

灰毡毛忍冬花蕾中三萜皂苷类化学成分研究

董俊丽¹, 黄传奇¹, 王富乾¹, 黄伟², 林世和¹, 张耕^{1*}

1. 武汉市第一医院 药学部, 湖北 武汉 430022

2. 武汉市第一医院 检验科, 湖北 武汉 430022

摘要: 目的 研究灰毡毛忍冬 *Lonicera macranthoides* 花蕾中的化学成分。方法 采用正相硅胶、ODS、Sephadex LH-20、半制备高效液相色谱等方法对灰毡毛忍冬花蕾的水提取物进行分离纯化, 采用 NMR、MS 等波谱方法进行鉴定结构, 采用 MTT 法研究化合物的细胞毒活性。结果 从灰毡毛忍冬花蕾中分离得到了 7 个三萜类化合物, 分别鉴定为 3-O-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→4)-α-L-吡喃阿拉伯糖基常春藤皂苷元 28-O-β-D-吡喃葡萄糖酯苷 (1)、3-O-α-L-吡喃鼠李糖基-(1→2)-α-L-吡喃阿拉伯糖基齐墩果酸 28-O-α-L-吡喃鼠李糖基-(1→4)-O-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→6)-β-D-吡喃葡萄糖基酯苷 (2)、3-O-α-L-吡喃鼠李糖基-(1→2)-α-L-吡喃阿拉伯糖基常春藤皂苷元 28-O-β-D-吡喃葡萄糖酯苷 (3)、3-O-α-L-吡喃鼠李糖基-(1→2)-α-L-吡喃阿拉伯糖基常春藤皂苷元 28-O-α-L-吡喃鼠李糖基-(1→4)-O-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→6)-β-D-吡喃葡萄糖基酯苷 (4)、3-O-α-L-吡喃阿拉伯糖基常春藤皂苷元 28-O-α-L-吡喃鼠李糖基-(1→4)-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→6)-β-D-吡喃葡萄糖基酯苷 (5)、3-O-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→4)-α-L-吡喃阿拉伯糖基常春藤皂苷元 28-O-α-L-吡喃鼠李糖基-(1→4)-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→6)-β-D-吡喃葡萄糖基酯苷 (6)、3-O-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→3)-α-L-吡喃鼠李糖基-(1→2)-α-L-吡喃阿拉伯糖基常春藤皂苷元 28-O-α-L-吡喃鼠李糖基-(1→4)-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→6)-β-D-吡喃葡萄糖基酯苷 (7)。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为灰毡毛忍冬皂苷丙; 化合物 2~7 为首次从该植物中分离得到。细胞毒活性结果显示, 化合物 1、4 和 5 对人宫颈癌 HeLa 细胞均有一定的抑制作用, 其 IC₅₀ 值分别为 54.3、43.9、61.2 μmol/L。

关键词: 灰毡毛忍冬; 三萜皂苷; 常春藤皂苷元; 灰毡毛忍冬皂苷丙; 细胞毒活性

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)19-4484-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.19.003

Triterpenoids isolated from flower buds of *Lonicera macranthoides*

DONG Jun-li¹, HUANG Chuan-qi¹, WANG Fu-qian¹, HUANG Wei², LIN Shi-he¹, ZHANG Geng¹

1. Department of Pharmacy, Wuhan No. 1 Hospital, Wuhan 430022, China

2. Department of Clinical Laboratory, Wuhan No. 1 Hospital, Wuhan 430022, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from the flower buds of *Lonicera macranthoides* and their antitumor activities. **Methods** The constituents were separated by chromatography of silica gel, ODS, Sephadex LH20, and semi-pre HPLC. Their structures were elucidated by spectral means. The *in vitro* cytotoxic activities of the isolated compounds were studied by MTT method. **Results** Seven compounds were isolated and identified as 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-α-L-arabinopyranosyl-hederagenin 28-O-β-D-glucopyranosyl ester (1), 3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-α-L-arabinopyranosyl-oleanolic acid 28-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl ester (2), 3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-α-L-arabinopyranosyl-hederagenin 28-O-β-D-glucopyranosyl ester (3), 3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-α-L-arabinopyranosyl-hederagenin 28-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl ester (4), 3-O-α-L-arabinopyranosyl-hederagenin 28-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl ester (5), 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-α-L-arabinopyranosyl-hederagenin 28-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl ester (6), and 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→3)-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-α-L-arabinopyranosyl-hederagenin 28-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl ester (7). **Conclusion** Compound 1 is a new compound named macranthoidin C, and compounds 2—7 are isolated from *L. macranthoides* for the first time. Compounds 1, 4, and 5 show cytotoxicities

收稿日期: 2018-06-19

基金项目: 湖北省自然科学基金青年项目 (2018CFB318)

作者简介: 董俊丽, 女, 博士, 药师, 主要从事天然产物开发及新药研究。Tel: 13035130749 E-mail: dongjunli0118@163.com

*通信作者 张耕, 男, 硕士, 主任药师, 主要从事天然产物开发及新药研究。Tel: 13607167162 E-mail: zhanggen888@126.com

against HeLa cells with IC_{50} of 54.3, 43.9 and 61.2 $\mu\text{mol/L}$, respectively.

Key words: *Lonicera macranthoides* Hand.-Mazz.; triterpene saponins; hederagenin; macranthoidin C; cytotoxic activities

灰毡毛忍冬 *Lonicera macranthoides* Hand.-Mazz. 为忍冬科 (Caprifoliaceae) 忍冬属 *Lonicera* Linn. 植物, 以花入药, 主产湖南、贵州, 有“山银花”“木银花”“大银花”“岩银花”等别称; 具有清热解毒、抗菌消炎的功效, 在中医临床及民间广泛应用于温热发病、痈肿疮疖、热毒血痢、丹毒喉痹、风热感冒等疾病的治疗^[1-2]。对其同属植物的研究认为, 皂苷类成分为其保肝作用的活性成分^[3], 本实验从灰毡毛忍冬花蕾醇提物中分离得到 7 个皂苷类化合物, 分别鉴定为 3-O- β -D-吡喃葡萄糖基-(1→4)- α -L-吡喃阿拉伯糖基常春藤皂苷元 28-O- β -D-吡喃葡萄糖酯苷 [3-O- β -D-glucopyranosyl-(1→4)- α -L-arabinopyranosyl-hederagenin 28-O- β -D-glucopyranosyl ester, 1]、3-O- α -L-吡喃鼠李糖基-(1→2)- α -L-吡喃阿拉伯糖基齐墩果酸 28-O- α -L-吡喃鼠李糖基-(1→4)-O- β -D-吡喃葡萄糖基-(1→6)- β -D-吡喃葡萄糖基酯苷 [3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1→2)- α -L-arabinopyranosyl-oleanolic acid 28-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1→4)-O- β -D-glucopyranosyl-(1→6)- β -D-glucopyranosyl ester, 2]、3-O- α -L-吡喃鼠李糖基-(1→2)- α -L-吡喃阿拉伯糖基常春藤皂苷元 28-O- β -D-吡喃葡萄糖酯苷 (3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1→2)- α -L-arabinopyranosyl-hederagenin 28-O- β -D-glucopyranosyl ester, 3)、3-O- α -L-吡喃鼠李糖基-(1→2)- α -L-吡喃阿拉伯糖基常春藤皂苷元 28-O- α -L-吡喃鼠李糖基-(1→4)-O- β -D-吡喃葡萄糖基-(1→6)- β -D-吡喃葡萄糖基酯苷 [3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1→2)- α -L-arabinopyranosyl-hederagenin 28-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1→4)-O- β -D-glucopyranosyl-(1→6)- β -D-glucopyranosyl ester, 4]、3-O- α -L-吡喃阿拉伯糖基常春藤皂苷元 28-O- α -L-吡喃鼠李糖基-(1→4)- β -D-吡喃葡萄糖基-(1→6)- β -D-吡喃葡萄糖基酯苷 [3-O- α -L-arabinopyranosyl-hederagenin 28-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1→4)- β -D-glucopyranosyl-(1→6)- β -D-glucopyranosylester, 5]、3-O- β -D-吡喃葡萄糖基-(1→4)- α -L-吡喃阿拉伯糖基常春藤皂苷元 28-O- α -L-吡喃鼠李糖基-(1→4)- β -D-吡喃葡萄糖基-(1→6)- β -D-吡喃葡萄糖基酯苷 [3-O- β -D-glucopyranosyl-(1→4)- α -L-arabinopyranosyl-hederagenin 28-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1→4)- β -D-

glucopyranosyl-(1→6)- β -D-glucopyranoside ester, 6]、3-O- β -D-吡喃葡萄糖基-(1→3)- α -L-吡喃鼠李糖基-(1→2)- α -L-吡喃阿拉伯糖基常春藤皂苷元 28-O- α -L-吡喃鼠李糖基-(1→4)- β -D-吡喃葡萄糖基-(1→6)- β -D-吡喃葡萄糖基酯苷 [3-O- β -D-glucopyranosyl-(1→3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1→2)- α -L-arabinopyranosyl-hederagenin 28-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1→4)- β -D-glucopyranosyl-(1→6)- β -D-glucopyranosyl ester, 7]。化合物 1 为新化合物 (图 1), 命名为灰毡毛忍冬皂苷丙; 化合物 2~7 为首次从该植物中分离得到。

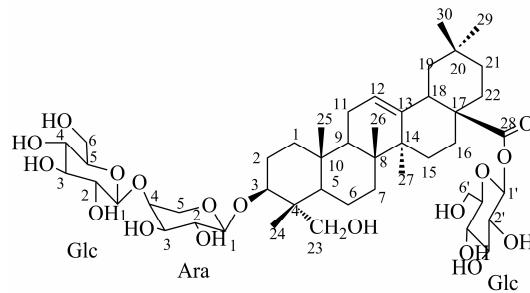


图 1 化合物 1 的结构

Fig. 1 Structure of compound 1

1 仪器与材料

AVANCEIII-600 型核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); Agilent 1200 高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); 岛津 LC-6AD 型半制备液相色谱仪、Intersil ODS-3 C₁₈ 色谱柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm , 日本 Shimadzu 公司); 半制备色谱柱 RP₁₈ (250 mm×20 mm, 5 μm , 日本 YMC 公司); EYELAN1000 型旋转蒸发仪 (日本东京理化器械株式会社); KQ-100DA 型数超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); 柱色谱硅胶 (300~400 目) 及薄层色谱硅胶 G (青岛海洋化工厂); Sephadex LH-20 (瑞典 Pharmacia 公司); ODS (40~60 μm , 美国 Sepax Technologies 公司); 甲醇、乙腈均为色谱纯 (美国 Honeywell 公司); D-葡萄糖 (批号 110833-201205, 质量分数 99.5%)、L-鼠李糖 (批号 111683-200401, 质量分数 \geq 99%) 和 L-阿拉伯糖 (批号 1506-200001, 质量分数 99.5%) 购于中国食品药品检定研究院。

人乳腺癌 (MCF-7) 和人宫颈癌 (HeLa) 细胞购自 ATCC, 由本实验室传代培养并保存; MTT (上

海碧云天生物技术有限公司); DMSO (天津科密欧化学试剂有限公司); RPMI 1640 培养基、新生胎牛血清 (美国 Gibco 公司); 紫杉醇 (江苏扬子江药业集团有限公司, 批号 1100811302); 胰蛋白酶 (北京鼎国昌盛生物技术有限公司)。

本实验中所用灰毡毛忍冬花蕾于 2016 年 7—8 月采自于湖北恩施土家族苗族自治县境内, 经余南才主任药师鉴定为忍冬科忍冬属植物灰毡毛忍冬 *Lonicera macranthoides* Hand.-Mazz., 标本 (LM20176016) 现存放于武汉市第一医院盘龙院区余南才传承工作室中药标本馆。

2 提取与分离

将灰毡毛忍冬干燥花蕾 15 kg 加 10 倍体积的水煎煮 3 次, 每次 2 h, 将水煎液过滤液浓缩, 上大孔树脂 D101, 水洗至无色, 依次用 30%、70%、95% 乙醇洗, 收集洗脱液回收有机溶剂, 得到灰毡毛忍冬花蕾粗提物。将 70% 部位 (102 g) 用甲醇溶解, 滤过, 滤液拌入硅胶 G, 进行硅胶柱色谱分离, 二氯甲烷-甲醇梯度洗脱 (10 : 1 → 0 : 100), 收集流分, 采用 TLC 检测, 10% 硫酸-乙醇喷雾加热显色, 合并相同组分得到 Fr. A~F。其中 Fr. B (4.5 g) 进行反相硅胶柱色谱分离, 以甲醇-水 (6 : 4 → 10 : 0) 梯度洗脱后用经半制备液相, 以甲醇-水 (65 : 35) 等度洗脱后经 Sephadex LH-20 柱纯化, 得化合物 1 (9 mg, 38 min)、2 (18 mg, 26 min)、3 (15 mg, 44 min)。将混合物 Fr. C (2.3 g) 进行反相硅胶柱色谱分离, 以甲醇-水 (4 : 6 → 10 : 0) 梯度洗脱, 用半制备液相分离, 以甲醇-水 (68 : 32) 等度洗脱后经 LH20 柱纯化, 得化合物 4 (30 mg, 35 min)、5 (41 mg, 26 min)。将 Fr. E 利用制备液相分离, 以甲醇-水 (65 : 35) 梯度洗脱, 得化合物 6 (35 mg, 31 min)、7 (40 mg, 38 min)。

3 酸水解反应

称取化合物 1~7 各 2 mg, 加入 2 mol/L HCl (10 mL)、密封, 90 °C 水浴反应 4 h。用二氯甲烷 (10 mL × 3) 对反应混合物进行萃取, 然后将水层减压浓缩至干, 将残余物与 L-半胱氨酸甲酯盐酸盐 (8 mg) 一起溶解在无水吡啶 (2 mL) 中, 然后在 60 °C 下加热 2 h。将 D-葡萄糖、L-鼠李糖和 L-阿拉伯糖的标准品同上述方法同步处理。将反应混合物通过 0.22 μm 膜滤过后进行 HPLC 分析 [色谱柱 Intersil ODS-3 C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水-冰乙酸 (25 : 75 : 0.05), 1.0 mL/min; 检测

波长 250 nm; 柱温 25 °C; 进样量 5 μL]。标准糖的衍生化反应同上述操作。通过比较单糖衍生物和标准糖衍生物的出峰时间 (*t_R*), 确定化合物中的糖单元类型。标准糖 D-葡萄糖、L-鼠李糖和 L-阿拉伯糖衍生物的 *t_R* 分别为 17.9、15.07、11.05 min。

4 结构鉴定

化合物 1: 白色无定形粉末 (甲醇); HR-ESI-ESI *m/z*: 951.089 4 [M+Na]⁺ (计算值 951.088 8), 结合 ¹H-NMR、¹³C-NMR 以及 2D-NMR 数据确定分子式为 C₄₇H₇₆O₁₈, 不饱和度为 10; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 421 (OH)、2 923 (CH₃)、1 748 (C=O)、1 637 (C=C); TLC 上 5% 硫酸-香草醛反应显紫红色、久置变蓝, 推测可能为三萜皂苷。酸水解及衍生化液相分析检出 D-葡萄糖和 L-阿拉伯糖。

在 ¹H-NMR (600 MHz, C₅D₅N) 谱中, 高场区可见 6 个甲基单峰质子信号 [δ_{H} 1.01、1.07、0.80、0.85、0.76 (overlapped)], 推测三萜皂苷元中的 8 个甲基中有 2 个甲基可能被取代; 低场区可见 1 个烯碳的质子信号 δ_{H} 5.31 (1H, m); 此外, ¹H-NMR 谱还给出了 3 个糖的端基质子信号 δ_{H} 4.77 (1H, d, *J*=7.2 Hz), 5.13 (1H, d, *J*=7.8 Hz), 6.21 (1H, d, *J*=7.8 Hz), 根据端基氢的相对较大的 ³*J*_{H₁, H₂} 偶合常数值表明阿拉伯糖的端基碳构型为 α 型、葡萄糖的端基碳构型为 β 型。¹³C-NMR (150 MHz, C₅D₅N) 图谱显示有 47 个碳信号, 在高场区显示有 6 个甲基碳信号 δ_{C} 13.7, 16.4, 17.7, 26.2, 33.2, 23.8, 在低场区显示有 3 个糖的端基碳信号 δ_{C} 106.6, 107.0, 95.9, 2 个烯碳信号 δ_{C} 123.1, 144.3, 1 个齐墩果酸型皂苷 C-3 位的碳信号特征信号 δ_{C} 82.2, 1 个羰基碳信号 δ_{C} 176.6, 根据苷化位移规律可推测化合物 1 是常春藤型皂苷元, 其中 C-3 羟基被苷化, C-28 位羧基被酯化形成双糖链皂苷^[4]。

该化合物的氢谱和碳谱数据根据 ¹H-¹H COSY、HMQC、HMBC 谱进行归属 (表 1), 该化合物的糖链部分连接位置和顺序通过分析 HMBC 谱进行确认。HMBC 谱 (图 2) 显示, 1 个葡萄糖 (Glc) 的端基氢信号 δ_{H} 5.13 (1H, d, *J*=7.8 Hz) 与阿拉伯糖 (Ara) 的 C-4 (δ_{C} 80.0) 碳信号远程相关, 说明该葡萄糖连在阿拉伯糖 C-4 位; 阿拉伯糖的端基氢信号 δ_{H} 4.77 (1H, d, *J*=7.2 Hz) 与苷元的 C-3 (δ_{C} 82.2) 碳信号远程相关, 表明该阿拉伯糖连在苷元的 C-3 位, 因此可以确定苷元的 C-3 糖链中的单糖连接位置和连接顺序应为 Glc (1→4) Ara。另一葡萄糖的端

表1 化合物1的核磁数据 (600/150 MHz, C₅D₅N)
Table 1 NMR data for compound 1 (600/150 MHz, C₅D₅N)

碳位	δ_{C}	δ_{H}	碳位	δ_{C}	δ_{H}
1	38.9	1.54 (1H, m)	25	16.4	1.07 (3H, s)
2	26.2	1.93 (1H, m), 2.09 (1H, m)	26	17.7	0.80 (3H, s)
3	82.2	4.29 (1H, m)	27	26.2	0.85 (3H, s)
4	43.6	—	28	176.6	—
5	47.8	1.63 (1H, m)	29	33.2	0.76 (3H, s)
6	18.3	1.21 (1H, m), 1.61 (1H, m)	30	23.8	0.76 (3H, s)
7	33.0	1.25 (1H, m), 1.54 (1H, m)	C ₃ -Ara-1	106.6	4.77 (1H, d, $J = 7.2$ Hz)
8	40.1	—	2	73.9	4.55 (1H, m)
9	48.3	1.81 (1H, m)	3	74.9	3.94 (1H, m)
10	37.1	—	4	80.0	4.17 (1H, m)
11	24.0	1.87 (1H, m), 1.93 (1H, m)	5	66.5	3.92 (1H, m), 4.25 (1H, m)
12	123.1	5.31 (1H, m)	Glc-1	107.0	5.13 (1H, d, $J = 7.8$ Hz)
13	144.3	—	2	76.0	3.94 (1H, m)
14	42.3	—	3	79.0	4.15 (1H, m)
15	28.4	2.21 (1H, m),	4	71.5	4.17 (1H, m)
16	23.5	1.87 (1H, m)	5	78.6	3.82 (1H, m)
17	47.1	—	6	62.7	4.26 (1H, m), 4.39 (1H, m)
18	41.9	3.08 (1H, d, $J = 12.0$ Hz)	C ₂₈ -Glc-1	95.9	6.21 (1H, d, $J = 7.8$ Hz)
19	46.3	1.61 (1H, m), 1.63 (1H, m)	2	74.3	4.10 (1H, m)
20	30.9	—	3	79.5	4.27 (1H, m)
21	34.1	1.00 (1H, m), 1.31 (1H, m)	4	71.3	4.39 (1H, m)
22	32.7	1.65 (1H, m), 1.81 (1H, m)	5	79.1	4.17 (1H, m)
23	64.7	3.82 (1H, m), 4.17 (1H, m)	6	62.4	4.44 (1H, m), 4.85 (1H, m)
24	13.7	1.01 (3H, s)			

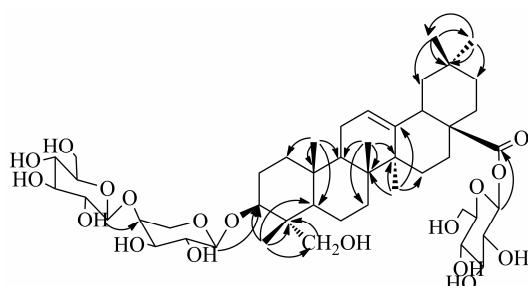


图2 化合物1的主要HMBC相关
Fig. 2 Key HMBC correlations of compound 1

基氢信号 δ_{H} 6.21 (1H, d, $J = 7.8$ Hz) 与昔元的 C-28 (δ_{C} 176.6) 碳信号远程相关, 表明该葡萄糖连接在昔元的 C-28 位。

综上所述, 化合物1的结构被鉴定为 3-O- β -D-吡喃葡萄糖基-(1→4)- α -L-吡喃阿拉伯糖基-常春藤皂昔元 28-O- β -D-吡喃葡萄糖酯昔, 经检索该化合

物是1个未见文献报道的新化合物, 命名为灰毡毛忍冬皂昔丙。

化合物2: 白色无定形粉末, TLC 上 5%硫酸-香草醛反应显紫红色、久置变蓝; ¹H-NMR (600 MHz, C₅D₅N) δ : 1.05 (3H, s, H-23), 0.77 (3H, s, H-24), 1.12 (3H, s, H-25), 0.96 (3H, s, H-26), 0.98 (3H, s, H-27), 0.76 (3H, s, H-29), 0.77 (3H, s, H-30), 5.28 (1H, m, H-12), 4.78 (1H, d, $J = 5.4$ Hz, Ara-H-1), 6.02 (1H, brs, Rha-H-1), 6.13 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, Glc-H-1), 4.87 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, Glc"-H-1), 5.74 (1H, brs, Rha'-H-1), 1.51 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, Rha-CH₃), 1.59 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, Rha'-CH₃), 3.12 (1H, dd, $J = 10.2, 4.2$ Hz, H-18); ¹³C-NMR (150 MHz, C₅D₅N) δ : 39.1 (C-1), 26.7 (C-2), 88.9 (C-3), 39.6 (C-4), 56.1 (C-5), 18.7 (C-6), 33.3 (C-7), 40.0 (C-8), 48.2 (C-9),

37.2 (C-10), 23.9 (C-11), 123.0 (C-12), 144.2 (C-13), 42.3 (C-14), 28.4 (C-15), 23.5 (C-16), 47.2 (C-17), 41.8 (C-18), 46.4 (C-19), 30.9 (C-20), 34.1 (C-21), 32.7 (C-22), 28.2 (C-23), 17.1 (C-24), 15.8 (C-25), 17.6 (C-26), 26.2 (C-27), 176.7 (C-28), 33.3 (C-29), 23.8 (C-30); C₃-Ara: 105.0 (C-1), 76.0 (C-2), 74.2 (C-3), 68.8 (C-4), 64.8 (C-5); Rha: 101.9 (C-1), 72.5 (C-2), 72.7 (C-3), 73.9 (C-4), 70.0 (C-5), 18.7 (C-6); C₂₈-Glc': 95.8 (C-1), 74.0 (C-2), 78.9 (C-3), 71.0 (C-4), 78.2 (C-5), 69.4 (C-6); Glc'': 105.0 (C-1), 75.5 (C-2), 76.7 (C-3), 78.4 (C-4), 77.3 (C-5), 61.5 (C-6); Rha': 102.9 (C-1), 72.7 (C-2), 72.9 (C-3), 74.2 (C-4), 70.4 (C-5), 18.7 (C-6)。以上数据及理化性质与文献报道基本一致^[5], 故鉴定化合物 2 为 3-O- α -L-吡喃鼠李糖基-(1→2)- α -L-吡喃阿拉伯糖基齐墩果酸 28-O- α -L-吡喃鼠李糖基-(1→4)-O- β -D-吡喃葡萄糖基-(1→6)- β -D-吡喃葡萄糖基酯苷。

化合物 3: 白色无定形粉末, TLC 上 5%硫酸-香草醛反应显紫红色; ¹H-NMR (600 MHz, C₅D₅N) δ: 1.01 (3H, s, H-24), 1.06 (3H, s, H-25), 0.84 (3H, s, H-26), 0.95 (3H, s, H-27), 0.75 (3H, s, H-29), 0.76 (3H, s, H-30), 5.30 (1H, m, H-12), 4.99 (1H, d, J = 6.0 Hz, Ara-H-1), 6.13 (1H, brs, Rha-H-1), 6.22 (1H, d, J = 7.8 Hz, Glc-H-1), 1.52 (3H, d, J = 6.0 Hz, Rha'-CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, C₅D₅N) δ: 39.2 (C-1), 26.3 (C-2), 81.2 (C-3), 43.6 (C-4), 47.8 (C-5), 18.3 (C-6), 32.9 (C-7), 40.2 (C-8), 48.3 (C-9), 37.0 (C-10), 24.0 (C-11), 123.1 (C-12), 144.2 (C-13), 42.3 (C-14), 28.4 (C-15), 23.5 (C-16), 47.1 (C-17), 41.9 (C-18), 46.3 (C-19), 30.9 (C-20), 34.1 (C-21), 32.7 (C-22), 64.1 (C-23), 14.1 (C-24), 16.3 (C-25), 17.7 (C-26), 26.2 (C-27), 176.6 (C-28), 33.2 (C-29), 23.8 (C-30); C₃-Ara: 104.5 (C-1), 76.0 (C-2), 74.8 (C-3), 69.5 (C-4), 65.8 (C-5); Rha: 101.8 (C-1), 72.5 (C-2), 72.7 (C-3), 74.2 (C-4), 69.9 (C-5), 18.7 (C-6); C₂₈-Glc: 95.9 (C-1), 74.3 (C-2), 79.5 (C-3), 71.3 (C-4), 79.1 (C-5), 62.3 (C-6)。以上数据及理化性质与文献报道基本一致^[6], 故鉴定化合物 3 为 3-O- α -L-吡喃鼠李糖基-(1→2)- α -L-吡喃阿拉伯糖基常春藤皂苷元 28-O- β -D-吡喃葡萄糖酯苷。

化合物 4: 白色无定形粉末, TLC 上 5%硫酸-香草醛反应显紫红色; ¹H-NMR (600 MHz, C₅D₅N) δ: 1.00 (3H, s, H-24), 1.05 (3H, s, H-25), 0.85 (3H, s,

H-26), 0.95 (3H, s, H-27), 0.74 (3H, s, H-29), 0.95 (3H, s, H-30), 5.27 (1H, m, H-12), 3.04 (1H, dd, J = 13.8, 3.6 Hz, H-18), 4.99 (1H, d, J = 6.0 Hz, Ara-H-1), 6.11 (1H, brs, Rha'-H-1), 6.15 (d, J = 7.8 Hz, Glc''-H-1), 4.87 (1H, d, J = 7.8 Hz, Glc'-H-1), 5.73 (1H, brs, Rha-H-1), 1.52 (3H, d, J = 6.0 Hz, Rha'-CH₃), 1.58 (3H, d, J = 6.0 Hz, Rha-CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, C₅D₅N) δ: 39.2 (C-1), 26.3 (C-2), 81.2 (C-3), 43.7 (C-4), 47.9 (C-5), 18.3 (C-6), 33.0 (C-7), 40.1 (C-8), 48.3 (C-9), 37.0 (C-10), 24.0 (C-11), 123.1 (C-12), 144.3 (C-13), 42.3 (C-14), 28.5 (C-15), 23.5 (C-16), 47.2 (C-17), 41.8 (C-18), 46.3 (C-19), 30.9 (C-20), 34.1 (C-21), 32.7 (C-22), 64.1 (C-23), 14.1 (C-24), 16.3 (C-25), 17.7 (C-26), 26.2 (C-27), 176.7 (C-28), 33.3 (C-29), 23.8 (C-30); C₃-Ara: 104.5 (C-1), 76.0 (C-2), 74.8 (C-3), 69.9 (C-4), 65.8 (C-5); Rha: 101.8 (C-1), 72.5 (C-2), 72.7 (C-3), 74.0 (C-4), 69.5 (C-5), 18.7 (C-6); C₂₈-Glc': 95.8 (C-1), 74.3 (C-2), 78.9 (C-3), 71.0 (C-4), 78.2 (C-5), 69.4 (C-6); Glc'': 105.0 (C-1), 75.5 (C-2), 76.7 (C-3), 78.4 (C-4), 77.3 (C-5), 61.5 (C-6); Rha': 102.9 (C-1), 72.7 (C-2), 72.9 (C-3), 74.2 (C-4), 70.5 (C-5), 18.7 (C-6)。以上数据及理化性质与文献报道基本一致^[7], 故鉴定化合物 4 为 3-O- α -L-吡喃鼠李糖基-(1→2)- α -L-吡喃阿拉伯糖基常春藤皂苷元 28-O- α -L-吡喃鼠李糖基-(1→4)-O- β -D-吡喃葡萄糖基-(1→6)- β -D-吡喃葡萄糖基酯苷。

化合物 5: 白色无定形粉末, TLC 上 5%硫酸-香草醛反应显紫红色; ¹H-NMR (600 MHz, C₅D₅N) δ: 0.99 (3H, s, H-24), 1.05 (3H, s, H-25), 0.81 (3H, s, H-26), 0.85 (3H, s, H-27), 0.76 (3H, s, H-29), 0.74 (3H, s, H-30), 5.28 (1H, m, H-12), 3.05 (1H, dd, J = 13.2, 3.0 Hz, H-18), 4.99 (1H, d, J = 7.8 Hz, Ara-H-1), 4.87 (1H, d, J = 7.2 Hz, Glc'-H-1), 6.11 (1H, d, J = 7.8 Hz, Glc''-H-1), 5.73 (1H, brs, Rha-H-1), 1.58 (3H, d, J = 6.0 Hz, Rha-CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, C₅D₅N) δ: 39.0 (C-1), 26.3 (C-2), 82.1 (C-3), 43.7 (C-4), 47.8 (C-5), 18.3 (C-6), 32.9 (C-7), 40.1 (C-8), 48.3 (C-9), 37.1 (C-10), 24.0 (C-11), 123.1 (C-12), 144.3 (C-13), 42.3 (C-14), 28.5 (C-15), 23.5 (C-16), 47.2 (C-17), 41.8 (C-18), 46.3 (C-19), 30.9 (C-20), 34.1 (C-21), 32.7 (C-22), 64.6 (C-23), 13.8 (C-24), 16.4 (C-25), 17.7 (C-26), 26.2 (C-27), 176.7 (C-28), 33.3 (C-29),

23.8 (C-30); C₃-Ara: 106.8 (C-1), 73.3 (C-2), 74.9 (C-3), 69.8 (C-4), 67.1 (C-5); C₂₈-Glc': 95.8 (C-1), 74.2 (C-2), 78.9 (C-3), 71.0 (C-4), 78.2 (C-5), 69.3 (C-6); Glc'': 105.0 (C-1), 75.5 (C-2), 76.7 (C-3), 78.4 (C-4), 77.3 (C-5), 61.4 (C-6); Rha: 102.9 (C-1), 72.7 (C-2), 72.9 (C-3), 74.0 (C-4), 70.5 (C-5), 18.7 (C-6)。

以上数据及理化性质与文献报道基本一致^[8], 故鉴定化合物 5 为 3-O- α -L-吡喃阿拉伯糖基常春藤皂苷元 28-O- α -L-吡喃鼠李糖基-(1→4)- β -D-吡喃葡萄糖基-(1→6)- β -D-吡喃葡萄糖基酯昔, 即 cauloside D。

化合物 6: 白色无定形粉末, TLC 上 5%硫酸-香草醛反应显紫红色; ¹H-NMR (600 MHz, C₅D₅N) δ: 1.00 (3H, s, H-23), 1.05 (3H, s, H-24), 0.81 (3H, s, H-25), 0.86 (3H, s, H-26), 0.74 (3H, s, H-27), 0.76 (6H, s, H-29, 30), 5.29 (1H, m, H-12), 3.05 (1H, dd, J = 13.8, 3.6 Hz, H-18), 5.13 (1H, d, J = 7.8 Hz, Ara-H-1), 6.12 (1H, d, J = 8.4 Hz, Glc-H-1), 4.77 (1H, d, J = 7.8 Hz, Glc'-H-1), 4.87 (1H, d, J = 7.8 Hz, Glc''-H-1), 5.73 (1H, brs, Rha-H-1), 1.58 (3H, d, J = 6.0 Hz, Rha-CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, C₅D₅N) δ: 38.9 (C-1), 26.2 (C-2), 82.2 (C-3), 43.6 (C-4), 47.8 (C-5), 18.3 (C-6), 32.7 (C-7), 40.1 (C-8), 48.3 (C-9), 37.1 (C-10), 24.0 (C-11), 123.1 (C-12), 144.3 (C-13), 42.3 (C-14), 28.5 (C-15), 23.5 (C-16), 47.2 (C-17), 41.8 (C-18), 46.3 (C-19), 30.9 (C-20), 34.1 (C-21), 33.0 (C-22), 64.7 (C-23), 13.7 (C-24), 16.4 (C-25), 17.7 (C-26), 26.2 (C-27), 176.7 (C-28), 33.3 (C-29), 23.8 (C-30); C₃-Ara: 107.0 (C-1), 73.9 (C-2), 74.9 (C-3), 80.0 (C-4), 66.5 (C-5); Glc: 106.6 (C-1), 76.0 (C-2), 79.0 (C-3), 71.5 (C-4), 78.6 (C-5), 62.7 (C-6); C₂₈-Glc': 95.8 (C-1), 74.2 (C-2), 78.9 (C-3), 71.0 (C-4), 78.2 (C-5), 69.3 (C-6); Glc'': 105.0 (C-1), 75.5 (C-2), 76.7 (C-3), 78.4 (C-4), 77.3 (C-5), 61.4 (C-6); Rha: 102.9 (C-1), 72.7 (C-2), 72.9 (C-3), 74.0 (C-4), 70.5 (C-5), 18.7 (C-6)。以上数据及理化性质与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 6 为 3-O- β -D-吡喃葡萄糖基-(1→4)- α -L-吡喃阿拉伯糖基常春藤皂苷元 28-O- α -L-吡喃鼠李糖基-(1→4)- β -D-吡喃葡萄糖基-(1→6)- β -D-吡喃葡萄糖基酯昔。

化合物 7: 白色无定形粉末, TLC 上 5%硫酸-香草醛反应显紫红色; ¹H-NMR (600 MHz, C₅D₅N) δ: 1.00 (3H, s, H-23), 1.05 (3H, s, H-24), 0.85 (3H, s,

H-25), 0.98 (3H, s, H-26), 0.74 (3H, s, H-27), 0.75 (3H, s, H-29, 30), 5.27 (1H, m, H-12), 3.04 (1H, dd, J = 13.8, 3.6 Hz, H-18), 4.90 (1H, d, J = 6.6 Hz, Ara-H-1), 6.15 (1H, brs, Rha'-H-1), 5.37 (1H, d, J = 7.8 Hz, Glc-H-1), 6.12 (d, J = 7.8 Hz, Glc''-H-1), 4.87 (d, J = 7.8 Hz, Glc'-H-1), 5.73 (1H, brs, Rha-H-1), 1.42 (3H, d, J = 6.0 Hz, Rha-CH₃), 1.58 (3H, d, J = 6.0 Hz, Rha'-CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, C₅D₅N) δ: 39.2 (C-1), 26.6 (C-2), 81.4 (C-3), 43.8 (C-4), 47.7 (C-5), 18.3 (C-6), 32.9 (C-7), 40.1 (C-8), 48.4 (C-9), 37.1 (C-10), 24.0 (C-11), 123.1 (C-12), 144.3 (C-13), 42.3 (C-14), 28.5 (C-15), 23.5 (C-16), 47.2 (C-17), 41.8 (C-18), 46.3 (C-19), 30.9.3 (C-20), 34.1 (C-21), 32.7 (C-22), 64.1 (C-23), 14.3 (C-24), 16.4 (C-25), 17.7 (C-26), 26.2 (C-27), 176.7 (C-28), 33.3 (C-29), 23.9 (C-30); C₃-Ara: 105.0 (C-1), 76.1 (C-2), 75.3 (C-3), 69.9 (C-4), 66.7 (C-5); Rha: 101.6 (C-1), 71.9 (C-2), 83.2 (C-3), 73.2 (C-4), 70.0 (C-5), 18.7 (C-6); Glc: 107.0 (C-1), 75.5 (C-2), 78.8 (C-3), 71.8 (C-4), 78.7 (C-5), 62.7 (C-6); C₂₈-Glc': 95.8 (C-1), 74.2 (C-2), 78.9 (C-3), 71.0 (C-4), 78.2 (C-5), 69.4 (C-6); Glc'': 105.1 (C-1), 75.5 (C-2), 76.7 (C-3), 78.4 (C-4), 77.3 (C-5), 61.5 (C-6); Rha': 102.9 (C-1), 72.7 (C-2), 72.9 (C-3), 74.1 (C-4), 70.5 (C-5), 18.6 (C-6)。以上数据及理化性质与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 7 为 3-O- β -D-吡喃葡萄糖基-(1→3)- α -L-吡喃鼠李糖基-(1→2)- α -L-吡喃阿拉伯糖基常春藤皂苷元-28-O- α -L-吡喃鼠李糖基-(1→4)- β -D-吡喃葡萄糖基-(1→6)- β -D-吡喃葡萄糖基酯昔。

5 抗肿瘤活性筛选

采用 MTT 比色法, 对化合物 1~7 进行抗肿瘤活性筛选。选取 MCF-7 细胞和 HeLa 细胞, 用含有 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基, 以对数生长期细胞 3×10³ 个/孔的密度接种于 96 孔板, 正常培养 48 h 后, 加入受试药物, 以紫杉醇为阳性对照。结果表明, 化合物 1、4 和 5 对 HeLa 细胞均有抑制作用, 其半数抑制浓度 (IC₅₀) 分别为 54.3、43.9、61.2 μmol/L; 所有受试样品对 MCF-7 细胞均无明显作用, IC₅₀>100 μmol/L。

参考文献

- [1] 张小娜. 灰毡毛忍冬与忍冬化学成分及药理作用的比较研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2014.
- [2] 栗时 颖. 山银花有效成分的分析和提取以及抑制巨噬

- 细胞胆固醇蓄积作用的研究 [D]. 衡阳: 南华大学, 2011.
- [3] 时京珍, 刘耕陶. 黄褐毛忍冬皂甙对对乙酰氨基酚致小鼠肝脏毒性的保护作用 [J]. 药学学报, 1995, 30(4): 311-314.
- [4] Zhang Y W, Xue Z. New triterpenoid glycosides from *Dipsacus asper* Wall [J]. *Acta Pharm Sin*, 1991, 26(12): 911-917.
- [5] 韩林涛, 黄芳. 鹅掌草根茎三萜皂苷类成分研究 [J]. 中药材, 2009, 32(7): 1059-1062.
- [6] Kawai H, Kuroyanagi M, Umehara K, et al. Studies on the saponins of *Lonicera japonica* Thunb. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1988, 36(12): 4769-4775.
- [7] 付云明. 朝鲜白头翁化学成分的研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2007.
- [8] Li X C, Wang D Z, Wu S G, et al. Triterpenoid saponins from *Pulsatilla campanella* [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29(2): 595-599.
- [9] 白璐. 朝鲜白头翁的化学成分研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2010.
- [10] 付云明, 陈虹, 刘岱琳, 等. 朝鲜白头翁化学成分的研究 [J]. 中草药, 2008, 39(1): 26-29.