

## 猫眼草的抗肿瘤活性成分研究

王珏<sup>1</sup>, 李晓帆<sup>2</sup>, 谢普<sup>1,3</sup>, 王铁杰<sup>1\*</sup>

1. 深圳市药品检验所, 广东 深圳 518057

2. 深圳大学生命科学学院, 广东 深圳 518060

3. 沈阳药科大学, 辽宁 沈阳 110016

**摘要:** 目的 以猫眼草 *Euphorbia lunulata* 全草为研究对象, 对其有效成分进行分离纯化, 并对分离得到的化合物进行活性测定。方法 运用硅胶柱色谱、羟丙基葡聚糖凝胶柱色谱、ODS 柱色谱以及制备高效液相色谱等方法进行分离, 根据理化性质和谱学技术分析确定化合物的化学结构。采用细胞毒活性 (MTT) 法对提取物、各流分及分离得到的化合物进行抗肿瘤活性评价。结果 从猫眼草 60%乙醇提取物的醋酸乙酯萃取层中分离得到 6 个化合物, 分别鉴定为大戟素 M (1)、泽泻醇 A (2)、大戟苷 A (3)、甘遂大戟萜酯 D (4)、18-羟基泽漆内酯 A (5) 和  $\beta$ -胡萝卜素 (6)。结论 其中化合物 1 为新化合物, 为假白榄烷型骨架二萜类化合物; 化合物 2~4 为首次从该植物中分离得到。经 MTT 细胞毒活性测试后发现化合物 1~4 具有较强的肿瘤细胞抑制活性, 尤其对人肝癌细胞 HepG2 有很强的抑制活性。

**关键词:** 猫眼草; 大戟素 M; 甘遂大戟萜酯 D; 假白榄烷型; 细胞毒活性

**中图分类号:** R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2012)10-1891-05

## Study on antitumor constituents of *Euphorbia lunulata*

WANG Jue<sup>1</sup>, LI Xiao-fan<sup>2</sup>, XIE Pu<sup>1,3</sup>, WANG Tie-jie<sup>1</sup>

1. Shenzhen Institute for Drug Control, Shenzhen 518057, China

2. College of Life Sciences, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China

3. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

**Abstract: Objective** To study the chemical constituents in the whole plant of *Euphorbia lunulata*. Antitumor activities of purified compounds were also detected. **Methods** Compounds were isolated by chromatography on silica gel, hydroxypropyl Sephadex, ODS columns, and preparative HPLC, and their structures were elucidated on the basis of the chemical evidence and spectroscopic analyses. Antitumor activities of the extracts, each fraction, and isolated compounds were evaluated using MTT method. **Results** Six compounds were obtained from the EtOAc fraction of 60% ethanol extract from the whole plant of *E. lunulata* and were identified as euphoscopin M (1), alisol A (2), euphornin A (3), kansuiphorin D (4), 18-hydroxyhelioscopinolide A (5), and  $\beta$ -daucosterol (6). **Conclusion** Compound 1 is a new jatrophane-type diterpenoid and compounds 2–4 are reported for the first time from this plant. Compounds 1–4 show the strong inhibitory activities against tumor cells, especially for HepG2 cell.

**Key words:** *Euphorbia lunulata* Bunge; euphoscopin M; kansuiphorin D; jatrophane-type; cytotoxicity

猫眼草 *Euphorbia lunulata* Bunge 又名耳叶大戟、细叶猫眼草, 为大戟科大戟属植物猫眼草的全草, 主要分布于河北、内蒙古、山西、新疆、东北等地, 为多年生草本植物。其性微寒, 味苦, 有毒, 具有祛痰、镇咳、平喘、拔毒止痒的功效<sup>[1]</sup>。猫眼草种子中的七叶内酯和猫眼草素有体外抑菌活性<sup>[2]</sup>。

目前国内外有关猫眼草化学成分研究报道很少。为了进一步开发利用猫眼草的植物资源, 探索新的活性成分, 本研究以 MTT 法和一氧化氮抑制试验为活性筛选体系, 采用活性追踪的分离方法对猫眼草 60%乙醇提取物进行了研究, 从中分离得到 6 个化合物 (图 1), 分别鉴定为大戟素 M (euphoscopin M, 1)、

收稿日期: 2012-07-19

基金项目: 广东省科技厅科技计划项目 (2010A030100018); 国家国际科技合作项目 (2011DFA30620); 国家自然科学基金青年基金项目 (81001611)

作者简介: 王珏 (1978—), 男, 辽宁沈阳人, 博士。E-mail: wangjuepha@qq.com

\*通讯作者 王铁杰 Tel: (0755)26031700 E-mail: wangtj88@163.com

网络出版时间: 2012-08-27 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20120827.1450.001.html>

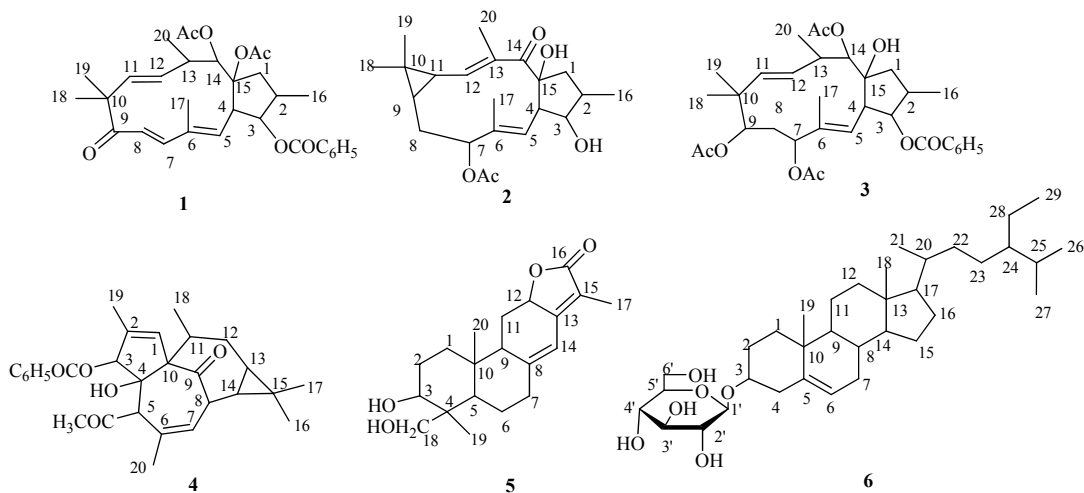


图 1 化合物 1~6 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—6

泽泻醇 A (alisol A, **2**)、大戟苷 A (euphornin A, **3**)、甘遂大戟萜酯 D (kansuiphorin D, **4**)、18-羟基泽漆内酯 A (18-hydroxyhelioscopinolide A, **5**) 和  $\beta$ -胡萝卜素 (β-daucosterol, **6**)。其中化合物 **1** 为新化合物, 命名为大戟素 M, 化合物 **2**~**4** 为首次从该植物中分离得到。

### 1 仪器与材料

Bruker Esquire 2000 质谱仪 (瑞士 Bruker 公司), Bruker AV-400 核磁共振光谱仪 (瑞士 Bruker 公司), Yanaco 熔点测定仪 (日本 Yanaco 公司), 日本 Jascop-1020 旋光仪, 日本岛津分析/制备高效液相仪, 薄层色谱硅胶 GF254 和柱色谱硅胶为青岛海洋化工有限公司产品; Sephadex LH-20 为瑞士 Amersham Biosciences 工业有限公司产品; 反相 ODS (40~75 μm) 填料为德国 Merck 有限公司产品。

猫眼草药材采自四川阿坝地区, 经四川医科大学张浩教授鉴定为猫眼草 *Euphorbia lunulata* Bunge 的干燥全草。标本 (YGXYEL-2007) 保存于深圳市创新中药剂天然药物研究中心。

### 2 提取与分离

猫眼草全草 5 kg 用 10 倍量 60% 乙醇加热回流提取 3 次, 每次 2 h, 减压浓缩得到 60% 乙醇提取物 (EtOH 层)。将 60% 乙醇提取物 500 g 混悬于 10 倍量的水中超声混匀, 分别用等体积的醋酸乙酯、正丁醇萃取 3 次, 减压浓缩萃取液, 分别得到醋酸乙酯萃取物 85 g、正丁醇萃取物 50 g 与水层。对上述各层进行活性测定, 其中醋酸乙酯层显示出最强活性, 即 100 μg/mL 时 NO 抑制率 86.9%, 故对醋

酸乙酯层 85 g 进行分离。经硅胶柱色谱, 氯仿-甲醇系统梯度洗脱得到 19 个流分 (Fr. 1~19)。对上述各流分进行活性测定, 活性成分集中在 Fr. 9~19。取活性流分 Fr. 10 (1.5 g) 经过 ODS 中低压柱色谱以及制备 HPLC 纯化得到化合物 **6** (37.2 mg); Fr. 12 (6.5 g) 经过 ODS 中低压柱色谱和重结晶纯化得到化合物 **5** (11.4 mg); Fr. 15 (3.1 g) 经 ODS 中低压柱色谱以及制备 HPLC 纯化得到化合物 **4** (23.2 mg); Fr. 17 (3.5 g) 经 ODS 中低压柱色谱以及制备 HPLC 纯化得到化合物 **3** (27.3 mg)。Fr. 4 (10.9 g) 分别经 Sephadex LH-20 柱色谱、ODS 开放柱色谱以及制备 HPLC 纯化得到化合物 **1** (7.0 mg) 和 **2** (14.7 mg)。

### 3 结构鉴定

化合物 **1**: 淡黄色粉末, 浓硫酸-香草醛显紫红色, 提示可能为萜类化合物。mp 173~174 °C,  $[\alpha]_D^{23}$  -103.7 (*c* 0.4, CHCl<sub>3</sub>)。UV  $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$  (nm): 271, 222。HR-ESI-MS 给出 *m/z*: 545.262 5 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 计算值 545.261 8); 推出化合物相对分子质量为 522, 确定其分子式 C<sub>31</sub>H<sub>38</sub>O<sub>7</sub>, 不饱和度为 13。红外波谱显示出  $\nu_{\text{C}=\text{O}}$  1 712, 1 739, 1 688 cm<sup>-1</sup>; 芳环上的特征信号  $\nu_{\text{C}=\text{C}}$  1 600, 1 451 cm<sup>-1</sup>;  $\gamma_{\text{CH}}$  866, 719, 692 cm<sup>-1</sup> 以及  $\nu_{\text{CH}}$  2 964, 2 930, 2 870 cm<sup>-1</sup> 的存在。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 其中高场区显示有 7 组甲基信号, 其中包括 5 组单峰甲基信号  $\delta_{\text{H}}$  2.20 (3H, s), 2.18 (3H, s), 2.02 (3H, s), 1.32 (3H, s), 1.14 (3H, s) 表明其与季碳直接相连, 2 组双峰甲基信号  $\delta_{\text{H}}$  1.05 (3H, d, *J* = 7.1 Hz) 和 0.90 (3H, d, *J* =

7.1 Hz) 表明其与叔碳相连; 3组甲基信号  $\delta_{\text{H}}$  2.20, 2.18 和 2.20 化学位移较大, 可能是连在双键上的甲基; 低场区  $\delta_{\text{H}}$  7.93 (2H, m), 7.54 (1H, m), 7.43 (2H, m) 为苯甲酰基上的氢信号; 根据耦合常数  $\delta_{\text{H}}$  5.85 (1H, d,  $J = 12.5$  Hz), 5.47 (1H, d,  $J = 12.5$  Hz) 和 5.65 (1H, d,  $J = 15.5$  Hz), 5.28 (1H, dd,  $J = 15.5, 9.9$  Hz) 可以确定存在 2 组反式双键。 $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 结合 DEPT 图谱共显示 29 根谱线, 根据谱线高度有 2 对苯环上对称结构的叔碳信号  $\delta_{\text{C}}$  129.4  $\times 2$ 、128.4  $\times 2$ ; 其中包括 4 个羰基碳信号 ( $\delta_{\text{C}}$  213.3, 170.1, 169.9, 160.0); 2 个  $\text{sp}^2$  杂化的季碳信号

( $\delta_{\text{C}}$  134.1, 130.4); 10 个  $\text{sp}^2$  杂化的叔碳信号 ( $\delta_{\text{C}}$  139.6, 137.4, 132.9, 129.4  $\times 2$ , 128.5, 128.4  $\times 2$ , 127.9, 125.9); 5 个次甲基碳信号 ( $\delta_{\text{C}}$  83.1, 76.7, 44.3, 38.9, 37.3, 其中 2 个与氧原子相连); 2 个  $\text{sp}^3$  杂化的季碳信号 ( $\delta_{\text{C}}$  97.1, 47.1); 其中  $\delta_{\text{C}}$  47.1 偏低场, 推测其碳周围存在较强的吸电子基团; 1 个亚甲基碳信号 ( $\delta_{\text{C}}$  42.6) 和 7 个甲基碳信号 ( $\delta_{\text{C}}$  28.3, 22.4, 21.8, 21.0, 20.1, 18.1, 16.9)。综合  $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$  数据 (表 1) 及理化性质, 推测化合物 **1** 是与化合物 **3** 大戟苷 A 结构类似的假白榄烷型骨架的二萜类化合物<sup>[3-4]</sup>。

表 1 化合物 1 和 3 的  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 和  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 数据  
Table 1  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) and  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) data for compounds 1 and 3

碳位	化合物 1		化合物 3	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
1	42.6	2.92 (1H, dd, $J = 7.2, 15.1$ Hz, 1 $\alpha$ ) 1.46 (1H, dd, $J = 9.3, 15.1$ Hz, 1 $\beta$ )	46.3	2.09 (1H, m, 1 $\alpha$ ) 1.80 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, 1 $\beta$ )
2	37.3	2.13 (1H, m)	37.1	2.16 (1H, m)
3	83.1	5.12 (1H, dd, $J = 4.4, 7.2$ Hz)	81.8	4.96 (1H, m)
4	44.3	3.36 (1H, dt, $J = 8.1$ Hz)	47.9	2.89 (1H, dd, $J = 4.9, 10.3$ Hz)
5	128.5	5.71 (1H, dt, $J = 9.3, 12.0$ Hz)	124.1	5.72 (1H, d, $J = 10.3$ Hz)
6	134.1		138.3	
7	137.4	5.85 (1H, d, $J = 12.5$ Hz)	73.9	4.96 (1H, m)
8	125.8	5.47 (1H, d, $J = 12.5$ Hz)	33.5	1.97 (1H, m)
9	213.3		73.6	4.77 (1H, t, $J = 3.8$ Hz)
10	47.1		39.7	
11	139.6	5.28 (1H, d, $J = 15.5$ Hz)	138.2	5.26 (1H, dd, $J = 15.6$ Hz)
12	127.7	5.65 (1H, dd, $J = 9.9, 15.5$ Hz)	128.8	5.56 (1H, d, $J = 9.3, 15.6$ Hz)
13	38.9	2.36 (1H, m)	36.5	2.57 (1H, m)
14	76.7	5.92 (1H, d, $J = 7.2$ Hz)	80.9	5.93 (1H, t, $J = 3.9$ Hz)
15	91.7		83.8	
16	18.1	1.05 (3H, d, $J = 6.8$ Hz)	13.5	0.96 (3H, s)
17	16.9	2.02 (3H, d, $J = 7.1$ Hz)	16.1	1.73 (3H, s)
18	28.3	1.14 (3H, s)	20.3	0.89 (3H, s)
19	22.4	1.32 (3H, s)	22.6	0.98 (3H, s)
20	20.1	0.90 (3H, d, $J = 7.1$ Hz)	19.4	0.95 (3H, d, $J = 7.1$ Hz)
3-COBz	160.0		160.6	
	130.4		130.2	
	129.4 ( $\times 2$ )	7.93 (2H, m)	129.8 ( $\times 2$ )	8.02 (2H, m)
	128.4 ( $\times 2$ )	7.43 (2H, m)	128.5 ( $\times 2$ )	7.44 (2H, m)
	132.9	7.54 (1H, m)	132.8	7.54 (1H, m)
7-OAc			169.0	
			21.0	1.96 (3H, s)
9-OAc			169.6	
			19.8	1.18 (3H, s)
14-OAc	169.8		171.2	
	21.9	2.16 (3H, s)	20.9	2.22 (3H, s)
15-OAc	170.1			
	21.9	2.20 (3H, s)		

根据 HMBC 谱(图 2)  $\delta_{\text{H}}$  5.85, 1.32 与  $\delta_{\text{C}}$  213.3 相关可以推断出羰基连在 C-9;  $\delta_{\text{H}}$  7.93 与  $\delta_{\text{C}}$  132.9, 160.0, 129.4 有远程相关可以推断出苯甲酰基的存在, 并根据  $\delta_{\text{H}}$  5.12 与  $\delta_{\text{C}}$  160.0 相关可以推断出苯甲酰基连在 C-3 上;  $\delta_{\text{H}}$  2.20 与  $\delta_{\text{C}}$  97.7, 170.1 及  $\delta_{\text{H}}$  2.16 与  $\delta_{\text{C}}$  169.9 有远程相关, 推断 2 个乙酰基分别连接在 C-15 和 C-14 上。化合物 **1** 与文献报道<sup>[3-4]</sup> 中 euphoscopin、euphoscopin A~E 的核磁数据及化学位移值进行比较确定相对构型(图 2)。经 SciFinder 检索, 未发现相关报道, 表明其是 1 个假白榄烷型骨架的新二萜类化合物, 命名为大戟素 M。

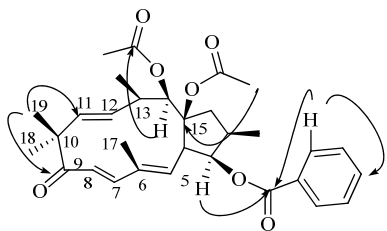


图 2 化合物 1 的主要 HMBC 相关

Fig. 2 Key HMBC correlation of compound 1

化合物 **2**: 无色针晶(甲醇), mp 165~166 °C。  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 61.97$  (*c* 0.5, MeOH), UV  $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$  (nm): 276。 ESI-MS *m/z*: 377  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 411  $[\text{M}+\text{Cl}]^-$ 。推测化合物相对分子质量为 376。结合  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  确定分子式为  $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_5$ , 不饱和度为 7。  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 6.70 (1H, dd,  $J = 1.2, 11.5$  Hz, H-12), 6.12 (1H, dd,  $J = 1.6, 11.0$  Hz, H-5), 4.04 (1H, dd,  $J = 3.2, 11.0$  Hz, H-7), 3.84 (1H, dd,  $J = 3.5, 6.6$  Hz, H-3), 2.64 (2H, m, H-2, 4), 2.36 (1H, dt, H-8 $\alpha$ ), 2.20 (2H, m, H-1), 2.06 (3H, s, 7-OAc), 1.83 (3H, d,  $J = 1.24$  Hz, H-20), 1.75 (1H, m, H-8 $\beta$ ), 1.54 (1H, m, H-11), 1.53 (3H, d,  $J = 1.6$  Hz, H-17), 1.26 (m, H-9), 1.25 (3H, s, H-18), 1.16 (3H, s, H-19), 1.10 (3H, d,  $J = 6.7$  Hz, H-16);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 42.5 (C-1), 51.1 (C-2), 83.3 (C-3), 42.8 (C-4), 122.7 (C-5), 146.7 (C-6), 76.8 (C-7), 38.1 (C-8), 33.2 (C-9), 26.5 (C-10), 31.1 (C-11), 148.9 (C-12), 134.3 (C-13), 197.8 (C-14), 97.9 (C-15), 19.4 (C-16), 19.9 (C-17), 29.9 (C-18), 17.5 (C-19), 13.1 (C-20), 172.6 (C=O) 22.4 (-COCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[3]</sup>, 故鉴定化合物 **2** 为泽泻醇 A。

化合物 **3**: 无色针晶(甲醇), mp 204~206 °C。  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} - 62.0$  (*c* 0.5,  $\text{CHCl}_3$ ), ESI-MS *m/z*: 607  $[\text{M}+$

$\text{Na}]^+$ , 619  $[\text{M}+\text{Cl}]^-$ , 推测化合物相对分子质量为 584。确定分子式为  $\text{C}_{33}\text{H}_{44}\text{O}_9$ , 不饱和度为 12。  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  数据(表 1)与文献对照一致<sup>[4]</sup>, 故鉴定化合物 **3** 为大戟昔 A。

化合物 **4**: 白色粉末(甲醇); mp 120~123 °C。  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} - 27.8$  (*c* 0.3,  $\text{CHCl}_3$ ), ESI-MS *m/z*: 441  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 453  $[\text{M}+\text{Cl}]^-$ 。推测化合物相对分子质量为 418。结合  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  确定分子式为  $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_4$ , 不饱和度为 12。  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.12 (2H, d,  $J = 7.6$  Hz, COBz-H-2',6'), 7.60 (1H, t,  $J = 7.6$  Hz, COBz-H-4'), 7.49 (2H, d,  $J = 7.6$  Hz, COBz-H-3', 5'), 6.14 (1H, d,  $J = 1.5$  Hz, H-1), 5.86 (1H, d,  $J = 3.5$  Hz, H-7), 5.50 (1H, brs, H-5), 5.06 (1H, s, H-3), 4.24 (1H, brd,  $J = 9.5$  Hz, H-8), 3.35 (1H, brs, 4-OH), 2.30 (1H, m, H-11), 2.54 (1H, m,  $J = 9.8, 2.9$  Hz, H-12a), 2.03 (3H, s, HAc-CO-CH<sub>3</sub>), 1.76 (3H, brs,  $J = 1.0$  Hz, H-19), 1.73 (1H, m, H-12b), 1.54 (3H, s, H-20), 1.12 (3H, s, H-17), 1.06 (3H, s, H-16), 1.00 (3H, d,  $J = 7.6$  Hz, H-18), 0.89 (3H, dd,  $J = 11.8, 8.3$  Hz, H-14), 0.73 (1H, m, H-13), 2.16 (3H, s, 5-OAc);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 132.5 (C-1), 135.5 (C-2), 82.9 (C-3), 86.0 (C-4), 78.0 (C-5), 134.5 (C-6), 126.2 (C-7), 43.5 (C-8), 206.1 (C-9), 72.0 (C-10), 38.5 (C-11), 31.1 (C-12), 23.0 (C-13), 23.2 (C-14), 24.3 (C-15), 28.4 (C-16), 15.6 (C-17), 16.9 (C-18), 15.3 (C-19), 21.3 (C-20); 3-COBz: 167.4 (C = O), 129.2 ( $\times 2$ ), 128.5 ( $\times 2$ ), 133.5; 5-OAc: 172.6 (C = O), 21.4 (-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[5]</sup>, 故鉴定化合物 **4** 为甘遂大戟萜酯 D。

化合物 **5**: 无色针晶(甲醇), mp 165~166 °C。  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 391.4$  (*c* 0.1, MeOH), UV  $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$  (nm): 276。 ESI-MS *m/z*: 333  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 367  $[\text{M}+\text{Cl}]^-$ 。推测化合物相对分子质量为 332, 结合  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  确定化合物的分子式为  $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_4$ , 不饱和度为 7。  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.28 (1H, s, H-14), 4.86 (1H, dd,  $J = 13.8, 4.8$  Hz, H-12), 3.72 (3H, m, H-18), 3.71 (1H, m, H-3), 3.42 (2H, d,  $J = 10.5$  Hz, H-18), 2.55 (1H, dd,  $J = 13.4, 6.2$  Hz, H-11 $\beta$ ), 2.50 (1H, m, H-7 $\beta$ ), 2.24 (1H, m, H-9), 2.21 (1H, m, H-7 $\alpha$ ), 1.99 (1H, m, H-1 $\beta$ ), 1.83 (3H, s, H-17), 1.76 (1H, m, H-2 $\beta$ ), 1.68 (1H, m, H-6 $\beta$ ), 1.66 (1H, m, H-2 $\alpha$ ), 1.52 (1H, m, H-11 $\alpha$ ), 1.47 (1H, m, H-6 $\alpha$ ), 1.38 (1H, dd,  $J =$

12.4, 2.3 Hz, H-5), 1.25 (1H, m, H-1 $\alpha$ ), 0.89 (3H, s, H-19), 0.89 (3H, s, H-20); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 37.1 (C-1), 27.5 (C-2), 75.8 (C-3), 42.3 (C-4), 48.3 (C-5), 23.4 (C-6), 36.6 (C-7), 151.0 (C-8), 51.5 (C-9), 41.1 (C-10), 27.2 (C-11), 75.4 (C-12), 155.8 (C-13), 114.3 (C-14), 116.7 (C-15), 175.2 (C-16), 8.2 (C-17), 70.6 (C-18), 11.6 (C-19), 17.2 (C-20)。以上数据与文献报道一致<sup>[6]</sup>, 故鉴定化合物 **5** 为 18-羟基泽漆内酯 A。

化合物 **6**: 白色针状结晶 (氯仿), mp 144~145 °C, Libermann-Burchard 反应阳性, 氯仿-浓硫酸反应阳性, Molish 反应阳性。在 254 nm 和 365 nm 下无荧光, FeCl<sub>3</sub> 不显色; 硫酸显色为红色。通过与对照品共薄层和碳谱数据分析<sup>[7]</sup>, 鉴定化合物 **6** 为  $\beta$ -胡萝卜苷。

#### 4 肿瘤细胞体外增殖抑制实验

以 10-羟基喜树碱作为阳性对照, 采用 MTT 法<sup>[8-9]</sup>检测化合物 **1~6** 对 NCI-H460、SP-268、MCF-7、HepG2 肿瘤细胞的抑制活性。取对数生长期细胞  $1 \times 10^5$  个/mL 接种于 96 孔板, 每孔接种 100  $\mu$ L, 置 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 24 h 后, 弃上清, 实验组每孔分别加入 100  $\mu$ L 培养液稀释的药物, 继续培养 48 h, 在终止培养前 4 h, 每孔加入 10  $\mu$ L MTT (5 g/L), 再培养 4 h, 小心吸弃上清, 并加入 100  $\mu$ L DMSO, 用振荡器混匀后, 在酶标仪上 570、630 nm 处测定吸光度 (*A*) 值。每组设 4 个复孔, 实验重复 3 次。计算药物对肿瘤细胞生长的抑制率 (IR = 1 - 实验组 *A* 值 / 对照组 *A* 值)。测定分离得到的化合物的活性, 计算得到 IC<sub>50</sub>。结果见表 2。

#### 5 结论

实验结果表明, 化合物 **1~4** 显示出较强的抑制肿瘤细胞活性, 尤其对入肝癌 HepG2 细胞均有很强的抑制作用。化合物 **2、3** 对非小细胞肺癌细胞 NCI-H460 显示出优于阳性对照药物的效果。猫眼

表 2 肿瘤细胞体外抑制实验结果

Table 2 *In vitro* inhibition of compounds on tumor cells

化合物	IC <sub>50</sub> / ( $\mu$ mol·L <sup>-1</sup> )			
	NCI-H460	SF-268	MCF-7	HepG2
<b>1</b>	>100	12.70	23.02	11.33
<b>2</b>	36.40	96.84	33.02	43.41
<b>3</b>	27.02	91.69	74.30	57.14
<b>4</b>	44.07	>100	40.74	55.38
<b>5</b>	>100	>100	>100	>100
<b>6</b>	>100	>100	>100	98.04
10-羟基喜树碱	38.55	29.88	19.12	6.49

草中假白榄烷型二萜类化合物有可能成为抗肿瘤药物的先导化合物。

#### 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, 1977.
- [2] 陈学文. 猫眼草抑菌活性初步研究 [J]. 宁夏农林科技 2005, 5: 19.
- [3] Yamamura S, Yoshikazu S, Kosemura S, *et al.* Diterpens from *Euphorbia helioscopial* [J]. *Phytochemistry*, 1989, 28(12): 3421-3436.
- [4] Lu Z Q, Guan S H, Li X N, *et al.* Cytotoxic diterpenoids from *Euphorbia helioscopia* [J]. *J Nat Prod*, 2008, 71(5): 873-876.
- [5] Pan D J, Hu C Q, Chang J J, *et al.* Kanuiphorin-C and -D, cytotoxic diterpenes from *Euphorbia kansui* [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(9): 1018-1020.
- [6] Yu H W, Li B G, Li G Y, *et al.* Abietane lactones and iridoids from *Goldfussia yunnanensis* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2007, 55(12): 1744-1747.
- [7] 周大颖, 杨小生, 杨波, 等. 黔产毛子草化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(3): 807-808.
- [8] Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays [J]. *Immunol Met*, 1983, 65(1/2): 55-63.
- [9] Ishii R, Saito K, Horie M, *et al.* Inhibitory effects of hydrolyzable tannins from *Melastoma dodecandrum* Lour. on nitric oxide production by a murine macrophage-like cell line, RAW264.7, activated with lipopolysaccharide and interferon-gamma [J]. *Biol Pharm Bull*, 1999, 22(6): 647-653.