

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202109081

霍晓敏, 李丽君, 冉坚强, 等, 2023. 黔产大青化学成分及其抗菌活性研究 [J]. 广西植物, 43(1): 155–164.

HUO XM, LI LJ, RAN JQ, et al., 2023. Chemical constituents and antibacterial activities of *Clerodendrum cyrtophyllum* in Guizhou [J]. *Guihaia*, 43(1): 155–164.

黔产大青化学成分及其抗菌活性研究

霍晓敏^{1,2}, 李丽君¹, 冉坚强¹, 薛 站^{1,2}, 刘丽娜³, 谭承建^{1*}

(1. 贵州民族大学 民族医药学院, 贵阳 550025; 2. 贵州民族大学 化学工程学院, 贵阳 550025;

3. 贵州医科大学 生物与工程学院, 贵阳 550025)

摘要: 大青 (*Clerodendrum cyrtophyllum*) 是苗族地区常用的药用植物。为研究黔产大青的化学成分及其抗菌活性, 该研究采用大孔吸附树脂、反相柱色谱、硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱、半制备高效液相色谱等方法对大青 95% 乙醇提取物进行分离和纯化, 并根据波谱数据鉴定所得化合物结构, 采用 MTT 法评价其抗菌活性。结果表明: 从大青中分离得到 18 个化合物, 分别鉴定为木栓酮(1)、 α -myrin palmitate(2)、sambuculin A(3)、22-dehydroclerosterol(4)、isopetasin(5)、taraxasteryl palmitate(6)、豆甾醇(7)、22-dehydroclerosterol-3-O- β -D-(6'-O-margaroyl)-glucopyranoside(8)、3-O- β -D-galactopyranosyl-(24 β)-ethylcholesta-5,22,25-trien(9)、肉苁蓉苷 D(10)、tortoside F(11)、balanophonin(12)、木犀草苷(13)、类叶升麻苷(14)、木犀草素(15)、acanthrifoside E(16)、trichotomside B(17)、肉苁蓉苷 C(18), 其中化合物 2、3、5、6、8–13、16–18 均为首次从大青中分离得到。活性测试结果表明, 化合物 13 对乳房链球菌有一定的抑制作用。该研究丰富了大青化学成分, 为其在抗奶牛乳房炎药物的研发提供了参考。

关键词: 大青, 化学成分, 分离, 鉴定, 抗菌活性

中图分类号: Q946 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2023)01-0155-10

Chemical constituents and antibacterial activities of *Clerodendrum cyrtophyllum* in Guizhou

HUO Xiaomin^{1,2}, LI Lijun¹, RAN Jianqiang¹, XUE Zhan^{1,2}, LIU Lina³, TAN Chengjian^{1*}

(1. College of Ethnic Medicine, Guizhou Minzu University, Guiyang 550025, China; 2. College of Chemical Engineering, Guizhou Minzu University, Guiyang 550025, China; 3. School of Biology Engineering, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China)

Abstract: *Clerodendrum cyrtophyllum* is a common medicinal plant used by Miao people. In order to study the chemical constituents and antibacterial activities of *C. cyrtophyllum* in Guizhou, China. Macroporous adsorption resin, reversed phase column chromatography, silica gel column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography, and semi-preparative high performance liquid chromatography were used to separate and purify 95% ethanol extracts from *C. Cyrtophyllum*. The antibacterial activities were evaluated by MTT method. The results showed 18 compounds were

收稿日期: 2022-01-15

基金项目: 国家自然科学基金(31360084, 31660103, 32160110); 贵州省科技计划项目(黔科合支撑[2019]2414)。

第一作者: 霍晓敏(1996-), 硕士研究生, 从事天然产物提取与分离研究, (E-mail) 164451640@qq.com。

*通信作者: 谭承建, 博士, 教授, 从事天然药物化学研究, (E-mail) tej1229@163.com。

isolated and identified as friedelin (1), α -myrin palmitate (2), sambuculin A (3), 22-dehydroclerosterol (4), isopetasin (5), taraxasteryl palmitate (6), stigmasterol (7), 22-dehydroclerosterol-3-O- β -D-(6'-O-margaroyl)-glucopyranoside (8), 3-O- β -D-galactopyranosyl-(24 β)-ethylcholesta-5,22,25-trien (9), cistanoside D (10), tortoside F (11), balanophonin (12), luteoside (13), acteoside (14), luteolin (15), acantrifoside E (16), trichotomside B (17), cistanoside C (18). Among of them, compounds 2, 3, 5, 6, 8-13, 16-18 were all isolated from *C. cyrtophyllum* for the first time. Besides, biological activity test showed Compound 13 had antibacterial activity against *Streptococcus uberis*. The study enriches the chemical composition of *C. cyrtophyllum*, and provides reference for the drug development of anti-mastitis of dairy cows.

Key words: *Clerodendrum cyrtophyllum*, chemical constituents, isolation, identification, antibacterial activities

奶牛乳房炎是我国奶牛养殖业的常见疾病, 主要是由金黄色葡萄球菌、链球菌、无乳链球菌等引起的炎症(王丽芳等, 2020)。目前, 奶牛乳房炎的防治主要依靠抗生素, 但抗生素的长期滥用会引起耐药菌的产生, 威胁公共卫生安全(徐鸿润等, 2021)。临床上, 中草药被广泛用于细菌感染、炎症消除等疾病的防治, 因其毒副作用较小, 且不易产生耐药性(张晓东等, 2021), 为抗奶牛乳房炎药物的研究提供了新思路。研究表明, 中草药的天然有效成分可以直接抑制致病菌的生长繁殖, 减弱其致病性, 雪白睡莲花、蒲公英、连翘、金银花等提取物均对奶牛乳房炎的致病菌如金黄色葡萄球菌、大肠杆菌有明显的抑制作用(钟华晨等, 2020; 刘丹丹等, 2021); 中草药中皂苷类、黄酮类等天然活性成分可以通过影响炎症因子的分泌, 增强免疫能力, 抵御致病菌的入侵进而降低奶牛乳房炎的发病率(候昆等, 2019)。

大青(*Clerodendrum cyrtophyllum*) 又称路边青、山大青, 为马鞭草科大青属植物, 主要分布于我国华东、中南、西南(四川除外)各省区(裴鉴和陈守良, 1982)。《本草纲目》中记载大青味苦性寒, 有清热解毒的功效。在贵州省黔东南苗族地区, 大青是一味常用的民族药物, 苗医用大青的水煎液内服来治疗小儿感冒发烧, 疱疹病毒感染如口疮、带状疱疹等疾病(陆科闵和王福荣, 2006)。大青提取物具有一定的抗菌活性(白云霄等, 2013), 但其中的活性成分未被阐明。因此, 为深入探究大青中抗菌活性成分, 拟为大青抗奶牛乳房炎药物的研发提供基础研究数据。本研究以黔产大青为研究对象, 依托民族医药研究平台, 采用现代色谱分离手段、现代波谱学技术和现代药理学方法, 拟探讨以下问题:(1) 黔产大青乙醇提取物的化学成分;(2) 分离得到的部分化合物的抗菌活性。

1 材料与方 法

1.1 材料、仪器和试剂

1.1.1 材料 大青药材采自于贵州省贵定县云雾镇, 经贵阳中医学院孙庆文教授鉴定为马鞭草科大青属植物大青(*Clerodendrum cyrtophyllum*)。凭证标本(GZQSY2015D45)存放于贵州民族大学天然药物化学实验室。乳房链球菌(*Streptococcus uberis*)、无乳链球菌(*S. agalactiae*)由广东省农业科学院提供。

1.1.2 仪器和试剂 Avance NEO400 型核磁共振波谱仪(德国 Bruker 公司); Xevo G2-S QToF 型质谱仪(美国 Waters 公司); UltiMate 3000 型高效液相色谱仪(赛默飞世尔科技有限公司); XBridge BEH C₁₈ 半制备型色谱柱(10 mm×250 mm, 5 μ m, 美国 Waters 公司); Rotavapor R-3 型数显旋转蒸发器(瑞士步琦有限公司); LiChroperp RP-18(40~63 μ m, 德国 Merck 公司); Sephedex LH-20(瑞典 Pharmacia 公司); 柱色谱硅胶(青岛海洋化工厂公司产品); ZF-6 型三用紫外分析仪(上海嘉鹏科技有限公司); HZT-A1000 型电子天平(福州闽衡电子仪器有限公司); DB-1 型电热板(常州国华电器有限公司); 全波长酶标仪(芬兰 Thermo 公司); 全自动酶标仪(美国 BioTek 公司); MTT 噻唑蓝(北京 Solarbio 生物科技有限公司); PBS 磷酸缓冲液(北京 Solarbio 生物科技有限公司); SDS 十二烷基硫酸钠(分析纯, 美国 Sigma 公司); 甲醇、二氯甲烷、石油醚、乙酸乙酯、正丁醇等分析纯试剂(成都科隆化学品有限公司); 甲醇、乙腈等色谱纯试剂(上海星可高纯溶剂有限公司); 显色剂为 5% 硫酸乙醇溶液。

1.2 方法

1.2.1 提取与分离 将 25 kg 干燥的大青(地上部分)粉碎,用 95%乙醇热回流提取 3 次,每次 2 h,提取液合并,经减压浓缩后得到粗浸膏 1 136 g。粗浸膏用水混悬,得到悬浮液,然后依次用等体积的石油醚、二氯甲烷、正丁醇进行萃取,之后分别对其进行减压浓缩得到石油醚部位 172 g,二氯甲烷部位 41 g,正丁醇部位 429 g,水部位 373 g。

取石油醚部位 103 g,经硅胶柱(石油醚:乙酸乙酯 = 200:1、100:1、50:1、20:1、5:1、1:1)梯度洗脱,得到 13 个不同流分,石油醚:乙酸乙酯 = 200:1 洗脱得到流分 Fr.a,石油醚:乙酸乙酯 = 100:1 洗脱得到流分 Fr.b1-2,石油醚:乙酸乙酯 = 50:1 洗脱得到流分 Fr.c1-2,石油醚:乙酸乙酯 = 20:1 洗脱得到流分 Fr.d1-3,石油醚:乙酸乙酯 = 5:1 洗脱得到流分 Fr.e1-3,石油醚:乙酸乙酯 = 1:1 洗脱得到流分 Fr.f1-2。Fr.b1 经反复重结晶得到化合物 **1**(589.5 mg);Fr.b2 经硅胶柱(石油醚:乙酸乙酯 = 50:1)、Sephadex LH-20 柱(二氯甲烷:甲醇 = 1:1)洗脱得到化合物 **2**(8.4 mg)、**3**(10.2 mg)。Fr.d1 经反复重结晶得到化合物 **4**(114.2 mg);Fr.d2 经硅胶柱(石油醚:乙酸乙酯 = 30:1)、Sephadex LH-20 柱(二氯甲烷:甲醇 = 1:1)洗脱得到化合物 **5**(7.2 mg);Fr.d3 经硅胶柱(石油醚:乙酸乙酯 = 20:1)洗脱得到化合物 **6**(9.1 mg)。Fr.e2 经硅胶柱(石油醚:乙酸乙酯 = 10:1)洗脱得到化合物 **7**(9.8 mg)。Fr.f1 经硅胶柱(二氯甲烷:甲醇 = 30:1)、2 次 Sephadex LH-20 柱(二氯甲烷:甲醇 = 1:1)洗脱得到化合物 **8**(18.3 mg);Fr.f2 经硅胶柱(二氯甲烷:甲醇 = 30:1)洗脱得到化合物 **9**(52.1 mg)。

取正丁醇部位 397 g,经大孔树脂 D101 柱以乙醇(30%、50%、70%、90%、100%)梯度洗脱,得到 11 个不同流分,30%乙醇洗脱流分 Fr.A;50%乙醇洗脱流分 Fr.B1-3;70%乙醇洗脱流分 Fr.C1-4;90%乙醇洗脱流分 Fr.D1-2;100%乙醇洗脱流分 Fr.E。Fr.B2 经反相 RP-18 柱分离,甲醇-水(35%~100%)梯度洗脱,得到 Fr.B2-1~Fr.B2-4。取 Fr.B2-3 经 2 次 Sephadex LH-20 柱(甲醇)洗脱,得到化合物 **11**(11.7 mg);经半制备高效液相色谱(C_{18} 柱,水:乙腈 = 78:22)分离,得到化合物 **10**(19.2 mg)。取 Fr.B3 经反相 RP-18 柱分离和甲醇-水(35%~100%)梯度洗脱,得到 Fr.B3-1~

Fr.B3-3,取 Fr.B3-2 经 Sephadex LH-20 柱(甲醇)分离和硅胶(二氯甲烷:甲醇 = 30:1~1:1)梯度洗脱,得到化合物 **12**(27.4 mg)。Fr.C1 经反相 RP-18 柱分离和甲醇-水(30%~100%)梯度洗脱,得到 Fr.C1-1~Fr.C1-5。取 Fr.C1-2 经 Sephadex LH-20 柱(甲醇)分离和半制备高效液相色谱(乙腈:0.1%磷酸水溶液 = 18:82)纯化后得到化合物 **13**(21.1 mg)、**14**(15.3 mg)。Fr.C2 经反相 RP-18 柱分离和甲醇-水(30%~100%)洗脱后,得到 Fr.C2-1~Fr.C2-4。取 Fr.C2-1 经 2 次 Sephadex LH-20 柱(二氯甲烷:甲醇 = 1:1)、硅胶柱(二氯甲烷:甲醇 = 20:1)洗脱得到化合物 **15**(37.4 mg);取 Fr.C2-2 经 Sephadex LH-20 柱(二氯甲烷:甲醇 = 1:1)、硅胶柱(二氯甲烷:甲醇 = 12:1)洗脱,反复重结晶得到化合物 **16**(29.5 mg);取 Fr.C2-3 经两次 Sephadex LH-20 柱(二氯甲烷:甲醇 = 1:1)、半制备高效液相色谱(水:甲醇 = 56:44)洗脱,得到化合物 **17**(7.7 mg)。Fr.C3 经反相 RP-18 柱分离和甲醇-水(35%~100%)洗脱后,得到 Fr.C3-1~Fr.C3-4。取 Fr.C3-3 经 Sephadex LH-20 柱(甲醇)、硅胶柱(二氯甲烷:甲醇 = 20:1)洗脱,得到化合物 **18**(53.2 mg)。

1.2.2 抗菌活性实验 抗菌活性测定参考课题组前期建立的一种定量检测细菌活菌数的 MTT 方法(马林玉等,2021),取适量乳房链球菌、无乳链球菌分别接种于肉汤培养基,于 37 °C 培养 12 h,分别将菌液稀释至 10^6 CFU · mL⁻¹,备用。取 96 孔培养板,每孔加入菌液 90 μL,将 96 孔板划分 DMSO 阴性对照组、氨苄青霉素阳性对照组和 8 个浓度的给药组,每组设置 3 个复孔,取 10 μL 样品溶液加入给药组各孔。于 37 °C 暗培养 24 h(无乳链球菌无氧环境)。每孔加入 45 μL 0.5 mg · mL⁻¹ MTT 溶液。空白调零组加入与 MTT 等量的 PBS,继续避光培养 4 h。显色的菌液离心(12 000 r · min⁻¹、4 °C、10 min),弃上清液,加入 125 μL DMSO。向已完全溶解的产物中加入 150 μL 的 SDS,取 200 μL 混合溶液转移至 96 孔板中,用全自动酶标仪测定 OD₅₇₀。

2 结果与分析

2.1 结构鉴定

化合物 **1** 无色针状结晶, $C_{30}H_{50}O$, ESI-MS

m/z : 449.4 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.18 (3H, s, H-28), 1.05 (3H, s, H-27), 1.01 (3H, s, H-30), 1.00 (3H, s, H-26), 0.95 (3H, s, H-29), 0.88 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-23), 0.87 (3H, s, H-25), 0.72 (3H, s, H-24); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 22.41 (C-1), 41.65 (C-2), 213.36 (C-3), 58.34 (C-4), 42.27 (C-5), 41.41 (C-6), 18.37 (C-7), 53.22 (C-8), 37.57 (C-9), 59.60 (C-10), 35.47 (C-11), 30.12 (C-12), 39.38 (C-13), 38.42 (C-14), 32.55 (C-15), 36.14 (C-16), 30.63 (C-17), 42.91 (C-18), 35.75 (C-19), 28.30 (C-20), 32.90 (C-21), 39.82 (C-22), 6.96 (C-23), 14.79 (C-24), 18.08 (C-25), 18.80 (C-26), 20.39 (C-27), 32.22 (C-28), 35.16 (C-29), 31.92 (C-30)。以上数据与文献 (Toshihiro et al., 1992) 一致, 故鉴定化合物 **1** 为木栓酮。

化合物 **2** 白色油状物, C₄₆H₈₀O₂, ESI-MS m/z : 687.4 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 5.12 (1H, t, $J = 3.6$ Hz, H-12), 4.51 (1H, m, H-3), 2.29 (1H, m, H-2'), 1.07 (3H, s, H-27), 1.01 (3H, s, H-25), 0.98 (3H, s, H-26), 0.92 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-30), 0.91 (3H, s, H-23), 0.89 (3H, s, H-24), 0.89 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-29), 0.80 (3H, s, H-28); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 38.59 (C-1), 23.79 (C-2), 80.75 (C-3), 37.90 (C-4), 55.41 (C-5), 18.40 (C-6), 33.02 (C-7), 40.18 (C-8), 47.78 (C-9), 36.95 (C-10), 23.52 (C-11), 124.48 (C-12), 139.78 (C-13), 42.22 (C-14), 28.81 (C-15), 26.76 (C-16), 33.90 (C-17), 59.21 (C-18), 39.76 (C-19), 39.80 (C-20), 31.40 (C-21), 41.69 (C-22), 28.24 (C-23), 17.01 (C-24), 15.88 (C-25), 16.97 (C-26), 23.39 (C-27), 28.24 (C-28), 17.66 (C-29), 21.55 (C-30); 173.88 (C-1'), 35.02 (C-2'), 34.58-22.85 (C-3'-15'), 14.28 (C-16')。以上数据与文献 (Fatma et al., 2016) 一致, 故鉴定化合物 **2** 为 α -amyrin palmitate。

化合物 **3** 无定形白色粉末, C₄₆H₈₀O₂, ESI-MS m/z : 687.6 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 4.69 (1H, s, H-29), 4.57 (1H, s, H-29), 4.47 (1H, dd, $J = 10.6, 5.7$ Hz, H-3), 2.30 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-2'), 1.68 (3H, s, H-30), 1.03 (3H, s, H-27), 0.94 (3H, s, H-24), 0.86 (3H, s, H-23), 0.79 (3H, s, H-16'); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ : 37.98 (C-1), 23.89 (C-2), 80.78 (C-3), 38.51 (C-4), 55.52 (C-5), 18.14 (C-6), 34.35 (C-7), 40.99 (C-8), 50.48 (C-9), 38.19 (C-10), 21.09 (C-11), 25.32 (C-12), 37.23 (C-13), 42.97 (C-14), 27.58 (C-15), 35.71 (C-16), 43.14 (C-17), 48.43 (C-18), 48.15 (C-19), 151.10 (C-20), 29.85 (C-21), 40.14 (C-22), 28.11 (C-23), 16.12 (C-24), 16.72 (C-25), 16.31 (C-26), 14.66 (C-27), 18.35 (C-28), 109.50 (C-29), 19.43 (C-30); 173.89 (C-1'), 35.01 (C-2'), 25.24 (C-3'), 29.32-29.97 (C-4'-13'), 32.08 (C-14'), 22.84 (C-15'), 14.27 (C-16')。以上数据与文献 (Lin & Tome, 1988) 一致, 故鉴定化合物 **3** 为 sambuculin A。

化合物 **4** 无色针状结晶, C₂₉H₄₆O, ESI-MS m/z : 433.3 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 5.35 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-6), 5.24 (1H, dd, $J = 15.3, 7.9$ Hz, H-22), 5.21 (1H, dd, $J = 12.7, 7.5$ Hz, H-23), 4.69 (2H, m, H-27), 3.93 (1H, m, H-3), 1.25 (3H, s, H-19), 1.65 (3H, s, H-26), 1.02 (3H, d, $J = 4.7$ Hz, H-21), 0.83 (3H, t, $J = 7.6$ Hz, H-29), 0.69 (3H, s, H-18); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 37.33 (C-1), 31.72 (C-2), 71.92 (C-3), 42.34 (C-4), 140.82 (C-5), 121.80 (C-6), 31.98 (C-7), 32.02 (C-8), 50.23 (C-9), 36.60 (C-10), 21.15 (C-11), 39.76 (C-12), 42.35 (C-13), 56.93 (C-14), 24.40 (C-15), 29.79 (C-16), 55.96 (C-17), 12.14 (C-18), 19.48 (C-19), 40.28 (C-20), 20.88 (C-21), 137.29 (C-22), 130.12 (C-23), 52.08 (C-24), 148.71 (C-25), 20.31 (C-26), 109.60 (C-27), 25.79 (C-28), 12.23 (C-29)。以上数据与文献 (Kitajima & Tanaka, 1993) 一致, 故鉴定化合物 **4** 为 22-dehydroclerosterol。

化合物 **5** 无色油状物, C₂₀H₂₈O₃, ESI-MS m/z : 339.2 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 6.12 (1H, m, H-3'), 5.76 (1H, s, H-9), 2.38-2.44 (2H, m, H-2), 2.07 (3H, s, H-13), 1.98 (3H, d, $J = 1.5$ Hz, H-5'), 1.89 (3H, s, H-4'), 1.87 (3H, s, H-12), 1.04 (3H, s, H-14), 1.02 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-15); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 31.46 (C-1), 29.70 (C-2), 73.27 (C-3), 46.28 (C-4), 42.23 (C-5), 40.77 (C-6), 127.79 (C-7), 192.36 (C-8), 125.67 (C-9), 167.43 (C-10), 144.29 (C-11), 20.96 (C-12), 21.46 (C-13), 16.16 (C-14), 9.80

(C-15); 167.58 (C-1'), 126.93 (C-2'), 137.56 (C-3'), 14.57 (C-4'), 19.36 (C-5')。以上数据与文献 (Wang et al., 2014) 一致, 故鉴定化合物 **5** 为 isopetasin。

化合物 **6** 无色针状结晶, $C_{46}H_{80}O_2$, ESI-MS m/z : 703.6 $[M+K]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 4.64 (2H, d, $J = 7.1$ Hz, H-30), 4.48 (1H, dd, $J = 10.7, 5.6$ Hz, H-3), 1.04 (3H, s, H-27), 1.03 (3H, s, H-26), 1.00 (3H, s, H-25), 0.99 (3H, s, H-28), 0.90 (3H, s, H-23), 0.88 (3H, s, H-24), 0.87 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-29), 0.84 (3H, s, H-16'); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 38.44 (C-1), 23.71 (C-2), 80.55 (C-3), 37.85 (C-4), 55.47 (C-5), 18.17 (C-6), 33.98 (C-7), 40.95 (C-8), 49.94 (C-9), 37.02 (C-10), 21.40 (C-11), 25.18 (C-12), 38.75 (C-13), 42.33 (C-14), 25.87 (C-15), 40.01 (C-16), 35.28 (C-17), 47.65 (C-18), 38.54 (C-19), 153.66 (C-20), 25.04 (C-21), 39.02 (C-22), 27.97 (C-23), 16.57 (C-24), 15.89 (C-25), 16.36 (C-26), 14.14 (C-27), 26.30 (C-28), 19.25 (C-29), 107.40 (C-30); 173.75 (C-1'), 34.05 (C-2'), 25.18 (C-3'), 29.69 (C-4'-C-13'), 31.94 (C-14'), 22.71 (C-15'), 18.10 (C-16')。以上数据与文献 (Patra et al., 1981) 一致, 故鉴定化合物 **6** 为 taraxasteryl palmitate。

化合物 **7** 白色针状结晶, $C_{29}H_{48}O$, ESI-MS m/z : 451.4 $[M+K]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.35 (1H, d, $J = 5.1$ Hz, H-6), 5.15 (1H, dd, $J = 15.2, 8.6$ Hz, H-22), 5.02 (1H, dd, $J = 15.2, 8.6$ Hz, H-23), 3.53 (1H, m, H-3), 1.01 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21), 0.85 (3H, d, $J = 3.5$ Hz, H-27), 0.83 (3H, d, $J = 1.7$ Hz, H-26), 0.81 (3H, d, $J = 4.5$ Hz, H-29), 0.68 (3H, s, H-18); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 37.39 (C-1), 29.29 (C-2), 71.96 (C-3), 42.46 (C-4), 140.89 (C-5), 121.87 (C-6), 32.04 (C-7), 32.04 (C-8), 50.27 (C-9), 36.65 (C-10), 21.23 (C-11), 39.82 (C-12), 42.42 (C-13), 56.91 (C-14), 24.45 (C-15), 29.07 (C-16), 56.19 (C-17), 12.00 (C-18), 19.54 (C-19), 40.64 (C-20), 21.23 (C-21), 138.46 (C-22), 129.41 (C-23), 51.38 (C-24), 31.78 (C-25), 21.36 (C-26), 19.17 (C-27), 25.55 (C-28), 12.12 (C-29)。以上数据与文献 (贾瑞芳等, 2021) 一致, 故

鉴定化合物 **7** 为豆甾醇。

化合物 **8** 无色油状物, $C_{52}H_{88}O_7$, ESI-MS m/z : 847.6 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.35 (1H, d, $J = 3.3$ Hz, H-6), 5.23 (1H, dd, $J = 15.2, 7.8$ Hz, H-22), 5.17 (1H, dd, $J = 15.2, 7.1$ Hz, H-23), 4.70 (2H, m, H-27), 4.37 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'), 1.99 (3H, s, H-26), 1.02 (3H, s, H-19), 1.01 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-21), 0.99 (3H, s, H-18), 0.81 (3H, s, H-29), 0.69 (3H, s, H-17''); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 37.30 (C-1), 31.95 (C-2), 79.72 (C-3), 39.70 (C-4), 140.36 (C-5), 122.06 (C-6), 34.29 (C-7), 31.88 (C-8), 50.19 (C-9), 36.72 (C-10), 21.08 (C-11), 38.93 (C-12), 42.27 (C-13), 56.87 (C-14), 25.00 (C-15), 28.72 (C-16), 55.92 (C-17), 12.06 (C-18), 19.38 (C-19), 40.23 (C-20), 20.85 (C-21), 137.16 (C-22), 130.12 (C-23), 52.01 (C-24), 148.55 (C-25), 20.22 (C-26), 109.55 (C-27), 25.71 (C-28), 12.14 (C-29); 101.26 (C-1'), 76.18 (C-2'), 73.77 (C-3'), 73.42 (C-4'), 70.38 (C-5'), 63.57 (C-6'); 174.33 (C-1''), 34.29 (C-2''), 31.88 (C-3''), 29.70 (C-4''-C-14''), 24.33 (C-15''), 22.71 (C-16''), 14.13 (C-17'')。以上数据与文献 (Xu et al., 2013) 一致, 故鉴定化合物 **8** 为 22-dehydroclerosterol-3-O- β -D-(6'-O-margaroyl)-glucopyranoside。

化合物 **9** 白色无定形粉末, $C_{35}H_{56}O_6$, ESI-MS m/z : 595.4 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO) δ : 5.33 (1H, s, H-6), 5.22 (1H, dd, $J = 12.6, 4.8$ Hz, H-22), 5.19 (1H, dd, $J = 12.2, 5.1$ Hz, H-23), 4.68 (2H, s, H-27), 4.22 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 1.61 (3H, s, H-26), 0.98 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-21), 0.96 (3H, s, H-19), 0.79 (3H, t, $J = 7.3$ Hz, H-29), 0.67 (3H, s, H-18); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO) δ : 36.85 (C-1), 31.43 (C-2), 76.95 (C-3), 38.34 (C-4), 140.48 (C-5), 121.21 (C-6), 29.29 (C-7), 31.43 (C-8), 49.65 (C-9), 36.25 (C-10), 21.49 (C-11), 38.34 (C-12), 41.80 (C-13), 56.26 (C-14), 23.88 (C-15), 28.31 (C-16), 55.30 (C-17), 11.88 (C-18), 19.12 (C-19), 40.44 (C-20), 19.94 (C-21), 136.84 (C-22), 129.59 (C-23), 51.31 (C-24), 147.70 (C-25), 20.71 (C-26), 109.98 (C-27), 25.23 (C-28), 12.02 (C-29); 100.81 (C-1'), 73.49 (C-2'), 76.78 (C-3'), 70.11

(C-4'), 76.95 (C-5'), 61.11 (C-6')。以上数据与文献 (Saeedan et al., 1997) 一致, 故鉴定化合物 **9** 为 3-O- β -D-galactopyranosyl-(24 β)-ethylcholesta-5, 22, 25-trien。

化合物 **10** 淡黄色粉末, C₃₁H₄₀O₁₅, ESI-MS m/z : 675.3 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, DMSO) δ : 7.56 (1H, d, J = 15.8 Hz, H-7'), 7.29 (1H, d, J = 1.7 Hz, H-2'), 6.82 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 6.40 (1H, d, J = 15.8 Hz, H-8'), 5.06 (1H, s, H-1'''), 4.38 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-1''), 3.82 (3H, s, 3-OCH₃), 3.79 (3H, s, 3'-OCH₃), 2.76 (2H, m, H-7), 1.12 (3H, d, J = 6.1 Hz, H-6'''); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO) δ : 132.80 (C-1), 112.70 (C-2), 147.90 (C-3), 147.42 (C-4), 117.34 (C-5), 121.25 (C-6), 36.68 (C-7), 72.22 (C-8), 56.41 (3-OCH₃); 127.05 (C-1'), 117.96 (C-2'), 151.54 (C-3'), 149.77 (C-4'), 115.56 (C-5'), 124.99 (C-6'), 147.80 (C-7'), 113.98 (C-8'), 167.65 (C-9'), 57.33 (3'-OCH₃); 104.03 (C-1''), 76.21 (C-2''), 80.95 (C-3''), 70.51 (C-4''), 76.24 (C-5''), 62.43 (C-6''); 102.97 (C-1'''), 72.07 (C-2'''), 71.87 (C-3'''), 73.37 (C-4'''), 70.83 (C-5'''), 19.79 (C-6''')。以上数据与文献 (高映等, 2017) 一致, 故鉴定化合物 **10** 为肉苁蓉苷 D。

化合物 **11** 淡黄色粉末, C₂₆H₃₀O₁₁, ESI-MS m/z : 541.2 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 9.57 (1H, d, J = 7.9 Hz, H-9'), 7.61 (1H, d, J = 15.7 Hz, H-7'), 7.00 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2), 6.86 (1H, dd, J = 8.2, 1.9 Hz, H-6), 6.78 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-5), 6.74 (1H, dd, J = 8.0, 16.0 Hz, H-8'), 4.37 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-1''), 3.91 (3H, s, 3-OCH₃), 3.83 (3H, s, 3'-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 133.52 (C-1), 110.82 (C-2), 149.12 (C-3), 147.83 (C-4), 116.17 (C-5), 119.96 (C-6), 90.18 (C-7), 52.17 (C-8), 71.95 (C-9), 56.44 (3-OCH₃); 129.67 (C-1'), 114.39 (C-2'), 145.92 (C-3'), 152.75 (C-4'), 131.33 (C-5'), 120.29 (C-6'), 156.26 (C-7'), 127.14 (C-8'), 196.28 (C-9'), 56.76 (3'-OCH₃); 104.34 (C-1''), 75.14 (C-2''), 78.03 (C-3''), 71.56 (C-4''), 78.17 (C-5''), 62.69 (C-6'')。以上数据与文献 (孟永海, 2007) 一致, 故鉴定化合物 **11** 为 tortoside F。

化合物 **12** 淡黄色粉末, C₂₀H₂₀O₆, ESI-MS m/z : 379.1 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 9.58 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-9'), 7.62 (1H, d, J = 15.8 Hz, H-7'), 7.29 (1H, s, H-6'), 7.23 (1H, d, J = 1.3 Hz, H-2'), 6.95 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2), 6.83 (1H, dd, J = 8.2, 1.8 Hz, H-6), 6.78 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-5), 6.69 (1H, dd, J = 15.7, 7.8 Hz, H-8'), 5.61 (1H, d, J = 6.4 Hz, H-7), 3.91 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.82 (3H, s, 3-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 133.91 (C-1), 110.55 (C-2), 149.19 (C-3), 147.83 (C-4), 131.25 (C-5), 119.99 (C-6), 90.10 (C-7), 54.65 (C-8), 64.54 (C-9), 56.78 (3-OCH₃); 129.62 (C-1'), 114.21 (C-2'), 146.02 (C-3'), 152.94 (C-4'), 130.85 (C-5'), 119.80 (C-6'), 156.16 (C-7'), 127.09 (C-8'), 196.19 (C-9'), 56.37 (3'-OCH₃)。以上数据与文献 (Li et al., 2017) 一致, 故鉴定化合物 **12** 为 balanophonin。

化合物 **13** 黄色粉末, C₂₁H₂₀O₁₁, ESI-MS m/z : 471.1 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, DMSO) δ : 12.99 (1H, s, 5-OH), 7.44 (1H, d, J = 8.3, 2.2 Hz, H-6'), 7.42 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-2'), 6.90 (1H, d, J = 8.3 Hz, H-5'), 6.78 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-8), 6.75 (1H, s, H-3), 6.44 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-6), 5.08 (1H, d, J = 7.4 Hz, H-1''); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO) δ : 164.50 (C-2), 103.20 (C-3), 181.94 (C-4), 161.16 (C-5), 99.56 (C-6), 162.97 (C-7), 94.74 (C-8), 156.98 (C-9), 105.37 (C-10); 121.39 (C-1'), 113.60 (C-2'), 145.82 (C-3'), 149.98 (C-4'), 116.02 (C-5'), 119.21 (C-6'); 99.88 (C-1''), 73.15 (C-2''), 77.19 (C-3''), 69.56 (C-4''), 76.42 (C-5''), 60.63 (C-6'')。以上数据与文献 (周志强, 2013) 一致, 故鉴定化合物 **13** 为木犀草苷。

化合物 **14** 黄色粉末, C₂₉H₃₆O₁₅, ESI-MS m/z : 647.2 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.56 (1H, d, J = 12.8 Hz, H-7'), 7.03 (1H, d, J = 1.4 Hz, H-2'), 6.92 (1H, dd, J = 8.0, 1.4 Hz, H-6'), 6.75 (1H, d, J = 6.6 Hz, H-5'), 6.67 (1H, d, J = 1.4 Hz, H-2), 6.65 (1H, d, J = 6.4 Hz, H-5), 6.52 (1H, dd, J = 1.4, 7.8 Hz, H-6), 6.25 (1H, d, J = 12.7 Hz, H-8'), 5.16 (1H, s, H-1'''), 4.34 (1H, d, J = 6.3 Hz, H-1''), 1.06 (3H, d, J = 4.9

Hz, H-6'''); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 131.39 (C-1), 117.07 (C-2), 145.94 (C-3), 144.49 (C-4), 114.55 (C-5), 121.26 (C-6), 36.41 (C-7), 70.33 (C-8); 127.53 (C-1'), 116.28 (C-2'), 146.66 (C-3'), 149.65 (C-4'), 116.48 (C-5'), 123.25 (C-6'), 148.01 (C-7'), 115.17 (C-8'), 168.31 (C-9'); 104.00 (C-1''), 76.04 (C-2''), 81.65 (C-3''), 71.91 (C-4''), 75.78 (C-5''), 62.19 (C-6''); 102.94 (C-1'''), 72.18 (C-2'''), 72.21 (C-3'''), 73.66 (C-4'''), 70.42 (C-5'''), 18.40 (C-6'''). 以上数据与文献(高燕萍等, 2016)一致, 故鉴定化合物 **14** 为类叶升麻苷。

化合物 **15** 黄色粉末, $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$, ESI-MS m/z : 309.0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 12.96 (1H, s, 5-OH), 10.81 (1H, s, 7-OH), 9.91 (1H, s, 3'-OH), 9.39 (1H, s, 4'-OH), 7.40 (1H, dd, $J = 8.3, 2.3$ Hz, H-6'), 7.38 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-2'), 6.88 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5'), 6.66 (1H, s, H-3), 6.43 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 6.18 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 164.76 (C-2), 102.48 (C-3), 182.49 (C-4), 161.85 (C-5), 98.78 (C-6), 164.97 (C-7), 93.65 (C-8), 158.05 (C-9), 103.91 (C-10); 122.32 (C-1'), 112.78 (C-2'), 145.68 (C-3'), 149.64 (C-4'), 115.41 (C-5'), 118.92 (C-6')。以上数据与文献(李勇军等, 2005)一致, 故鉴定化合物 **15** 为木犀草素。

化合物 **16** 白色结晶, $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_8$, ESI-MS m/z : 379.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ : 6.68 (2H, s, H-3, 5), 6.33 (1H, d, $J = 16.3$ Hz, H-7), 6.24 (1H, m, H-8), 4.89 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1'), 3.76 (6H, s, 2-OCH₃, 6-OCH₃), 1.83 (3H, d, $J = 5.8$ Hz, H-9); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO) δ : 134.07 (C-1), 153.16 (C-2, 6), 104.54 (C-3, 5), 133.62 (C-4), 131.21 (C-7), 125.34 (C-8), 18.61 (C-9), 56.81 (2-OCH₃, 6-OCH₃); 103.09 (C-1'), 74.64 (C-2'), 77.66 (C-3'), 70.40 (C-4'), 77.00 (C-5'), 61.37 (C-6')。以上数据与文献(刘燕等, 2015)一致, 故鉴定化合物 **16** 为 acantrifoside E。

化合物 **17** 白色胶状, $\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{O}_{13}$, ESI-MS m/z : 665.3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 6.47 (1H, s, H-14), 4.44 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-

1'), 4.33 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1''), 3.22 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-3), 1.20 (3H, s, H-20), 1.19 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-17), 1.17 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-16), 1.01 (3H, s, H-18), 0.86 (3H, s, H-19); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 34.59 (C-1), 26.53 (C-2), 88.10 (C-3), 39.41 (C-4), 52.72 (C-5), 18.87 (C-6), 33.12 (C-7), 133.52 (C-8), 132.28 (C-9), 38.87 (C-10), 147.54 (C-11), 141.10 (C-12), 139.48 (C-13), 116.46 (C-14), 25.24 (C-15), 22.51 (C-16), 22.80 (C-17), 27.84 (C-18), 16.92 (C-19), 19.55 (C-20); 106.62 (C-1'), 73.83 (C-2'), 76.86 (C-3'), 70.31 (C-4'), 76.74 (C-5'), 61.44 (C-6'); 103.96 (C-1''), 74.08 (C-2''), 79.07 (C-3''), 69.66 (C-4''), 76.65 (C-5''), 60.90 (C-6'')。以上数据与文献(Hu et al., 2018)一致, 故鉴定化合物 **17** 为 trichotomside B。

化合物 **18** 淡黄色粉末, $\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{O}_{15}$, ESI-MS m/z : 637 $[\text{M-H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.59 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-7'), 7.07 (1H, s, H-2'), 6.95 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-6'), 6.80 (1H, d, $J = 3.2$ Hz, H-5'), 6.78 (1H, d, $J = 3.2$ Hz, H-2), 6.73 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-5), 6.66 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-6), 6.28 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8'), 5.19 (1H, s, H-1'''), 4.37 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-1''), 3.80 (3H, s, 3-OCH₃), 2.80 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, H-7), 1.09 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, H-6''); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 132.71 (C-1), 116.97 (C-2), 147.12 (C-3), 146.66 (C-4), 112.69 (C-5), 121.14 (C-6), 36.40 (C-7), 72.22 (C-8), 56.40 (3-OCH₃); 127.53 (C-1'), 115.18 (C-2'), 147.37 (C-3'), 149.63 (C-4'), 116.48 (C-5'), 123.23 (C-6'), 147.97 (C-7'), 114.57 (C-8'), 168.27 (C-9'); 104.02 (C-1''), 76.03 (C-2''), 81.63 (C-3''), 71.93 (C-4''), 75.80 (C-5''), 62.22 (C-6''), 102.93 (C-1'''), 70.43 (C-2'''), 72.02 (C-3'''), 73.67 (C-4'''), 70.32 (C-5'''), 18.42 (C-6''')。以上数据与文献(李友宾等, 2005)一致, 故鉴定化合物 **18** 为肉苁蓉苷 C。

2.2 抗菌活性结果

采用 MTT 法测试大青粗提物对乳房链球菌、无乳链球菌的抗菌活性。结果显示, 正丁醇部位 Fr.B3、Fr.C1、Fr.D2 组分对乳房链球菌有抗菌活性, IC_{50} 分别为 7.02、0.89、6.79 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; Fr.B3、

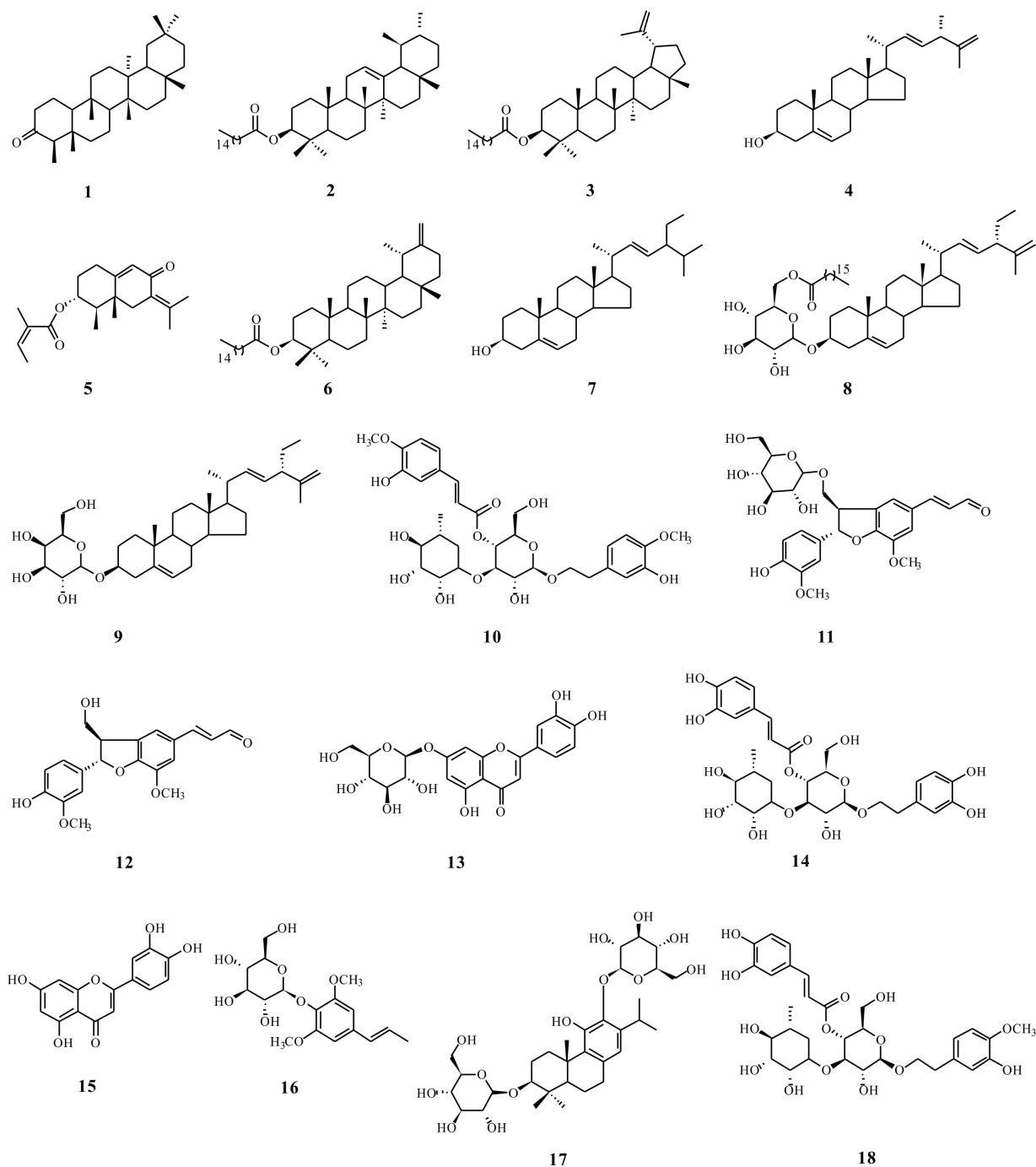


图 1 化合物 1-18 结构式

Fig. 1 Structures of compounds 1-18

Fr.C1、Fr.C3、Fr.C4、Fr.D2 5 份粗提物对无乳链球菌有抗菌活性, IC_{50} 分别为 2.38、0.72、1.31、4.63、 $0.98 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。这表明 Fr.C1 部位具有一定的抗菌活性。

采用同样的方法对经过粗筛活性较好的部位

Fr.C1 分离得到的 2 个单体化合物进行抗菌活性测试, 测定结果为化合物 13 对乳房链球菌有一定的抑制活性, MIC 为 $0.18 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 对无乳链球菌无明显抑制活性; 化合物 14 对乳房链球菌和无乳链球菌均无明显抑制活性。

3 讨论与结论

本研究对黔产大青乙醇提取物中化学成分进行分离鉴定, 从中共得到了 18 个化合物。经查阅相关文献, 化合物 **2**、**3**、**5**、**6**、**8**–**13**、**16**–**18** 均为首次从大青中分离得到。部分化合物的抗菌活性试验结果表明, 化合物 **13** 对乳房链球菌有一定的抑制活性。

木犀草苷 (**13**) 是木犀草素 (**15**) 7-OH 配糖化后的一种苷, 研究表明木犀草素 (**15**) 能通过破坏细菌细胞壁和细胞膜结构完整性和抑制 DNA 拓扑异构酶活性发挥抗菌效果 (王倩和谢明杰, 2010), 木犀草苷 (**13**) 对乳房链球菌的抑制作用是否也通过上述机制得以实现, 还有待进一步深入研究。本次实验中虽然类叶升麻苷 (**14**) 未表现出抗菌活性, 但该化合物具有较强抗氧化活性 (杨建华等, 2009), 可以对抗因炎症反应而产生的过氧化物, 进而修复炎症组织。奶牛乳房炎是由多种因素引起的炎症反应, 主要是病原微生物的感染, 常见致病菌有无乳链球菌、乳房链球菌、金黄色葡萄球菌等 (张晓东等, 2021)。此外, 奶牛乳房组织新陈代谢旺盛, 体内自由基含量过高引起氧化应激, 亦可损伤奶牛乳房细胞进而诱发乳房炎 (郭咏梅和闫素梅, 2021)。如果将具有抗奶牛乳房炎致病菌作用的木犀草苷 (**13**) 与对抗炎症反应的类叶升麻苷 (**14**) 联用, 是否能显著增强对奶牛乳房炎的防治效果, 还需进一步探究。本研究丰富了大青化学成分的物质基础, 初步探讨了其抗菌活性成分, 为后续大青抗奶牛乳房炎药物的研发提供了一定参考, 拓展了苗族医药在动物疾病防治方面的应用。

参考文献:

BAI YX, ZHANG NN, JIANG CY, 2013. Research on *in vitro* antibacterial activity of extract with Chinese herb pairs [J]. *Resour Dev Mark*, 29(6): 572–573. [白云霄, 张妞妞, 江长优, 2013. 中药药对提取物体外抑菌活性研究 [J]. *资源开发与市场*, 29(6): 572–573.]

FATMA ES, HANAA K, DINA AH, et al., 2016. Phytochemical investigation of the bioactive extracts of the leaves of *Ficus cyathistipula* Warb [J]. *Z Naturforsch C J Biosci*, 71(5–6): 141–154.

GAO Y, PENG CY, CHEN XY, et al., 2017. Studies on the phenylethanoid glycosides from the fresh roots of *Rehmannia glutinosa* [J]. *Chin Med Mat*, 40(9): 2073–2076. [高映, 彭财英, 陈祥云, 等, 2017. 鲜地黄中苯乙醇类化合物分离与鉴定 [J]. *中药材*, 40(9): 2073–2076.]

GAO YP, ZHONG GY, SHEN YH, 2016. Chemical constituents from *Incarvillea sinensis* var. *Przewalskii* [J]. *Chin Trad Herb Drugs*, 47(5): 712–716. [高燕萍, 钟国跃, 沈云亨, 2016. 黄花角蒿的化学成分研究 [J]. *中草药*, 47(5): 712–716.]

GUO YM, YAN SM, 2021. Regulation and mechanism of selenium on oxidative stress and inflammation in dairy cows [J]. *Chin J Anim Nutr*, 33(8): 4213–4220. [郭咏梅, 闫素梅, 2021. 硒对奶牛乳腺氧化应激及炎症反应的调控作用及其机制 [J]. *动物营养学报*, 33(8): 4213–4220.]

HOU K, TONG JJ, XIONG BH, et al., 2019. Application progress of plant extracts on prevention and treatment of mastitis in dairy cow [J]. *Chin J Anim Nutr*, 31(7): 3009–3015. [侯昆, 童津津, 熊本海, 等, 2019. 植物提取物防治奶牛乳房炎的应用进展 [J]. *动物营养学报*, 31(7): 3009–3015.]

HU HJ, ZHOU Y, HAN ZZ, et al., 2018. Abietane diterpenoids from the roots of *Clerodendrum trichotomum* and their nitric oxide inhibitory activities [J]. *J Nat Prod*, 81(7): 1508–1516.

JIA RF, LIU HX, HUANG ML, et al., 2021. Chemical constituents from *Agastache rugosa* [J]. *Chin Trad Herb Drugs*, 52(10): 2884–2889. [贾瑞芳, 刘荷秀, 黄美玲, 等, 2021. 苏藿香化学成分研究 [J]. *中草药*, 52(10): 2884–2889.]

KITAJIMA J, TANAKA Y, 1993. Constituents of *Prunus zippeliana* leaves and branches [J]. *Chem Pharm Bull*, 41(11): 2007–2009.

LIN CN, TOME WP, 1988. Antihepatotoxic principles of *Sambucus formosana* [J]. *Planta Med*, 54(3): 223–224.

LI JL, LI N, XING SS, et al., 2017. New neo-lignan from *Acanthopanax senticosus* with protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory activity [J]. *Arch Pharm Res*, 40(11): 1265–1270.

LIU DD, LUO J, XIANG WW, et al., 2021. Antimicrobial and anti-inflammatory effects of crude extract of *Nymphaea candida* on major pathogens in cow mastitis *in vitro* [J]. *Prog Vet Med*, 42(7): 17–21. [刘丹丹, 罗洁, 向薇薇, 等, 2021. 雪白睡莲花粗提物对奶牛乳房炎主要致病菌体外抑菌和抗炎作用 [J]. *动物医学进展*, 42(7): 17–21.]

LIU Y, WANG ZY, HE WJ, et al., 2015. Chemical constituents from stems and leaves of *Micromelum integerrimum* [J]. *Acta Pharm Sin*, 50(4): 475–479. [刘燕, 王志尧, 贺文军, 等, 2015. 小芸木茎和叶中化学成分研究 [J]. *药学报*, 50(4): 475–479.]

LI YB, LI J, LI P, et al., 2005. Isolation and characterization of phenylethanoid glycosides from *Clerodendron bungei*

- [J]. *Acta Pharm Sin*, (8): 722-727. [李友宾, 李军, 李萍, 等, 2005. 臭牡丹苯乙醇苷类化合物的分离鉴定 [J]. *药学学报*, (8): 722-727.]
- LI YJ, HE X, LIU LN, et al., 2005. Studies on chemical constituents in herb of *Polygonum orientale* [J]. *Chin J Chin Mat Med*, (6): 444-446. [李勇军, 何迅, 刘丽娜, 等, 2005. 荭草化学成分的研究 [J]. *中国中药杂志*, (6): 444-446.]
- LU KM, WANG FR, 2006. *Miao medical Science* [M]. Guiyang: Guizhou Science Press: 206-208. [陆科闵, 王福荣, 2006. 苗族医学 [M]. 贵阳: 贵州科学出版社: 206-208.]
- MA LY, HU JY, LIN X, et al., 2021. Study on viable count of *Streptococcus agalactia* causing bovine mastitis by MTT method [J]. *Chin J Anim Infect Dis*, 29(6): 100-104. [马林玉, 胡家银, 林焯, 等, 2021. MTT 法检测奶牛乳房炎无乳链球菌活菌数的研究 [J]. *中国动物传染病学报*, 29(6): 100-104.]
- MENG YH, 2007. Study on chemical constituents of *Cirsium Setosum*(Wild.) MB. [D]. Harbin: Heilongjiang University of Chinese Medicine. [孟永海, 2007. 小蓟的化学成分研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学.]
- PATRA A, MUKHOPADHYAY AK, MITRA AK, 1981. Carbon-13 resonance assignments of some friedelanones and taraxasteranes [J]. *Org Magn Reson*, 17(3): 166-168.
- PEI J, CHEN SL, 1982. *Flora of China* [M]. Beijing: Science Press, 65: 165. [裴鉴, 陈守良, 1982. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 65: 165.]
- SAEEDAN B, SUMAYYA S, CHOUDHAPY, et al., 1997. A steroidal glycoside from *Clerodendron inerme* [J]. *Phytochemistry*, 45(8): 1721-1722.
- TOSHIHIRO A, KAZUHIRO Y, TOSHITAKE T, et al., 1992. Triterpenoid ketones from *Lingnania chungii* MOCLURE; arborinone, friedelin and glutinone [J]. *Chem Pharm Bull*, 40(3): 789-791.
- WANG CF, LI JP, RU Y, et al., 2014. Petasins from the rhizomes of *Ligularia fischeri* and its derivatives [J]. *Rec Nat Prod*, 8(2): 156.
- WANG LF, YANG J, ZHONG HC, et al., 2020. Pathogenic microorganisms associated contamination in raw milk of dairy cows with mastitis and corresponding control measures [J]. *Anim Husb Feed Sci*, 41(5): 52-57. [王丽芳, 杨健, 钟华晨, 等, 2020. 乳房炎源生鲜乳中病原微生物的污染现状及防控措施 [J]. *畜牧与饲料科学*, 41(5): 52-57.]
- WANG Q, XIE MJ, 2010. Antibacterial activity and mechanism of luteolin on *Staphylococcus aureus* [J]. *Acta Microbiol Sin*, 50(9): 1180-1184. [王倩, 谢明杰, 2010. 木犀草素对金黄色葡萄球菌的抑菌活性及其机制 [J]. *微生物学报*, 50(9): 1180-1184.]
- XU RL, WANG R, DING L, et al., 2013. New cytotoxic steroids from the leaves of *Clerodendrum trichotomum* [J]. *Steroids*, 78(7): 711-716.
- XU HR, LIU PY, XING XG, et al., 2021. Progress on probiotics and their replacement of antibiotics in the treatment of dairy cow mastitis [J]. *Chin Dairy Cattle*, 378(10): 1-4. [徐鸿润, 刘沛尧, 邢小光, 等, 2021. 益生菌及其替代抗生素治疗奶牛乳腺炎研究进展 [J]. *中国奶牛*, 378(10): 1-4.]
- YANG JH, HU JP, RENA K, et al., 2009. Structure-activity relationships of phenylethanoid glycosides in plants of *cistanche salsa* on antioxidative activity [J]. *Chin Med Mat*, 32(7): 1067-1069. [杨建华, 胡君萍, 热娜·卡斯木, 等, 2009. 肉苁蓉属植物中六种苯乙醇苷类化合物抗氧化活性的构效关系研究 [J]. *中药材*, 32(7): 1067-1069.]
- ZHANG XD, YANG WJ, MENG R, et al., 2021. Research progress on the effect of Chinese herbal feed additives on dairy cow mastitis [J]. *Chin Feed*, 677(9): 1-6. [张晓东, 杨文娇, 孟然, 等, 2021. 中草药饲料添加剂对奶牛乳房炎的影响研究进展 [J]. *中国饲料*, 677(9): 1-6.]
- ZHONG HC, ZHANG SF, FENG XH, et al., 2020. Study on the antibacterial effect of plant extracts on the pathogenic bacteria of dairy cow mastitis [J]. *Heilongjiang Anim Sci Vet Med*, 611(23): 117-121. [钟华晨, 张三粉, 冯小慧, 等, 2020. 植物提取物对奶牛乳房炎致病菌的抑菌效果研究 [J]. *黑龙江畜牧兽医*, 611(23): 117-121.]
- ZHOU ZQ, 2013. Studies on chemical constituents of *Callicarpa nudiflora* [D]. Nanchang: Nanchang University. [周志强, 2013. 裸花紫珠化学成分的研究 [D]. 南昌: 南昌大学.]

(责任编辑 李 莉)