

辣木茎木脂素类和萜类化学成分及其活性研究

储春霞^{1,2}, 黄圣卓², 梅文莉², 徐幸莲¹, 戴好富^{2*}

1. 南京农业大学食品科技学院, 江苏 南京 210000

2. 中国热带农业科学院热带生物技术研究所 海南省黎药天然产物研究与开发重点实验室, 海南 海口 571101

摘要: 目的 研究辣木 *Moringa oleifera* 中的木脂素类和萜类化学成分。方法 采用各种柱色谱与高效液相色谱相结合的方法进行分离纯化, 通过波谱数据鉴定化合物结构; 分别采用 MTT 法、PNPG 法和 Ellman 比色法对化合物的抗肿瘤活性、 α -葡萄糖苷酶抑制活性及乙酰胆碱酯酶抑制活性进行测试。结果 从辣木韧皮部的乙醇提取物的醋酸乙酯萃取部分共分离得到 12 个化合物, 包括 8 个木脂素类和 4 个萜类化合物, 分别鉴定为落叶松树脂醇(1)、3-(α ,4-二羟基-3-甲氧基苯甲基)-4-(羟基-3-甲氧基苯甲基) 四氢呋喃(2)、(7S,8R)-二氢去氢二愈创木基醇(3)、麦迪奥脂素(4)、二乙基松脂(5)、松脂醇(6)、桉叶吴茱萸素 B(7)、愈创木基甘油- β -O-4'-二氢松柏醇(8)、三环蛇麻二醇(9)、9 α -羟基-2 β -甲氧基丁烷(10)、3 β -羟基-齐墩果-11,13(18)-二烯-28-羧酸(11)和齐墩果酸(12)。活性测试结果表明, 化合物 12 具有较明显的抑制 BEL-7402 和 SGC-7901 细胞增殖的作用, 化合物 1 和 2 具有 α -葡萄糖苷酶抑制活性。结论 化合物 1~11 均为首次从辣木属植物中分离得到, 辣木具有开发成抗肿瘤和糖尿病功能产品的潜力。

关键词: 辣木; 木脂素类; 萜类; 抗肿瘤活性; α -葡萄糖苷酶抑制活性; 落叶松树脂醇; (7S,8R)-二氢去氢二愈创木基醇; 麦迪奥脂素; 桉叶吴茱萸素 B; 齐墩果酸

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)21-5198-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.21.010

Studies on chemical constituents and activities of lignans and terpenes from stem of *Moringa oleifera*

CHU Chun-xia^{1,2}, HUANG Sheng-zhuo², MEI Wen-li², XU Xing-lian¹, DAI Hao-fu²

1. College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210000, China

2. Hainan Key Laboratory for Research and Development of Natural Products from Li Folk Medicine, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China

Abstract: **Objective** To study lignans and terpenes of *Moringa oleifera* Lam. **Methods** The compounds were isolated and purified by various column chromatographic techniques and High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The structures of the compounds were identified through the combined analysis of physicochemical properties and spectroscopic evidence. The antineoplastic activity, α -glucosidase and acetylcholinesterase inhibitory activity of compounds were evaluated by MTT method, PNPG method and Ellman colorimetric method, respectively. **Results** Twelve compounds were isolated from *M. oleifera* by various chromatographic methods and were identified as lariciresinol (1), 3-(α ,4-dihydroxy-3-methoxybenzyl)-4-(4-hydroxy-3-methoxybenzyl) tetrahydrofuran (2), (7S,8R)-dihydrodehydrodiconiferyl alcohol (3), macadiol (4), diethyl pinorensinol (5), pinorensinol (6), evofolin B (7), erythro-guaiacylglycerol- β -O-4'-dihydroconiferyl alcohol (8), tricyclohumuladiol (9), 9 α -hydroxy-2 β -methoxycyclohexane (10), 3 β -hydroxy-oleana-11,13(18)-dien-28-oic acid (11), oleanolic acid (12). Compounds 12 showed antineoplastic activity. Compound 1 and 2 exhibited α -glucosidase inhibitory activity. **Conclusion** Compounds 1—11 are separated from *Moringa* Adans for the first time. This plant has the potential of developing functional product for their antineoplastic

收稿日期: 2019-03-17

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金资助(CARS-21); 海南省自然科学基金创新研究团队项目(2017CXTD020); 中国热带农业科学院基本科研业务费专项资金(1630012017010); 中国热带农业科学院热带生物技术研究所基本科研业务费专项(ITBB2015RC03)

作者简介: 储春霞(1994—), 女, 硕士在读, 主要从事天然产物研究。Tel: 18761872927 E-mail: 2395652110@qq.com

*通信作者 戴好富(1974—), 男, 研究员, 硕士生导师, 主要从事天然产物研究。E-mail: daihaofu@itbb.org.cn

and α -glucosidase inhibitory activity.

Key words: *Moringa oleifera* Lam.; lignans; terpenes; antitumor activity; α -glucosidase inhibitory activity; (7*S*,8*R*)-dihydrodehydrodiconiferyl alcohol; macadiol; evofolin B; oleanolic acid

辣木 *Moringa oleifera* Lam. 为辣木科 (Moringaceae) 辣木属 *Moringa* Adans. 多年生小乔木植物, 原产地位于印度北部喜马拉雅山南麓^[1]。我国主要在云南、海南、广东、广西、台湾、贵州等南方省区引种栽培辣木^[2]。由于辣木的根、茎、叶、花、种子、果荚和树皮均含有丰富的营养物质和药用成分, 在印度及非洲, 辣木常被用作治疗或预防多种疾病, 如糖尿病、高血压、消化器官肿瘤疾病、皮肤病、贫血、骨骼疾病以及免疫力低下等的传统药材, 因此又被誉为“奇迹之树”^[3]。近年来, 辣木的活性成分、营养价值、保健功能及其对人体健康的作用机制等方面备受关注。辣木的化学成分也有见报道, 化合物类型涉及黄酮类、酚类、脂肪酸类、糖及其苷类、生物碱类、萜类和甾体类物质等^[4-10]。但目前对辣木茎的研究相对较少, 为了进一步探知该植物的生物活性成分, 本实验采用溶剂萃取和色谱分离技术等方法对辣木茎韧皮部醋酸乙酯萃取部位进行化学成分分离, 得到 12 个化合物, 分别鉴定为落叶松树脂醇 (lariciresinol, **1**)、3-(α ,4-二羟基-3-甲氧基苯甲基)-4-(羟基-3-甲氧基苯甲基) 四氢呋喃 [3-(α ,4-dihydroxy-3-methoxybenzyl)-4-(4-hydroxy-3-methoxybenzyl)tetrahydrofuran, **2**]、(7*S*,8*R*)-二氢去氢二愈创木基醇 [(7*S*,8*R*)-dihydrodehydrodiconiferyl alcohol, **3**]、麦迪奥脂素 (macadiol, **4**)、二乙基松脂 (diethyl pinosresinol, **5**)、松脂醇 (pinosresinol, **6**)、桉叶吴茱萸素 B (evofolin B, **7**)、愈创木基甘油- β -O-4'-二氢松柏醇 (erythroguaiacylglycerol- β -O-4'-dihydroconiferyl alcohol, **8**)、三环蛇麻二醇 (tricyclohumuladiol, **9**)、9 α -羟基-2 β -甲氧基丁烷 (9 α -hydroxy-2 β -methoxyclovane, **10**)、3 β -羟基-齐墩果-11,13(18)-二烯-28-羧酸 [3 β -hydroxyoleana-11,13(18)-dien-28-oic acid, **11**]、齐墩果酸 (oleanolic acid, **12**)。其中化合物 **1**~**11** 均为首次从辣木属植物中分离得到, 活性测试结果显示, 化合物 **12** 具有抑制肿瘤活性, 化合物 **1** 和 **2** 具有 α -葡萄糖苷酶抑制活性。

1 仪器与材料

Autospec 300 质谱仪和 Bruker AV-500 核磁共振仪 (Bruker 公司); JMSDX-303 型质谱仪 (日本电

子公司); Agilent Technologies 1260 安捷伦分析型高效液相色谱仪 (美国 Agilent Technologies); SUMMIT p680A 戴安半制备型高效液相色谱仪 (美国 DIONEX 公司); ELX-800 酶标仪 (美国宝特公司); SHZ-D III 循环真空泵 (上海隆拓仪器设备有限公司); N-1000 2L 立式旋转蒸发仪 (上海爱朗仪器有限公司); BP221S 万分之一电子秤 (北京赛多利斯天平有限公司); 超净工作台 (上海博讯实业有限公司医疗设备厂); Q/BKYY31-2000 电恒温鼓风干燥箱 (上海跃进医疗器械厂); HH.CP-01w-II 二氧化碳培养箱 (上海慧泰仪器制造有限公司); HVE-50 高压蒸汽灭菌锅 (日本 HIRAYAMA 公司), 反相硅胶 C₁₈ (Fuji Silysia Chemical Co., Ltd.); 薄层色谱硅胶板 GF₂₅₄ (青岛海洋化工); 核磁管 (河流科技有限公司); MCI (日本三菱化工); Sephadex LH-20 (General Electric Co.); COSMOSIL 5C₁₈-MS-II Column (日本半井公司); 硅胶 H、硅胶 (60~80、200~300 目, 青岛海洋化工); 盐酸阿霉素 (北京百灵威科技有限公司); PNP 和 α -糖苷酶 (Sigma Chemical); RPMI 1640 培养基、磷酸盐缓冲液 (PBS) 和四甲基偶氮唑盐 (MTT) (北京欣经科公司); 人慢性髓系白血病 K562 细胞、人肝癌 BEL-7402 细胞和人胃癌 SGC-7901 细胞 (中国科学院上海生命科学研究院); 人肺癌 A549 细胞和人宫颈癌 HeLa 细胞 (中南大学实验动物中心细胞库)。

本实验样品采摘于海南省琼海市, 经中国热带农业科学院热带生物技术研究所王军博士鉴定为辣木科辣木属植物辣木 *Moringa oleifera* Lam. 的茎, 标本 (HUANG00037) 保存于中国热带农业科学院热带生物技术研究所天然产物化学研究室。

2 提取与分离

新鲜的辣木茎剥皮、切片后置于 60 °C 烘箱烘干, 得干燥的辣木茎韧皮部 (2.2 kg), 粉碎, 以 95% 的乙醇 (10 L) 浸泡提取 3 次, 每次常温条件下避光浸泡 5 d, 提取液 45 °C 减压浓缩成浸膏, 得到辣木茎的韧皮部醇提物浸膏。将浸膏混悬于水中, 依次用石油醚和醋酸乙酯各萃取 3 次, 减压回收各个萃取部分得石油醚部位和醋酸乙酯部位 (48.0 g)。

醋酸乙酯部位(48.0 g)经甲醇-醋酸乙酯溶解, 60~80 目硅胶(90.0 g)拌样, 经硅胶(200~300 目)减压柱色谱, 以石油醚-醋酸乙酯(10:1、10:2、10:3、10:4、10:6、10:8、1:1、1:2、1:4、1:8、0:1)及丙酮梯度洗脱, 每 500 mL 收集一瓶, 所得流分经薄层色谱(TLC)检测, 合并相似部分, 最终得到 10 个流分(Fr. 1~10)。

Fr. 3(274.3 mg)经反相柱以甲醇-水(3:7→1:0)梯度洗脱, 得到 7 个流分(Fr. 3-1~3-7)。Fr. 3-5(16.7 mg)经半制备 HPLC(C_{18} 色谱柱, 85%甲醇洗脱)纯化, 得到化合物 **11**(t_R = 21.23 min, 1.3 mg)和 **12**(t_R = 14.74 min, 1.7 mg)。

Fr. 6(230.9 mg)经反相柱以甲醇-水(3:7→1:0)梯度洗脱, 得到 7 个流分(Fr. 6-1~6-7)。Fr. 6-2(26 mg)经硅胶柱色谱氯仿-甲醇(370:1→100:1), 得到化合物 **6**(4.4 mg)。

Fr. 7(937.8 mg)经反相柱以甲醇-水(3:7→1:0)梯度洗脱, 得到 13 个流分(Fr. 7-1~7-13)。Fr. 7-9(21.7 mg)经半制备 HPLC(C_{18} 色谱柱, 40%甲醇洗脱)纯化, 得到化合物 **4**(t_R = 14.25 min, 2.1 mg)和 **5**(t_R = 10.45 min, 1.7 mg)。

Fr. 8(842.7 mg)经凝胶柱色谱 Sephadex LH-20(氯仿-甲醇 1:1)去除小分子杂质, 再经反相柱以甲醇-水(3:7→1:0)梯度洗脱, 得到 18 个流分(Fr. 8-1~8-18)。Fr. 8-10(20.3 mg)经硅胶柱色谱(氯仿-甲醇 70:1), 得到化合物 **1**(7.3 mg)。Fr. 8-6(7.4 mg)经半制备 HPLC(C_{18} 色谱柱, 27%甲醇洗脱)纯化, 得到化合物 **7**(t_R = 15.31 min, 2.7 mg)。Fr. 8-8(14.3 mg)经半制备 HPLC(C_{18} 色谱柱, 35%甲醇洗脱)纯化, 得到化合物 **8**(t_R = 12.14 min, 2.2 mg)。

Fr. 9(410.7 mg)经凝胶柱色谱 Sephadex LH-20(氯仿-甲醇 1:1)去除小分子杂质, 再经反相柱以甲醇-水(3:7→1:0)梯度洗脱, 得到 10 个流分(Fr. 9-1~9-10)。Fr. 9-8(37.8 mg)经硅胶柱色谱(氯仿-甲醇 300:1), 得到化合物 **10**(1.3 mg)。

Fr. 10(1.5 g)经反相柱以甲醇-水(3:7→1:0)梯度洗脱, 得到 20 个流分(Fr. 10-1~10-20)。Fr. 10-10(100 mg)经硅胶柱色谱氯仿-甲醇(70:1→30:1), 得到 5 个亚流分(Fr. 10-10-1~10-10-5)。Fr. 10-10-5(10.6 mg)经半制备 HPLC(C_{18} 色谱柱, 40%甲醇洗脱)纯化, 得到化合物 **3**(t_R = 16.20 min, 1.2 mg)。Fr. 10-11(209.3 mg)经硅胶柱色谱氯仿-

甲醇(45:1→1:1), 得到 4 个亚流分(Fr. 10-11-1~10-11-4)。Fr. 10-11-2(7.3 mg)经半制备 HPLC(C_{18} 色谱柱, 40%甲醇洗脱)纯化, 得到化合物 **2**(t_R = 20.15 min, 2.5 mg)。Fr. 10-16(100.5 mg)经硅胶柱色谱氯仿-甲醇(200:1), 得到 2 个亚流分(Fr. 10-16-1~10-16-2)。Fr. 10-16-2(2.6 mg)经凝胶柱色谱 Sephadex LH-20(甲醇)得到化合物 **9**(1.5 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色无定形粉末(甲醇); ESI-MS m/z : 383.1 $[M+Na]^+$; $C_{20}H_{24}O_4$; 1H -NMR (500 MHz, MeOD) δ : 6.92 (1H, d, J = 1.1 Hz, H-2), 6.76 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5), 6.78 (1H, dd, J = 1.1, 8.0 Hz, H-6), 4.75 (1H, d, J = 7.1 Hz, H-7), 2.35~2.42 (1H, m, H-8), 3.84 (1H, dd, J = 4.3, 10.9 Hz, H-9a), 3.64 (1H, dd, J = 6.5, 10.9 Hz, H-9b), 6.81 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2'), 6.73 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 6.66 (1H, dd, J = 1.8, 8.0 Hz, H-6'), 2.94 (1H, dd, J = 4.8, 13.4 Hz, H-7'a), 2.50 (1H, dd, J = 11.3, 13.4 Hz, H-7'b), 2.71~2.78 (1H, m, H-8'), 4.00 (1H, dd, J = 6.3, 8.5 Hz, H-9'a), 3.74 (1H, dd, J = 5.6, 8.5 Hz, H-9'b), 3.85 (3H, s, 3-OCH₃), 3.86 (3H, s, 3'-OCH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, MeOD) δ : 134.3 (s, C-1), 109.2 (d, C-2), 147.6 (s, C-3), 145.6 (s, C-4), 114.5 (d, C-5), 118.4 (d, C-6), 82.5 (d, C-7), 52.7 (C-8), 59.1 (t, C-9), 132.1 (s, C-1'), 112.0 (d, C-2'), 147.6 (s, C-3'), 144.4 (s, C-4'), 114.7 (d, C-5'), 120.7 (d, C-6'), 32.2 (t, C-7'), 42.5 (d, C-8'), 72.1 (t, C-9'), 54.9 (q, 3-OCH₃), 54.9 (q, 3'-OCH₃)。以上数据与文献对照基本一致^[11], 故鉴定化合物 **1** 为落叶松树脂醇。

化合物 **2**: 黄色胶状物(甲醇); EI-MS m/z : 360.1 $[M]^+$; 分子式 $C_{20}H_{24}O_6$; 1H -NMR (500 MHz, MeOD) δ : 7.04 (1H, d, J = 1.7 Hz, H-2), 6.79 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-5), 6.84 (1H, dd, J = 1.7, 8.1 Hz, H-6), 4.77 (1H, d, J = 4.5 Hz, H-7), 3.12~3.16 (1H, m, H-8), 4.23~4.29 (2H, m, H-9a, 9'a), 3.86~3.88 (2H, m, H-9b, 9'b), 6.97 (1H, d, J = 1.7 Hz, H-2'), 6.76 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-5'), 6.87 (1H, dd, J = 1.7, 8.1 Hz, H-6'), 3.75 (1H, dd, J = 4.1, 11.8 Hz, H-7'a), 3.50 (1H, dd, J = 5.4, 11.8 Hz, H-7'b), 2.13~2.22 (1H, m, H-8'), 3.90 (3H, s, 3-OCH₃), 3.88 (3H, s, 3'-OCH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, MeOD) δ : 133.8 (s, C-1), 111.9 (d, C-2), 149.1 (s, C-3), 147.4 (s, C-4), 116.2 (d, C-5), 120.9 (d, C-6), 87.3 (d, C-7), 53.9 (d, C-8), 72.9 (t,

C-9), 136.8 (s, C-1'), 111.1 (d, C-2'), 148.8 (s, C-3'), 147.1 (s, C-4'), 116.0 (d, C-5'), 120.3 (d, C-6'), 62.1 (t, C-7'), 49.5 (d, C-8'), 72.8 (t, C-9'), 56.5 (q, 3-OCH₃), 56.6 (q, 3'-OCH₃)。以上数据与文献对照基本一致^[12], 故鉴定化合物 **2** 为 3-(α ,4-二羟基-3-甲氧基苯甲基)-4-(羟基-3-甲氧基苯甲基) 四氢呋喃。

化合物 **3**: 无定形粉末 (甲醇); ESI-MS m/z : 383.3 [M+Na]⁺; 分子式 C₂₀H₂₄O₆; ¹H-NMR (500 MHz, MeOD) δ : 6.97 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2), 6.78 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5), 6.84 (1H, dd, J = 1.8, 8.2 Hz, H-6), 5.51 (1H, d, J = 6.2 Hz, H-7), 3.46~3.51 (1H, m, H-8), 3.85 (1H, dd, J = 5.1, 11.1 Hz, H-9a), 3.77 (1H, dd, J = 7.2, 11.1 Hz, H-9b), 6.75 (2H, s, H-2'/6'), 2.64 (2H, t, J = 7.6 Hz, H-7'), 1.80~1.87 (2H, m, H-8'), 3.59 (2H, t, J = 6.5 Hz, H-9'), 3.84 (3H, s, 3-OCH₃), 3.87 (3H, s, 3'-OCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, MeOD) δ : 133.4 (s, C-1), 109.1 (d, C-2), 147.7 (s, C-3), 146.1 (s, C-4), 114.7 (d, C-5), 118.3 (d, C-6), 87.6 (d, C-7), 54.05 (d, C-8), 63.6 (t, C-9), 135.5 (s, C-1'), 112.7 (d, C-2'), 143.8 (s, C-3'), 146.1 (C-4'), 128.5 (s, C-5'), 116.5 (d, C-6'), 31.5 (t, C-7'), 34.4 (t, C-8'), 60.8 (t, C-9'), 55.34 (q, 3-OCH₃), 54.96 (q, 3'-OCH₃)。以上数据与文献对照基本一致^[13], 故鉴定化合物 **3** 为 (7S,8R)-二氢去氢二愈创木基醇。

化合物 **4**: 淡黄色颗粒 (氯仿); ESI-MS m/z : 411.4 [M+Na]⁺; 分子式 C₂₁H₂₄O₇; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 6.92 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2), 6.92 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-3), 6.84 (1H, dd, J = 1.6, 8.2 Hz, H-6), 4.77 (1H, J = 4.6 Hz, H-7), 3.08~3.17 (2H, m, H-8, 8'), 4.25~4.32 (2H, m, H-9a, 9'a), 3.89~3.92 (2H, m, H-9b, 9'b), 6.60 (2H, s, H-2', 6'), 4.74 (1H, J = 4.6 Hz, H-7'), 3.93 (9H, s, 3', 5, 5'-OCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 145.3 (s, C-1), 108.6 (d, C-2), 114.3 (d, C-3), 132.9 (s, C-4), 146.7 (s, C-5), 118.9 (d, C-6), 85.8 (d, C-7), 54.4 (d, C-8), 71.6 (t, C-9), 134.3 (s, C-1'), 102.7 (C-2', 6'), 147.2 (s, C-3'), 132.1 (s, C-4'), 147.2 (s, C-5'), 86.2 (t, C-7'), 54.1 (d, C-8'), 71.9 (d, C-9'), 56.0 (q, 5-OCH₃), 56.4 (q, 3', 5'-OCH₃)。以上数据与文献对照基本一致^[14], 故鉴定化合物 **4** 为麦迪奥脂素。

化合物 **5**: 黄色胶状物质 (甲醇); ESI-MS m/z : 437.3 [M+Na]⁺; 分子式 C₂₄H₃₀O₆; ¹H-NMR (500 MHz, MeOD) δ : 6.97 (2H, d, J = 2.2 Hz, H-2, 2'), 6.97

(2H, d, J = 8.1 Hz, H-5, 5'), 6.85 (2H, dd, J = 2.2, 8.1 Hz, H-6, 6'), 4.87~4.93 (2H, m, H-7, 7'), 3.18~3.20 (2H, m, H-8, 8'), 4.29 (2H, dd, J = 2.0, 9.3 Hz, H-9a, 9'a), 3.67 (2H, dd, J = 4.1, 9.4 Hz, H-9b, 9'b), 1.30 (6H, t, J = 7.2 Hz, 3, 3'-OCH₃), 4.03 (4H, q, J = 9.3 Hz, H-1'', 1'''), 1.30 (6H, t, J = 7.2 Hz, H-2'', 2'''); ¹³C-NMR (125 MHz, MeOD) δ : 132.4 (s, C-1), 110.7 (d, C-2), 147.5 (s, C-3, 3'), 149.9 (s, C-4, 4'), 116.2 (d, C-5), 119.5 (d, C-6), 85.1 (d, C-7), 54.5 (d, C-8), 73.8 (t, C-9), 133.2 (s, C-1'), 110.6 (d, C-2'), 116.4 (d, C-5'), 119.7 (d, C-6'), 85.1 (d, C-7'), 54.5 (d, C-8'), 73.8 (t, C-9'), 56.5 (q, 3'-OCH₃), 56.4 (q, 3-OCH₃), 64.3 (t, C-1''), 11.4 (q, C-2''), 64.3 (t, C-1'''), 11.4 (q, C-2''')。以上数据与文献对照基本一致^[15], 故鉴定化合物 **5** 为二乙基松脂。

化合物 **6**: 无色油状物质 (甲醇); ESI-MS m/z : 358.1 [M+Na]⁺; 分子式 C₂₁H₂₄O₇; ¹H-NMR (500 MHz, MeOD) δ : 6.97 (2H, d, J = 1.8 Hz, H-2, 2'), 6.78 (2H, d, J = 8.1 Hz, H-5, 5'), 6.83 (2H, dd, J = 8.1, 1.8 Hz, H-6, 6'), 4.73 (2H, d, J = 4.4 Hz, H-7, 7'), 3.12~3.19 (2H, m, H-8, 8'), 4.25 (2H, dd, J = 6.9, 9.0 Hz, H-9a, 9'a), 3.85 (2H, dd, J = 3.6, 9.0 Hz, H-9b, 9'b), 3.87 (6H, s, 5, 5'-OCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, MeOD) δ : 133.7 (s, C-1, 1'), 111.0 (d, C-2, 2'), 149.1 (d, C-3, 3'), 147.3 (s, C-4, 4'), 116.1 (s, C-5, 5'), 120.1 (d, C-6, 6'), 87.5 (d, C-7, 7'), 55.4 (d, C-8, 8'), 72.1 (t, C-9, 9'), 56.4 (q, 5, 5'-OCH₃)。以上数据与文献对照基本一致^[16], 故鉴定化合物 **6** 为松脂醇。

化合物 **7**: 黄色胶状物 (甲醇); ESI-MS m/z : 317.1 [M-H]⁻; 分子式 C₁₇H₁₈O₆; ¹H-NMR (500 MHz, MeOD) δ : 7.58 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2), 6.82 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5), 7.63 (1H, dd, J = 2.0, 8.4 Hz, H-6), 4.77 (1H, dd, J = 5.1, 8.9 Hz, H-8), 4.24~4.29 (1H, m, H-9a), 3.70~3.74 (1H, m, H-9b), 6.91 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.74 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 6.78 (1H, dd, J = 2.0, 8.4 Hz, H-6'), 3.89 (3H, s, 3-OCH₃), 3.84 (3H, s, 3'-OCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, MeOD) δ : 129.0 (s, C-1), 111.1 (d, C-2), 147.5 (s, C-3), 151.7 (s, C-4), 114.3 (d, C-5), 123.8 (d, C-6), 198.3 (s, C-7), 54.8 (d, C-8), 64.1 (t, C-9), 128.5 (s, C-1'), 111.4 (d, C-2'), 141.9 (s, C-3'), 145.6 (s, C-4'), 115.2 (d, C-5'), 120.3 (d, C-6'), 54.9 (q, 3-OCH₃), 55.0 (q, 3'-OCH₃)。以上数据与文献对照基本一致^[17], 故

鉴定化合物 **7** 为棘叶吴萸素 B。

化合物 **8**: 黄色无定形粉末 (甲醇); ESI-MS m/z : 401.3 $[M+Na]^+$; $C_{20}H_{26}O_7$; 1H -NMR (500 MHz, MeOD) δ : 7.01 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2), 6.75 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5), 6.85 (1H, dd, $J = 1.8, 8.1$ Hz, H-6), 4.84 (1H, d, $J = 5.7$ Hz, H-7), 4.30 (1H, dd, $J = 3.8, 5.7$ Hz, H-8), 3.85 (1H, dd, $J = 5.7, 12.0$ Hz, H-9a), 3.77 (1H, dd, $J = 3.8, 12.0$ Hz, H-9b), 6.80 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2'), 6.83 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5'), 6.68 (1H, dd, $J = 1.8, 8.1$ Hz, H-6'), 2.59~2.64 (2H, m, H-7'), 1.78~1.85 (2H, m, H-8'), 3.57 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H-9'), 3.80 (3H, s, 3-OCH₃), 3.81 (3H, s, 3'-OCH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, MeOD) δ : 132.1 (s, C-1), 111.8 (d, C-2), 148.7 (s, C-3), 147.0 (s, C-4), 115.6 (d, C-5), 121.0 (d, C-6), 74.0 (d, C-7), 86.5 (d, C-8), 62.2 (t, C-9), 138.0 (s, C-1'), 114.0 (d, C-2'), 151.7 (s, C-3'), 147.1 (s, C-4'), 119.4 (d, C-5'), 121.8 (d, C-6'), 32.7 (t, C-7'), 35.5 (t, C-8'), 62.2 (t, C-9'), 56.3 (q, 3-OCH₃), 56.4 (q, 3'-OCH₃)。以上数据与文献对照基本一致^[18], 故鉴定化合物 **8** 为愈创木基甘油- β -O-4'-二氢松柏醇。

化合物 **9**: 黄色油状物 (甲醇); ESI-MS m/z : 261.3 $[M+Na]^+$; $C_{15}H_{26}O_2$; 1H -NMR (500 MHz, MeOD) δ : 1.27 (1H, t, $J = 12.8$ Hz, H-1), 0.61~0.67 (1H, m, H-2), 0.45 (1H, dd, $J = 4.6, 7.9$ Hz, H-3a), 0.24 (1H, dd, $J = 4.4, 4.6$ Hz, H-3b), 3.21 (1H, dd, $J = 4.6, 11.2$ Hz, H-5), 1.71~1.84 (4H, m, H-6, 7), 1.92~1.99 (1H, m, H-9), 1.40 (1H, t, $J = 10.4$ Hz, H-10a), 1.54 (1H, dd, $J = 7.8, 10.4$ Hz, H-10b), 1.03 (3H, s, 12-CH₃), 0.99 (3H, s, 13-CH₃), 1.12 (3H, s, 14-CH₃), 1.10 (3H, s, 15-CH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, MeOD) δ : 49.5 (d, C-1), 25.1 (d, C-2), 19.4 (t, C-3), 20.4 (s, C-4), 74.9 (d, C-5), 31.6 (t, C-6), 41.1 (t, C-7), 74.2 (s, C-8), 49.9 (d, C-9), 35.1 (t, C-10), 35.0 (s, C-11), 22.6 (q, 12-CH₃), 30.7 (q, 13-CH₃), 20.4 (q, 14-CH₃), 17.9 (q, 15-CH₃)。以上数据与文献对照基本一致^[19], 故鉴定化合物 **9** 为三环蛇麻二醇。

化合物 **10**: 黄色油状物 (甲醇); ESI-MS m/z : 251.1 $[M-H]^-$; $C_{16}H_{28}O_2$; 1H -NMR (500 MHz, MeOD) δ : 3.36 (1H, dd, $J = 5.8, 10.6$ Hz, H-2), 1.70 (1H, dd, $J = 5.8, 12.4$ Hz, H-3a), 1.46 (1H, dd, $J = 10.6, 12.4$ Hz, H-3b), 1.40~1.44 (1H, m, H-5), 3.24~2.29 (1H, m, H-9), 1.64 (1H, d, $J = 12.6$ Hz,

H-12a), 0.98 (1H, d, $J = 12.6$ Hz, H-12b), 0.88 (3H, s, H-13), 1.02 (3H, s, H-14), 0.93 (3H, s, H-15), 3.36 (3H, s, 2-OCH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, MeOD) δ : 44.1 (s, C-1), 90.3 (d, C-2), 43.8 (t, C-3), 36.5 (s, C-4), 50.7 (d, C-5), 20.2 (t, C-6), 32.9 (t, C-7), 34.3 (s, C-8), 74.6 (d, C-9), 25.4 (t, C-10), 26.5 (t, C-11), 36.2 (t, C-12), 24.4 (q, C-13), 30.3 (q, C-14), 27.7 (q, C-15), 57.2 (q, 2-OCH₃)。以上数据与文献对照基本一致^[20], 故鉴定化合物 **10** 为 9 α -羟基-2 β -甲氧基丁烷。

化合物 **11**: 白色粉末 (氯仿); EI-MS m/z : 454.3 $[M]^+$; $C_{30}H_{46}O_3$; 1H -NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 1.88~1.90 (1H, m, H-1a), 1.04~1.09 (1H, m, H-1b), 1.60~1.76 (5H, m, H-2a, 2b, 15a, 16a, 19a), 3.27 (1H, dd, $J = 4.8, 11.4$ Hz, H-3), 0.83 (1H, m, H-5), 1.60~1.66 (1H, m, H-6a), 1.44~1.48 (1H, m, H-6b), 1.34~1.44 (5H, m, H-7a, 7b, 21a, 21b, 22a), 1.97 (1H, s, H-9), 6.45 (1H, dd, $J = 3.0, 10.5$ Hz, H-11), 5.67 (1H, dd, $J = 1.5, 10.5$ Hz, H-12), 2.00~2.04 (1H, m, H-15b), 1.09~1.13 (1H, m, H-16b), 2.56 (1H, dd, $J = 2.3, 14.5$ Hz, H-19b), 2.27~2.32 (1H, m, H-22b), 1.01 (3H, s, H-23), 0.80 (3H, s, H-24), 0.93 (3H, s, H-25), 0.81 (3H, s, H-26), 1.00 (3H, s, H-27), 0.97 (3H, s, H-29), 0.82 (3H, s, H-30); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 38.0 (t, C-1), 27.1 (t, C-2), 78.9 (d, C-3), 38.9 (s, C-4), 54.8 (d, C-5), 18.3 (t, C-6), 32.4 (t, C-7), 40.7 (s, C-8), 54.3 (d, C-9), 36.7 (s, C-10), 125.1 (d, C-11), 127.3 (d, C-12), 137.2 (s, C-13), 42.1 (s, C-14), 32.6 (t, C-15), 24.9 (t, C-16), 48.0 (s, C-17), 131.0 (s, C-18), 40.5 (t, C-19), 32.2 (s, C-20), 36.8 (t, C-21), 35.5 (t, C-22), 27.8 (q, C-23), 15.1 (q, C-24), 18.0 (q, C-25), 16.4 (q, C-26), 19.8 (q, C-27), 180.0 (s, C-28), 32.2 (q, C-29), 24.1 (q, C-30)。以上数据与文献对照基本一致^[21], 故鉴定化合物 **11** 为 3 β -羟基-齐墩果-11,13(18)-二烯-28-羧酸。

化合物 **12**: 浅黄色固体 (氯仿); ESI-MS m/z : 455.6 $[M-H]^-$; $C_{30}H_{46}O_3$; 1H -NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 3.25 (1H, dd, $J = 4.5, 11.1$ Hz, H-3), 5.20 (1H, t, $J = 3.4$ Hz, H-12), 2.83 (1H, dd, $J = 3.8, 13.6$ Hz, H-18), 1.00 (3H, s, H-23), 0.93 (3H, s, H-24), 0.79 (3H, s, H-25), 0.77 (3H, s, H-26), 1.15 (3H, s, H-27), 0.95 (3H, s, H-29), 0.92 (3H, s, H-30); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 38.4 (t, C-1), 27.2 (t, C-2), 79.1 (d, C-3), 38.7 (s, C-4), 55.2 (d, C-5), 18.3 (t, C-6), 32.4 (t,

C-7), 39.2 (s, C-8), 47.6 (d, C-9), 37.1 (s, C-10), 22.9 (t, C-11), 122.6 (d, C-12), 143.6 (s, C-13), 41.6 (s, C-14), 27.7 (t, C-15), 23.4 (t, C-16), 45.9 (s, C-17), 41.0 (d, C-18), 46.5 (t, C-19), 30.7 (s, C-20), 33.8 (t, C-21), 32.6 (t, C-22), 28.1 (q, C-23), 15.3 (q, C-24), 15.5 (q, C-25), 17.1 (q, C-26), 25.9 (q, C-27), 182.9 (s, 28-COOH), 23.6 (q, C-29), 33.1 (q, C-30)。以上数据与文献数据对照基本一致^[22], 故鉴定化合物 **12** 为齐墩果酸。

4 活性测定

4.1 细胞毒活性测定

采用 MTT 法对化合物 **1~4**、**6~8** 和 **11~12** 进行抑制肿瘤细胞活性测定^[23]: 以盐酸阿霉素为阳性对照, DMSO 为阴性对照。将样品配制为 6 个质

量浓度梯度, 分别为 0.1、0.3、0.9、2.7、8.1 和 24.3 $\mu\text{g/mL}$ 。培养基培养对数期细胞, 调整细胞悬液浓度, 在 96 孔平底细胞培养板接种 $90\ \mu\text{L}$ 浓度为 5×10^4 个/ mL 。细胞株 K562、BEL-7402、SGC-7901、A549 和 HeLa 在 5% CO_2 、37 $^\circ\text{C}$ 、90%以上湿度条件下孵育 24 h 后, 加入 $10\ \mu\text{L}$ 浓度梯度的待测样品, 加样后的细胞株继续在该条件下孵育 72 h。之后, 每孔加入 $15\ \mu\text{L}$ MTT 溶液 (5 mg/mL , 即 0.5% MTT), 继续培养 4 h。用 ELX-800 酶标仪在 490 nm 波长处测量每孔的吸光度 (A) 值, 按公式计算肿瘤细胞生长抑制率。用横坐标表示待测化合物浓度, 纵坐标表示抑制率, 用 Reed and Muench 法算出待测化合物的细胞毒活性 IC_{50} 值^[24]。结果见表 1。

$$\text{抑制率} = (A_{\text{对照}} - A_{\text{实验}}) / A_{\text{对照}}$$

表 1 辣木中单体化合物的细胞毒活性 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Cytotoxicities of compounds from *M. oleifera* ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

化合物	$\text{IC}_{50}/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$				
	K562	BEL-7402	SGC-7901	A549	HeLa
1	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—
4	—	—	—	—	—
6	—	—	—	—	—
7	—	—	—	—	—
8	—	—	—	—	—
11	—	—	—	—	—
12	8.16 ± 0.16	3.32 ± 0.09	4.57 ± 0.21	10.16 ± 0.66	9.14 ± 0.77
盐酸阿霉素	4.60 ± 0.66	3.75 ± 0.23	2.10 ± 0.20	8.57 ± 0.28	3.50 ± 0.18

“—”表示未显示活性

“—” indicates no activity

4.2 α -葡萄糖苷酶抑制活性测定

采用 4-硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷 (PNPG) 法对化合物 **1~12** 的 α -葡萄糖苷酶抑制活性进行测定^[25]。阴性对照为 DMSO-PBS 溶液, 阳性对照为阿卡波糖溶液。实验前配制 pH 6.8 的 0.1 mol/L 磷酸缓冲溶液 (PBS 溶液) 作为反应溶液, 用 0.1 mol/L PBS 溶液配制 2 U/mL α -葡萄糖苷酶溶液、2.5 mmol/L 的 PNPG 溶液和 10% 的 DMSO-PBS 溶液。将实验组 (10 μL 待测样品溶液+70 μL PBS 溶液+20 μL α -葡萄糖苷酶溶液)、阴性对照组 (10 μL DMSO-PBS 溶液+70 μL PBS 溶液+20 μL α -葡萄糖苷酶溶液)、阳性对照组 (10 μL 的阿卡波糖溶液+70 μL PBS 溶液+20 μL α -葡萄糖苷酶溶液)、背景

对照 (10 μL 待测样品溶液+90 μL PBS 溶液) 和空白对照 (10 μL DMSO-PBS 溶液+90 μL 的 PBS 溶液) 各组所需溶液混匀于 96 孔酶标板后, 于 37 $^\circ\text{C}$ 培养箱放置 15 min, 各组加入 PNPG 溶液 20 μL , 再将 96 孔板于 37 $^\circ\text{C}$ 培养箱放置 30 min, 加入 0.2 mol/L 的 Na_2CO_3 终止液 80 μL , 用酶标仪在 405 nm 波长下测量每孔的 A 值。按下面公式计算化合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性。结果见表 2。

$$\text{抑制率} = 1 - (A - A_0) / (B - B_0)$$

A 为实验组 A 值, A_0 为背景对照组 A 值, B 为阴性对照组 A 值, B_0 为空白对照组 A 值

5 讨论

本实验采取多种色谱技术, 从辣木韧皮部中共

表 2 辣木中单体化合物的 α -葡萄糖苷酶抑制活性 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 2 α -Glucosidase inhibitory effect of compounds from *M. oleifera* ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

化合物	骨架类型	抑制率/%	化合物	骨架类型	抑制率/%
1	木脂素类	68.44 $\pm$ 0.70	8	木脂素类	—
2	木脂素类	65.28 $\pm$ 0.50	9	倍半萜类	—
3	木脂素类	—	10	倍半萜类	—
4	木脂素类	—	11	三萜类	<10
5	木脂素类	—	12	三萜类	<10
6	木脂素类	—	阿卡波糖		48.81 $\pm$ 0.90
7	木脂素类	—			

化合物和阿卡波糖质量浓度为 500 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; “—” 表示未显示活性

Compounds and Acarbose were used as positive control (500 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$); “—” indicates no activity

分离得到了 8 个木脂素类化合物和 4 个萜类化合物, 其中化合物 1~11 为首次从辣木中分离得到。活性测试结果显示, 化合物 12 具有抑制肿瘤细胞的活性, 化合物 1 和 2 具有 α -葡萄糖苷酶抑制活性。

在国内外学者对辣木的研究中, 主要集中于研究辣木叶及果实的化学成分, 主要类型有黄酮类、苯丙素类、糖苷类和生物碱等^[4-10]。本实验从辣木茎皮中分离得到 2 个三萜类化合物和 2 个倍半萜类化合物, 其中化合物 9~11 为首次从辣木中分离得到的萜类成分。除此之外, 还分离得到化合物 1~8 这 8 个木脂素类化合物, 由此可以说明辣木不同部位化合物的种类和含量差异较大, 进一步丰富了辣木中化学成分的类型, 并为辣木茎的利用与开发提供了物质基础。

参考文献

- [1] 吕钟钟, 张文竹, 李海花, 等. 海藻复合膳食纤维改善小鼠胃肠道功能的实验研究 [J]. 中国海洋药物, 2009, 28(6): 31-35.
- [2] 王永彬, 宋顺丰, 胡金, 等. 慢传输性便秘与正常乙状结肠神经系统研究 [J]. 中国妇幼健康研究, 2016, 27(2): 561-562.
- [3] 杨文, 于晓红, 杨志健, 等. 结直肠癌临床表现对及时诊断的影响 [J]. 实用老年医学, 2016, 30(2): 158-161.
- [4] Vongsaka B, Sithisarna P, Mangmool S, et al. Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method [J]. *Ind Crops Prod*, 2013, 44(1): 566-571.
- [5] Singh R S G, Negi P S, Radha C. Phenolic composition, antioxidant and antimicrobial activities of free and bound phenolic of *Moringa olrifrea* seed flour [J]. *J Funct*

Foods, 2013, 5(4): 1883-1891.

- [6] Kashiwada Y, Ahmed F A, Kurimoto S I, et al. New α -glucosides of caffeoyl quinic acid from the leaves of *Moringa oleifera* Lam [J]. *J Nat Med*, 2012, 66(1): 217-221.
- [7] Cheenpracha S, Park E J, Yoshida W Y, et al. Potential anti-inflammatory phenolic glycosides from the medicinal plant *Moringa oleifera* fruits [J]. *Bioorg Med Chem*, 2010, 18(17): 6598-6602.
- [8] Horwath M, Benin V. Theoretical investigation of a reported antibiotic from the “Miracle Tree” *Moringa oleifera* [J]. *Comput Theor Chem*, 2011, 965(1): 196-201.
- [9] 刘长倩, 高巍杨, 柳辣木, 等. 辣木的化学成分研究 [J]. 安徽农业科学, 2016, 44(5): 142-144.
- [10] Panda S, Kar A, Sharma A, et al. Cardioprotective potential of *N*, α -*L*-rhamnopyranosyl vincisamide, an indole alkaloid, isolated from the leaves of *Moringa oleifera* in isoproterenol induced cardiotoxic rats: *In vivo* and *in vitro* studies [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23(4): 959-962.
- [11] Xie L H, Akao T, Hamasaki K, et al. Biotransformation of pinoresinol diglucoside to mammalian lignans by human intestinal microflora, and isolation of *Enterococcus faecalis* strain PDG-1 responsible for the transformation of (+)-pinoresinol to (+)-lariciresinol [J]. *Chem Pharm Bull*, 2003, 51(5): 508-515.
- [12] Hanuman J B, Mishra A K, Sabata B. A natural phenolic lignan from *Tinospora cordifolia* Miers [J]. *J Chem Soc Perkin Trans*, 1986, 1(7): 1181-1185.
- [13] Kuang H X, Xia Y G, Yang B Y, et al. Lignan constituents from *Chloranthus japonicus* Sieb [J]. *Arch Pharmacol Res*, 2009, 32(3): 329-334.
- [14] 莫德娟, 李敏一. 中国海南半红树植物海漆的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2017, 29(1): 52-57.
- [15] Kasahara H, Miyazawa M, Kameoka H. O-dealkylation

- of (+)-dialkyl pinoresinols by *Aspergillus Niger* [J]. *Nat Prod Lett*, 1997, 9(4): 277-280.
- [16] Yeo H, Chin Y W, Park S Y, *et al.* Lignans of *Rosa multiflora* roots [J]. *Arch Pharm Res*, 2004, 27(3): 287-290.
- [17] Silva L A L D, Faqueti L G, Reginatto F H, *et al.* Phytochemical analysis of *Vernonanthura tweedieana* and a validated UPLC-PDA method for the quantification of eriodictyol [J]. *Rev Brasileira Farmacog*, 2015, 25(4): 375-381.
- [18] Li L, Seeram N P. Maple syrup phytochemicals include lignans, coumarins, a stilbene, and other previously unreported antioxidant phenolic compounds [J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(22): 11673-11679.
- [19] Li R T, Zhao A H, Sheng Y H, *et al.* Chemical constituents from *Schisandra plena* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2005, 7(6): 847-852.
- [20] Arantes S F, Hanson J R, Mobbs D J. The microbiological hydroxylation of some 2, 9-dioxygenated clovanes by *Mucor plumbeus* [J]. *Phytochemistry*, 1999, 52(4): 631-634.
- [21] Ikuta A, Kamiya K, Satake T, *et al.* Triterpenoids from callus tissue cultures of *Paeonia species* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 38(5): 1203-1207.
- [22] Carvalho L M, Seita J. A new oleanic acid derivative from *Securinega tinctoria*. [J]. *J Med Plant Nat Prod Res*, 1993, 59(4): 369-372.
- [23] Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays [J]. *J Immunol Methods*, 1983, 65(1/2): 55-63.
- [24] Reed L, Muench H. A simple, method of estimating 50 percent end point [J]. *Am Industr Hygiene Assoc J*, 1938, 27(3): 493-497.
- [25] Jong A N, Bhandari M R, Kawabata J. α -Glucosidase inhibitors from Devil tree (*Alstonia scholaris*) [J]. *Food Chem*, 2007, 103(4): 1319-1323.