

## 红毛七的化学成分及其抗肿瘤活性研究

王 静<sup>1</sup>, 覃彬华<sup>1</sup>, 袁桥玉<sup>2</sup>, 韩海燕<sup>1</sup>, 刘新桥<sup>1\*</sup>

1. 中南民族大学药学院, 湖北 武汉 430074

2. 武汉职业技术学院生物工程学院, 湖北 武汉 430074

**摘要:** 目的 研究红毛七 *Caulophyllum robustum* 的化学成分及其抗肿瘤活性。方法 采用硅胶柱色谱、葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 等色谱方法进行分离纯化, 根据理化性质和波谱技术鉴定化合物的结构; 采用 CCK-8 法, 对化合物进行体外抑制人非小细胞肺癌 A549 细胞增殖的活性筛选。结果 从红毛七根及根茎中分离出 11 个化合物, 分别鉴定为 collinsogenin (1)、常春藤皂苷元 (2)、echinocystic acid 3-*O*- $\alpha$ -L-arabinopyranoside (3)、magnolamide (4)、木兰箭毒碱 (5)、columbamine (6)、4,4'-diphenylmethane-bis(methyl) Carbamate (7)、(-)-8,8'-二甲氧基-开环异落叶松树脂酚-*L*-*O*- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷 (8)、紫花松果菊苷 A (9)、2-[4-(3-hydroxy-1-propenyl)-2-methoxyphenoxy]-1,3-propanediol (10)、亚油酸甘油酯 (11)。结论 化合物 1~2 和 4~11 均首次从该属植物中分离得到; 化合物 1 和 2 对人非小细胞肺癌 A549 细胞增殖具有中等强度的抑制作用。

**关键词:** 红毛七; 常春藤皂苷元; 木兰箭毒碱; 紫花松果菊苷 A; 亚油酸甘油酯; 抗肿瘤

**中图分类号:** R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)22-5242-05

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.22.004

## Chemical constituents of *Caulophyllum robustum* and its antitumor activities

WANG Jing<sup>1</sup>, QIN Bin-hua<sup>1</sup>, YUAN Qiao-yu<sup>2</sup>, HAN Hai-yan<sup>1</sup>, LIU Xin-qiao<sup>1</sup>

1. School of Pharmacy, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074, China

2. Wuhan Institute of Bioengineering, Wuhan 430074, China

**Abstract: Objective** To study the chemical constituents of *Caulophyllum robustum* and its antitumor activities. **Methods** The chemical constituents were isolated and purified with silica gel column chromatography, dextran gel Sephadex LH-20, and other chromatographic methods. Their structures were determined by physicochemical and spectral analysis. Furthermore, the cytotoxicity of these chemical components against the NSCLC A549 cell line was measured by CCK-8 method. **Results** Eleven compounds were isolated and identified as collinsogenin (1), hederagenin (2), echinocystic acid 3-*O*- $\alpha$ -L-arabinopyranoside (3), magnolamide (4), (-)-magnocurarine (5), columbamine (6), 4,4'-diphenylmethane-bis (methyl) carbamate (7), (-)-8,8'-dimethoxy-*L*-*O*-( $\beta$ -D-glucopyranosyl) secoisolariciresinol (8), asechipsuroside A (9), 2-[4-(3-hydroxy-1-propenyl)-2-methoxyphenoxy]-1,3-propanediol (10), and 1-linoleoylglycerol (11). **Conclusion** Compounds 1—2 and 4—11 are isolated from *Caulophyllum robustum* genus for the first time. Compounds 1 and 2 show moderate inhibited effect on the proliferation of NSCLC A549 cell line.

**Key words:** *Caulophyllum robustum* Maxim.; hederagenin; (-)-magnocurarine; asechipsuroside A; 1-linoleoylglycerol; antitumor activity

红毛七 *Caulophyllum robustum* Maxim. 为小檗科植物红毛七的根及其根茎, 又名葳严仙、红毛三七、海椒七、鸡骨升麻、红毛细辛、搜山猫等, 主要分布于东北、陕西、浙江、湖北、四川、西藏等地, 具有活血化瘀、祛风除湿、行气止痛之功效, 常用于月经不调、痛经、产后血瘀腹痛、脘腹寒痛、

跌打损伤、风湿痹痛<sup>[1]</sup>。目前, 国内外相关文献报道, 已经从红毛七中分离得到生物碱、三萜皂苷、脂肪酸、甾醇等化学成分<sup>[2]</sup>, 并且发现其有抗风湿、抗炎镇痛、抑菌、抗细胞毒、抗氧化以及抗肿瘤等活性<sup>[3-5]</sup>。为了进一步开发利用红毛七资源, 在前期工作基础上<sup>[6-8]</sup>, 本实验进一步研究了红毛七的化学

收稿日期: 2018-06-14

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2012BAI27B06); “重大新药创制”科技重大专项 (2017ZX09301060); 中南民族大学中央高校基本科研业务费专项 (CZW17021)

作者简介: 王 静 (1994—), 女, 在读硕士研究生, 专业方向为药物化学。E-mail: wjingwuhan@126.com

\*通信作者 刘新桥, 男, 博士, 副教授, 硕士生导师, 从事天然药物化学研究。Tel: (027)67841196 E-mail: lxqscuec@163.com

成分和抗肿瘤活性。对红毛七根及其根茎的95%乙醇提取物正丁醇层萃取部位进行分离纯化,得到11个化合物,分别鉴定为 collinsogenin (1)、常春藤皂苷元(hederagenin, 2)、echinocystic acid 3-*O*- $\alpha$ -*L*-arabinopyranoside (3)、magnolamide (4)、木兰箭毒碱 [(-)-magnocurarine, 5]、columbamine (6)、4,4'-diphenylmethane-bis(methyl)carbamate (7)、(-)-8,8'-二甲氧基-开环异落叶松树脂酚-*L*-*O*- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖苷 [(-)-8,8'-dimethoxy-*L*-*O*-( $\beta$ -*D*-glucopyranosyl) secoisolariciresinol, 8]、紫花松果菊苷 A (asechipurosides A, 9)、2-[4-(3-hydroxy-1-propenyl)-2-methoxyphenoxy]-1,3-propanediol (10)、亚油酸甘油酯(1-linoleoylglycerol, 11); 通过 CCK-8 法检测, 化合物 1 和 2 对人非小细胞肺癌细胞 A549 具有细胞毒作用。

## 1 仪器和材料

Bruker-600 MHz 核磁共振波谱仪(瑞士 Bruker 公司); DionexUltiMate 3000 高效液相色谱仪(美国 Dionex 公司); YMC<sub>18</sub> 柱(250 mm×20 mm, 5  $\mu$ m)、柱色谱硅胶和薄层色谱硅胶(青岛海洋化工厂); Sephadex LH-20(瑞士 Pharmacia Biotech 公司); HP 20 大孔树脂(日本三菱公司); 其他试剂均为分析纯; 无菌操作台(江苏通净医疗仪器有限公司); 无菌 CO<sub>2</sub> 培养箱(力康(Heal Force)生物医疗科技控股有限公司); 倒置显微镜(麦克奥迪(AE2000)); 全波长酶标仪(赛默飞世尔科技有限公司); 低温冰箱(-80 °C, 青岛海尔股份有限公司); 双抗(青霉素和链霉素); 注射用顺铂(齐鲁制药有限公司, 批号 7C005A89); 细胞级 PBS 及细胞级胰酶(HyClone 公司); DMEM 培养基(Gibco 公司); FBS 胎牛血清(杭州四季青生物科技股份有限公司); 无菌培养瓶及无菌 96 孔板(无锡耐思生物科技有限公司); CCK-8 试剂盒(Dojindo 公司); 人非小细胞肺癌细胞 A549 购自美国模式培养物集存库(罗克维尔市 ATCC, MD, 美国)。红毛七于 2015 年 7 月采自湖北宜昌五峰县, 经中南民族大学药学院刘新桥副教授鉴定为红毛七 *Caulophyllum robustum* Maxim. 的根及根茎, 植物标本存放于中南民族大学药学院。

## 2 提取与分离

取干燥的红毛七根及其根茎(30.0 kg), 机械粉碎, 用 95%、60%乙醇(120 L)渗漉提取, 合并提取液, 减压浓缩得到总浸膏 6.3 kg, 加水混悬, 分

别用石油醚、醋酸乙酯、水饱和的正丁醇萃取, 得到醋酸乙酯部位 410.0 g(A)、正丁醇部位 2 680.0 g(B)。

取醋酸乙酯部位(410.0 g)通过常压硅胶柱色谱技术, 采用石油醚-醋酸乙酯-甲醇(10:1:0、8:1:0、6:1:0、4:1:0、2:1:0、1:1:0、0:1:0、0:95:5、0:9:1、0:8:2、0:4:1)洗脱, 合并各个流分, 得到 7 个洗脱部分 Fr. 1~7。Fr. 1 经过 Sephadex LH-20, 氯仿-甲醇(1:1)洗脱, 得到 3 个组分 Fr. 1a1~1a3, Fr. 1a2 用 ODS-HPLC(80%甲醇)纯化得到化合物 10(28.2 mg)、11(57 mg)。Fr. 2 经硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇(99:1→85:15)梯度洗脱, 得到 9 个组分 Fr. 2a~2i, Fr. 2a 经 Sephadex LH-20, 氯仿-甲醇(1:1)洗脱得到 3 个组分 Fr. 2a1~2a3, Fr. 2a3 用 ODS-HPLC(75%甲醇)纯化得到化合物 1(9.4 mg)、2(17 mg), Fr. 3 经 Sephadex LH-20, 氯仿-甲醇(1:1)洗脱得到 3 个组分 Fr. 2d1~2d3, Fr. 2d3 用 ODS-HPLC(70%甲醇)纯化得到化合物 3(5.6 mg)。Fr. 2l 经 Sephadex LH-20, 氯仿-甲醇(1:1)洗脱得到 3 个组分 Fr. 2l1~2l3, Fr. 2l3 用 ODS-HPLC(78%甲醇)纯化得到化合物 7(13.1 mg)和 10(14.6 mg)。

取正丁醇萃取部位 2 kg, 通过大孔树脂, 30%、50%、75%乙醇依次洗脱, 得到 30%乙醇部位 120.0 g、50%乙醇部位 1.0 kg, 通过常压硅胶柱色谱技术, 采用二氯甲烷-甲醇-水(10:1:0、8:2:0、7:3:0.1、6:4:0.2、5:5:0.5、0:1:0.6)梯度洗脱, 得到 6 个洗脱部分 Fr. 1~6。Fr. 1 经过 Sephadex LH-20, 甲醇洗脱, 得到 2 个组分 Fr. 1a1~1a2。Fr. 1a2 用 ODS-HPLC(34%甲醇)纯化得到化合物 4(55.8 mg)、5(80 mg), Fr. 2 经过 Sephadex LH-20, 甲醇洗脱, 得到 3 个组分 Fr. 2a1~2a3, Fr. 2a3 用 ODS-HPLC(40%甲醇)纯化得到化合物 6(8.5 mg)。Fr. 3 经反相硅胶柱色谱分离, 以 30%甲醇洗脱, 得到 4 个组分 Fr. 3a~3d, Fr. 4a 经 Sephadex LH-20, 甲醇洗脱得到 3 个组分 Fr. 3a1~3a3。Fr. 3a2 用 ODS-HPLC(28%甲醇)纯化得到化合物 8(23 mg)和 9(35 mg)。

## 3 结构鉴定

化合物 1: 白色结晶(乙醇); <sup>1</sup>H-NMR(600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 5.30(1H, t, *J* = 3.0 Hz, H-12), 4.46(1H, t, *J* = 3.0 Hz, H-3), 3.35(1H, d, *J* = 11.6 Hz, H-23a), 3.62(1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-16), 3.53(1H, d, *J* = 11.6 Hz, H-23b), 1.38, 0.98, 0.97, 0.88, 0.87, 0.70(3H, s,

H-27, 30, 26, 29, 25, 24);  $^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 181.1 (C-28), 145.0 (C-13), 123.3 (C-12), 75.2 (C-16), 73.9 (C-3), 67.3 (C-23), 49.5 (C-17), 48.9 (C-5), 48.0 (C-9), 47.6 (C-19), 43.2 (C-4), 42.6 (C-14), 42.0 (C-18), 40.5 (C-8), 39.5 (C-1), 37.9 (C-10), 36.5 (C-21), 36.2 (C-15), 33.7 (C-7), 33.4 (C-29), 32.7 (C-22), 31.4 (C-20), 27.4 (C-2), 27.3 (C-27), 24.9 (C-30), 24.4 (C-11), 19.1 (C-6), 17.7 (C-26), 16.3 (C-25), 12.7 (C-24)。以上波谱数据与文献报道一致<sup>[9]</sup>, 故鉴定化合物 **1** 为 collinsogenin。

化合物 **2**: 白色结晶(甲醇);  $^1\text{H}$ -NMR (600 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 5.28 (1H, t,  $J = 4.0$  Hz, H-12), 3.45 (1H, m, H-23), 3.34 (1H, m, H-23), 3.13 (1H, dd,  $J = 4.1, 10.5$  Hz, H-3), 1.12, 0.99, 0.92, 0.89, 0.87, 0.85 (3H, s, H-24~27, 30, 29);  $^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 180.8 (C-28), 146.7 (C-13), 123.1 (C-12), 72.3 (C-3), 67.2 (C-23), 48.2 (C-5), 46.6 (C-18), 46.4 (C-9), 46.3 (C-17), 43.9 (C-19), 42.6 (C-4), 42.5 (C-14), 40.5 (C-8), 38.9 (C-1), 36.7 (C-10), 34.4 (C-29), 33.3 (C-21), 33.0 (C-22), 32.6 (C-7), 31.6 (C-20), 28.3 (C-15), 27.3 (C-27), 27.2 (C-2), 24.6 (C-30), 24.2 (C-16), 23.9 (C-11), 18.9 (C-6), 17.4 (C-26), 15.7 (C-25), 12.8 (C-24)。以上数据与文献报道一致<sup>[10]</sup>, 故鉴定化合物 **2** 为常春藤皂苷元。

化合物 **3**: 白色粉末;  $^1\text{H}$ -NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 5.29 (1H, brs, H-12), 4.45 (1H, s, H-16), 4.27 (1H, d,  $J = 10.2$  Hz, H-1'), 1.37, 1.04, 0.96, 0.95, 0.87, 0.84, 0.79 (3H, s, H-30, 29, 27~23);  $^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 181.3 (C-28), 145.2 (C-13), 123.6 (C-12), 107.3 (C-1'), 90.9 (C-3), 75.4 (C-16), 74.5 (C-3'), 73.0 (C-2'), 69.7 (C-4'), 66.5 (C-5'), 57.3 (C-5), 48.3 (C-9), 47.9 (C-17), 45.7 (C-19), 42.8 (C-14), 42.2 (C-18), 40.8 (C-8), 40.3 (C-4), 40 (C-1), 38 (C-10), 36.7 (C-15), 36.4 (C-22), 34.4 (C-7), 33.6 (C-29), 32.9 (C-21), 31.6 (C-20), 28.7 (C-23), 27.4 (C-27), 27.2 (C-2), 25 (C-30), 24.6 (C-11), 19.5 (C-6), 17.9 (C-26), 17.1 (C-24), 16.2 (C-25)。以上数据与文献报道一致<sup>[11]</sup>, 故鉴定化合物 **3** 为 eechinocystic acid 3-*O*- $\alpha$ -*L*-arabinopyranoside。

化合物 **4**: 白色结晶(甲醇);  $^1\text{H}$ -NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 9.41 (1H, s, -CHO), 7.43 (1H, d,  $J = 15.7$  Hz, H-3), 7.12 (1H, d,  $J = 1.9$  Hz, H-5), 7.03 (1H, dd,  $J = 8.2, 1.8$  Hz, H-9), 6.98 (1H, d,  $J = 4.0$  Hz, H-6'),

6.80 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz, H-8), 6.42 (1H, d,  $J = 15.7$  Hz, H-2), 6.26 (1H, d,  $J = 4.0$  Hz, H-7'), 4.63 (2H, s, -CH<sub>2</sub>OH), 4.35 (2H, m, H-4'), 3.88 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3.33 (2H, t,  $J = 3.3$  Hz, H-1'), 1.85~1.75 (2H, m, H-3'), 1.65~1.57 (2H, m, H-2');  $^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 181.1 (-CHO), 169.3 (C-1), 149.9 (C-7), 149.4 (C-6), 144.6 (C-8'), 142.2 (C-3), 133.6 (C-5'), 128.3 (C-4), 126.5 (C-6'), 123.3 (C-9), 118.8 (C-2), 116.6 (C-8), 111.6 (C-7'), 111.5 (C-5), 56.5 (6-OCH<sub>3</sub>), 56.3 (-CH<sub>2</sub>OH), 46.4 (C-4'), 40.5 (C-1'), 29.9 (C-3'), 27.8 (C-2')。以上波谱数据与文献报道一致<sup>[12]</sup>, 故鉴定化合物 **4** 为 magnolamide。

化合物 **5**: 棕黄色固体;  $^1\text{H}$ -NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 6.84 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-10, 14), 6.82 (1H, s, H-5), 6.71 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-11, 13), 5.89 (1H, s, H-8), 4.53 (1H, dd,  $J = 13.6, 4.0$  Hz, H-1), 3.85 (3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>), 3.38 (3H, s, NCH<sub>3</sub>), 3.11 (3H, s, NCH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 157.9 (C-12), 149.8 (C-6), 146.2 (C-7), 132.1 (C-10, 14), 127.1 (C-9), 123.8 (C-8a), 120.4 (C-4a), 116.5 (C-11, 13), 116.3 (C-8), 112.3 (C-5), 74.4 (C-1), 56.4 (6-OCH<sub>3</sub>), 56.0 (C-3), 52.9 (*N*-CH<sub>3</sub>), 51.6 (*N*-CH<sub>3</sub>), 38.5 (C-1a), 24.4 (C-4)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[13]</sup>, 故鉴定化合物 **5** 为木兰箭毒碱。

化合物 **6**: 黄色固体;  $^1\text{H}$ -NMR (600 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 9.85 (1H, s, H-8), 8.95 (1H, s, H-13), 8.19 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-11), 8.00 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-12), 7.69 (1H, s, H-1), 6.84 (1H, s, H-4), 4.91 (2H, t,  $J = 6.0$  Hz, H-6), 4.09 (3H, s, 10-OCH<sub>3</sub>), 4.06 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>), 3.94 (3H, s, 9-OCH<sub>3</sub>), 3.41 (2H, m, H-5);  $^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 150.9 (C-2), 150.2 (C-3), 148.2 (C-9), 145.4 (C-8), 143.7 (C-10), 138.5 (C-4a), 133.5 (C-8a), 129.0 (C-12), 126.9 (C-11), 123.5 (C-12a), 121.4 (C-14), 119.5 (C-13), 117.5 (C-14a), 115.2 (C-4), 109.7 (C-1), 62.1 (10-OCH<sub>3</sub>), 57.2 (3-OCH<sub>3</sub>), 56.4 (9-OCH<sub>3</sub>), 55.6 (C-6), 26.0 (C-5)。以上波谱数据与文献报道一致<sup>[14]</sup>, 故鉴定化合物 **6** 为 columbamine。

化合物 **7**: 白色结晶(甲醇);  $^1\text{H}$ -NMR (600 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 9.55 (1H, s, NH), 7.35 (4H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-2, 6, 2', 6'), 7.10 (4H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-3, 5, 3', 5'), 3.78 (2H, s, -CH<sub>2</sub>-), 3.64 (6H, s, 2-OCH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 154.0 (C = O),

137.0 (C-1), 135.8 (C-4), 128.8 (C-2, 6), 118.3 (C-3, 5), 51.4 (-OCH<sub>3</sub>), 39.7 (-CH<sub>2</sub>-)。以上波谱数据与文献报道一致<sup>[15]</sup>, 故鉴定化合物 **7** 为 4,4'-diphenylmethane-bis(methyl)carbamate。

化合物 **8**: 白色粉末; <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 6.29 (2H, s, H-5, 9), 6.27 (2H, s, H-5', 9'), 4.21 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-1''), 4.05 (1H, dd, *J* = 10.0, 6.0 Hz, H-1a), 3.80 (1H, dd, *J* = 12.0, 2.0 Hz, H-6''a), 3.70 (12H, s, 6, 8, 6', 8'-OCH<sub>3</sub>), 3.65 (1H, dd, *J* = 11.0, 7.0 Hz, H-1'a), 3.62 (1H, dd, *J* = 12.0, 5.0 Hz, H-6''b), 3.50 (1H, dd, *J* = 11.0, 7.0 Hz, H-1'b), 3.40 (1H, dd, *J* = 10.0, 7.0 Hz, H-1b), 2.68 (1H, dd, *J* = 14.0, 6.5 Hz, H-3a), 2.60 (1H, dd, *J* = 14.0, 6.5 Hz, H-3'a), 2.52 (1H, dd, *J* = 14.0, 9.0 Hz, H-3'b), 2.49 (1H, dd, *J* = 14.0, 9.0 Hz, H-3b), 2.02 (1H, m, H-2), 1.86 (1H, m, H-2'); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 149.2 (C-6, 8), 147.9 (C-6', 8'), 134.6 (C-4, 4'), 133.6 (C-7'), 133.4 (C-7), 107.6 (C-5, 9), 107.5 (C-5', 9'), 105.1 (C-1''), 78.6 (C-3''), 78.3 (C-5''), 75.6 (C-2''), 72.1 (C-4''), 71.4 (C-1), 63.2 (C-6''), 63.0 (C-1'), 56.9 (6, 8-OCH<sub>3</sub>), 56.8 (6', 8'-OCH<sub>3</sub>), 44.1 (C-2'), 41.6 (C-2), 37.0 (C-3), 36.6 (C-3')。以上波谱数据与文献报道一致<sup>[16]</sup>, 故鉴定化合物 **8** 为 (-)-8,8'-二甲氧基-开环异落叶松树脂酚-*L*-O-β-*D*-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **9**: 白色结晶(甲醇); <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.06 (2H, d, *J* = 8.2 Hz, H-2, 6), 6.68 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3, 5), 4.73 (1H, s, H-1''), 4.27 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-1'), 3.95 (1H, m, H-8), 3.69 (1H, m, H-8), 2.83 (2H, t, *J* = 6.9 Hz, H-7), 1.24 (3H, s, -CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 156.8 (C-4), 130.9 (C-2, 6), 130.7 (C-1), 116.1 (C-3, 5), 104.5 (C-1'), 102.2 (C-1''), 78.0 (C-3'), 76.8 (C-5'), 75.1 (C-2'), 74.0 (C-4''), 72.5 (C-2''), 72.3 (C-3''), 72.2 (C-8), 71.6 (C-4'), 69.8 (C-5''), 68.1 (C-6'), 36.4 (C-7), 18.1 (C-6'')。以上波谱数据与文献报道一致<sup>[17]</sup>, 故鉴定化合物 **9** 为紫花松果菊苷 A。

化合物 **10**: 白色结晶(甲醇); <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.41 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2), 7.01 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-5), 6.94 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, H-6), 6.54 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, H-7), 6.27 (1H, m, H-8), 4.22 (2H, m, H-9), 4.21 (1H, m, H-2'), 3.86 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>), 3.75 (4H, m, H-1', 3'); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 152.1 (C-3), 148.6 (C-4), 133.3

(C-1), 131.5 (C-7), 128.7 (C-8), 120.8 (C-6), 118.2 (C-5), 111.4 (C-2), 82.4 (C-2'), 63.3 (C-9), 62.1 (C-1'), 62.1 (C-3'), 56.3 (3-OCH<sub>3</sub>)。以上波谱数据与文献报道一致<sup>[18]</sup>, 故鉴定化合物 **10** 为 2-[4-(3-hydroxy-1-propenyl)-2-methoxyphenoxy]-1,3-propanediol。

化合物 **11**: 无色油状固体; <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 5.38 (1H, m, H-9), 5.36 (1H, m, H-10), 5.35 (1H, m, H-12), 5.32 (1H, m, H-13), 4.17 (2H, m, H-1'), 3.94 (1H, m, H-2'), 3.70 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-3'), 2.78 (2H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz, H-11), 2.37 (2H, t, *J* = 8.0 Hz, H-2), 2.07 (2H, m, H-17), 1.63 (2H, m, H-8), 1.31 (2H, m, H-6, 7), 1.28 (2H, m, H-4, 5), 1.25 (2H, m, H-3), 0.89 (3H, t, *J* = 8.0 Hz, H-18); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 174.3 (C-1'), 130.9 (C-13'), 129.2 (C-12'), 129.1 (C-10'), 131.0 (C-9'), 71.1 (C-2), 66.5 (C-1), 64.7 (C-3), 34.1 (C-2'), 31.5 (C-17'), 29.6 (C-16'), 29.4 (C-15'), 29.3 (C-14'), 29.1 (C-11'), 29.0 (C-8'), 27.1 (C-7'), 25.6 (C-5', 6'), 24.8 (C-4'), 22.5 (C-3'), 14.1 (C-18')。以上波谱数据与文献报道一致<sup>[19]</sup>, 故鉴定化合物 **11** 为亚油酸甘油酯。

#### 4 体外抗肿瘤活性

通过 CCK-8 方法检测化合物对人非小细胞肺癌 A549 细胞的生长抑制活性。以顺铂为阳性对照组 (IC<sub>50</sub> 值为 11.5 μmol/L)。人非小细胞肺癌 A549 细胞培养于含 10% 新生牛血清的 DMEM 完全培养基 (100 U/mL 青霉素、100 μg/mL 链霉素), 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度培养箱中孵育至对数生长期。收集对数生长期 A549 细胞, 以密度为 5 × 10<sup>3</sup> 个/孔接种于 96 孔板, 将培养板放在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度培养箱中预培养 24 h, 吸除培养基, 加入不同浓度的受试药物 100 μL 于 37 °C 继续培养 24 h, 然后向每孔加入 10 μL CCK-8 溶液于 37 °C 继续培养 1.5 h, 用酶标仪测定各孔在 450 nm 处的吸光度 (*A*) 值。根据 *A* 值计算药物对 A549 细胞的生长抑制率。

$$\text{抑制率} = (A_c - A_s) / (A_c - A_b)$$

*A<sub>s</sub>* 为实验孔 *A* (含细胞、培养基、CCK-8 溶液和药物溶液);

*A<sub>c</sub>* 为对照孔 *A* (含细胞、培养基、CCK-8 溶液, 不含药物);

*A<sub>b</sub>* 为空白孔 *A* (含培养基、CCK-8 溶液, 不含细胞、药物)

实验结果显示, 化合物 **1** 和 **2** 的 IC<sub>50</sub> 值分别为 24.2、17.6 μmol/L, 具有中等强度抑制 A549 细胞增殖的活性; 化合物 **3**~**11** 对 A549 细胞增殖无抑制活性。

## 参考文献

- [1] 王国强. 全国中草药汇编 (卷 II) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2014.
- [2] Xia Y G, Li G Y, Liang J, *et al.* Genus caulophyllum: An overview of chemistry and bioactivity [J]. *Evidence-Based Compl Alter Med*, 2014, 2014(2): 684508.
- [3] Madgula V L, Ali Z, Smillie T, *et al.* Alkaloids and saponins as cytochrome P450 inhibitors from blue cohosh (*Caulophyllum thalictroides*) in an *in vitro* assay [J]. *Planta Med*, 2009, 75(4): 329-332.
- [4] 杨 苹, 陈森川, 杨红要, 等. 三种红毛七提取物抗炎镇痛作用实验研究 [J]. 中国实用医药, 2007(32): 1-3.
- [5] 蔡正军, 但飞君, 陈国华, 等. 红毛七的体外抑菌试验 [J]. 安徽农业科学, 2008, 36(35): 15541-15543.
- [6] Itokawa H, Ichihara Y, Mochizuki M, *et al.* A cytotoxic substance from *Sangre de Grado* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1991, 39(4): 1041-1042.
- [7] 但飞君, 蔡正军, 田 瑛, 等. 红毛七化学成分的研究 [J]. 中成药, 2011, 33(6): 1011-1014.
- [8] Anisimov M M, Strigina L I, Baranova S I, *et al.* The antimicrobial activity of the triterpene glycosides of *Caulophyllum robustum* Maxim [J]. *Antibiotiki*, 1972, 17(9): 834.
- [9] Joshi B S, Moore K M, Pelletier S W, *et al.* Saponins from *Collinsonia canadensis* [J]. *J Nat Prods*, 1992, 55(10): 1468-1476.
- [10] Yang Y J, Sha C W, Chen M G. Constituents of *Viscum ovalifolium* DC (II) [J]. *Chin Pharm J*, 2011, 46(1): 11-13.
- [11] Li Z, Li X J, Kwon O K, *et al.* Chemical constituents from leaves of *Acanthopanax henryi* (II) [J]. *Nat Prods Sci*, 2015, 21(3): 196-204.
- [12] Yu H J, Chen C C, Shieh B J. Two new constituents from the leaves of *Magnolia coco* [J]. *J Nat Prods*, 1998, 61(8): 1017-1019.
- [13] Lee S S, Lin Y J, Chen C K, *et al.* Quaternary alkaloids from *Litsea cubeba* and *Cryptocarya konishii* [J]. *J Nat Prod*, 1993, 56(11): 1971-1976.
- [14] Zhang G, Li B. Alkaloids from the roots of *Berberis julianae* [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 1997, 3(3): 236-239.
- [15] Feng L, Xu Y H, Wang S S, *et al.* Preventative effects of 4,4'-diphenylmethane-bis(methyl)carbamate isolated from cortex mori on human umbilical vein endothelial cell dysfunction induced by advanced glycation end products [J]. *Phytother Res*, 2012, 26(3): 412-419.
- [16] 王蒙蒙, 李 帅, 罗光明, 等. 翻白叶树根的化学成分研究 [J]. 中草药, 2012, 43(9): 1699-1703.
- [17] 李继仁, 王 邠, 乔 梁, 等. 紫花松果菊水溶性成分研究 [J]. 药学学报, 2002, 37(2): 121-123.
- [18] 潘少斌. 栝楼藤的化学成分研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2014.
- [19] Murata T, Mori N, Nishida R. Larval feeding stimulants for a rutaceae-feeding swallowtail butterfly, *Papilioxuthus* L. in *Citrus unshiu* leaves [J]. *J Chem Ecol*, 2011, 37(10): 1099.