

1 个姜黄素类新化合物的 LC-MS 导向发现、结构鉴定及细胞毒活性

李 锐¹, 贾 坤¹, 付 强², 罗静雯³, 邓 黎³

1. 西华大学食品与生物工程学院, 四川 成都 610039

2. 成都大学药学与生物工程学院, 四川 成都 610106

3. 四川大学华西药学院, 四川 成都 610041

摘要:目的 通过导向分离法发现姜黄 *Curcuma longa* 根茎中 1 个新化合物, 并进行分离鉴定及细胞毒活性研究。方法 运用 LC-MS 分析技术, 结合 MCI-Gel 小孔树脂、ODS-C₁₈ 反相柱及 RP-HPLC 等柱色谱手段分离纯化, 根据理化性质和波谱数据鉴定化合物的结构。结果 从姜黄根茎甲醇提取物的低极性流分中分离得到 1 个姜黄素类新化合物, 鉴定为姜黄素-没药烷型倍半萜二聚体化合物 3,4'''-epoxy-5'''-C-(1 α ,2 β ,3 β -bisabola-4,10-diene-9-one)-(2 $\rightarrow$ 5''')-curcumin (**1**), 该化合物对 HepG2、A549 和 CT-26 肿瘤细胞 IC₅₀ 值分别为 4.82、8.81 和 5.40 μ mol/L。结论 化合物 **1** 为 1 个姜黄素类新化合物, 命名为姜萜素 G; 其对肿瘤细胞具有显著的细胞毒活性。

关键词: 姜黄; 姜萜素 G; 姜黄素类; 没药烷型倍半萜; 导向分离法; 细胞毒活性

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)14-2418-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.14.004

LC-MS guided discovery, structural elucidation of a new curcuminoids, and its cytotoxicity

LI Rui¹, JIA Kun¹, FU Qiang², LUO Jing-wen³, DENG Li³

1. School of Food and Bioengineering, Xihua University, Chengdu 610039, China

2. School of Pharmacy and Bioengineering, Chengdu University, Chengdu 610106, China

3. West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China

Abstract: Objective Separation and purification of a new curcuminoid from the rhizome of *Curcuma longa* by guided separation method. **Methods** The chemical constituent was separated and purified through various kinds of chromatographic methods, including MCI-Gel, ODS-C₁₈ reverse phase column, and RP-HPLC. The structure was elucidated by physicochemical properties and spectral data. **Results** A new curcuminoid, 3,4'''-epoxy-5'''-C-(1 α ,2 β ,3 β -bisabola-4,10-diene-9-one)-(2 $\rightarrow$ 5''')-curcumin (**1**), was isolated from the low polar fraction of methanol extracts from the rhizome of *C. longa*, named as curcuterpene G. This compound exhibited the inhibitory effect to HepG2, A549, and CT-26 tumor cells with the IC₅₀ values of 4.82, 8.81, and 5.40 μ mol/L, respectively. **Conclusion** A new curcuminoid is isolated from the rhizome of *C. longa* by guided discovery method, and it exhibits notable cytotoxic activities.

Key words: *Curcuma Longa* Rhizoma; curcuterpene G; curcuminoids; bisabola-sesquiterpene; guided separation; cytotoxicity

姜黄 *Curcuma Longa Rhizoma* 为姜黄属植物姜黄 *Curcuma longa* L. 的干燥根茎, 主产于中国, 是我国传统中医药常用药物, 具有破血行气、通经止痛之功效。研究表明, 以姜黄素 (curcumin)、脱甲氧基姜黄素 (demethoxycurcumin, DMC)、双脱甲氧基姜黄素 (bisdemethoxycurcumin, BDMC) 为代表的姜黄素类化合物, 以及倍半萜类化合物是姜黄的主要化学成分, 目前国内外已经从姜黄中分离得

到了 10 多个不同类型的姜黄素类^[1-4]以及二十多个倍半萜类化合物^[5-6]。大量的现代药理研究表明, 姜黄及其主要化学成分具有广泛的药理活性, 包括抗氧化、抗炎症、抗肿瘤及抗老年痴呆症等^[7-11]。

为了更深入地了解姜黄的化学成分, 寻找更多的姜黄素类新化合物, 并从中发现具有药用价值的先导性化合物, 本实验建立了基于 LC-MS 分析技术和多种柱色谱技术的中药导向分离方法, 以

收稿日期: 2016-01-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81302742); 教育部春晖计划项目 (13205638); 四川省教育厅重点项目 (11ZA005); 中国博士后科学基金 (2012M511935)

作者简介: 李 锐, 博士, 副教授, 从事中药的化学分析、质量控制及体内代谢研究。E-mail: lirui-elite@163.com

“寻找-定位-纯化-鉴定”为研究思路从姜黄根茎 95%甲醇提取物中发现 1 个具有姜黄素类成分骨架结构的新化合物,通过定位该新化合物所在的提取物流分并进行富集,采用 MCI 小孔树脂、ODS- C_{18} 反相柱色谱及 RP-HPLC 色谱技术将其分离纯化,并通过 NMR 技术进行结构鉴定,最终确认新化合物为姜黄素-没药烷型倍半萜二聚体新化合物 3,4'''-epoxy-5'''- C -(1 α ,2 β ,3 β -bisabol-4,10-diene-9-one)-(2 $\rightarrow$ 5''')-curcumin (**1**),命名为姜萜素 G。体外细胞毒活性检测表明该化合物对 HepG2、A549 和 CT-26 肿瘤细胞表现出较强的细胞毒活性。

1 材料与仪器

Agilent1100 高效液相色谱仪 (Agilent Technologies, 德国),配有四元泵溶剂洗脱系统,自动进样器及紫外检测仪;Finnigan LCQ Advantage 离子阱质谱仪 (Thermo Finnigan, San Jose, CA, 美国),ESI; YMC-Pack-ODS-A C_{18} reversed column (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m) 色谱柱及 Agilent Zorbax SB- C_{18} (12.5 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m) 保护柱。核磁共振光谱仪:INOVA-500 (^1H -NMR 500 MHz, ^{13}C -NMR 125 MHz) 和 JEOL JNM-AL300 (^1H -NMR 300 MHz, ^{13}C -NMR 75 MHz) 核磁共振仪;高分辨质谱仪:Bruker APEX IV FT-MS; Varian Cary 300 UV 紫外-可见分光光度计;Thermo Nicolet Avatar 傅里叶红外光谱仪;半制备 HPLC 分析仪:岛津 LC-8AHPLC 色谱系统;YMC ODS-A 半制备色谱柱 (250 mm $\times$ 10 mm, 5 μ m);Horiba SEPA-300 型数字旋光仪。

常规提取分离用甲醇、醋酸乙酯、丙酮、氯仿等均为分析纯,制备用乙腈为色谱纯,成都科龙化工厂产品;去离子水由纯净水经 Millipore Simplicity 纯水系统制备。小孔树脂 (MCI-GEL) 购自成都科贸有限公司;ODS 反相色谱填料均在成都迪维乐普公司购买;柱色谱用凝胶 Sephadex LH-20 (25~100 μ m) 为 Pharmacia 公司产品;薄层色谱用硅胶 GF₂₅₄ 购自青岛海洋化工厂。

本实验姜黄样品于 2013 年 12 月采自四川乐山犍为县,药材标本 (编号 201312) 经西华大学制药工程系何宇新教授鉴定为姜黄 *Curcuma longa* L. 的干燥根茎。

2 新化合物的导向发现

2.1 药材提取物流分的分段处理

将 1 kg 姜黄药材干燥后粉碎到 40 目,以 10 倍

量 95% 甲醇,加热回流提取 3 次,每次 2 h,合并 3 次提取液,减压浓缩得浸膏 200 g。以甲醇-氯仿 (3:4、9:10、99:1) 经 MCI-GEL 梯度洗脱,分别获得流分 1~3。将流分 1~3 经 LC-MS 检测,寻找姜黄素类新化合物。

2.2 LC-MS 检测条件

流动相:乙腈 (A)-0.1% 甲酸溶液 (B);洗脱程序:0~30 min, 40%~50% A; 30~35 min, 50%~65% A; 35~42 min, 65%~70% A; 42~55 min, 70% A; 55~60 min, 70%~100% A; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 425 nm。质谱参数设定:ESI 电离源,扫描模式:负离子扫描;扫描范围 m/z 120~1 200; 源电压 4.0 kV; 毛细管温度 320 $^{\circ}\text{C}$; 毛细管电压 30.0 V; 透镜补偿电压-40.0 V; 源裂解电压 10.0 V。

2.3 姜黄素类化合物特征性质谱裂解规律及 UV 吸收

实验结果表明在 (-) ESI-MS/MS 模式下,姜黄素的特征性裂解行为: m/z 367 $\rightarrow$ 217 $\rightarrow$ 173 [$\text{M}-\text{H}$] $^{-}$,而作为二苯基庚酸类化合物,拥有不饱和双键,其在 UV 下的特征性最大吸收波长位于 425 nm,与已有报道一致^[12-13]。

2.4 流分 1~3 的 LC-MS 质谱分析

对流分 1、2 中的色谱峰进行了质谱检测,实验结果表明流分 1 和 2 中色谱峰的相对分子质量、质谱裂解规律和已报道姜黄素类化合物包括姜黄素、脱甲氧基姜黄素、双脱甲氧基姜黄素等相对分子质量一致^[14],没有发现新的姜黄素类天然产物。在流分 3 的分析中,本实验以导向分离的思路发现 1 个新的姜黄素类天然产物 (化合物 **1**),过程如下: (1) 化合物 **1** 的 UV λ_{max} 为 426 nm,为姜黄素类化合物的特征吸收,见图 1; (2) 化合物 **1** 的分子离子峰为 m/z 583 [$\text{M}-\text{H}$] $^{-}$ (图 1),大于已知姜黄素的分子离子峰 m/z 367 [$\text{M}-\text{H}$] $^{-}$,在 MS² 裂解中发现化合物 **1** 的碎片离子具有 [$\text{M}-\text{H}$] $^{-}$ m/z 217、[$\text{M}-\text{H}$] $^{-}$ m/z 173 的姜黄素结构的特征碎片离子,证明化合物 **1** 是一个具有姜黄素类化合物骨架结构、但相对分子质量远比姜黄素更大的化合物; (3) 对已报道的姜黄素类化合物数据库进行全面的文献检索和查询,没有任何文献报道类似结构的化合物在自然界中分离得到。

综合以上信息,推测化合物 **1** 是一个具有姜黄素母核结构的化合物,并且具有更大的相对分子质量和更复杂的结构,所以将化合物 **1** 作为目标化合物进行分离纯化。

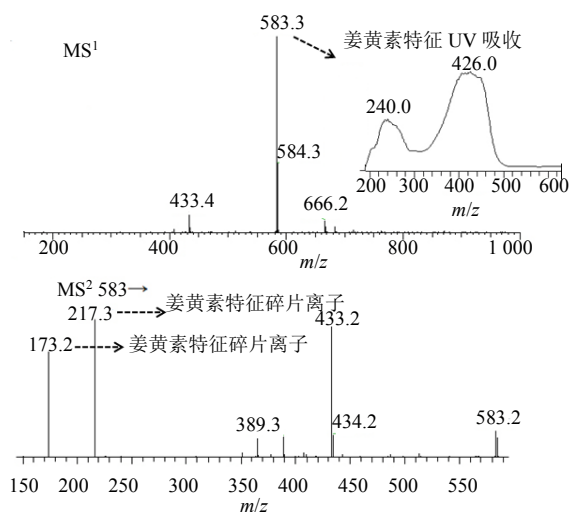


图1 化合物1的MS¹、MS²图谱及最大UV吸收波长

Fig. 1 MS¹, MS² spectra, and UV_{max} of compound 1

3 提取与分离

采用中压柱色谱系统,将“2.1”项中流分3浸膏用ODS反相色谱柱经甲醇-水(40:60、55:45、60:40、75:25和95:5)洗脱,得到5个洗脱部位:FIH-1(0.5 g)、FIH-2(1.5 g)、FIH-3(2 g)、FIH-4(1.5 g)和FIH-5(1 g)。FIH-4(1.5 g)和FIH-5(1 g)进一步以甲醇为洗脱液,在Sephadex LH-20凝胶柱色谱上除杂,得到FIH-4-3(400 mg)、FIH-5-3(200 mg)、FIH-5-4(20 mg)。再将3个洗脱部位以HPLC制备液相色谱(岛津LC-8AHPLC色谱系统;YMC ODS-A柱,250 mm×10 mm,5 μm)在乙腈-水系统中制备分离。洗脱部位FIH-5-4(20 mg)经制备液相色谱得到化合物1(12 mg,乙腈-水48:52,体积流量3.0 mL/min, t_R =160 min)。

4 结构鉴定

化合物1为黄色无定形粉末,经高分辨质谱(HR-ESI-MS)测定 m/z 607.266 69 [$M+Na$]⁺(计算值607.266 62),得出分子式为C₃₆H₄₀O₇,不饱和度为17, mp 93~98 °C; [α]_D²⁵ -219°(c 0.15, CH₃OH); UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 426 nm; IR波谱显示3 423 cm⁻¹的1个自由羟基强吸收,1 718, 1 627 cm⁻¹的2个羰基的吸收峰,以及1 512 cm⁻¹的苯环吸收峰。¹³C-NMR数据(表1)与DEPT波谱数据同样表明该化合物有36个C信号,包括6个甲基碳(2个甲氧基碳同在 δ_C 55.4处)、2个亚甲基、4个次甲基、12个亚乙烯基以及12个季碳(包括3个羰基碳 δ_C 183.6, 183.6, 199.1)。¹H-NMR总共发现12个烯属氢原子,其中2对反式- α,β -不饱和双键(δ_H 6.58, d,

J =15.6 Hz和 δ_H 7.47, d, J =15.6 Hz; δ_H 6.60, d, J =15.6 Hz和 δ_H 7.53, d, J =15.6 Hz);1组ABX系统氢原子(δ_H 7.20, s; δ_H 6.76, d, J =8.4 Hz; δ_H 7.05, d, J =8.4 Hz),再加上1个烯属单氢(δ_H 5.87, s),以上部分核磁数据与姜黄素骨架的特征信号相近^[12],且在LC-MS分析中已证明化合物1具有姜黄素的骨架结构,因此为了快速准确地鉴定复杂化合物1的结构,将姜黄素与化合物1姜黄素类骨架部分的¹³C、¹H-NMR数据进行比对。

由表1中数据可知,化合物1姜黄素类骨架部分与姜黄素的¹³C-NMR数据除C-5'''外,其余几乎完全吻合。化合物1的C-5'''(δ_C 132.8)相比姜黄素C-5'''(δ_C 115)向低场位移。此外,在化合物1的苯环b中,发现ABX系统的¹H-NMR信号消失,只存在2个烯氢质子的信号,化学位移分别为 δ_H 7.12和7.13,见表1。在¹H-NMR数据中,与姜黄素数据相比,发现化合物1的H-5'''信号缺失。以上证据表明,化合物1姜黄素骨架部分在苯环b的5'''位存在一个取代,不但造成H-5'''的信号缺失,同时使C-5'''信号发生位移。

除化合物1姜黄素骨架部分的¹³C-NMR与¹H-NMR信号外,其余信号皆来自于化合物1的侧链取代基团,经过分析发现其¹³C-NMR和¹H-NMR数据与已知化合物类似,故将两者数据进行对比,以确定结构。通过与文献进行比对^[6],发现其与没药烷型倍半萜(bisabolane): 2-methoxy-5-hydroxybisabolane-3,10-diene-9-one相近。结合HSQC数据,将化合物1的倍半萜类侧链中的¹³C-NMR与¹H-NMR数据归属如下:2个三取代乙烯基和2个季碳 [δ_C 127.1(δ_H 5.71, d, J =4.8 Hz), δ_C 130.3, δ_C 123.7(δ_H 5.88, s), δ_C 153.5];1个羰基酮碳(δ_C 199.1);2个亚甲基 [δ_C 23.4(δ_H 1.77, m; δ_H 1.89, m); δ_C 49.8(δ_H 2.21, dd, J =6.2, 15.2 Hz; δ_H 2.25, dd, J =7.6, 15.2 Hz)];4个次甲基 [δ_C 84.7(δ_H 4.75, d, J =7.2 Hz); δ_C 42.9(δ_H 3.11, dd, J =7.2, 11.0 Hz); δ_C 38.9(δ_H 1.35, dt, J =3.8, 11.0 Hz); δ_C 27.6(δ_H 2.41, m)];4个甲基 [δ_C 13.6(δ_H 0.89, d, J =6.8 Hz); δ_C 19.5(δ_H 1.84, s); δ_C 19.9(δ_H 1.77, s); δ_C 26.5(δ_H 1.62, s)]。

姜黄素骨架与倍半萜骨架的取代位点是该化合物结构鉴定的关键,在图2中,由¹H-¹H COSY相关可知,在倍半萜部分的六元环中存在1个H-6(δ_H 1.77/1.89)→H-1 [δ_H 1.35 (dt, J =3.8, 11.0 Hz)]→H-2 [δ_H 3.11 (dd, J =7.2, 11.0 Hz)]→H-3 [δ_H 4.75 (d,

表 1 化合物 1 与已知化合物的 ^{13}C -NMR 和 ^1H -NMR 数据
Table 1 ^{13}C -NMR and ^1H -NMR data of compound 1 and known curcumin

碳位	δ_{C}			δ_{H}		
	姜黄素	bisabolane	1	姜黄素	bisabolane	1
1		38.2	38.9		1.82 (1H, m)	1.35 (1H, dt, $J = 3.8, 11.0$ Hz)
2		78.2	42.9		3.58 (1H, d, $J = 9.6$ Hz)	3.11 (1H, dd, $J = 7.2, 11.0$ Hz)
3		126.0	84.7		5.56 (1H, s)	4.75 (1H, d, $J = 7.2$ Hz)
4		138.7	130.3			
5		67.6	127.1		3.91 (1H, br)	5.71 (1H, d, $J = 4.8$ Hz)
6		31.6	23.4		1.71 (2H, m)	1.77 (1H, m); 1.77 (1H, d, $J = 1.9$ Hz)
7		28.5	27.6		1.43 (1H, m)	2.41 (1H, m)
8		50.5	49.8		2.41 (1H, dd, $J = 15.2, 4.4$ Hz)	2.21 (1H, dd, $J = 6.2, 15.2$ Hz)
					2.31 (1H, dd, $J = 15.2, 8.8$ Hz)	2.25 (1H, dd, $J = 7.6, 15.2$ Hz)
9		200.4	199.1			
10		125.1	123.7		6.17 (1H, s)	5.88 (1H, s)
11		154.2	153.5			
12		27.4	26.5		2.10 (3H, s)	1.62 (3H, s)
13		20.5	19.5		1.87 (3H, s)	1.84 (3H, s)
14		15.2	13.6		0.80 (3H, d, $J = 6.8$ Hz)	0.89 (3H, d, $J = 6.8$ Hz)
15		20.8	19.9		1.76 (3H, s)	1.77 (3H, s)
1'	141.4		140.5	7.59 (1H, d, $J = 16.0$ Hz)		7.47 (1H, d, $J = 15.6$ Hz)
2'	122.3		121.5	6.69 (1H, d, $J = 16.0$ Hz)		6.58 (1H, d, $J = 15.6$ Hz)
3'	184.5		183.6			
4'	101.6		100.7	5.96 (1H, s)		5.87 (1H, s)
5'	184.5		183.6			
6'	122.3		121.5	6.69 (1H, d, $J = 16.0$ Hz)		6.60 (1H, d, $J = 15.6$ Hz)
7'	141.4		140.8	7.59 (1H, d, $J = 16.0$ Hz)		7.53 (1H, d, $J = 15.6$ Hz)
1''	128.2		127.3			
2''	111.5		110.7	7.32 (1H, d, $J = 2.0$ Hz)		7.20 (1H, d, $J = 1.6$ Hz)
3''	151.6		147.9			
4''	150.1		149.1			
5''	115.0		115.3	6.88 (1H, d, $J = 8.0$ Hz)		6.76 (1H, d, $J = 8.4$ Hz)
6''	123.8		122.9	7.19 (1H, d, $J = 8.0$ Hz)		7.05 (1H, d, $J = 8.4$ Hz)
1'''	128.2		128.3			
2'''	111.5		111.8	7.32 (1H, d, $J = 2.0$ Hz)		7.12 (1H, s)
3'''	151.6		145.2			
4'''	150.1		150.2			
5'''	115.0		132.8	6.88 (1H, d, $J = 8.0$ Hz)		
6'''	123.8		119.4	7.19 (1H, d, $J = 8.0$ Hz)		7.13 (1H, s)
7''	56.3		55.4	3.79 (3H, s)		3.79 (3H, s)
7'''	56.3		55.4	3.79 (3H, s)		3.77 (3H, s)

$J = 7.2$ Hz)] 的可旋转的质子偶合系统, 其相互位置由 ^1H - ^1H COSY 以及 HMBC 远程相关得以确认, 见图 2。进一步将 H-2 (δ_{H} 3.11) 与 H-3 (δ_{H} 4.75); C-2 (δ_{H} 42.9) 与 C-3 (δ_{H} 84.7) 的信号加以分析发现, H-3 与 C-3 的信号较 H-2 与 C-2 处于更低场, 3 位

应连接 1 个较强的亲电子基团; 此外, 在 HMBC 中发现 H-3 到 C-4''' (δ_{C} 150.2) 微弱的远程相关; 以及 H-2 同时与 C-5'''、C-6''' 和 C-4''' 极强的远程相关信号, 见图 2。加上此前已发现姜黄素骨架部分的 5''' 位存在一个取代, 造成 H-5''' 的信号缺失, 以上的数据证明

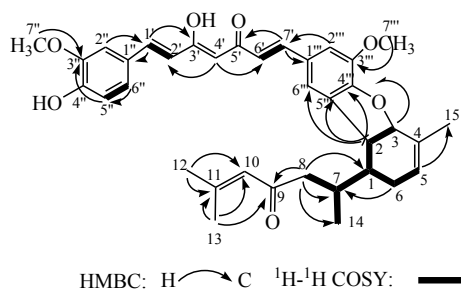


图2 化合物1的结构和主要HMBC及 $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY相关
Fig. 2 Structure and key HMBC, and $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY correlations of compound 1

了化合物1中C-3与C-4'''以3 $\rightarrow$ 4'''的“C-O-C”键方式相连,而C-2与C-5'''以2 $\rightarrow$ 5'''的“C-C”键方式相连。综上所述,化合物1中的姜黄素骨架部分和倍半萜骨架部分同时以“C-O-C”键和“C-C”键方式相连使其形成了1个新的呋喃五元环(2-3-O-4'''-5''')。

化合物1的NOESY实验结果为倍半萜骨架部分相对构型的确立提供了直接依据,结构见图3。在图谱中,发现明显的H-2与H-3、H-1与H-7的信号相关,证明了H-2与H-3、H-1与H-7之间分别处于顺式构型(*cis*),而H-3与H-1之间无任何NOE相关处于反式构型(*trans*)。因此,结合以上证据,化合物1的结构为姜黄素骨架部分与倍半萜侧链部分通过呋喃五元环以“C-O-C”键和“C-C”键相连,确定为3,4'''-epoxy-5'''-C-(1 α ,2 β ,3 β -bisabola-4,10-diene-9-one)-(2 $\rightarrow$ 5''')-curcumin;命名为姜萜素G。

5 化合物细胞毒活性

由于文献报道姜黄素类化合物具有显著的抗肿瘤活性,本研究采用改良的MTT细胞毒活性测定法^[15],以姜黄素、DMC、BDMC为对照,对化合物1进行了细胞毒活性筛选,所测试的细胞株为HepG2、A549和CT-26(表2)。结果表明,化合物

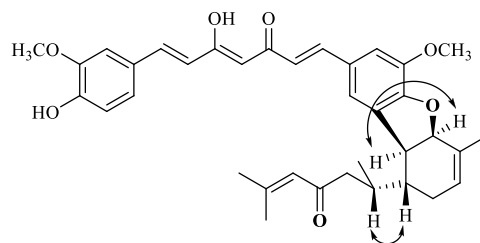


图3 化合物1的NOESY相关
Fig. 3 NOESY correlations of compound 1

表2 化合物1的细胞毒活性

Table 2 Cytotoxic activity of compound 1

化合物	IC ₅₀ /($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)		
	HepG2	A549	CT-26
姜黄素	30.60	36.10	30.30
DMC	20.40	22.40	20.40
BDMC	16.80	20.60	15.40
1	4.82	8.81	5.40

1对所选3种肿瘤细胞株的IC₅₀值均小于10 $\mu\text{mol/L}$,并优于已报道的3种主要姜黄素类化合物:姜黄素、DMC及BDMC^[1-2],其中对HepG2和CT-26有较高的细胞毒活性,IC₅₀值分别为4.82、5.40 $\mu\text{mol/L}$ 。

6 讨论

本实验采用基于LC-MS技术的导向分离法,从姜黄的提取物中发现了具有姜黄素骨架与倍半萜骨架的新化合物1,经提取分离后结构鉴定为3,4'''-epoxy-5'''-C-(1 α ,2 β ,3 β -bisabola-4,10-diene-9-one)-(2 $\rightarrow$ 5''')-curcumin;命名为姜萜素G。该化合物的姜黄素与倍半萜部分经过缀合形成呋喃五元环,尚未见已有文献报道类似结构,其可能的生源合成途径见图4。在本研究中,化合物1的手性碳(C-1/2/3/7)相对构型得到了初步确认,课题组正在累积化合物1质

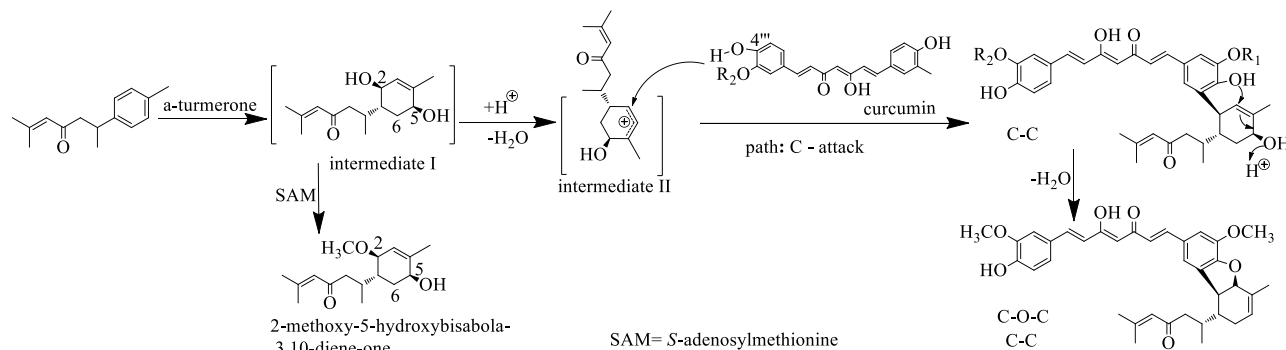


图4 化合物1可能的生源合成途径
Fig.4 Proposed biosynthetic pathway for compound 1

量,将在后续研究中通过X单晶衍射实验进一步确认化合物1的绝对构型。

参考文献

- [1] Syu W, Shen C, Don M, *et al*. Cytotoxicity of curcuminoids and some novel compounds from *Curcuma zedoaria* [J]. *J Nat Prod*, 1998, 61(12): 1531-1534.
- [2] Roth G N, Chandra A, Nair M G. Novel bioactivities of *Curcuma longa* constituents [J]. *J Nat Prod*, 1998, 61(4): 542-545.
- [3] Park S, Kim D S H L. Discovery of natural products from *Curcuma longa* that protect cells from beta-amyloid insult: A drug discovery effort against Alzheimer's disease [J]. *J Nat Prod*, 2002, 65(9): 1227-1231.
- [4] Li W, Wang S, Feng J, *et al*. Structure elucidation and NMR assignments for curcuminoids from the rhizomes of *Curcuma longa* [J]. *Magn Reson Chem*, 2009, 47(10): 902-908.
- [5] Jayaprakasha G K, Rao L J M, Sakariah K K. Chemistry and biological activities of *C. longa* [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2005, 16(12): 533-548.
- [6] Li W, Feng J, Xiao Y, *et al*. Three novel terpenoids from the rhizomes of *Curcuma longa* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2009, 11(6): 568-574.
- [7] Kim H Y, Park E J, Joe E, *et al*. Curcumin suppresses Janus Kinase-STAT inflammatory signaling through activation of Src homology 2 domain-containing tyrosine phosphatase 2 in brain microglia [J]. *J Immunol*, 2003, 171(11): 6072-6079.
- [8] Jayaprakasha G K, Rao L J, Sakariah K K. Antioxidant activities of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin [J]. *Food Chem*, 2006, 98(4): 720-724.
- [9] Kunnumakkara A B, Anand P, Aggarwal B B. Curcumin inhibits proliferation, invasion, angiogenesis and metastasis of different cancers through interaction with multiple cell signaling proteins [J]. *Cancer Lett*, 2008, 269(2): 199-225.
- [10] Shishodia S, Potdar P, Gairola C G, *et al*. Curcumin (diferuloylmethane) down-regulates cigarette smoke-induced NF- κ B activation through inhibition of I κ B kinase in human lung epithelial cells: Correlation with suppression of COX-2, MMP-9 and cyclin D1 [J]. *Carcinogenesis*, 2003, 24(7): 1269-1279.
- [11] 罗廷顺, 李洪文, 刘正文, 等. 姜黄素的提取分离与药理作用研究进展 [J]. *现代药物与临床*, 2011, 26(2): 102-107.
- [12] Pedersen U, Rasmussen P B, Lawesson S O. Synthesis of naturally occurring curcuminoids and related compounds [J]. *Liebigs Ann Chem*, 1985, 1985(8): 1557-1569.
- [13] Jiang H, Somogyi A, Jacobsen N E, *et al*. Analysis of curcuminoids by positive and negative electrospray ionization and tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2006, 20(6): 1001-1012.
- [14] Jiang H, Timmermann B N, Gang D R. Use of liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry to identify diarylheptanoids in turmeric (*Curcuma longa* L.) rhizome [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1111(1): 21-31.
- [15] Gao X M, Wang R R, Niu D Y, *et al*. Bioactive dibenzocyclooctadiene dibenzocyclooctadiene lignans from the stems of *Schisandra neglecta* [J]. *J Nat Prod*, 2013, 76(6): 1052-1057.