

大金发藓化学成分预试及其肿瘤细胞毒活性研究

成晓霞^{1,2}, 张志琪^{1,2}, 汤薇², 王亚芹¹, 袁文娟¹, 肖娅萍^{1,3*}

¹药用植物资源与天然药物化学教育部重点实验室; ²陕西师范大学化学化工学院, 西安 710062;

³陕西国际商贸学院医药学院, 西安 712046

摘要:运用经典试管反应法结合纸色谱法对大金发藓的化学成分进行初步测定,其中含有挥发油、油脂、糖类、皂苷、生物碱、黄酮、香豆素及其萜类化合物。采用MTT法对大金发藓醇提物进行体外细胞毒活性检测,其对多种肿瘤细胞的生长均产生一定影响,并可显著抑制L1210白血病细胞的增殖(IC_{50} 77.22 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。以三种不同类型的白血病细胞(L1210小鼠淋巴白血病细胞, K562人慢性髓系白血病细胞和U937人急性单核白血病细胞)为实验模型,比较了大金发藓孢子体和配子体细胞毒活性的差异。在相同条件下,孢子体对白血病细胞的杀伤能力远优于配子体。本文首次比较研究了大金发藓孢子体和配子体的抗癌活性,该结果不仅为大金发藓的传统用药提供了科学依据,同时也为大金发藓抗肿瘤新药研发方向提供了新思路。

关键词:大金发藓;化学成分预试;体外抗肿瘤;孢子体;配子体

中图分类号:R284.1;R73-3

文献标识码:A

Chemical Components and Cytotoxic Activity of *Polytrichum commune* L. ex Hedw

CHENG Xiao-xia^{1,2}, ZHANG Zhi-qi^{1,2}, TANG Wei², WANG Ya-qin¹, YUAN Wen-juan¹, XIAO Ya-ping^{1,3*}

¹Key Laboratory of Medicinal Plant Resources and Natural Pharmaceutical Chemistry;

²College of Chemistry and Chemical Engineering, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China;

³Shaanxi Institute of International Trade & Commerce, Xi'an 712046, China

Abstract: *Polytrichum commune* L. ex Hedw is a traditional Chinese herb for treatment of fever, hemostatic, uterine prolapse and especially for lymphocytic leukemia. The aim of present study was to investigate the chemical components and the possible anti-proliferative activity of *P. commune* ethanol extract. The systematic pre-test method was used to preliminarily analyze the chemical components of *P. commune*. The obtained results showed that there were essential oils, lipid, saccharide, glycosides, saponin, alkaloid, flavonoid, coumarin and terpene lactone in *P. commune*. The cytotoxic activity was measured by MTT assay. Results showed that the cell viability of L1210 cells was reduced by *P. commune* ethanol extract in a concentration-dependent manner, and the IC_{50} value was about 77.22 $\mu\text{g}/\text{mL}$ at 24 h post treatment. In addition, the anti-tumor effects of ethanol extract of sporophyte and gametophyte from *P. commune* were comparatively studied. MTT assay results showed that both of them can inhibit proliferation of leukemia cells (L1210 cells, K562 cells, U937 cells). However, the anti-tumor activity of sporophyte was found to be higher than that of gametophyte. This was the first report on comparative research of anti-tumor effect of sporophyte and gametophyte from *P. commune* in cultured leukemia cells, which provided scientific basis for its usefulness as traditional medicine. Further studies are needed to confirm the precise mechanism not only the crude extract but as well the monomeric chemical substances of *P. commune*.

Key words: *Polytrichum commune* L. ex Hedw; preliminary chemical test; anti-tumor effect *in vitro*; sporophyte; gametophyte

大金发藓 *Polytrichum commune* L. ex Hedw. 为金发藓科 Polytrichaceae、金发藓属 *Polytrichum* 植物,

又名独根草、土马鬃、岩上小草等,生于林下湿地,常形成大片群落覆盖地面,广泛分布于我国南北各地^[1,2]。大金发藓作为药用苔藓最早出现在宋代的《嘉祐补注本草》中,《本草纲目》及《中华本草》对其药性描述为全草入药,味甘,性凉。能滋阴清热,凉血止汗,气味甘浚,无毒。对高夫克氏球菌、金色

收稿日期:2014-05-19 接受日期:2014-11-06

基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(81202957);陕西省自然科学基金项目(2014JQ4144)

* 通讯作者 Tel:86-29-8531027;E-mail:yapingxiao@snnu.edu.cn

葡萄菌、肺炎球菌、结核杆菌有抗性,并对淋巴细胞白血病等癌症有一定抑制作用^[3,4]。近年来陆续有报道称从桧叶金发藓 *Polytrichum juniperum*, 多形金发藓 *Polytrichum ohioense* Ren&Card 和变形金发藓 *Polytrichum pallidisetum* Funck 中分离得到一系列新化合物并初步验证其具有抗癌活性^[5-7]。因此,本文对大金发藓的化学成分和抗肿瘤作用进行初步探究,以为大金发藓属植物药用价值的开发应用提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 植物样品

大金发藓地上全草于 2009 年 8 月采自陕西秦岭南麓平河梁(海拔 2305 m, 33°27' N, 108°30' E), 经陕西师范大学肖娅萍教授鉴定为金发藓属大金发藓 *Polytrichum commune* L. ex Hedw.

1.2 供试肿瘤细胞

L1210 小鼠淋巴白血病细胞,人乳腺癌 MDA-MB-231、MCF-7 细胞,人食管癌 Eca-109 细胞,人结肠癌 SW-480、SW-620 细胞,人胚肾细胞 HEK-293,均由中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心引进,本室传代保种。K562 人慢性髓系白血病细胞和 U937 人急性单核白血病细胞由中国北京协和医科大学引进,本室传代保种。以上肿瘤细胞均按照美国模式菌种收集中心(ATCC)提供方法进行培养。

1.3 主要试剂

DMEM、PRMI1640、L-15 和马血清均购自 Gibco 公司,胎牛血清(Hyclone 公司),谷氨酰胺(Amresco 公司),超纯水(Millipore 公司),二甲基亚砜(DMSO)和噻唑蓝(MTT)均购自 Sigma 公司,化学成分预试所用试剂均为国产分析纯,自配。

1.4 主要仪器

万分之一电子天平(塞多利斯科学仪器北京有限公司),KQ-300DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),RE-52AA 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂),HH-6B 数显恒温水浴锅(国华电器有限公司),生物材料粉碎机,超净工作台(苏州安泰空气技术有限公司),CO₂ 培养箱(Thermo 公司),倒置显微镜(IMT-2, Olympus 公司),台式高速离心机(Eppendorf 公司),高压灭菌锅(上海申安医疗器械厂),酶标仪(型号 BIO-TEK-ELX800, Tecan 公

司),96 孔培养板(Costar 公司)。

1.5 大金发藓化学成分预试验

按照植物化学成分系统预试的常规方法^[8]进行大金发藓石油醚提取液、水提取液及乙醇提取液的制备,通过传统试管预试方法结合纸色谱法进行挥发油、油脂、蛋白质、氨基酸、糖类、皂苷、生物碱、黄酮、蒽醌、香豆素、木质素等化学成分的检测。

1.6 大金发藓提取物制备

收集大金发藓全株,制备成粉末,用乙醇结合超声提取,30 min/次,共计 3 次,收集合并提取液,减压浓缩后通过真空冷冻干燥得大金发藓乙醇提取物(Ethanol extract from *Polytrichum commune* L. ex Hedw, EPCLH)。将 EPCLH 溶解于 70% 乙醇,室温条件下 3 000 rpm 离心 15 min,取上清液用 0.22 μm 滤膜过滤后进行抗癌活性检测^[9]。

1.7 大金发藓肿瘤细胞毒活性检测

细胞存活率采用 MTT 法进行检测^[9]。收集对数生长期细胞,以 1×10^5 个/mL 接种于 96 孔板中培养。实验分为空白对照组、阴性对照组(70% 乙醇)、阳性对照组(0.5 μg/mL 紫杉醇)和给药组(EPCLH),细胞加药后连续培养 24、48、72 h 后,每孔加入 5 g/L 的无菌 MTT 溶液 10 μL,继续培养 4 h。弃去各孔培养液,加入 150 μL DMSO,200 rpm 摇床震荡 10 min,待完全溶解后用酶标仪测定 570 nm 吸光度(A),校正波长为 630 nm。每组设 6 个复孔,实验重复 3 次。细胞存活率 = $A_{\text{加药组}} / A_{\text{对照组}} \times 100\%$ 。结合药物的作用剂量,推算出药物对肿瘤细胞的半数抑制浓度 IC₅₀,以此衡量药物的抗癌活性。

1.8 数据分析

实验数据均以 Mean ± SD 进行表示。采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析。药物浓度与细胞生长抑制率的关系用线性回归与相关分析,组间比较使用 T-test。

2 结果与分析

2.1 大金发藓化学成分预试验结果

大金发藓石油醚提取液、水提取液及乙醇提取液的化学成分预试结果(表 1)表明,大金发藓中含有挥发油或油脂、糖类、皂苷、生物碱、黄酮、香豆素及其萜类内酯化合物,无法确定是否存在蛋白质、氨基酸、蒽醌及木质素类化合物。

表1 大金发藓化学成分系统预试验结果

Table 1 Systematic pre-test results on chemical composition of *P. commune*

序号 No.	检测物质 Detected substance	试验方法 Method	现象 Phenomena	结果 Result
1	挥发油和油脂 Essential oils and lipin	* 挥发性检验 Evaporability test	有油斑 Obvious	+
2	蛋白质、氨基酸和多肽 Proteins, amino acids and polypeptides	茚三酮(Ninhydrin)反应 双缩脲(Biuret)反应	不明显 Not obvious 不明显 Not obvious	- -
3	糖及苷 Saccharide and glycosides	α -萘酚(Molish)反应 菲林(Fehling)反应	紫红色环 Purple - ring in interface 棕红色沉淀 Brownish red sediment	+ +
4	皂甙 Saponin	泡沫反应 Foam test 溶血(Hemolysis)反应 醋酐-浓硫酸试剂反应	持久泡沫 Continuous foam 明显 Obvious 紫红色环 Purple - ring in interface	+ + +
5	生物碱 Alkaloid	碘化铋钾(Dragendorff)试剂反应 碘化汞钾(Mayer)试剂反应 碘-碘化钾(Wagner)试剂反应 磷钼酸(Sconnesschein)试剂反应	橘黄色沉淀 Saffron yellow sediment 黄白色沉淀 Yellowish-white sediment 棕红色沉淀 Brownish red sediment 棕黄色沉淀 Claybank sediment	+ + + +
6	黄酮 Flavonoid	盐酸-镁粉试剂 醋酸铅(Lead acetate)沉淀反应 * 喷洒 1% $AlCl_3$ 乙醇溶液	棕红色 Brownish red 棕黄色沉淀 Yellowish-brown sediment 棕色或藏蓝色斑点 Brown and dark blue blotch	+ + +
7	蒽醌 Anthraquinone	醋酸镁(Magnesium acetate)试剂反应 碱性反应 Alkaline reaction	不明显 Not obvious 不明显 Not obvious	- -
8	香豆素与萜类内脂化合物 Coumarin and Terpene lactone	* 异羟肟酸铁(Emerson)试剂反应 荧光观察 Fluorescence observation	蓝紫色斑点 Amethyst blotch 蓝紫色 Amethyst	+ +
9	木质素 Lignan	* 喷洒 5% 磷钼酸乙醇液 Spray 5% phosphomolybdic acid ethanol	不明显 Not obvious	-

注: + 表示检测结果呈阳性; - 表示检测结果呈阴性。标有* 的反应表示在滤纸上进行,其余反应皆在试管中进行。

Note: + means positive result; - means negative result; * means paper chromatography.

2.2 大金发藓提取物制备结果

大金发藓 300 g 经乙醇提取后得浸膏 16.7 g, 计算得率为 5.57%。大金发藓孢子体(J-BZ) 100 g 经乙醇提取后得浸膏 8.73 g, 计算得率为 8.73%。大金发藓配子体(J-PZ) 300 g 经乙醇提取后得浸膏 9.33 g, 计算得率为 3.11%。结果提示大金发藓孢子体中化学物质种类和含量均有可能高于其配子体。

2.3 大金发藓抗肿瘤活性分析

2.3.1 大金发藓乙醇提取物抑制肿瘤细胞增殖及对正常细胞生长的影响

将大金发藓乙醇提取物(EPCLH)分别与表2所列的肿瘤细胞在实验条件下共孵育,结果显示,作用 24 h 后,120 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 EPCLH 能将 L1210 细胞的存活率降至 30% 以下。相同剂量作用下,MDA-MB-231 和 MCF-7 细胞的增殖能力也受到一定抑制,但作用 48 h 后仍未能使细胞存活率降至 50% 以下。EPCLH 对食管癌细胞和结直肠癌细胞生长的影响明显低于其对白血病细胞的毒性作用。以上结果提示,L1210 白血病细胞对 EPCLH 的毒性作用较为敏感。

表2 大金发藓乙醇提取物抑制肿瘤细胞增殖活性($n = 6, \bar{x} \pm s$)
Table 2 Anti-tumor activity of *P. commune* ethanol extract ($n = 6, \bar{x} \pm s$)

肿瘤细胞类型 Cancer cells	剂量 Dose($\mu\text{g}/\text{mL}$)	时间 Time(h)	存活率 Cell viability(%)
小鼠白血病细胞 Leukemia L1210 cells	120	24	26.99 \pm 1.07
人乳腺癌细胞 Human breast cancer MDA-MB-231	120	48	65.29 \pm 2.02
人乳腺癌细胞 Human breast cancer MCF-7	120	48	64.62 \pm 1.74
人食管癌细胞 Esophageal cancer Eca-109	150	48	69.96 \pm 1.97
人结肠癌细胞 Human colon cancer SW-480	150	48	74.46 \pm 0.96
人结肠癌细胞 Human colon cancer SW-620	150	48	89.71 \pm 1.09

为进一步验证 EPCLH 的细胞毒活性,本实验比较了其对于 L1210 细胞和 HEK 293 细胞生长的影响,同时以紫杉醇($0.5 \mu\text{g}/\text{mL}$)作为阳性对照。结果如图 1 所示,EPCLH 可明显抑制 L1210 细胞的增殖,且具有剂量依赖效应。当药物作用 24 h 后,随着药物剂量由 $30 \mu\text{g}/\text{mL}$ 增加到 $120 \mu\text{g}/\text{mL}$,细胞存活率则由 82.91% 下降至 26.99%,此时的半数抑制浓度(IC_{50})为 $77.22 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。与对照组相比, $30 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的 EPCLH 即可对 L1210 细胞的生长产生抑制作用

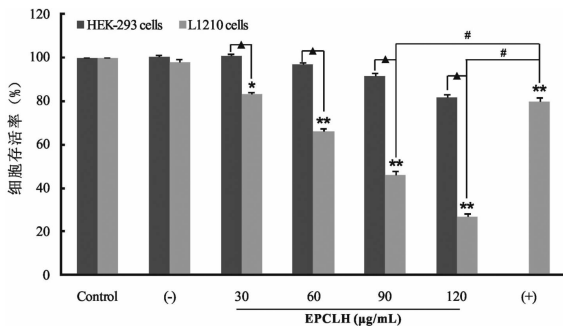


图1 大金发藓乙醇提取物对 L1210 细胞和 HEK-293 细胞的增殖抑制作用

Fig. 1 Cytotoxicity effect of EPCLH on L1210 cells and HEK-293 cells

注:Control:正常对照组;(-):阴性对照组(70%乙醇);(+):阳性对照组($0.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ 紫杉醇)

与对照组相比 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与紫杉醇组相比# $P < 0.01$;与 HEK-293 细胞相比^ $P < 0.01$

Note:Control:Normal group;(-):Negative control group (EtOH 70%);(+):Positive control group(Taxol $0.5 \mu\text{g}/\text{mL}$)

* $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$ versus the control,# $P < 0.01$ versus the taxol,^ $P < 0.01$ versus the HEK-293 cells

($P < 0.05$),当药物剂量由 $60 \mu\text{g}/\text{mL}$ 增加至 $120 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时,抑制作用愈发明显($P < 0.01$)。而相同实验条件下,紫杉醇对细胞的抑制率仅为 20%,与 $90 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的 EPCLH 相比差异极显著($P < 0.01$)。

此外,EPCLH 对 L1210 细胞和 HEK-293 细胞的生长影响差异极显著($P < 0.01$),相同剂量的 EPCLH 能够显著降低 L1210 白血病细胞存活率的同时对 HEK-293 人胚肾细胞的生长不产生明显影响。

2.3.2 大金发藓孢子体与配子体对白血病细胞毒性的比较

植物在不同生长时期所含化学物质的种类及含量也略有变化,以体外培养的白血病细胞为实验模型,对大金发藓的孢子体(J-BZ)与配子体(J-PZ)的乙醇提取物进行抗肿瘤活性检测。将相同剂量的 J-BZ 与 J-PZ 分别加入 L1210 细胞、K562 细胞及 U937 细胞,共孵育 24、48、72 h,比较分析三种白血病细胞在两种提取物的干预下相对存活率的变化,结果见图 2。

J-BZ 能够在作用 24 h 即对 K562 细胞的生长造成影响,当作用剂量为 $80 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时,细胞生长被抑制,细胞存活率降至 50% 左右,当药物浓度增至 $120 \mu\text{g}/\text{mL}$,细胞存活率低于 20% (Fig. 2A)。相同条件下,当 J-PZ 的浓度为 $160 \mu\text{g}/\text{mL}$ 才能使细胞存活率降至 20% 以下 (Fig. 2B)。整体看来,J-BZ 与 J-PZ 均能对 K562 细胞的增殖起到抑制作用,但处理相同时间后(24 h),二者表现出的抗肿瘤能力大小却明显不同,低剂量时差异极显著($P < 0.01$),当细胞存活率降至 20% 以下,二者差异显著($P < 0.05$) (Fig. 2C)。

当等剂量的 J-BZ 与 J-PZ 作用于 L1210 细胞时,结果如图 2D ~ F 所示,二者对细胞生长的影响在 48 h 表现最明显。当药物浓度为 $80 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时,J-BZ 与 J-PZ 作用下的细胞存活率分别为 47% 和 70%;药物浓度增至 $120 \mu\text{g}/\text{mL}$,J-BZ 可使细胞存活率降至 20% 以下,而 J-PZ 处理后的细胞存活率为 40%; $160 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的 J-BZ 已使得细胞几乎不再生长,同剂量的 J-PZ 此时将细胞存活率保持在 20% 左

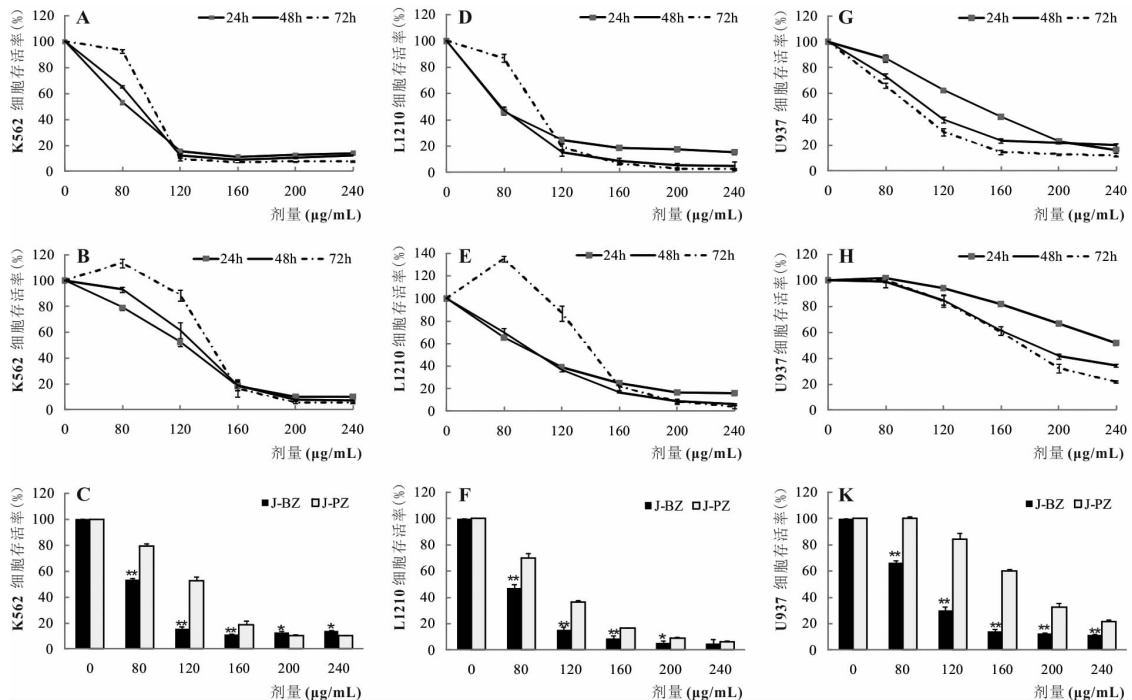


图2 大金发藓孢子体与配子体对白血病细胞增殖的影响

Fig. 2 Cytotoxicity effect of sporophyte and gametophyte on leukemia cells

注:相同作用条件下,与同剂量组相比* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

Note: Under the same condition, compared with same dose of J-BZ and J-PZ, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

右。当 J-BZ 与 J-PZ 的作用剂量大于 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 后,细胞几无存活。因此,就 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下的三种药物浓度对 L1210 小鼠白血病细胞的存活影响力而言,大金发藓孢子体明显优于其配子体($P < 0.01$)。

在 U937 细胞的生长过程中加入等浓度的 J-BZ 与 J-PZ,二者均表现出明显的时间、剂量依赖性。当 J-BZ 与细胞共孵育 72 h,随着药物浓度由 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 增至 120、160 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 后,细胞存活率依次降为 65%、30%、15% (Fig. 2G)。相同的作用时间内,80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 J-PZ 几乎未对细胞的生长造成影响,当药物剂量为 160 $\mu\text{g}/\text{mL}$,细胞存活率保持在 60% 左右,直至药物浓度达到 240 $\mu\text{g}/\text{mL}$,细胞存活率才下降至 20% (Fig. 2H)。比较分析二者对细胞增殖的影响,结果显示在 80 ~ 240 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的剂量范围内,大金发藓孢子体对 U937 人急性粒细胞白血病的增殖抑制能力远远优于其配子体($P < 0.01$) (Fig. 2K)。

3 讨论

大金发藓因具有药用价值被历代药用典籍记载,近代学者对其化学成分进行研究,指出其中主要含二氧杂环己烷木质素,苯酚类化合物,甾醇酯类,

蜡酯类,植醇酯,叶绿素,花生四烯酸,单糖基二甘油酯类,双糖基二甘油酯类和脂类等^[10-12]。本文对采自秦岭南麓的大金发藓化学成分进行初步研究,部分结果与文献描述一致,同时确定大金发藓中还存在生物碱、黄酮和皂苷类化合物。

对金发藓属的其他植物研究显示,桧叶金发藓的乙醇及酸提取物能使小鼠 sarcoma 37 肉瘤坏死^[5];多形金发藓和变形金发藓中分离得到的 8 种新型苯并萘并咕吨酮类化合物 (benzophenanthrones) 和 2 种新结构的联苳并苯乙烯醛基 (cinamoyl bibenzyls) 化合物对 9PS 小鼠白血病细胞和多种人类肿瘤细胞 (A-549 肺癌、MCF-7 乳腺癌、HT-29 结肠癌、RPMI-7951 黑色素瘤和 U-251 胶质瘤) 均表现出细胞毒性,其中对白血病细胞的杀伤效应最为显著^[6,7]。此外,在 1977 年《本草纲目》(校点本)中也记载大金发藓对淋巴细胞白血病具有一定抑制作用^[3]。根据同属植物化学成分种类相近的规律推测,大金发藓中存在抗肿瘤化合物的可能性极大。这一推论在 2009 年被傅芃等人的研究结果证实,从大金发藓中分离得到的 2 种新化合物 (S, E)-5-苯乙烯基-7-羟基二氢黄酮 (communin B) 和苯

并萘并咕吨酮衍生物(ohioensin F)均能抑制 A-549 人肺癌肿瘤细胞株、LOVO 人肠癌细胞株、MDA-MB-435 人乳腺癌细胞株、HepG2 人肝癌细胞株和 6T-CEM 人 T 细胞白血病细胞的增殖,其中,6T-CEM 人 T 细胞白血病细胞对药物处理最为敏感^[12]。本文结果同样证明大金发藓乙醇提取物能够对白血病细胞、人乳腺癌细胞、人鼻咽癌细胞、人结直肠癌细胞产生抗肿瘤活性,其中对白血病细胞的杀伤效应最强,这与已有文献结果相符。同时,实验结果显示对 L1210 白血病细胞产生明显增殖抑制作用的药物剂量却未对正常细胞的生长产生影响,以上研究结果提示,大金发藓在抗肿瘤特别是白血病治疗中具有潜在应用价值。

苔藓植物的生活史表现为配子体和孢子体的世代交替,其中配子体为具有单倍数染色体的小型绿色自养植物,而孢子体寄生于配子体上,通过基足摄取配子体的营养供给,保证具有 2 倍数染色体的孢子正常发育。在生长过程中为抵御外界环境带来的侵害而保证自身发育的需要,植物常常会产生并积累一些次生代谢产物,而这些次生代谢产物常具有重要的生理活性^[13]。本文对大金发藓进行有效成分提取的过程中发现其孢子体提取物得率大于配子体,推测孢子体中化学物质种类和含量均有可能高于其配子体,从而导致二者具有不同的生理活性。以体外培养的白血病细胞为考察对象的实验结果证实了大金发藓孢子体的抗肿瘤活性远优于其配子体。根据植物次生代谢物质生成规律结合苔藓植物生活史推测,可能在大金发藓孢子体形成过程中产生了一些特别的化学物质,并滞留于孢子体中,使得大金发藓孢子体内化学物质的种类及含量与其配子体内略有不同,导致二者表现出的生理活性差异显著。对其他植物类似的研究结果也表明,同一植物不同生长部位有效成分含量差异显著。此外,药典收录同一种植物的不同部位记载为不同药物的依据也是基于入药部位所含化学成分种类的不同。若要明确大金发藓孢子体及配子体抗肿瘤活性的差异,还有待于对其化学成分的进一步研究,用实验数据来佐证推论。

参考文献

- 1 Wu PC (吴鹏程), Jia Y (贾渝). *Flora Bryophytorum Sincorum* Vol. 8 (中国苔藓志. 第八卷). Beijing: Science Press, 2004. 439-440.
- 2 Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences. *Flora of Yunnan*, Vol. 19 (中国科学院昆明植物研究所编著, 云南植物志, 第十九卷). Beijing: Science Press, 2005. 628.
- 3 Li SZ (李时珍). *Compendium of Materia Medica* Vol. 8 (本草纲目校点本, 第 2 册). Beijing: People's Medical Publishing House, 1977. 1412.
- 4 *Chinese Materia Medica* (中华本草). Shanghai: Shanghai Sciences Technology Publishing House, 1999. 22-23.
- 5 Belkin M, Fitzgerald DB. Tumor-damaging capacity of plant materials II plants used as cathartics. *J Nat Cancer Inst*, 1952, 13: 139-155.
- 6 Zheng GQ, Ching-er C, Thomas JS, et al. Ohioensins: Novel Benzonaphthoxanthrenones from *Polytrichum ohioense*. *J Org Chem*, 1993, 58: 366-372.
- 7 Zheng GQ, David H, Patrick J, et al. Ohioensins and pallidis-etins; novel cytotoxic agents from the moss *Polytrichum pallidis-etum*. *J Nat Prod*, 1994, 57: 32-41.
- 8 Chen YG (陈业高). *Phytochemical* (植物化学成分). Beijing: Chemical Industry Press, 2004.
- 9 Cheng XX, Xiao YP, Wang XB, et al. Anti-tumor and pro-apoptotic activity of ethanolic extract and its various fractions from *Polytrichum commune* L. ex Hedw in L1210 cells. *J Ethnopharmacol*, 2012, 143: 49-56.
- 10 Chen S (陈胜), Zeng X (曾晞), Ji XB (季祥彪), et al. Study on chemical constituents of *Polytrichum commune*. *Guizhou Chem Ind* (贵州化工), 2008, 33(5): 29-32.
- 11 Chen S (陈胜), Li M (李明), Ji XB (季祥彪), et al. Studies on the chemical components of *Polytrichum commune*. *J Mountain Agric Biol* (山地农业生物学报), 2008, 2: 279-282.
- 12 Fu P, Lin S, Shan L, et al. Constituents of the moss *Polytrichum commune*. *J Nat Prod*, 2009, 72: 1335-1337.
- 13 Wink M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*, 2003, 64: 3-19.