

化合物 **4** 淡黄色固体; HR-ESI-MS m/z 345.096 4 $[M+H]^+$ (计算值为 $C_{18}H_{17}O_7^+$, 345.096 9), 分子式为 $C_{18}H_{16}O_7$ 。 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ_H 12.63 (1H, br s, 5-OH), 7.72 (1H, dd, $J = 8.6, 2.0$ Hz, H-6'), 7.69 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.97 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5'), 6.45 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 6.35 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-6), 5.73 (1H, s, 4'-OH), 3.99 (3H, s, 3'-OMe), 3.87 (3H, s, 3-OMe), 3.87 (3H, s, 7-OMe); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ_C 155.8 (C-2), 139.3 (C-3), 179.0 (C-4), 162.1 (C-5), 98.0 (C-6), 165.6 (C-7), 92.3 (C-8), 156.9 (C-9), 106.2

(C-10), 123.8 (C-1'), 110.5 (C-2'), 145.6 (C-3'), 148.9 (C-4'), 114.5 (C-5'), 121.7 (C-6'), 60.3 (3-OMe), 56.0 (7-OMe), 56.2 (3'-OMe)。以上波谱数据与文献^[15]报道数据基本一致, 故鉴定化合物 **4** 为藿香黄酮醇。

化合物 **5** 淡黄色固体; HR-ESI-MS m/z 359.112 1 $[M+H]^+$ (计算值为 $C_{19}H_{19}O_7^+$, 359.112 5), 分子式为 $C_{19}H_{18}O_7$ 。 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ_H 12.64 (1H, br s, 5-OH), 7.74 (1H, dd, $J = 8.6, 2.0$ Hz, H-6'), 7.69 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 7.00 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5'), 6.45 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 6.37 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-6), 3.98 (3H, s, 4'-OMe), 3.97 (3H, s, 3'-OMe), 3.88 (3H, s, 7-OMe), 3.87 (3H, s, 3-OMe); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ_C 156.0 (C-2), 139.1 (C-3), 178.9 (C-4), 162.2 (C-5), 98.0 (C-6), 165.6 (C-7), 92.4 (C-8), 156.9 (C-9), 106.2 (C-10), 123.1 (C-1'), 111.4 (C-2'), 148.9 (C-3'), 151.5 (C-4'), 111.0 (C-5'), 122.3 (C-6'), 60.4 (3-OMe), 56.0 (7-OMe), 56.2 (3'-OMe), 56.2 (4'-OMe)。以上波谱数据与文献^[15]报道数据基本一致, 故鉴定化合物 **5** 为雷杜辛黄酮醇。

化合物 **6** 淡黄色固体; HR-ESI-MS m/z 345.096 4 $[M+H]^+$ (计算值为 $C_{18}H_{17}O_7^+$, 345.096 9), 分子式为 $C_{18}H_{16}O_7$ 。 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ_H 12.60 (1H, br s, 5-OH), 8.04 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2'), 8.04 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6'), 6.98 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.98 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3'), 6.51 (1H, s, H-8), 5.70 (1H, s, 4'-OH), 3.96 (3H, s, 7-OMe), 3.93 (3H, s, 6-OMe), 3.86 (3H, s, 3-OMe); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ_C 156.1 (C-2), 138.9 (C-3), 179.1 (C-4), 152.5 (C-5), 132.4 (C-6), 158.2 (C-7), 90.5 (C-8), 152.9 (C-9), 106.7 (C-10), 123.1 (C-1'), 130.6 (C-2'), 115.8 (C-3'), 158.9 (C-4'), 115.8 (C-5'), 130.6 (C-6'), 61.1 (3-OMe), 60.3 (6-OMe), 56.5 (7-OMe)。以上波谱数据与文献^[15]报道数据基本一致, 故鉴定化合物 **6** 为垂叶黄素。

化合物 **7** 淡黄色固体; HR-ESI-MS m/z 375.106 9 $[M+H]^+$ (计算值为 $C_{19}H_{19}O_8^+$, 375.107 4), 分子式为 $C_{19}H_{18}O_8$ 。 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ_H 12.61 (1H, br s, 5-OH), 7.74 (1H, dd, $J = 8.5, 2.2$ Hz, H-6'), 7.70 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-2'), 6.99 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 6.52 (1H, s, H-8), 5.75 (1H, s, 5'-OH), 4.01 (3H, s, 6-OMe), 3.98 (3H, s, 3-OMe), 3.94 (3H, s, 7-OMe), 3.89 (3H, s, 4'-OMe); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ_C 152.9 (C-2), 139.1 (C-3), 179.1 (C-4), 152.5 (C-5), 132.4 (C-6), 158.9 (C-7), 90.5 (C-8), 155.8 (C-9), 106.7 (C-10), 123.7 (C-1'), 110.5 (C-2'), 145.7 (C-3'), 148.9 (C-4'), 114.5 (C-5'), 121.7 (C-6'), 60.3 (3-OMe), 61.0 (6-OMe),

56.5 (7-OMe), 56.2 (4'-OMe)。以上波谱数据与文献^[16]报道数据基本一致, 故鉴定化合物**7**为蔓荆子黄素。

化合物**8** 淡黄色固体; HR-ESI-MS m/z 331.081 0 $[M+H]^+$ (计算值为 $C_{17}H_{15}O_7^+$, 331.081 2), 分子式为 $C_{17}H_{14}O_7$ 。 1H NMR (MeOD, 600 MHz) δ_H 7.64 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 7.55 (1H, dd, $J = 8.4$; 2.0 Hz, H-6'), 6.90 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3'), 6.59 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 6.33 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6), 3.88 (3H, s, 3-OMe), 3.79 (3H, s, 7-OMe); ^{13}C NMR (MeOD, 150 MHz) δ_C 158.3 (C-2), 139.7 (C-3), 180.1 (C-4), 162.8 (C-5), 98.9 (C-6), 167.3 (C-7), 93.1 (C-8), 158.4 (C-9), 106.7 (C-10), 122.8 (C-1'), 116.5 (C-2'), 146.5 (C-3'), 150.2 (C-4'), 116.4 (C-5'), 122.4 (C-6'), 60.5 (3-OMe), 56.5 (7-OMe)。以上波谱数据与文献^[17]报道数据基本一致, 故鉴定化合物**8**为3,7-二甲氧基-5,3',4'-三羟基黄酮。

化合物**9** 淡黄色固体; HR-ESI-MS m/z 361.091 3 $[M+H]^+$ (计算值为 $C_{18}H_{17}O_8^+$, 361.091 8), 分子式为 $C_{18}H_{16}O_8$ 。 1H NMR (MeOD, 600 MHz) δ_H 7.61~7.59 (2H, m, H-2', H-6'), 7.02 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 6.69 (1H, s, H-8), 3.96 (3H, s, 6-OMe), 3.93 (3H, s, 7-OMe), 3.78 (3H, s, 4'-OMe); ^{13}C NMR (MeOD, 150 MHz) δ_C 151.7 (C-2), 139.8 (C-3), 180.2 (C-4), 151.1 (C-5), 131.1 (C-6), 157.8 (C-7), 91.6 (C-8), 155.9 (C-9), 107.2 (C-10), 124.3 (C-1'), 116.2 (C-2'), 146.7 (C-3'), 147.6 (C-4'), 112.3 (C-5'), 122.1 (C-6'), 60.6 (6-OMe), 57.0 (7-OMe), 56.4 (4'-OMe)。以上波谱数据与文献^[18]报道数据基本一致, 故鉴定化合物**9**为泽兰黄醇。

化合物**10** 无色油状物; $[\alpha]_D^{20} +4.60^\circ$ (c 0.016 2, CH₃OH); HR-ESI-MS m/z 305.174 6 $[M+H]^+$ (计算值为 $C_{18}H_{25}O_4^+$, 305.174 7), 分子式为 $C_{18}H_{24}O_4$ 。 1H NMR (600 MHz, CDCl₃) 6.91~6.89 (1H, dd, $J = 10.2$, 3.8 Hz, H-4), 5.97 (1H, d, $J = 10.2$ Hz, H-3), 5.57 (1H, d, $J = 10.1$ Hz, H-1'), 5.14 (1H, d, $J = 10.1$ Hz, H-2'), 4.98 (1H, m, H-6'), 4.56 (1H, m, H-5), 3.17 (1H, d, $J = 17.3$ Hz, H-7), 2.79 (1H, br s, 5-OH), 2.30 (1H, d, $J = 17.3$ Hz, H-7), 2.32 (1H, m, H-6), 2.20 (1H, dd, $J = 14.0$; 5.1 Hz, H-6), 2.02 (2H, m, H-4'), 2.02 (2H, m, H-5'), 1.70 (3H, s, H-9'), 1.66 (3H, s, H-8'), 1.57 (3H, s, H-10'); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ_C 52.5 (C-1), 175.4 (C-2), 129.0 (C-3), 149.0 (C-4), 63.4 (C-5), 39.6 (C-6), 38.2 (C-7), 196.5 (C-8), 82.4 (C-1'), 118.5 (C-2'), 145.6 (C-3'), 39.8 (C-4'), 26.2 (C-5'), 123.4 (C-6'), 132.3 (C-7'), 25.8 (C-8'), 17.0 (C-9'), 17.8 (C-10')。以上波谱数据与文献^[19]报道数据基本一致, 故鉴定化合物**10**为(+)-miliusol。

化合物**11** 无色油状物; $[\alpha]_D^{20} -1.97^\circ$ (c 0.009 6,

CH₃OH); HR-ESI-MS m/z 341.172 3 $[M+Na]^+$ (计算值为 $C_{19}H_{26}NaO_4^+$, 341.172 3), 分子式为 $C_{19}H_{26}O_4$ 。 1H NMR (600 MHz, CDCl₃) 7.24 (1H, m, H-4), 6.07 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-3), 5.03 (1H, m, H-6'), 5.03 (1H, m, H-2'), 4.74 (1H, t, $J = 5.4$ Hz, H-5), 4.38 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-1'), 3.63 (3H, s, 8-OMe), 2.77 (1H, d, $J = 17.3$ Hz, H-7), 2.74 (1H, d, $J = 11.6$ Hz, H-6), 2.22 (1H, d, $J = 17.3$ Hz, H-7), 2.09 (2H, m, H-5'), 2.06 (2H, m, H-4'), 2.04 (1H, m, H-6), 1.66 (3H, s, H-8'), 1.61 (3H, s, H-10'), 1.59 (3H, s, H-9'); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ_C 58.6 (C-1), 200.9 (C-2), 129.5 (C-3), 150.5 (C-4), 72.7 (C-5), 42.6 (C-6), 34.6 (C-7), 172.0 (C-8), 75.8 (C-1'), 120.2 (C-2'), 142.1 (C-3'), 40.0 (C-4'), 26.2 (C-5'), 123.7 (C-6'), 132.1 (C-7'), 25.7 (C-8'), 17.8 (C-9'), 16.7 (C-10')。以上波谱数据与文献^[19]报道数据基本一致, 故鉴定化合物**11**为miliusane XIX。

化合物**12** 无色油状物; $[\alpha]_D^{20} +7.60^\circ$ (c 0.000 1, CH₃OH); HR-ESI-MS m/z 337.200 9 $[M+H]^+$ (计算值为 $C_{19}H_{29}O_5^+$, 337.201 0), 分子式为 $C_{19}H_{28}O_5$ 。 1H NMR (600 MHz, CDCl₃) 6.90 (1H, d, $J = 10.2$ Hz, H-4), 6.04 (1H, d, $J = 10.2$ Hz, H-3), 5.05 (1H, m, H-6'), 5.02 (1H, m, H-2'), 4.79 (1H, s, H-5), 4.35 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-1'), 3.78 (3H, s, 8-OMe), 2.40 (1H, m, H-6), 2.36 (2H, m, H-7), 2.30 (1H, m, H-7), 2.06 (2H, m, H-5'), 2.00 (2H, m, H-4'), 1.95 (1H, m, H-6), 1.68 (3H, s, H-8'), 1.62 (3H, s, H-10'), 1.60 (3H, s, H-9'); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ_C 53.6 (C-1), 199.7 (C-2), 129.4 (C-3), 151.1 (C-4), 64.9 (C-5), 38.0 (C-6), 30.5 (C-7), 173.5 (C-8), 73.8 (C-1'), 118.5 (C-2'), 139.4 (C-3'), 40.1 (C-4'), 26.6 (C-5'), 124.2 (C-6'), 131.7 (C-7'), 25.9 (C-8'), 17.9 (C-9'), 16.4 (C-10'), 52.7 (8-OMe)。以上波谱数据与文献^[19]报道数据基本一致, 故鉴定化合物**12**为miliusane XVIII。

化合物**13** 淡黄色油状物; HR-ESI-MS m/z 357.241 8 $[M+H]^+$ (计算值为 $C_{23}H_{33}O_3^+$, 357.242 4), 分子式为 $C_{23}H_{32}O_3$ 。 1H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ_H 6.03 (1H, dt, $J = 10.8$, 7.4 Hz, H-16), 5.81 (1H, m, H-19), 5.49 (1H, m, H-15), 5.02 (2H, m, H-20), 4.59 (1H, m, H-22), 3.86 (1H, dd, $J = 12.3$, 3.0 Hz, H-23), 3.65 (1H, dd, $J = 12.3$, 3.0 Hz, H-23), 2.70 (1H, m, H-2), 2.44 (2H, m, H-17), 2.32 (1H, m, H-21), 2.17 (2H, m, H-18), 2.00 (1H, m, H-21), 1.83 (1H, m, H-3), 1.54 (2H, m, H-9), 1.45 (1H, m, H-3), 1.30 (10H, m, H-4-8); ^{13}C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ_C 179.8 (C-1), 39.7 (C-2), 31.4 (C-3), 29.4~27.3 (C-4-8), 28.3 (C-9), 19.7 (C-10), 85.2 (C-11), 65.3 (C-12), 72.1 (C-13), 77.4 (C-14), 108.8 (C-15), 146.8 (C-

16), 30.0 (C-17), 33.0 (C-18), 137.8 (C-19), 115.3 (C-20), 29.7 (C-21), 78.6 (C-22), 64.8 (C-23)。以上波谱数据与文献^[20]报道数据基本一致, 故鉴定化合物 **13** 为 miliusolide。

化合物 **14** 淡黄色油状物; HR-ESI-MS m/z 359.257 4 $[M+H]^+$ (计算值为 $C_{23}H_{35}O_3^+$, 359.258 1), 分子式为 $C_{23}H_{34}O_3$ 。 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ_H 6.03 (1H, dt, $J = 10.8, 7.5$ Hz, H-12), 5.46 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-15), 4.59 (1H, m, H-22), 3.86 (1H, dd, $J = 12.4, 3.8$ Hz, H-23), 3.65 (1H, dd, $J = 12.4, 3.8$ Hz, H-23), 2.69 (1H, m, H-2), 2.32 (2H, t, $J = 6.9$ Hz, H-10), 2.32 (2H, m, H-17), 2.27 (1H, m, H-21), 2.01 (1H, m, H-21), 1.83 (1H, m, H-3), 1.54 (2H, m, H-9), 1.47 (1H, m, H-3), 1.38 (2H, m, H-18), 1.35 (2H, m, H-19), 1.29~1.40 (10H, m, H-4-8), 0.91 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, H-20); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ_C 179.8 (C-1), 39.7 (C-2), 31.4 (C-3), 29.4~27.3 (C-4-8), 28.4 (C-9), 19.7 (C-10), 84.9 (C-11), 65.3 (C-12), 72.3 (C-13), 78.2 (C-14), 108.2 (C-15), 148.0 (C-16), 30.5 (C-17), 31.1 (C-18), 22.4 (C-19), 14.1 (C-20), 29.7 (C-21), 78.6 (C-22), 64.8 (C-23)。以上波谱数据与文献^[20]报道数据基本一致, 故鉴定化合物 **14** 为 19,20-dihydromiliusolide。

化合物 **15** 淡黄色油状物; HR-ESI-MS m/z 409.271 5 $[M+Na]^+$ (计算值为 $C_{25}H_{38}NaO_3^+$, 409.271 3), 分子式为 $C_{25}H_{38}O_3$ 。 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ_H 6.03 (1H, dt, $J = 10.8, 7.5$ Hz, H-18), 5.46 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-17), 4.60 (1H, m, H-24), 3.86 (1H, dd, $J = 12.4, 3.1$ Hz, H-25), 3.65 (1H, dd, $J = 12.4, 3.1$ Hz, H-25), 2.69 (1H, m, H-2), 2.32 (2H, t, $J = 7.3$ Hz, H-12), 2.32 (2H, m, H-19), 2.28 (1H, m, H-23), 2.00 (1H, m, H-23), 1.83 (1H, m, H-3), 1.54 (2H, m, H-11), 1.46 (1H, m, H-3), 1.38 (2H, m, H-20), 1.33 (2H, m, H-21), 1.27~1.38 (14H, m, H-4-10), 0.91 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, H-22); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ_C 179.8 (C-1), 39.7 (C-2), 31.4 (C-3), 29.7~27.4 (C-4-10), 28.4 (C-11), 19.8 (C-12), 85.0 (C-13), 65.3 (C-14), 72.3 (C-15), 78.2 (C-16), 108.2 (C-17), 148.0 (C-18), 30.6 (C-19), 31.1 (C-20), 22.4 (C-21), 14.1 (C-22), 29.4 (C-23), 78.6 (C-24), 64.8 (C-25)。以上波谱数据与文献^[21]报道数据基本一致, 故鉴定化合物 **15** 为 debilisone C。

化合物 **16** 淡黄色油状物; HR-ESI-MS m/z 391.320 3 $[M+H]^+$ (计算值为 $C_{25}H_{43}O_3^+$, 391.320 7), 分子式为 $C_{25}H_{42}O_3$ 。 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ_H 5.80 (1H, ddt, $J = 16.9, 10.1, 6.7$ Hz, H-21), 4.98 (1H, dd, $J = 17.3, 2.0$ Hz, H-22), 4.92 (1H, d, $J = 9.9$ Hz, H-22), 4.58

(1H, m, H-24), 3.86 (1H, dd, $J = 12.4, 3.0$ Hz, H-25), 3.64 (1H, dd, $J = 12.4, 4.6$ Hz, H-25), 2.69 (1H, m, H-2), 2.29 (1H, m, H-23), 2.13 (2H, t, $J = 6.7$ Hz, H-12), 2.13 (2H, t, $J = 6.7$ Hz, H-15), 2.03 (2H, m, H-20), 1.99 (1H, m, H-23), 1.82 (1H, m, H-3), 1.46~1.26 (14H, m, H-5-11), 1.46~1.26 (8H, m, H-16-19), 1.45 (1H, m, H-3), 1.37 (2H, m, H-4); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ_C 180.0 (C-1), 39.7 (C-2), 31.4 (C-3), 29.6~28.8 (C-4-11), 18.8 (C-12), 80.4 (C-13), 80.3 (C-14), 18.8 (C-15), 29.6~28.8 (C-16-19), 33.9 (C-20), 139.2 (C-21), 114.3 (C-22), 29.7 (C-23), 78.7 (C-24), 64.7 (C-25)。以上波谱数据与文献^[22]报道数据基本一致, 故鉴定化合物 **16** 为 goniothalamusin。

化合物 **17** 棕色胶状物; $[\alpha]_D^{20} -21.0^\circ$ (c 0.009 3, CH_3OH), HR-ESI-MS m/z 342.133 1 $[M+H]^+$ (计算值为 $C_{19}H_{20}NO_5^+$, 342.133 6), 分子式为 $C_{19}H_{19}NO_5$ 。 1H NMR ($MeOD$, 600 MHz) δ_H 6.98 (1H, m, H-11), 6.94 (1H, m, H-12), 6.84 (1H, m, H-4), 6.64 (1H, m, H-1), 4.84 (1H, m, H-6), 4.73 (1H, m, H-13a), 3.85 (3H, s, 3-OMe), 3.83 (3H, s, 9-OMe), 3.15 (1H, m, H-13), 2.91 (1H, m, H-6), 2.80 (1H, m, H-5), 2.72 (1H, m, H-5), 2.72 (1H, m, H-13); ^{13}C NMR ($MeOD$, 150 MHz) δ_C 115.9 (C-1), 128.8 (C-1b), 146.6 (C-2), 148.3 (C-3), 110.7 (C-4), 128.0 (C-4a), 30.0 (C-5), 39.8 (C-6), 165.0 (C-8), 123.1 (C-8a), 149.4 (C-9), 151.4 (C-10), 120.8 (C-11), 124.0 (C-12), 132.0 (C-12a), 39.7 (C-13), 56.6 (C-13a), 56.6 (3-OMe), 62.0 (9-OMe)。以上波谱数据与文献^[23]报道数据基本一致, 故鉴定化合物 **17** 为 2,10-dihydroxy-3,9-dimethoxy-8-oxo-protoberberine。

化合物 **18** 棕色胶状物; HR-ESI-MS m/z 328.117 6 $[M+H]^+$ (计算值为 $C_{18}H_{18}NO_5^+$, 328.117 9), 分子式为 $C_{18}H_{17}NO_5$ 。 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ_H 12.75 (1H, s, 9-OH), 6.99 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-11), 6.80 (1H, s, H-1), 6.67 (1H, s, H-4), 6.61 (1H, dd, $J = 8.0, 1.2$ Hz, H-12), 5.58 (s, 2H, 10-OH, 2-OH), 4.83 (1H, m, H-6), 4.83 (1H, m, H-13a), 3.91 (3H, s, 3-OMe), 3.16 (1H, dd, $J = 15.6, 3.9$ Hz, H-13), 2.99 (1H, m, H-14), 2.94 (1H, m, H-5), 2.85 (1H, m, H-13), 2.79 (1H, m, H-5); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ_C 111.3 (C-1), 128.4 (C-1b), 145.8 (C-2), 144.8 (C-3), 111.7 (C-4), 126.2 (C-4a), 29.1 (C-5), 38.6 (C-6), 168.7 (C-8), 110.8 (C-8a), 148.6 (C-9), 144.0 (C-10), 118.3 (C-11), 117.0 (C-12), 128.1 (C-12a), 36.8 (C-13), 55.6 (C-13a), 56.2 (3-OMe)。以上波谱数据与文献^[24]报道数据基本一致, 故鉴定化合物 **18** 为 consanguine B。

化合物**19** 无色油状物; HR-ESI-MS m/z 427.356 8 $[M+H]^+$ (calculated for $C_{29}H_{47}O_2^+$: 427.357 1), 分子式为 $C_{29}H_{46}O_2$ 。 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ_H 5.81 (1H, s, H-4), 5.14 (1H, dd, $J = 15.2, 8.5$ Hz, H-22), 5.03 (1H, dd, $J = 15.2, 8.5$ Hz, H-23), 4.34 (1H, m, H-6), 2.52 (1H, m, H-2), 2.41 (1H, m, H-2), 2.07 (1H, m, H-20), 2.06 (1H, m, H-1), 2.05 (1H, m, H-12), 2.02 (1H, m, H-7), 1.98 (1H, m, H-8), 1.89 (1H, m, H-28), 1.75 (2H, m, H-1, H-16), 1.65 (1H, m, H-15), 1.55 (2H, m, H-25, H-24), 1.53 (2H, m, H-11), 1.44 (1H, m, H-28), 1.38 (3H, s, H-19), 1.31 (1H, m, H-16), 1.25 (1H, m, H-7), 1.21 (1H, m, H-12), 1.19 (1H, m, H-17), 1.18 (1H, m, H-15), 1.06 (1H, m, H-14), 1.02 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-21), 0.93 (1H, m, H-9), 0.85 (3H, d, $J = 6.1$ Hz, H-26), 0.81 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-29), 0.80 (3H, d, $J = 5.9$ Hz, H-27), 0.76 (3H, s, H-18); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ_C 37.2 (C-1), 34.4 (C-2), 200.6 (C-3), 126.5 (C-4), 168.6 (C-5), 73.4 (C-6), 38.7 (C-7), 29.9 (C-8), 53.8 (C-9), 38.1 (C-10), 21.1 (C-11), 39.6 (C-12), 42.5 (C-13), 56.1 (C-14), 24.4 (C-15), 29.0 (C-16), 56.1 (C-17), 12.3 (C-18), 19.6 (C-19), 40.6 (C-20), 21.3 (C-21), 138.3 (C-22), 129.6 (C-23), 51.4 (C-24), 32.0 (C-25), 21.2 (C-26), 19.1 (C-27), 25.5 (C-28), 12.4 (C-29)。以上波谱数据与文献^[25,26]报道数据基本一致, 故鉴定化合物**19**为6-羟基豆甾-4, 22-二烯-3-酮。

化合物**20** 无色油状物; HR-ESI-MS m/z 429.372 6 $[M+H]^+$ (计算值为 $C_{29}H_{49}O_2^+$, 429.372 7), 分子式为 $C_{29}H_{48}O_2$ 。 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ_H 5.80 (1H, s, H-4), 4.34 (1H, s, H-6), 2.51 (1H, m, H-2), 2.40 (1H, m, H-2), 2.07 (1H, m, H-12), 2.05 (1H, m, H-1), 2.02 (1H, m, H-7), 1.97 (1H, m, H-8), 1.88 (1H, m, H-16), 1.73 (1H, m, H-1), 1.68 (1H, m, H-25), 1.63 (1H, m, H-15), 1.52 (2H, m, H-11), 1.39 (1H, m, H-20), 1.37 (3H, s, H-19), 1.34 (1H, m, H-22), 1.32 (1H, m, H-16), 1.27 (2H, m, H-28), 1.26 (1H, m, H-7), 1.18 (2H, m, H-23), 1.17 (2H, m, H-15, H-12), 1.03 (3H, m, H-22, H-17, H-14), 0.95 (1H, m, H-24), 0.92 (1H, m, H-9), 0.92 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-21), 0.85 (3H, d, $J = 7.7$ Hz, H-29), 0.83 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-27), 0.81 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-26), 0.74 (3H, s, H-18); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ_C 37.2 (C-1), 34.4 (C-2), 200.7 (C-3), 126.4 (C-4), 168.8 (C-5), 73.4 (C-6), 38.7 (C-7), 29.9 (C-8), 53.8 (C-9), 38.1 (C-10), 21.1 (C-11), 39.7 (C-12), 42.6 (C-13), 56.0 (C-14), 24.3 (C-15), 28.3 (C-16), 56.2 (C-17), 12.1 (C-18), 19.6 (C-19), 36.3 (C-20), 18.9 (C-21), 34.0 (C-22), 26.2 (C-23),

46.0 (C-24), 29.3 (C-25), 20.0 (C-26), 19.2 (C-27), 23.2 (C-28), 12.1 (C-29)。以上波谱数据与文献^[26]报道数据基本一致, 故鉴定化合物**20**为6-羟基豆甾-4-烯-3-酮。

3 抗肿瘤活性实验

将测试化合物分别用二甲基亚砜 (DMSO) 溶解, 配制成 $1.0 \times 10^2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的储备药液, 分别用含 10% 胎牛血清的 DMEM 和 RPMI-1640 培养液将储备药液稀释成具有 8 个浓度梯度 ($100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.5625, 0.78125 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的待测药液。取对数生长期的人乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 和 BT-549, 将细胞按 5 000 个/孔的密度接种于 96 孔板中, 每孔 100 μL 细胞悬液, 孵育 24 h 后, 分别加入 100 μL 不同浓度待测药液作用 24 h, 然后每孔加入 5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 MTT 溶液 20 μL , 放入培养箱中孵育 3~4 h。待反应充分后弃去上清液, 每孔加入 150 μL DMSO, 在 96 孔板振荡器上低速振荡 5~10 min 左右使结晶紫充分溶解, 用酶标仪测定吸光度值, 测定波长为 490 nm。分析计算细胞活性: 细胞存活率 = (实验孔-空白孔) / (对照孔-空白孔) $\times 100\%$ 。每个数据平行测定 3 次, 取其平均值。

作者贡献: 刘志莹是本文的第一作者, 负责云南野独活化学成分的分离纯化及结构解析工作; 葛格负责活性测试工作; 刘庭亮和郑文琳对提取分离和结构鉴定提供了一定帮助; 郭亚萍负责论文的审阅和提出写作的建议; 王书云和吴炎负责实验的整体设计与指导工作及论文的审阅。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

References

- [1] Wu R, Ye Q, Chen NY, et al. A new norditerpene from *Milisia balansae* Finet et Gagnep [J]. Chin Chem Lett, 2001, 12: 247-248.
- [2] Xie WJ, Xu XY, Xia YX, et al. Identification and bioactivity evaluation of milisanes from *Milisia sinensis* [J]. Bioorg Chem, 2023, 140: 106797.
- [3] Promchai T, Saesong T, Ingkaninan K, et al. Acetylcholinesterase inhibitory activity of chemical constituents isolated from *Milisia thorelii* [J]. Phytochem Lett, 2018, 23: 33-37.
- [4] Chen B, Feng C, Li BG, et al. Two new alkaloids from *Milisia cuneata* [J]. Nat Prod Res, 2003, 17: 397-402.
- [5] Son NT. Genus *Milisia*: a review of phytochemistry and pharmacology [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2019. DOI: 10.1155/2019/8314693.
- [6] Xu XY, Tsang SW, Guan YF, et al. *In vitro* and *in vivo* antitumor effects of plant-derived milisanes and their induction of cellular senescence [J]. J Med Chem, 2019, 62: 1541-1561.
- [7] Hue CT, Trung VT, Hoa NT, et al. Bisstyryl constituents from

- the leaves of *Milium sinensis* [J]. *Phytochem Lett*, 2022, 49: 99-104.
- [8] Thao NP, Luyen BTT, Tai BH, et al. Chemical constituents of *Milium balansae* leaves and inhibition of nitric oxide production in lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 cells [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015, 25: 3859-3863.
- [9] Hue CT, Trung VT, Hoa NT, et al. Glycoside constituents from *Milium sinensis* leaves and their anti-inflammatory and acetylcholine protective effects [J]. *Nat Prod Res*, 2022, 36: 5967-5976.
- [10] Promgool T, Kanokmedhakul K, Tontapha S, et al. Bioactive homogentisic acid derivatives from fruits and flowers of *Milium velutinum* [J]. *Fitoterapia*, 2019, 134: 65-72.
- [11] Jumana S, Hasan CM, Rashid MA. Antibacterial activity and cytotoxicity of *Milium velutinum* [J]. *Fitoterapia*, 2000, 71: 559-561.
- [12] Miyaichi Y, Kizu H, Tomimori T, et al. Studies on the constituents of scutellaria species. XI.: on the flavonoid constituents of the aerial parts of *Scutellaria indica* L. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1989, 37: 794-797.
- [13] Liu P, Zhu LL, Jing SJ, et al. Two new alkaloids from the roots of *Scrophularia ningpoensis* Hemsl [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2022, 57: 750-756.
- [14] Ogawa Y, Oku H, Iwaoka E, et al. Allergy-preventive flavonoids from *Xanthorrhoea hastilis* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2007, 55: 675-678.
- [15] Sy LK, Brown GD. Three sesquiterpenes from *Artemisia annua* [J]. *Phytochemistry*, 1998, 48: 1207-1211.
- [16] Mesaik MA, Azizuddin, Murad S, et al. Isolation and immunomodulatory properties of a flavonoid, casticin from *Vitex agnus-castus* [J]. *Phytother Res*, 2009, 23: 1516-1520.
- [17] Costa FJD, Bandeira PN, Albuquerque MRJR, et al. Constituintes químicos de *Vernonia chalybaea* mart [J]. *Quim Nova*, 2008, 31: 1691-1695.
- [18] Qin JJ, Zhu JX, Zhu Y, et al. Flavonoids from the aerial parts of *Inula japonica* [J]. *Chin J Nat Med (中国天然产物)*, 2010, 8: 257-259.
- [19] Zhang HJ, Ma C, Nguyen VH, et al. Milianes, a class of cytotoxic agents from *Milium sinensis* [J]. *J Med Chem*, 2006, 49: 693-708.
- [20] Connolly DJ, Dagli S, Haque ME. Constituents of the Annonaceae species *Milium velutinum* and *Desmos longijlorus* [J]. *J Indian Chem Soc*, 2003, 80: 1169-1173.
- [21] Panthama N, Kanokmedhakul S, Kanokmedhakul K. Polyacetelens from the roots of *Polyalthia debilis* [J]. *J Nat Prod*, 2010, 73: 1366-1369.
- [22] Seidel V, Bailleul F, Waterman PG. Goniotalamusin, a linear acetogenin from *Goniotalamus gardneri* [J]. *Phytochemistry*, 1999, 52: 1101-1103.
- [23] Chimeze VWN, Bankoglu EE, Zuhlke S, et al. Cytotoxic and genotoxic properties of artathomsonine, a new oxoberberine alkaloid from *Artabotrys thomsonii* (annonaceae) [J]. *Nat Prod Res*, 2022, 36: 2791-2799.
- [24] Wu LJ, Zheng CJ, Wang LK, et al. One new berberine from the branches and leaves of *Polyalthia obliqua* Hook.f. & Thomson [J]. *Nat Prod Res*, 2016, 30: 2285-2290.
- [25] Aliotta G, Monaco P, Pinto G, et al. Potential allelochemicals from *Pistia stratiotes* L [J]. *J Chem Ecol*, 1991, 17: 2223-2234.
- [26] Li YP, Zhao SM, Zeng GZ, et al. A new sesquiterpene from the rhizomes of *Hedychium yunnanense* [J]. *Chem Nat Compd*, 2016, 52: 1026-1028.