

细叶杜香叶中三萜类化学成分研究

张 扩, 赵 明*, 王美娇, 王 丹, 王金兰, 张树军

齐齐哈尔大学化学与化学工程学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006

摘要: **目的** 研究细叶杜香 *Ledum palustre* 叶中的三萜类化学成分及其细胞毒活性。**方法** 采用硅胶柱色谱、重结晶和 HPLC 等分离方法进行分离纯化, 并经波谱数据鉴定结构。采用 MTT 法研究化合物的细胞毒活性。**结果** 从细叶杜香叶中分离得到 9 个化合物, 分别鉴定为 2 α -羟基-9(11)-羊齿烯-3-酮 (**1**)、熊果醇 (**2**)、羽扇豆酮 (**3**)、 α -香树脂酮 (**4**)、熊果酸 (**5**)、羽扇豆醇 (**6**)、 α -香树脂醇 (**7**)、2 $\alpha,3\beta$ -二羟基-9(11)-羊齿烯 (**8**)、羊齿烯醇 (**9**)。**结论** 化合物 **1** 为新化合物, 命名为杜香酮, 化合物 **4**、**8** 和 **9** 系首次从细叶杜香中分离得到。细胞毒活性结果显示, 羊齿烯型三萜化合物 **1**、**8**、**9** 对人非小细胞肺癌细胞株 A549 和人白血病细胞株 K562 无明显抑制作用。

关键词: 细叶杜香; 三萜; 杜香酮; α -香树脂醇; 2 $\alpha,3\beta$ -二羟基-9(11)-羊齿烯; 羊齿烯醇; 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)06-1250-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.06.003

Triterpenoids isolated from leaves of *Ledum palustre*

ZHANG Kuo, ZHAO Ming, WANG Mei-jiao, WANG Dan, WANG Jin-lan, ZHANG Shu-jun

Institute of Chemistry and Chemical Engineering, Qiqihar University, Qiqihar 161006, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from the leaves of *Ledum palustre* and their antitumor activities. **Methods** The chemical constituents were isolated and purified by chromatography of silica gel column, recrystallization and HPLC, and their structures were elucidated by spectral analysis. The *in vitro* cytotoxic activities of the isolated compounds were studied by MTT method. **Results** Nine compounds were isolated and identified as ledumone (**1**), uvaol (**2**), lepenone (**3**), α -amyrenone (**4**), ursolic acid (**5**), lupeol (**6**), α -amyrin (**7**), fern-9(11)-ene-2 $\alpha,3\beta$ -diol (**8**), and fernenol (**9**). **Conclusion** Compound **1** is new named as ledumone, and compounds **4**, **8**, and **9** are isolated from *Ledum palustre* for the first time. Fernane type triterpene **1**, **8**, and **9** show no significant cytotoxicities against A549 and K562 cells.

Key words: *Ledum palustre* L.; triterpene; ledumone; α -amyrenone; fern-9(11)-ene-2 $\alpha,3\beta$ -diol; fernenol; cytotoxic activity

细叶杜香 *Ledum palustre* L. 又名喇叭茶、狭叶杜香等, 为杜鹃花科杜香属植物, 性辛、苦、寒, 主要以挥发油入药, 可单独使用或与其他中药配合使用, 具有扩张血管、止咳、平喘、抑制真菌、止痒及降压等功效^[1]。临床上用细叶杜香水提物治疗慢性气管炎、月经不调、流感、皮肤病、胃溃疡等症。在民间有用杜香叶制成药膏, 用于吸毒者戒毒, 其能有效地控制吸毒者的戒断反应, 且复吸率很低^[2]。国外民间用于治疗百日咳、痛风、风湿病、糜烂性湿疹, 亦用作发汗及麻醉剂^[3]。细叶杜香在我国大兴安岭林区有很大储量, 是东北地区重要的

资源植物^[4]。为进一步开发细叶杜香资源, 前期研究从细叶杜香全草中得到多种三萜类成分^[5], 本实验重点对细叶杜香叶中的三萜类成分进行研究, 分离得到 9 种三萜类化合物, 分别鉴定为 2 α -羟基-9(11)-羊齿烯-3-酮 (ledumone, **1**)、熊果醇 (uvaol, **2**)、羽扇豆酮 (lepenone, **3**)、 α -香树脂酮 (α -amyrenone, **4**)、熊果酸 (ursolic acid, **5**)、羽扇豆醇 (lupeol, **6**)、 α -香树脂醇 (α -amyrin, **7**)、2 $\alpha,3\beta$ -二羟基-9(11)-羊齿烯 [fern-9(11)-ene-2 $\alpha,3\beta$ -diol, **8**]、羊齿烯醇 (fernenol, **9**)。其中, 化合物 **1** 为新化合物, 命名为杜香酮; 化合物 **4**、**8**、**9** 为首次从细叶杜香中分离得到。

收稿日期: 2017-06-06

基金项目: 黑龙江省自然科学基金面上项目 (B201209)

作者简介: 张 扩, 男, 硕士生, 主要从事天然产物化学研究。E-mail: choukaku@163.com

*通信作者 赵 明, 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 主要从事天然产物化学研究。E-mail: qqhrzhaoming@163.com

1 仪器与材料

Bruker AV-600 核磁共振波谱仪(德国布鲁克公司); X-6 显微熔点测定仪(北京泰克仪器有限公司); Thermo UltiMate 3000 UPLC/Q-Exactive Orbitrap MS(美国赛默飞世尔公司); Agilent 6310 Ion Trap LC/MS 质谱仪(美国安捷伦公司); Frontier 型傅里叶变换红外光谱仪(美国 PE 公司); 半制备高效液相色谱仪(日本日立公司); Hitachi L-7100 输液泵, Hitachi L-3350 示差折光检测器, GL Sciences Inc., Inertsil PREP-ODS 不锈钢色谱柱(250 mm×10 mm, 5 μm); 柱色谱用硅胶为青岛海洋化工厂产品(200~300 目); 薄层色谱硅胶板为烟台化工厂生产, 有机溶剂为国药集团上海试剂厂产品, 其他试剂为分析纯。

细叶杜香叶 2015 年 9 月 12 日采于大兴安岭呼中林场, 室内阴干, 经齐齐哈尔大学裴世春教授鉴定为细叶杜香 *Ledum palustre* L. 的叶, 凭证标本(LPY-20150912) 收藏于齐齐哈尔大学天然产物研究室。

2 提取与分离

干燥细叶杜香叶 5.6 kg 每次用无水乙醇(32 L) 室温浸泡 3 d 后滤过, 重复 4 次, 合并浸出液减压浓缩至约 1.5 L, 加水 600 mL 混悬, 每次用正己烷 1.0 L 萃取, 重复萃取 5 次, 合并正己烷层减压浓缩至恒定质量, 得正己烷萃取物 331.0 g。水层减压浓缩除去乙醇, 加水 1.7 L 混悬, 每次用醋酸乙酯(1.0 L) 萃取 5 次, 合并醋酸乙酯层, 减压浓缩至恒定质量, 得醋酸乙酯萃取物 394.5 g。

取细叶杜香叶正己烷萃取物 10.0 g 用硅胶柱色谱分离, 依次用正己烷-醋酸乙酯(8:2、6:4) 的混合溶剂和醋酸乙酯洗脱, 得到 14 个组分(F1~F14)。F1(210.0 mg) 和 F9(372.0 mg) 经重结晶得到化合物 6(27.0 mg) 和 2(139.0 mg)。F2(2.1 g) 经硅胶柱色谱及 HPLC 分离纯化得化合物 3(2.2 mg) 和 4(11.0 mg)。F4(2.6 g) 经硅胶柱色谱及 HPLC 分离纯化得到化合物 5(4.1 mg)。F5(1.5 g) 经硅胶柱色谱及 HPLC 分离纯化得到化合物 1(5.5 mg)。F6(1.8 g) 经硅胶柱色谱及 HPLC 分离纯化得到化合物 7(32.5 mg)、8(22.1 mg)。

取细叶杜香叶醋酸乙酯萃取物 14.9 g 用硅胶柱色谱分离, 依次用正己烷-醋酸乙酯(8:2、2:8) 的混合溶剂、醋酸乙酯以及醋酸乙酯-甲醇(8:2)

的混合溶剂洗脱得到 10 个组分(f1~f10)。从 f6(2.9 g) 中取出 200 mg 经反相半制备 HPLC 分离纯化, 得到化合物 9(16.1 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 白色粉末(EtOAc), mp 146.0~148.0 °C; $[\alpha]_D^{25}$ -47.0° (c 0.25, MeOH); IR ν_{\max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 436, 1 731, 1 663; HR-ESI-MS m/z : 441.373 0 [M+H]⁺ (理论值 441.373 3), 推测分子式为 C₃₀H₄₈O₂; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) 在 δ 5.40 (1H, t, J = 2.4 Hz) 处给出 1 个双键碳上质子, 在 δ 4.58 (1H, dd, J = 12.6, 6.6 Hz) 处给出 1 个连氧碳上质子, 分别在 δ 1.38 (3H, s), 1.17 (3H, s), 1.12 (3H, s), 0.77 (3H, s), 0.76 (3H, s) 和 0.76 (3H, s) 处给出 6 个单峰甲基, 在 δ 0.89 (3H, d, J = 6.4 Hz) 和 0.83 (3H, d, J = 6.4 Hz) 处各给出 1 个双峰甲基, 推测可能为羊齿烯三萜类化合物。¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) 给出 30 个碳的吸收信号, 在 δ 216.6 处给出 1 个酮羰基, 在 δ 148.5 和 117.7 给出 2 个不饱和碳, 在 δ 69.4 给出 1 个连氧碳, 推测可能是含有酮羰基和 1 个双键的羊齿烯三萜醇。HMBC 谱中, H-23、H-24 同时与 C-3、C-4、C-5 相关, 表明羰基位于 3 位; 连氧碳上质子 δ 4.58 (1H, dd, J = 12.6, 6.6 Hz) 相对位于比较低场, 且与酮羰基碳 δ 216.6 和 C-1 相关, 表明羟基位于 2 位; 不饱和碳上质子 δ 5.40 (1H, t, J = 2.4 Hz) 与 C-8 相关, 并且 25-CH₃ 上质子 δ 1.38 (3H, s) 与不饱和季碳 δ 148.5 相关, 表明双键位于 9(11) 位; 另外由 H-27 与 C-12、C-13、C-14、C-18 相关, H-26 与 C-8、C-13、C-14、C-15 相关, H-28 与 C-16、C-17、C-18、C-21 相关, H-29 和 H-30 都与 C-21、C-22 相关, 进而推断化合物 1 的平面结构为 2-羟基-3-酮-9(11)-羊齿烯。

NOESY 谱(图 1) 中, H-2 与 H-24、H-25 相关, H-5 与 H-8、H-23 相关, H-8 与 H-27 相关, H-27 与 H-28 相关, H-18 与 H-21、H-26 相关。综合以上结果, 结合文献报道^[6-7] 确定化合物 1 的结构为 2α-羟基-9(11)-羊齿烯-3-酮, 经检索该化合物是 1 个未见报道的新化合物, 命名为杜香酮, 其核磁共振波谱数据见表 1。

化合物 2: 白色粉末, ESI-MS m/z : 443 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 5.13 (1H, t, J = 3.4 Hz, H-12), 3.52 (1H, d, J = 11.0 Hz, H-28a), 3.22 (1H, dd, J = 11.4, 4.9 Hz, H-3), 3.19 (1H, d, J = 11.0 Hz, H-28b), 1.09 (3H, s, H-27), 0.99 (3H, s, H-26), 0.98

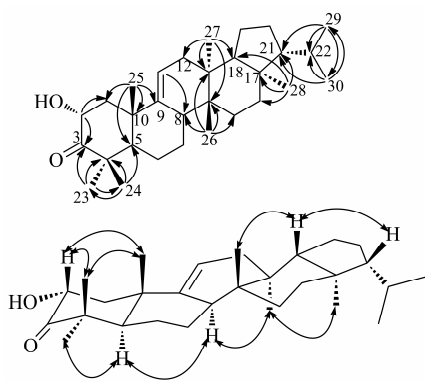


图 1 化合物 1 的主要 HMBC 和 NOESY 相关

Fig. 1 Key HMBC and NOESY correlations of compound 1

表 1 化合物 1 的核磁共振波谱数据

Table 1 NMR data of compound 1 in CDCl₃

碳位	δ_C (DEPT)	δ_H	碳位	δ_C (DEPT)	δ_H
1	49.9 (t)	2.63 (1H, dd, $J = 12.6, 6.6$ Hz), 1.43 (1H, m)	16	36.1 (t)	1.66 (1H, m), 1.40 (1H, m)
2	69.4 (d)	4.58 (1H, dd, $J = 12.6, 6.6$ Hz)	17	42.9 (s)	
3	216.6 (s)		18	51.9 (d)	1.56 (1H, m)
4	47.2 (s)		19	20.1 (t)	1.34 (1H, m), 1.30 (1H, m)
5	47.3 (d)	1.71 (1H, m)	20	28.2 (t)	1.83 (1H, m), 1.22 (1H, m)
6	19.1 (t)	1.78 (1H, m), 1.69 (1H, m)	21	59.7 (d)	0.98 (1H, m)
7	17.5 (t)	1.68 (1H, m), 1.42 (1H, m)	22	30.8 (d)	1.46 (1H, m)
8	39.7 (d)	2.06 (1H, m)	23	24.2 (q)	1.12 (3H, s)
9	148.5 (s)		24	21.6 (q)	1.17 (3H, s)
10	38.3 (s)		25	25.2 (q)	1.38 (3H, s)
11	117.7 (d)	5.40 (1H, t, $J = 2.4$ Hz)	26	15.4 (q)	0.76 (3H, s)
12	36.6 (t)	1.62 (1H, m), 1.55 (1H, m)	27	15.8 (q)	0.77 (3H, s)
13	36.8 (s)		28	14.0 (q)	0.75 (3H, s)
14	37.7 (s)		29	22.1 (q)	0.89 (3H, d, $J = 6.4$ Hz)
15	29.3 (t)	1.28 (1H, m), 1.41 (1H, m)	30	23.0 (q)	0.83 (3H, d, $J = 6.4$ Hz)

化合物 3: 白色粉末, ESI-MS m/z : 425 $[M+H]^+$ 。
¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 4.69 (1H, s, H-29a), 4.58 (1H, s, H-29b), 1.68 (3H, s, H-30), 1.07 (6H, s, H-23, 26), 1.03 (3H, s, H-24), 0.96 (3H, s, H-27), 0.94 (3H, s, H-25), 0.80 (3H, s, H-28); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 218.2 (C-3), 150.9 (C-20), 109.4 (C-29), 55.0 (C-5), 49.8 (C-9), 48.3 (C-18), 48.0 (C-19), 47.4 (C-4), 43.0 (C-17), 42.9 (C-14), 40.8 (C-8), 40.0 (C-22), 39.6 (C-1), 38.2 (C-13), 36.9 (C-10), 35.5 (C-16), 34.2 (C-2), 33.6 (C-7), 29.8 (C-21), 27.4 (C-15), 26.7 (C-23), 25.2 (C-12), 21.5

(3H, s, H-25), 0.94 (3H, s, H-23), 0.93 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-29), 0.81 (3H, d, $J = 5.9$ Hz, H-30), 0.78 (3H, s, H-24); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 138.7 (C-13), 125.0 (C-12), 79.0 (C-3), 70.0 (C-28), 55.2 (C-5), 54.0 (C-18), 47.6 (C-9), 42.0 (C-14), 40.0 (C-8), 39.4 (C-19), 39.4 (C-20), 38.8 (C-1), 38.8 (C-4), 38.0 (C-17), 36.9 (C-10), 35.2 (C-22), 32.8 (C-7), 30.6 (C-21), 28.1 (C-23), 27.2 (C-2), 26.0 (C-15), 23.4 (C-11), 23.4 (C-27), 23.3 (C-16), 21.4 (C-30), 18.3 (C-6), 17.4 (C-26), 16.8 (C-29), 15.7 (C-25), 15.6 (C-24)。以上数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 2 为熊果醇。

(C-11), 21.1 (C-24), 19.7 (C-6), 19.3 (C-30), 18.0 (C-28), 16.0 (C-25), 15.8 (C-26), 14.5 (C-27)。以上数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 3 为羽扇豆酮。

化合物 4: 白色粉末, ESI-MS m/z : 425 $[M+H]^+$ 。
¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 5.14 (1H, t, $J = 3.6$ Hz, H-12), 1.10 (3H, s, H-23), 1.08 (6H, s, H-25, 27), 1.06 (6H, s, H-24, 26), 0.92 (3H, d, $J = 5.9$ Hz, H-30), 0.81 (3H, s, H-28), 0.79 (3H, d, $J = 5.5$ Hz, H-29); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 217.9 (C-3), 139.8 (C-13), 124.2 (C-12), 59.2 (C-18), 55.3 (C-5), 47.4 (C-4), 46.9 (C-9), 42.2 (C-14), 41.5 (C-22), 40.0

(C-8), 39.7 (C-20), 39.6 (C-19), 39.5 (C-1), 36.6 (C-10), 34.2 (C-27), 33.8 (C-17), 32.5 (C-7), 31.3 (C-21), 28.8 (C-15), 28.1 (C-23), 26.6 (C-16), 23.6 (C-11), 23.2 (C-27), 21.5 (C-24), 21.4 (C-30), 19.7 (C-6), 17.5 (C-29), 16.8 (C-26), 15.5 (C-25)。以上数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 4 为 α -香树脂酮。

化合物 5: 白色粉末, ESI-MS m/z : 457 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 5.32 (1H, t, J = 3.7 Hz, H-12), 3.22 (1H, dd, J = 11.1, 4.8 Hz, H-3), 1.08 (3H, s, H-27), 0.99 (3H, s, H-23), 0.95 (3H, d, J = 6.1 Hz, H-30), 0.93 (3H, s, H-25), 0.86 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-29), 0.79 (3H, s, H-24), 0.77 (3H, s, H-26); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 180.1 (C-28), 137.9 (C-13), 125.9 (C-12), 79.0 (C-3), 55.2 (C-5), 52.7 (C-18), 47.9 (C-17), 47.5 (C-9), 42.0 (C-14), 39.5 (C-8), 38.8 (C-4), 38.8 (C-20), 38.6 (C-1), 37.1 (C-19), 37.0 (C-10), 36.7 (C-22), 33.0 (C-7), 30.6 (C-21), 28.1 (C-23), 28.0 (C-15), 27.2 (C-2), 24.2 (C-16), 23.6 (C-27), 23.3 (C-11), 21.2 (C-30), 18.3 (C-6), 17.1 (C-26), 17.0 (C-29), 15.6 (C-24), 15.5 (C-25)。以上数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 5 为熊果酸。

化合物 6: 白色粉末, ESI-MS m/z : 427 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 4.68 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-29a), 4.58 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-29b), 3.20 (1H, dd, J = 11.4, 4.8 Hz, H-3), 1.68 (3H, s, H-30), 1.03 (3H, s, H-26), 0.97 (3H, s, H-23), 0.94 (3H, s, H-27), 0.83 (3H, s, H-25), 0.79 (3H, s, H-28), 0.76 (3H, s, H-24); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 151.0 (C-20), 109.4 (C-29), 79.0 (C-3), 55.3 (C-5), 50.4 (C-9), 48.3 (C-18), 48.0 (C-19), 43.0 (C-17), 42.8 (C-14), 40.8 (C-8), 40.0 (C-22), 38.9 (C-4), 38.7 (C-1), 38.0 (C-13), 37.2 (C-10), 35.6 (C-16), 34.3 (C-7), 29.8 (C-21), 28.0 (C-23), 27.4 (C-2), 27.4 (C-15), 25.1 (C-12), 20.9 (C-11), 19.3 (C-30), 18.3 (C-6), 18.0 (C-28), 16.2 (C-25), 16.0 (C-26), 15.4 (C-24), 14.6 (C-27)。以上数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 6 为羽扇豆醇。

化合物 7: 白色粉末, ESI-MS m/z : 427 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 5.13 (1H, t, J = 3.0 Hz, H-12), 3.23 (1H, dd, J = 11.4, 4.8 Hz, H-3), 1.07 (1H, s, H-27), 1.01 (3H, s, H-26), 0.99 (3H, s, H-23), 0.95 (3H, s, H-25), 0.92 (3H, d, J = 6.0 Hz, H-30),

0.80 (3H, s, H-24), 0.79 (3H, s, H-28), 0.79 (3H, d, J = 6.0 Hz, H-29); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 139.6 (C-13), 124.4 (C-12), 79.0 (C-3), 59.1 (C-18), 55.2 (C-5), 47.7 (C-9), 42.0 (C-14), 41.5 (C-22), 40.0 (C-8), 39.7 (C-19), 39.6 (C-20), 38.8 (C-1), 38.8 (C-4), 36.9 (C-10), 33.8 (C-17), 32.9 (C-7), 31.3 (C-21), 28.8 (C-15), 28.1 (C-28), 26.6 (C-2), 26.6 (C-16), 23.4 (C-11), 23.3 (C-27), 21.4 (C-30), 18.4 (C-6), 17.5 (C-29), 16.9 (C-26), 15.7 (C-25), 15.6 (C-24)。以上数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 7 为 α -香树脂醇。

化合物 8: 白色粉末 (醋酸乙酯), ESI-MS m/z : 443 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 5.34 (1H, t, J = 2.4 Hz, H-11), 3.68 (1H, dt, J = 9.6, 4.2 Hz, H-2), 2.98 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-3), 1.13 (3H, s, H-25), 1.00 (3H, s, H-23), 0.90 (3H, s, H-24), 0.89 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-29), 0.83 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-30), 0.81 (3H, s, H-27), 0.76 (3H, s, H-28), 0.73 (3H, s, H-26); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 150.1 (C-9), 116.7 (C-11), 83.2 (C-3), 69.2 (C-2), 59.7 (C-21), 51.9 (C-18), 47.2 (C-1), 44.3 (C-5), 42.9 (C-17), 39.8 (C-8), 39.2 (C-4), 39.1 (C-10), 37.7 (C-14), 36.8 (C-13), 36.7 (C-12), 36.1 (C-16), 30.8 (C-22), 29.3 (C-15), 28.2 (C-20), 27.9 (C-23), 26.2 (C-25), 23.0 (C-30), 22.1 (C-29), 20.1 (C-19), 18.9 (C-6), 17.8 (C-7), 16.2 (C-24), 15.9 (C-27), 15.4 (C-26), 14.0 (C-28)。以上数据与文献报道一致^[6], 故鉴定化合物 8 为 2 α ,3 β -二羟基-9(11)-羊齿烯。

化合物 9: 白色粉末 (醋酸乙酯), ESI-MS m/z : 427 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 5.29 (1H, t, J = 2.4 Hz, H-11), 3.20 (1H, dd, J = 10.8, 5.4 Hz, H-3), 1.06 (3H, s, H-25), 0.96 (3H, s, H-23), 0.88 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-29), 0.86 (3H, s, H-24), 0.82 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-30), 0.80 (3H, s, H-27), 0.75 (3H, s, H-28), 0.72 (3H, s, H-26); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 151.1 (C-9), 116.2 (C-11), 79.2 (C-3), 59.7 (C-21), 52.0 (C-18), 44.3 (C-5), 43.0 (C-17), 40.0 (C-8), 39.4 (C-4), 39.3 (C-1), 37.8 (C-10), 37.7 (C-14), 36.7 (C-12), 36.7 (C-13), 36.2 (C-16), 30.8 (C-22), 29.3 (C-15), 28.2 (C-2), 28.1 (C-20), 27.5 (C-23), 25.2 (C-25), 23.0 (C-30), 22.1 (C-29), 20.1 (C-19), 19.2 (C-6), 18.0 (C-7), 15.9 (C-24), 15.4 (C-26), 15.1 (C-27), 14.0 (C-28)。以上数据与文献报

道一致^[7], 故鉴定化合物 9 为羊齿烯醇。

4 体外肿瘤细胞毒活性实验

在化学成分研究的基础上, 本研究还采用 MTT 法对分离得到的羊齿烯型三萜化合物 1、8、9 进行了体外肿瘤细胞毒活性的筛选; 测试细胞株为人非小细胞肺癌细胞株 A549 及人白血病细胞株 K562; 阿霉素 (相对分子质量为 579.99) 为阳性对照; 实验样品每个浓度平行 3 次, 重复实验 2 次, 测试吸光度 (A) 值, 并按照公式计算抑制率。

抑制率 = (对照组 A 值 - 样品组 A 值) / 对照组 A 值

实验结果显示, 在 10 $\mu\text{mol/L}$ 的终浓度下, 化合物 1、8、9 和阿霉素对 A549 细胞株抑制率分别为 (4.75 \pm 0.62) %、(9.57 \pm 2.62) %、(5.70 \pm 0.27) %、(70.97 \pm 2.72) %; 在 10 $\mu\text{mol/L}$ 的终浓度下, 化合物 1、8、9 和阿霉素对 K562 细胞株抑制率分别为 0、(7.92 \pm 4.48) %、(12.82 \pm 5.25) %、(70.67 \pm 4.58) %。表明化合物 1、8、9 对人非小细胞肺癌细胞株 A549 和人白血病细胞株 K562 均无明显抑制作用。

志谢: 体外细胞毒活性测定由贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室药理与生物活性研究中心完成。

参考文献

[1] 徐志远, 郭彩云. 长白山植物药志 [M]. 长春: 吉林人民出版社, 1980.

- [2] 韩光铨. 一种纯中药戒毒药物及其制备方法: 中国, CN02109158.7 [P]. 2004-06-02.
- [3] 何晓燕, 王大军. 人工驯化细叶杜香镇咳祛痰作用 [J]. 东北林业大学学报, 2010, 38(2): 107-108.
- [4] 马雪梅, 毛子军, 杨永福, 等. 资源植物杜香的开发利用综述 [J]. 东北林业大学学报, 2003, 31(6): 52-54.
- [5] 赵明, 陈丽杰, 裴世春, 等. 细叶杜香化学成分研究 (I) [J]. 中草药, 2014, 45(11): 1532-1535.
- [6] Ageta H, Agata T. Ericaceous constituents: Seventeen triterpenoids isolated from the buds of *Rhododendron macrocephalum* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1984, 32(1): 369-372.
- [7] 李金杰, 王阿利, 院珍珍, 等. 云南兔儿风中的三萜类成分 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(22): 3918-3922.
- [8] Siddiqui S, Hafeez F, Begum S, *et al.* Kaneric acid, A new triterpene from the leaves of *Nerium Oleander* [J]. *J Nat Prod*, 1986, 49(6): 1086-1090.
- [9] 李泠鸽, 孙珍, 尚小雅, 等. 小薊三萜类化合物成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(7): 951-955.
- [10] 丁秀娟, 陈重, 李夏, 等. 白头翁化学成分研究 [J]. 中草药, 2010, 41(12): 1952-1954.
- [11] Imam S, Azhar L, Hasan M, *et al.* Two triterpenes lupanone and lupeol isolated and identified from *Tamarindus indica* Linn. [J]. *Pak J Pharm Sci*, 2007, 20(2): 125-127.
- [12] 李小第, 姜会敏, 霍雅玉, 等. 刺玫果果肉石油醚层化学成分及胰脂酶和 α -糖苷酶抑制活性研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(6): 1011-1015.