

## 短柄小连翘化学成分\*

李祖强<sup>1</sup>, 罗蕾<sup>2</sup>, 黄荣<sup>1</sup>, 马国义<sup>3</sup>

(1. 云南大学实验中心, 云南昆明 650091; 2. 云南师范大学化学化工学院, 云南昆明 650092;

3. 悉尼大学药理学系, 澳大利亚悉尼)

**摘要:** 在细胞毒性试验结果指导下, 对短柄小连翘(*Hypericum petiolulatum* Hook. f. et Thoms. ex Dyer) 植物全株的有效部位进行化学成分研究. 从二氯甲烷及乙酸乙酯提取物中分离纯化得 6 个化合物, 通过波谱数据分析, 鉴定了结构, 分别是: 3 $\alpha$ - 表白桦树脂酸(3 $\alpha$ - epi- betulinic acid, 1), Patuloside A(2), Dimethylpaxanthonin(3), Morusignin D(4), 槲皮素(Quercetin, 5)和槲皮甙(Quercitrin, 6). 化合物 1~6 均为首次从该植物中分离得到. 同时, 细胞毒性试验发现, 短柄小连翘的粗提物及其二氯甲烷和乙酸乙酯提取物有细胞毒性, 其 IC<sub>50</sub> 分别是 11.0, 8.5, 10.0  $\mu$ g/mL.

**关键词:** 短柄小连翘; 白桦树脂酸; 醌; 黄酮; 细胞毒性

**中图分类号:** Q 949.74710; Q 946 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-7971(2004)01-0061-05

短柄小连翘(*Hypericum petiolulatum* Hook. f. et Thoms. ex Dyer) 是金丝桃亚科(*Hypericaceae*) 金丝桃属植物, 在我省分布极为广泛, 其中分布最为集中的是滇中地区和滇西北地区<sup>[1]</sup>. 该植物具有清热解毒、收敛止血、利湿的功效, 民间用于消炎消肿.

关于短柄小连翘的化学成分及抗癌活性, 国内外尚无人报道. 本文的化学成分研究, 是在细胞毒性筛选结果指导下同步进行的. 对采自滇东北的短柄小连翘植物全株的 95% 乙醇粗提物 HP0 及其石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲醇的萃取物 HP1, HP2, HP3, HP4, 分别用 L<sub>1210</sub> 细胞进行了细胞毒试验. 结果表明, HP0, HP2, HP3 具有抗癌活性, 其 IC<sub>50</sub> 分别是 11.0, 8.5, 10.0  $\mu$ g/mL.

从活性部位 HP2, HP3 中分离提纯得 6 个化合物, 分别测定了理化数据, 通过 1D 和 2D NMR, MS 及 IR 等波谱分析, 确定了结构, 分别是: 3 $\alpha$ - 表白桦树脂酸(3 $\alpha$ - epi- betulinic acid, 1); Patuloside A(2); Dimethylpaxanthonin(3); Morusignin D(4) 和槲皮素(Quercetin, 5)、槲皮甙(Quercitrin,

6). 化合物(1)~(6)均为首次从该植物中分离得到.

## 1 实验部分

**1.1 仪器和材料** 熔点用北京第三光学仪器厂 X-6 型显微熔点测定仪测定, 温度未校正. IR 用美国 BIO-RAD 公司 FTS-40 型红外光谱仪测定, KBr 压片. NMR 用 Bruker Avance 公司 DRX500 型核磁共振仪测定, TMS 为内标. MS 用英国 VG 公司 Auto spect-3000 型质谱仪测定. 柱层析用粗硅胶(0.075~0.037 mm)为青岛海洋化工厂产品, 细硅胶(40~60  $\mu$ m)及 TLC 硅胶片(F254)为德国 Merck 公司产品.

采自滇东北的短柄小连翘(*Hypericum petiolulatum* Hook. f. et Thoms. ex Dyer) 全株, 由高级药剂师李元鉴定.

**1.2 分离提取** 取短柄小连翘植物全株干样 8 kg, 用 95% 乙醇浸泡 30 d, 提取浸膏 HA0(480 g). 取浸膏 350 g 与等重化学纯硅藻土加 95% 乙醇混合均匀, 于水浴上炒干, 称重,  $m_{\text{样}} = 300$  g. 用石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯及甲醇, 在索氏提取器中分

\* 收稿日期: 2003-09-02

基金项目: 云南省应用科学基金资助项目(1999B004M); 云南省国际合作项目(GH200121).

作者简介: 李祖强(1943-), 男, 教授, 主要从事抗癌活性天然产物方面的研究.

步萃取,得组分 HP1,HP2,HP3,HP4.

合并经细胞毒试验筛选有活性的组分 HP2 和 HP3 ( $m = 90 \text{ g}$ ),用  $0.075 \sim 0.037 \text{ mm}$  硅胶为吸附剂,进行多次柱层析(石油醚-乙酸乙酯-甲醇系统),按梯度洗脱.未纯化的组分再用  $40 \sim 60 \mu\text{m}$  硅胶层析抽提、重结晶,纯化得 10 个单体.

**1.3 细胞毒性筛选** 称取 HP0,HP1~HP4 等粗提物及组分各  $10 \text{ mg}$ ,用二甲亚砜配成  $0, 1, 10, 100 \mu\text{g}/\text{mL}$  4 种质量浓度溶液,置于培养瓶中,分别加入含有等同数目的  $L_{1210}$  癌细胞的  $10\%$  小牛血清的 RPMI1640 培养基,保存在  $5\% \text{ CO}_2$  的  $37^\circ\text{C}$  恒温箱内.分别在  $12, 24, 48, 72 \text{ h}$  的时间段.观察细胞生长情况,最后用染料排斥试验法计算对  $L_{1210}$  细胞生长抑制率.体外试验在悉尼大学癌症医学系药理室实施.试验结果表明,粗提物(HP0)、二氯甲烷提取物(HP2)及乙酸乙酯提取物(HP3)有细胞毒活性, $\text{IC}_{50}$  分别是  $11.0, 8.5, 10.0 \mu\text{g}/\text{mL}$ .

## 2 结构鉴定

**2.1 化合物(1)** 白色粒晶( $80 \text{ mg}$ ),  $m. p. 316 \sim 318^\circ\text{C}$  ( $\text{CHCl}_3 - \text{MeOH}$ ).由 EIMS  $m/z: 456[\text{M}]^+$  及  $^1\text{H}$ - 和  $^{13}\text{C}$  NMR 谱得分子式  $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$ . Lieber-

man-burchard 反应示有三萜结构.  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR, DEPT 及 HMQC 谱,示有 7 个季碳(其中 1 个为羰基碳)、6 个次甲基、11 个亚甲基及 6 个甲基. IR( $\text{KBr}, \text{cm}^{-1}$ ) 信号表明有羟基( $3440$ )、烷烃骨架( $2940$ )、羧羰基( $1680$ )和烯键( $1640$ )存在. EIMS  $m/z$  (%):  $456[\text{M}]^+$  ( $5$ ),  $441[\text{M} - \text{CH}_3]^+$  ( $4$ ),  $438[\text{M} - \text{H}_2\text{O}]^+$  ( $5$ ),  $423[441 - \text{H}_2\text{O}]^+$  ( $5$ ),  $395[\text{M} - \text{COOH}]^+$  ( $5$ ),  $248[\text{M} - 208]^+$  ( $35$ ),  $189[\text{M} - 248 - \text{H} - \text{H}_2\text{O}]^+$  ( $100$ ), 是羽扇豆烷三萜特征碎片<sup>[2]</sup>.  $^1\text{H}$  NMR 及  $^1\text{H} - ^1\text{H}$  COSY 谱中,双键端基 2 个质子( $\alpha - \text{H} - 29$  及  $\beta - \text{H} - 29$ ) ( $\delta 4.73, 4.57$ ) 与  $\text{H} - 19$  ( $\delta 2.13$ ),  $\text{H} - 30$  ( $\delta 1.74$ ) 之间偶合,表明  $\text{C} - 29, \text{C} - 19, \text{C} - 30$  之间相关; $\text{H} - 3$  ( $\delta 3.47$ ) 显示为双重峰,分别与  $\alpha - \text{H} - 2$  及  $\beta - \text{H} - 2$  ( $\delta 1.42, 1.45$ ) 偶合,因此羟基应连在  $\text{C} - 3$  位  $\alpha$  取向.对化合物(1)的  $^{13}\text{C}$  NMR 和  $^1\text{H}$  NMR 谱信号进行仔细解析和指定,列于表 1.推断化合物(1)为  $3\alpha$ - 表白桦树脂酸 ( $3\alpha$ - epi- betulinic acid) (见图 1). 与文献中白桦树脂酸的  $^{13}\text{C}$  NMR 谱对照<sup>[3]</sup>,基本一致.

**2.2 化合物(2)** 黄色粒晶( $20 \text{ mg}$ ),  $m. p. 281 \sim 283^\circ\text{C}$  ( $\text{CHCl}_3 - \text{MeOH}$ ).由 FAB-MS  $m/z: 423[\text{M} + \text{H}]^+$  及 NMR 波谱得分子式  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$ . 由 1D

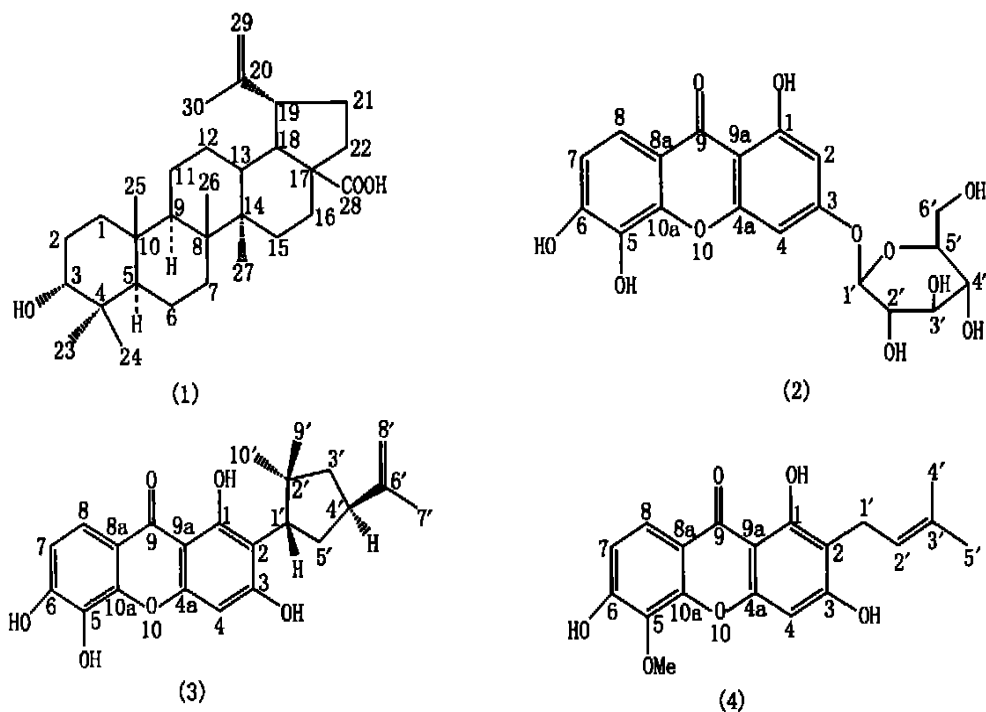


图 1 化合物(1)~(4)的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1~4

表 1 化合物(1)的 NMR 谱数据(in C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 500 MHz for  $\delta$ H, 125 MHz for  $\delta$ C, *J* in Hz)Tab. 1 NMR data of compound 1 (in C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 500 MHz for  $\delta$ H, 125 MHz for  $\delta$ C, *J* in Hz)

C	<sup>13</sup> C	<sup>1</sup> H		C	<sup>13</sup> C	<sup>1</sup> H	
		$\alpha$	$\beta$			$\alpha$	$\beta$
1	39.10(t)	1.35(m)	1.70(m)	16	32.62(t)	1.80(m)	2.75(m)
2	27.91(t)	1.42(m)	1.45(m)	17	56.44(s)		
3	78.01(d)		3.47( brs)	18	47.56(d)	2.75(d) (10.5, 5.5)	
4	39.30(s)			19	49.54(d)	2.13(m)	
5	55.74(d)	0.96(dd) (7.3, 5.0)		20	151.03(s)		
6	18.58(t)	1.47(m)	1.23(m)	21	30.07(t)	1.50(m)	2.15(m)
7	34.63(t)	1.42(m)	1.25(m)	22	37.38(t)	2.23(m)	1.54(m)
8	40.91(s)			23	28.47(q)	1.08(s)	
9	50.76(d)	1.50(dd) (7.0, 2.2)		24	16.08(q)	1.05(s)	
10	37.31(s)			25	16.23(q)	1.25(s)	
11	21.01(t)	2.08(m)	1.58(m)	26	16.16(q)	0.80(s)	
12	25.92(t)	0.98(m)	1.80(m)	27	14.73(q)	0.98(s)	
13	38.42(d)	2.75(t) (10.0)		28	178.72(s)		
14	42.64(s)			29	109.78(t)	4.73(d) (2.0)	4.57(d) (2.0)
15	31.02(t)	1.93(m)	2.75(m)	30	19.29(q)	1.74(s)	

和 2D NMR 波谱表明, 化合物(2) 分子中有 9 个季碳(含 1 个羰基碳)、9 个次甲基及 1 个亚甲基. IR 谱示有羟基(3 320 cm<sup>-1</sup>) 和共轭羰基(1 640 cm<sup>-1</sup>) 存在. <sup>1</sup>H NMR 谱显示有两对特征的间位偶合芳环质子( $\delta$ 6.41, 6.65) 和邻位偶合芳环质子( $\delta$ 6.84, 7.53); 由于羰基去屏蔽作用,  $\delta$ 7.53 定位于 C-8, 低场信号( $\delta$ 13.28) 示 C-1 位有 -OH 质子(与羰基缔合); 此外, 还有一组配糖质子( $\delta$ 3.18~3.54) 及氧甙端基质子( $\delta$ 5.10). 对化合物(2) 的 <sup>13</sup>C 和 <sup>1</sup>H NMR 谱信号进行仔细解析和指定, 列于表 2. 推断化合物(2) 为 3-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基-1,5,6-三羟基蒽酮(Patuloside A) (见图 1). 与文献[4] 对照, 基本一致.

**2.3 化合物(3)** 黄色片晶(16 mg), m. p. 181~184 °C(MeOH). 由 EIMS *m/z*: 396[M]<sup>+</sup> 及 <sup>1</sup>H-和 <sup>13</sup>C NMR 谱得分子式 C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>O<sub>6</sub>. IR 谱示有氢键

缔合羟基(3 300 cm<sup>-1</sup>) 和共轭羰基(1 630 cm<sup>-1</sup>) 存在. EIMS *m/z* (%): 396[M]<sup>+</sup> (90), 381[M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (30), 353[381-CO]<sup>+</sup> (97), 339(27), 273(100), 可推知化合物(3) 为蒽酮类成分. 由 1D 和 2D NMR 波谱表明, 化合物(3) 分子中有 12 个季碳(含 1 个羰基碳)、5 个次甲基及 3 个亚甲基. <sup>1</sup>H NMR 谱显示有 3 个芳环质子, 其中有 1 个芳环质子单峰( $\delta$ 6.52), 一对邻位偶合芳环质子( $\delta$ 6.98, 7.67); 由于羰基去屏蔽作用,  $\delta$ 7.67 定位于 C-8, 低场  $\delta$ 13.90 的信号示羟基在 C-1 位. 对化合物(3) 的 <sup>13</sup>C 和 <sup>1</sup>H NMR 波谱信号进行仔细解析和指定, 列于表 2. 推断化合物(3) 为 1,3,5,6-四羟基-2-(2',2'-二甲基-4'-异丙烯基)环戊基蒽酮(Dimethylpaxanthonin, 3) (见图 1). 与文献[5] 对照, 基本一致.

表 2 化合物(2)~(4)的 NMR 谱数据(500 MHz for  $\delta\text{H}$ , 125 MHz for  $\delta\text{C}$ ,  $J$  in Hz)Tab. 2 NMR data of compounds (2) ~ (4) (500 MHz for  $\delta\text{H}$ , 125 MHz for  $\delta\text{C}$ ,  $J$  in Hz)

C	化合物(2) (DMSO- $d_6$ )		化合物(3) ( $\text{CD}_3$ ) $_2\text{CO}$		化合物(4) ( $\text{CD}_3$ ) $_2\text{CO}$	
	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	162.44(s)		165.88(s)		161.60(s)	
2	98.27(d)	6.41(d) (2.3)	112.00(s)		111.57(s)	
3	163.58(s)		163.48(s)		163.52(s)	
4	94.47(d)	6.65(d) (2.3)	94.77(d)	6.52(s)	94.42(d)	6.58(s)
5	132.56(s)		133.63(s)		135.62(s)	
6	153.62(s)		157.24(s)		156.86(s)	
7	113.47(d)	6.84(d) (8.4)	113.60(d)	6.98(d) (9.2)	114.18(d)	7.02(d) (9.0)
8	116.10(d)	7.53(d) (8.4)	117.70(d)	7.67(d) (8.6)	121.98(d)	7.85(d) (9.0)
9	179.83(s)		182.01(s)		180.92(s)	
4a	156.88(s)		152.87(s)		156.40(s)	
8a	112.19(s)		115.18(s)		115.23(s)	
9a	102.86(s)		103.12(s)		103.02(s)	
10a	145.71(s)		150.89(s)		151.49(s)	
1- OH		13.28(s)		13.90(s)		13.38(s)
1'	99.92(d)	5.10(d) (7.2)	44.83(d)	3.72(dd) (8.0, 11.0)	20.01(t)	3.38(d) (7.3)
2'	72.98(d)	3.18~ 3.54 m	46.22(s)		123.38(d)	5.30(t) (7.3)
3'	76.17(d)	3.18~ 3.54(m)	48.89(t)	1.70(t) (11.6), Ha	131.57(s)	
				1.61(t) (11.6), Hb		
4'	69.47(d)	3.18~ 3.54(m)	45.40(d)	3.06(m)	17.91(q)	1.68(s)
5'	77.01(d)	3.18~ 3.54(m)	33.78(t)	1.71(m), Ha	25.90(q)	1.79(s)
				3.00(m), Hb		
6'	60.58(t)	3.68(dd) (11.5, 2.0)	147.56(s)			
7'			108.2(t)	4.68( brs ), Ha		
				4.78( brs ), Hb		
8'			21.31(q)	1.78(s)		
9'			30.73(q)	1.11(s)		
10'			25.30(q)	0.97(s)		
OCH $_3$					61.68(q)	3.99(s)

**2.4 化合物(4)** 黄色针晶(15 mg), m. p. 181~184 °C (M<sub>e2</sub>CO). 由 EIMS  $m/z$ : 342 [M]<sup>+</sup> 及 <sup>1</sup>H 和 <sup>13</sup>C NMR 谱得分子式 C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>. IR 谱示有氢键缔合酚羟基(3 300 cm<sup>-1</sup>)和共轭羰基(1 630 cm<sup>-1</sup>)存在. EIMS  $m/z$  (%): 342[M]<sup>+</sup> (85), 327[M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (32), 313[M-CHO]<sup>+</sup> (25), 284[313-CHO]<sup>+</sup> (100), 推测化合物(4)为醌类成分. 由 1D 和 2D NMR 波谱表明, 化合物(4)分子中有 11 个季碳(含 1 个羰基碳)、4 个次甲基、1 个亚甲基及 3 个甲基. <sup>1</sup>H NMR 谱显示有 3 个芳环质子, 其中一对芳环质子为邻位偶合(δ 7.02, 7.85), 由于羰基去屏蔽作用, δ 7.85 定位于 C-8, 另有 1 个芳环质子单峰(δ 6.58); 低场 δ 13.38 的信号示一羟基在 C-1 位. 此外, <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR 还表明, 化合物(4)有 2 个特征的乙烯基甲基信号, 有一个三取代双键和一个亚甲基. 对化合物(4)的 <sup>13</sup>C 和 <sup>1</sup>H NMR 谱信号进行仔细解析和指定, 列于表 2. 推断化合物(4)为 1,3,6-三羟基-5-甲氧基-2-(3'-甲基-2'-丁烯基)醌(Morusignin D)(见图 1). 与文献[6]对照, 基本一致.

**2.5 化合物(5)** 黄色针晶(105 mg), m. p. 310~315 °C(分解)(M<sub>e2</sub>CO). EIMS  $m/z$  (%): 302[M]<sup>+</sup> (16), 301 (100), 153 (11), 137 (16). IR<sub>max</sub>(KBr) cm<sup>-1</sup>: 3 400(OH), 1 663(共轭 C=O). <sup>1</sup>H NMR(CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>, δ): 12.19(1H, s, 5-OH), 7.82(1H, d,  $J=2.2$  Hz, H-2'), 7.70(1H, dd,  $J=2.2, 8.7$  Hz, H-6'), 7.01(1H, d,  $J=8.7$  Hz, H-5'), 6.53(1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-8), 6.27(1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-6); <sup>13</sup>C NMR(CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>, δ): 147.05(s, C-2), 136.70(s, C-3), 176.55(s, C-4), 162.00(s, C-5), 98.11(d, C-6), 165.11(s, C-7), 94.47(d, C-8), 157.77(s, C-9), 104.03(s, C-10), 123.69(s, C'-1), 115.67(d, C'-2), 145.87(s, C'-3), 148.34(s, C'-4), 116.13(d, C'-5), 121.46(d, C'-6). 上述数据与槲皮素(queretin)<sup>[7]</sup>对照基本一致, 故确定化合物(5)为槲皮素.

**2.6 化合物(6)** 黄色粉末(42 mg), m. p. 250~252 °C (MeOH). IR<sub>max</sub>(KBr) cm<sup>-1</sup>: 3 410(OH),

1 658(共轭 C=O). <sup>1</sup>H NMR(C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, δ): 12.55(1H, s, 5-OH), 7.42(1H, d,  $J=2.12$  Hz, H-2'), 7.37(1H, dd,  $J=2.1, 8.5$  Hz, H-6'), 6.80(1H, d,  $J=8.5$  Hz, H-5'), 6.52(1H, d,  $J=2.1$  Hz, H-8), 6.32(1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-6), 6.23(1H, d,  $J=1.5$  Hz, H-1''), 5.10(1H, dd,  $J=1.5, 3.5$  Hz, H-2''), 4.68(1H, dd,  $J=3.5, 9.0$  Hz, H-3''), 4.32(2H, brs, H-4'', H-5''), 1.48(3H, d,  $J=5.5$  Hz, H-6''); <sup>13</sup>C NMR(CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>, δ): 156.41(s, C-2), 134.31(s, C-3), 177.91(s, C-4), 161.42(s, C-5), 98.77(d, C-6), 164.22(s, C-7), 93.70(d, C-8), 157.29(s, C-9), 104.18(s, C-10), 121.21(s, C'-1), 115.61(d, C'-2), 145.33(s, C'-3), 148.39(s, C'-4), 115.63(d, C'-5), 120.77(d, C'-6), 102.12(d, C''-1), 71.33(d, C''-2), 70.64(d, C''-3), 70.41(d, C''-4), 70.10(d, C''-5), 17.48(q, C''-6). 上述数据与槲皮甙(queritrin)<sup>[3]</sup>对照基本一致, 故确定化合物(6)为槲皮甙.

## 参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编委会. 中国植物志(第 50 卷第 2 分册)[M]. 北京: 科学出版社, 1990.
- [2] 丛浦珠, 李笋玉. 天然有机质谱学[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002.
- [3] 龚运淮. 天然有机化合物的 <sup>13</sup>C 共振化学位移[M]. 昆明: 云南科技出版社, 1986.
- [4] ISHIGURO K, YAMAMOTO R, OKU H. Patulosides A and B, novel xanthone glycosides from cell suspension cultures of *Hypericum patulum*[J]. J Nat Prod, 1999, 62(6): 906-908.
- [5] ISHIGURO K, FUKUMOTO H, SUITANI A, et al. Prenylated xanthones from cell suspension cultures of *Hypericum patulum*[J]. Phytochemistry, 1996, 42(2): 435-437.
- [6] ISHIGURO K, NAKAJIMA M, FUKUMOTO H, et al. A xanthone substituted with an irregular monoterpene in cell suspension cultures of *Hypericum patulum*[J]. Phytochemistry, 1995, 39(4): 903-905.
- [7] 张晓璐, 彭树林, 王明奎, 等. 聚花过路黄化学成分的研究[J]. 药学报, 1999, 34(11): 835-838.

trophoresis of the determination of dissociation constants  
 [J]. J Chromatogr A, 1994, 680: 43.  
 [8] 赵泓, 乐美卿, 周伟良, 等. 对硝基偶氮氯膦离解作

用的研究[J]. 分析化学, 1982, 11(10): 727—732.  
 [9] 何春祥, 崔锡元. 分光光度法测定亚硝基 R 盐的解离  
 常数[J]. 化学世界, 1989, (5): 221—222.

## Determination of the dissociation constants of magnolol and honokiol by UV spectrophotometry

BAO Zhi-juan<sup>1</sup>, DAI Lin<sup>2</sup>, MIAO Zhao-tao<sup>1</sup>, MA Zhi-gang<sup>1</sup>, DING Zhong-tao<sup>1</sup>

(1. Department of Chemistry, Yunnan University, Kunming 650091, China;

2. Department of Applied Mathematics, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650093, China)

**Abstract** According to the principal of determination of acidic dissociation constant by spectrophotometry, the UV spectrophotometric method was used to determine the dissociation constants of magnolol and honokiol (pKa). The data were processed with statistics method via computer. The result shows that pKa<sub>1</sub> and pKa<sub>2</sub> of magnolol are 7.10 ± 0.11 and 10.58 ± 0.36, and pKa<sub>1</sub> and pKa<sub>2</sub> of honokiol are 9.64 ± 0.30 and 10.71 ± 0.21, respectively. This method is simple and result is reliable and accurate.

**Key words:** magnolol; honokiol; dissociation constant; spectrophotometry

\* \* \* \* \*

(上接第 65 页)

## Chemical constituents of *Hypericum petiolulatum*

LI Zu-qiang<sup>1</sup>, LUO Lei<sup>2</sup>, HUANG Rong<sup>1</sup>, MA Guo-yi<sup>3</sup>

(1. Center of Experimental, Yunnan University, Kunming 650091, China;

2. College of Chemical & Engineering, Yunnan Normal University, Kunming 650092, China;

3. Faculty of Pharmacy, the University of Sydney, NSW, Australia)

**Abstract:** Cytotoxicity screening of extracts of *Hypericum petiolulatum* Hook. f. et Thoms. ex Dyer were carried out by L<sub>1210</sub> cells. Isolation of chemical constituents were carried out in step with for effective part of *H. petiolulatum* by column chromatography. The chemical structures were identified by physical and spectral data analysis. Six constituents have been isolated and established as 3α-epi-betulinic acid (1), Patuloside A (2), dimethylpaxanthoin (3), Morusignin D (4), quercetin (5) and quercitrin (6) respectively for the first time. In addition, the crude extract, dichloromethane extract and EtOAc extract possessed cytotoxicity activities with IC<sub>50</sub> are 11.0, 8.5, 10.0 (μg/mL) for L<sub>1210</sub> cells respectively.

**Key words:** *Hypericum petiolulatum*; betulinic acid; xanthone; flavonoid; cytotoxicity