

doi: 10.3969/j.issn.0490-6756.2018.03.038

截叶铁扫帚提取物 GC-MS 分析

唐 超¹, 潘年松², 罗俊¹

(1. 贵州医科大学, 贵阳 550004; 2. 遵义医药高等专科学校, 遵义 563002)

摘要:采用乙醇超声提取三个不同月份的截叶铁扫帚,并运用GC-MS法分析截叶铁扫帚乙醚供试液的化学成分和羽扇烯酮的相对含量。结果显示从截叶铁扫帚中共检测出61种成分,5月份截叶铁扫帚的成分有42种,8月份有39种,11月份有42种,均主要为烷烃、萜类、芳香类物质,并首次发现截叶铁扫帚中含有羽扇烯酮,测得5月、8月、11月截叶铁扫帚中羽扇烯酮的含量分别为1.734mg/g、2.235mg/g、1.111mg/g。通过比较三个不同月份截叶铁扫帚中的化学成分及其含量,8月份截叶铁扫帚中化学成分种类最少,但羽扇烯酮含量最高。

关键词: 截叶铁扫帚; GC-MS; 羽扇烯酮; 超声醇提法

中图分类号: R284.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0490-6756(2018)03-0643-06

GC-MS analysis of extractives from *Lespedeza cuneate*

TANG Chao¹, PAN Nian-Song², LUO Jun¹

(1. Department of Pharmacology, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China;
2. Department of Pharmacology, Zunyi Medical College, Zunyi 563002, China)

Abstract: Components of the *Lespedeza cuneate* from three different months were extracted by ultrasonic alcohol extraction method, the extractives were dissolved by ether and analyzed by GC-MS, and quantitative analysis of luponone by GC-MS. Results showed that 61 components have been detected. *Lespedeza cuneate* included 42 components in May, 39 components in August and 42 components in November. The mainly include alkane, terpenoid and aromatics. The luponone was firstly found in *Lespedeza cuneate*, and the relative contents of luponone in May, August and November were respectively 1.734mg/g, 2.235mg/g and 1.111mg/g. Through comparison the *Lespedeza cuneate* constituents and contents of the three different months, the *Lespedeza cuneate* constituents was the least in August, but the contents of it is the highest.

Keywords: *Lespedeza cuneate*; GC-MS; Luponone; Ultrasonic alcohol extraction

1 引言

截叶铁扫帚(*Lespedeza cuneate*)又名夜关门,为豆科胡枝子属植物,主要分布于贵州、云南、四川、广西、湖北、湖南等地。截叶铁扫帚的全草可入药,具有补肝肾、益肺阴、清热解毒、利湿消积、散瘀

消肿等功效^[1]。亦可单味用药,临幊上常用于治疗糖尿病、血尿症、失眠症和营养不良等^[2-5]。此外,该植物可用于改良生态环境和提高土壤肥沃^[6]。因此,截叶铁扫帚备受农、林、医药行业的重视。

国内外已有文献报道截叶铁扫帚含有黄酮类、甾体类、木脂素类及有机酸盐等化学成份^[7-9],然而

收稿日期: 2017-04-14

基金项目: 黔科合 LH 字[2015]7580 号; 遵社科合[2015]02 号; 遵医专科合 BS2016002

作者简介: 唐超(1993-)女,湖南衡阳人,硕士,研究方向为肿瘤药理学。E-mail:564100385@qq.com

通讯作者: 罗俊。E-mail:724730885@qq.com

该植物的萜类成分报道甚少。现代医学研究发现,很多萜类都具有广泛的抗癌功效^[10],还具有消炎、降糖、抗肿瘤等广泛的药理作用^[11],例如羽扇烯酮。此外,很多植物萜类化合物是芳香性挥发物质,常用于香料的制备及化妆品行业^[12]。因此,萜类成分有着重要的生物学功能和应用价值。

气相色谱-质谱联用法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)结合气相色谱的高效分离能力和质谱可提供丰富的结构信息的优点,是分析挥发性或半挥发性化合物的重要分析方法,具有分离效果好、灵敏度高及易于定性定量分析等优点^[13-16]。然而目前没有文献利 GC-MS 法对截叶铁扫帚超声醇提物乙醚供试液进行分析。为了更好的开发利用截叶铁扫帚的药用价值及发现更多的化学成分,本课题组采用 GC-MS 法对该植物的超声醇提物乙醚供试进行了成分分析,用 2014 版 NIST 谱图库检索鉴定其化合物,根据所得的化合物进行定量分析,以期为截叶铁扫帚的药效学提供理论依据,并为所得化合物提供新的来源。

2 材料与仪器

2.1 材 料

截叶铁扫帚样品由遵义绿普森农业有限公司提供,自然阴干,粉碎后备用。羽扇烯酮标准品(上海澄绍生物科技有限公司,质量分数≥98.0%,批号:BBP00560);乙醚(分析纯,重庆川东化工有限公司);95%乙醇。

TRACE_1300GC 型气相色谱-质谱联用仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);色谱柱 TG-5MS(30m×0.25mm×0.25μm);超声清洗仪(上海科导超声仪器有限公司);电热鼓风干燥箱(天津天泰仪器有限公司);DFY-500 摆摆式高速万能粉碎机(温岭市林大机械有限公司)等。

2.2 试验方法

2.2.1 不同月份截叶铁扫帚的成分检测 精密称取 5、8 和 11 月份的截叶铁扫帚粉末 10 g,浸泡于 300 mL 95% 乙醇中,40 ℃ 超声 1h,过滤后,在 55 ℃~65 ℃ 的鼓风干燥机中烘干,即得浸膏。精密称取醇提物浸膏 20 mg,溶于 1 mL 乙醚中,超声溶解后经 0.45 μm 滤膜过,得供试液,4 ℃ 储存,备用。GC-MS 条件:程序升温,初始温度 40℃,保持 1 min,以 15 ℃/min 的升温速率升至 100 ℃,保持 1 min,再以 10 ℃/min 的升温速率升至 280℃,保持 12 min;汽化室温度 250℃;离子源温度为

300 ℃,进样口温度为 280 ℃,载气为高纯氦气,体积流量 1.0 mL/min. 离子化模式 EI,电子能量 70 eV,溶剂延迟 5 min,质谱扫描范围 m/z 30~800。

2.2.2 截叶铁扫帚中羽扇烯酮的定性检测 取羽扇烯酮对照品,精密称定 1 mg,加入乙醚制成含羽扇烯酮 100 μg/mL 的溶液,即得,4 ℃ 储存,备用,质谱扫描范围 m/z 109, 205. 精密称取 8 月份截叶铁扫帚醇提物 3 mg,溶于 1 mL 乙醚中,超声溶解后经 0.45 μm 滤膜过滤,加补损耗的乙醚,质谱扫描范围 m/z 109, 205. 吸取 500 μL 样品溶液,再加入 500 μL 对照品溶液,4℃ 储存,备用,质谱扫描范围 m/z 109, 205.

2.2.3 羽扇烯酮的定量检测方法建立 精密称取标准品羽扇烯酮 4.8 mg,配成浓度为 25、50、100、300、600、1200 μg/mL 的标准品溶液,质谱扫描范围 m/z 109, 205. 精密称取 8 月份浸膏 20 mg,溶于 1 mL 乙醚中,超声溶解后经 0.45 μm 滤膜过滤,加补损耗的乙醚。取羽扇烯酮对照品溶液,按照简述色谱条件、质谱扫描范围 m/z 109, 205 连续进样 6 次,每次进样 1 μL,以色谱峰面积计算。分别精密称取 8 月份样品浸膏 20 mg 共 6 份,溶于 1 mL 乙醚中,超声溶解后经 0.45 μm 滤膜过滤,4℃ 储存,备用,照上述气质条件进样测定,计算其含量,考察重复性。

精密称取 8 月份样品浸膏 20 mg,溶于 1 mL 乙醚中,分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样,每次进样 1 μL,共进样 6 次。考察稳定性。

精密称取 8 月份样品浸膏 20 mg 共 6 份,加入 1 mL 乙醚,超声溶解后经 0.45 μm 滤膜过滤,加补损耗的乙醚,再分别精密加入对照品溶液(羽扇烯酮质量浓度为 1.01 mg/mL)0.2、0.5、1 mL,按照上述色谱条件测定,计算回收率。考察回收率。

2.2.4 截叶铁扫帚中羽扇烯酮的含量测定 取三个月份供试品溶液各六份,GC-MS 测定,每次进样 1 μL,得峰面积,按以下公式计算(总浸膏量为 X,称取浸膏量为 Y mg,峰面积为 A,羽扇烯酮含量 m):

$$m = \frac{1 \times \frac{A - 8081910.73}{1049544} \times \frac{X}{Y}}{M \times 1000}$$

3 结果与分析

3.1 不同月份截叶铁扫帚的成分分析

对 5、8、11 月份截叶铁扫帚的乙醚供试液进行 GC-MS 分析,结果见表 1。经计算机谱库检索

(2014 版 NIST) 和相关文献结合分析, 鉴定出共 61 种成分, 5 月份截叶铁扫帚的成分有 42 种, 8 月份有 39 种, 11 月份有 42 种, 3 个月份的截叶铁扫

帚共含有 22 种相同成分, 主要为烷烃、萜类、芳香类物质, 其中羽扇烯酮在本植物中首次发现, 且百分含量均为最高。

表 1 不同月份截叶铁扫帚的 GC-MS 成分分析

Tab. 1 GC-MS component analysis of *Lespedeza cuneata* in different months

序号	tR/min	化合物	分子式	相对分子质量	相对百分含量/%		
					5月	8月	11月
1	8.12	辛酸	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	1.27	2.05	0.65
2	8.87	1-甲基戊基过氧化氢	C ₆ H ₁₄ O ₂	118	0.64	—	1.00
3	9.32	己内酰胺	C ₆ H ₁₁ NO	113	0.36	0.68	0.36
4	14.28	3-O-甲基-d-葡萄糖	C ₇ H ₁₄ O ₆	194	—	1.63	2.86
5	15.48	十四烷酸	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228	0.44	—	—
6	16.31	新植二烯	C ₂₀ H ₃₈	278	—	0.72	0.38
7	17.36	2-(2-羟乙硫基)-苯并噻唑	C ₉ H ₉ NOS ₂	211	0.37	0.26	0.25
8	17.58	n-十六烷酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	—	7.69	5.45
9	17.65	L-(+)-抗坏血酸 2,6-二-十六烷酸酯	C ₃₈ H ₆₈ O ₈	652	10.34	—	—
10	17.85	十六烷酸乙酯	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	0.28	0.36	0.15
11	18.49	十七酸	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	0.46	0.25	—
12	18.69	反式-9-十六碳烯-1-醇	C ₁₆ H ₃₂ O	240	—	0.21	—
13	18.70	棕榈醇	C ₁₆ H ₃₄ O	242	—	—	0.15
14	18.98	植醇	C ₂₀ H ₄₀ O	296	0.43	1.31	0.94
15	19.18	(Z)-18-十八碳-9-烯醇	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280	—	4.04	3.32
16	19.22	(Z,Z)-9,12-十八碳二烯酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280	4.49	—	—
17	19.24	(Z,Z,Z)-9,12,15-十八碳三烯酸	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278	—	4.37	3.14
18	19.27	顺式-十八碳烯酸	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	3.04	—	—
19	19.44	硬脂酸	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	2.15	1.34	0.97
20	19.48	9,12,15-十八碳三烯酸乙酯	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	306	—	0.33	0.22
21	19.82	乙酸十八烷基酯	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312	—	0.21	0.17
22	20.24	N,N-二甲基十二烷酰胺	C ₁₄ H ₂₉ NO	227	0.36	0.38	0.53
23	21.13	二十烷酸	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312	1.16	—	0.49
24	21.43	己二酸二异辛酯	C ₂₂ H ₄₂ O ₄	370	0.42	—	0.36
25	21.76	2,4-双(1-苯基乙基)-苯酚	C ₂₂ H ₂₂ O	302	0.62	1.12	1.21
26	21.88	脱氢枞酸	C ₂₀ H ₂₈ O ₂	300	—	—	0.17
27	22.30	十六烷酸 2-羟基-1-(羟甲基)乙酯	C ₁₉ H ₃₈ O ₄	330	0.55	1.09	0.87
28	22.72	二十二烷酸	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	340	—	0.30	0.53
29	22.94	二十烷酸甲酯	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	326	0.26	—	—
30	22.63	邻苯二甲酸二(2-丙基戊基)酯	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	390	0.27	—	—
31	22.73	二十二烷酸	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	340	0.73	—	—
32	22.89	美迪紫檀素	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	270	0.38	—	0.21
33	22.95	二十七烷烯	C ₂₇ H ₅₄	376	—	—	0.31
34	22.97	二十一烷	C ₂₁ H ₄₄	296	—	0.26	—
35	23.71	四十三烷	C ₄₃ H ₈₈	604	0.88	—	—
36	24.23	二十四烷酸	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	368	0.49	—	—
37	24.33	(Z)-13-二十二烯酰胺	C ₂₂ H ₄₃ NO	337	—	—	0.32
38	24.44	三十四烷	C ₃₄ H ₇₀	478	—	0.49	0.39
39	24.72	角鲨烯	C ₃₀ H ₅₀	410	0.26	1.69	0.88

续表 1

序号	tR/min	化合物	分子式	相对分子质量	相对百分含量/%		
					5月	8月	11月
40	25.27	四十四烷	C ₄₄ H ₉₀	618	1.47	1.71	1.93
41	27.46	二十七烷醇	C ₂₇ H ₅₆ O	396	5.45	11.66	12.91
42	27.85	胆固醇	C ₂₇ H ₄₆ O	386	2.61	2.11	3.15
43	27.97	维生素 E	C ₂₉ H ₅₀ O ₂	430	—	1.00	—
44	27.98	dL-α-生育酚	C ₂₉ H ₅₀ O ₂	430	0.51	0.88	1.74
45	29.02	麦角固醇	C ₂₈ H ₄₄ O	396	0.26	—	—
46	29.42		C ₂₈ H ₄₈ O	400	1.65	1.37	1.33
47	29.60	异柠檬酸乙酯	C ₂₆ H ₄₄ O ₅	436	—	0.42	0.22
48	29.97	豆甾醇	C ₂₉ H ₄₈ O	412	3.21	2.62	2.60
49	30.12	Ursa-9(11),12-二烯-3-醇	C ₃₀ H ₄₈ O	424	0.82	0.82	—
50	30.44	三十六烷	C ₃₆ H ₇₄	506	—	0.37	—
51	30.48	三十烷	C ₃₀ H ₆₂	422	0.37	—	—
52	30.62	二十四醇	C ₂₅ H ₅₂ O	368	1.37	—	—
53	31.07	β-谷甾醇	C ₂₉ H ₅₀ O	414	6.84	8.68	8.06
54	31.25	α-白檀酮	C ₃₀ H ₄₈ O	424	6.73	3.96	6.40
55	31.31	(3α,24Z)-豆甾醇-5,24(28)-二烯-3-醇	C ₂₉ H ₄₈ O	412	0.29	1.16	1.07
56	31.66	α-香树素	C ₃₀ H ₅₀ O	426	1.25	1.34	3.41
57	32.27	羽扇烯酮	C ₃₀ H ₄₈ O	424	16.63	13.86	13.49
58	32.64	羽扇豆醇	C ₃₀ H ₅₀ O	426	5.86	3.94	5.71
59	33.80	β-谷甾酮	C ₂₉ H ₄₈ O	412	0.56	—	—
60	35.72	表木栓醇-3-酮	C ₃₀ H ₅₀ O	426	—	0.2	0.50
61	36.40	鸟索醛	C ₃₀ H ₄₈ O ₂	440	0.91	—	0.4

3.2 羽扇烯酮定性分析

如图 A、图 B、图 C 所示, 样品和标品的保留时间大致相同, 向样品中加入标品后, 保留时间稍有延长, 且峰面积增大, 确定此物质为羽扇烯酮。

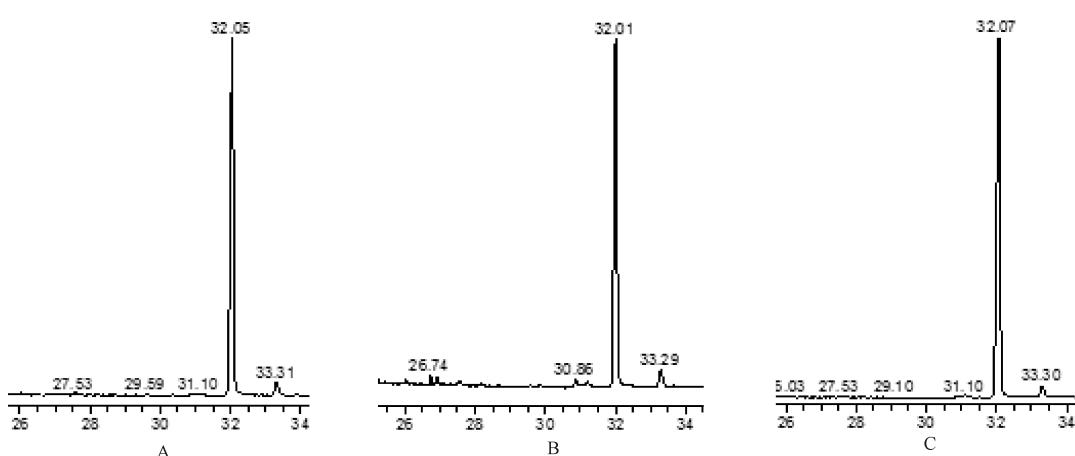


图 1 羽扇烯酮定性总离子流图
A: 羽扇烯酮标准品 B: 供试液 C: 标准品加供试液
Fig. 1 Total ion current chromatogram of qualitative luponone

3.3 不同月份截叶铁扫帚中羽扇烯酮的定量分析

以羽扇烯酮的浓度为横坐标(X), 峰面积为纵坐标(Y), 其线性回归方程为 $y = 1049544.51x + 8081910.73$, $r^2 = 0.9992$, 表明羽扇烯酮在 0.043 mg~1.109 mg 线性关系良好。精密度试验测得羽扇烯酮对照品峰面积的 RSD 为 1.8%, 表明本方

8081910.73, $r^2 = 0.9992$, 表明羽扇烯酮在 0.043 mg~1.109 mg 线性关系良好。精密度试验测得羽扇烯酮对照品峰面积的 RSD 为 1.8%, 表明本方

法精密度良好。重复性试验测得8月份样品中羽扇烯酮平均含量为0.515 mg, RSD为3.9%, 表明该方法重复性良好。羽扇烯酮的峰面积RSD为1.14%, 表明24 h内测定成分的稳定性良好。回收率测定结果见表2, 羽扇烯酮的平均回收率(n=6)

为99.88%。含量测定结果见表3, 5、8、11月份截叶铁扫帚中羽扇烯酮的平均含量分别1.734 mg/g、2.235 mg/g、1.111 mg/g, 其中为8月份截叶铁扫帚中的羽扇烯酮含量最高。

表2 8月份羽扇烯酮的回收率考察结果

Tab. 2 Results of the lumenone recovery test in August

成分	加样回收称样量(mg)	原含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
羽扇烯酮	20.1	0.590	0.202	0.719	101.03	99.88	0.9
	20.4	0.524	0.202	0.730	100.48		
	19.9	0.498	0.505	0.996	99.23		
	19.8	0.476	0.505	0.990	100.81		
	19.9	0.499	1.010	1.501	99.34		
	20.0	0.511	1.010	1.498	98.36		

表3 不同月份羽扇烯酮的含量测定结果

Tab. 3 Result of the lumenone contents in different months

序号	5月份羽扇 烯酮的含量 (mg/g)	8月份羽扇 烯酮的含量 (mg/g)	11月份羽扇 烯酮的含量 (mg/g)
①	1.674	2.388	1.114
②	1.845	2.231	1.090
③	1.760	2.229	1.109
④	1.699	2.199	1.122
⑤	1.790	2.25	1.099
⑥	1.635	2.112	1.129
	1.734	2.235	1.111
RSD	3.70%	2.50%	1.00%

4 讨论

以往关于截叶铁扫帚的化学成分研究多报道为黄酮类、甾醇类、酚酸类和木脂素类等, 而对截叶铁扫帚中的萜类化学成分报道较少。目前该植物中已报道的萜类成分有桦木酸、木栓酮、戟叶马鞭草苷等, 从该植物中提取得到的萜类化合物往往是有紫外吸收的, 易通过薄层色谱检测到^[17]。本实验采用超声醇提法提取的截叶铁扫帚, 经GC-MS分析得到大量的萜类成分, 并首次在该植物中发现羽扇烯酮。由于羽扇烯酮不能使用紫外检测器和荧光检测器检测, 但易通过气化或雾化检测, 因此本实验采用GC-MS法在截叶铁扫帚中检测到了羽扇烯酮。而朱晓勤等^[18]采用GC-MS法检测截叶铁扫帚的挥发油成分, 发现该植物主要成分为单萜、倍半萜等, 但并未发现羽扇烯酮, 这可能是因为羽扇烯酮极性较小, 不溶于水, 且沸点高, 所以水提挥发油

中不易得到羽扇烯酮。

羽扇烯酮具有多种药理活性, 可通过抑制细胞外信号调节激酶1/2(ERK1/2)的磷酸化促进黑色素的产生, 用于治疗黑色素减退^[19]; 通过调节呼吸道上皮细胞的黏蛋白基因表达及合成, 用于治疗肺炎^[20]; 通过抑制成脂转录因子PPAR γ 和C/EBP α 来抑制3T3-L1的脂肪细胞分化, 从而用于治疗糖尿病^[21]。

据本实验结果显示, 采用超声醇提法经GC-MS分析截叶铁扫帚中羽扇烯酮的含量最高, 通过GC-MS定量分析不同月份羽扇烯酮的含量, 确定8月份截叶铁扫帚中羽扇烯酮的含量最多, 该结果为截叶铁扫帚的采收季节提供指导依据。本实验对羽扇烯酮进行定性定量分析, 为开发羽扇烯酮提供了新的来源。并以羽扇烯酮的药理作用为导向, 可能发现截叶铁扫帚新的治疗作用, 本文为截叶铁扫帚的药理研究提供了新思路。

参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986.
- [2] 苏绥和. 截叶铁扫帚治疗Ⅱ型糖尿病30例[J]. 医学理论与实践, 1999, 12: 333.
- [3] 刘杰书, 李泳锋. 补肝汤加夜关门治疗失眠153例[J]. 中国民族医药杂志, 2009, 15: 5.
- [4] 曹文富, 潘年松. 夜关门单味水煎治疗儿童遗尿症12例[J]. 内蒙古中医药, 2015, 34: 7.
- [5] 徐佩华, 池坚. 截叶铁扫帚为主治疗肾小球性血尿31例观察[J]. 实用中医药杂志, 2006, 22: 733.
- [6] Houseman G R, Foster B L, Brassil C E. Propagule

- pressure-invasibility relationships: testing the influence of soil fertility and disturbance with *Lespedeza cuneata* [J]. *Oecologia*, 2014, 174: 511.
- [7] Kwon D J, Bae Y S. Flavonoids from the aerial parts of *Lespedeza cuneata* [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2009, 37: 46.
- [8] Numata A, Hokimoto K, Yamaguchi H. C-Glycosyl flavones in *Lespedeza cuneata* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2008, 28: 964.
- [9] Deng F E I, Chang J U N, Zhang J I N S. New flavonoids and other constituents from *Lespedeza cuneata* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2007, 9: 655.
- [10] Singh B, Sharma RA. Plant terpenes : defense responses, phylogenetic analysis, regulation and clinical applications [J]. *Biotech*, 2015, 5: 129.
- [11] 汪建峰, 蒙海林, 王勇. 菸类合成生物学研究进展 [J]. *中国科学: 生命科学*, 2015, 10: 015.
- [12] Martin VJ, Pitera DJ, Withers ST, et al. Engineering a mevalonate pathway in *Escherichia coli* for production of terpenoids [J]. *Nat Biotechnol*, 2003, 21: 796.
- [13] 张良晓. 气相色谱-质谱定性定量分析新方法研究 [D]. 中南大学, 2011.
- [14] 艾芸, 李卓, 张亚锋, 等. GC-MS 法测定复方肝浸膏制剂中棕榈酸和硬脂酸 [J]. *药物分析杂志*, 2016, 36: 1875.
- [15] 刘小波, 张杨, 王丽. 见血青总生物碱的气相色谱-质谱分析 [J]. *四川大学学报: 自然科学版*, 2015, 52: 879.
- [16] 魏琴, 谭韵雅, 李群, 等. 五种樟属植物叶水浸提液的 GC-MS 分析 [J]. *四川大学学报: 自然科学版*, 2015, 52: 193.
- [17] 周健, 张创峰, 吕燕妮, 等. 截叶铁扫帚化学成分及药理作用研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23: 228.
- [18] 朱晓勤, 曾建伟, 邹秀红, 等. 截叶铁扫帚挥发油化学成分分析 [J]. *康复学报*, 2010, 20: 24.
- [19] Villareal M O, Han J, Matsuyama K, et al. Lupe none from *Erica multiflora* leaf extract stimulates melanogenesis in B16 murine melanoma cells through the inhibition of ERK1/2 activation [J]. *Planta Med*, 2013, 79: 236.
- [20] Yoon Y P, Lee H J, Lee D U, et al. Effects of lupe none, lupeol, and taraxerol derived from *Adenophora triphylla* on the gene expression and production of airway MUC5AC mucin [J]. *Tuberc Respir Dis*, 2015, 78: 210.
- [21] Ahn E K, Oh J S. Lupenone Isolated from *Adenophora triphylla* var. *japonica* Extract Inhibits Adipogenic Differentiation through the Downregulation of PPAR γ in 3T3-L1 Cells [J]. *Phytother Res*, 2013, 27: 761.