

宽苞糙苏根降三萜化学成分研究

邓瑞雪, 黄玉阳, 许艺凡, 刘 普*

洛阳市天然产物功能因子研究及产品开发重点实验室, 河南科技大学化工与制药学院, 河南 洛阳 471023

摘要: 目的 研究宽苞糙苏 *Phlomis umbrosa* var. *latibracteata* 根降三萜类化学成分。方法 用硅胶柱色谱、凝胶柱色谱、以及制备高效液相色谱等多种色谱分离手段进行分离纯化, 用有机波谱手段鉴定分离得到的化合物结构。结果 从宽苞糙苏根的 95%乙醇提取物中分离得到 8 个降三萜类化合物, 分别鉴定为糙苏醛 A (1)、糙苏酮 (2)、糙苏四醇 A (3)、糙苏四醇 B (4)、糙苏六醇 A (5)、糙苏六醇 B (6)、糙苏六醇 C (7)、糙苏六醇 D (8)。结论 化合物 1 为新化合物, 化合物 3、4、6~8 为首次从宽苞糙苏中分离得到的化合物, 这些化合物表现出一定的肿瘤细胞抑制活性。

关键词: 宽苞糙苏; 降三萜; 抗肿瘤; 糙苏醛 A; 糙苏四醇 A; 糙苏六醇 B

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)06-1555-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.06.002

Study on nortriterpenes from roots of *Phlomis umbrosa* var. *latibracteata*

DENG Rui-xue, HUANG Yu-yang, XU Yi-fan, LIU Pu

Luoyang Key Laboratory of Natural Products Functional Factor Research and Development, Chemical Engineering & Pharmaceutical College, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471023, China

Abstract: Objective To study the nortriterpenes from the root of *Phlomis umbrosa* var. *latibracteata*. **Methods** The chemical constituents were isolated by repeated column chromatographies (Toyopearl HW-40C and preparative HPLC). The structures were elucidated on the basis of spectral data analysis. **Results** Eight nortriterpenes were isolated from the 95% ethanol aqueous extract of *P. umbrosa* var. *latibracteata* and the structures were identified as phlomisal A (1), phlomisone (2), phlomisetraol A (3), phlomisetraol B (4), phlomisexaol A (5), phlomisexaol B (6), phlomisexaol C (7), and phlomisexaol D (8). **Conclusion** Compound 1 is a new compound, and compounds 3, 4, 6—8 are isolated from this plant for the first time. All the nortriterpenes display varying degrees of antitumor activities against cancer cells *in vitro*.

Key words: *Phlomis umbrosa* Turcz var. *latibracteata* Sun ex C H Hu; nortriterpene; antitumor activities; phlomisal A; phlomisetraol A; phlomisexaol B

糙苏属 *Phlomis* Linn. 是被子植物门木兰纲野芝麻亚族下的 1 个属, 该属植物多为多年生草本, 全球共有约 100 种, 分布于地中海, 亚洲中部至东部。我国有 60 余种 (变种/变型), 分布于全国各地, 西南各省区种类最多^[1-2]。药用植物糙苏 *Phlomis umbrosa* Turcz. 生长于疏林下或草坡上, 广泛分布在全国各地。民间以糙苏根入药, 性苦、辛, 微温, 具有消肿、生肌、续筋、接骨, 以及补肝、肾, 强腰膝、安胎等功效^[3-4]。研究发现, 药用植物糙苏中主要化学成分有苯乙醇苷类、三萜类、二萜类、环

烯醚萜苷类、黄酮类、多糖和挥发油等^[5-15]。课题组前期研究了湖北恩施土家药“四楞麻”(糙苏根)的化学成分及其活性, 从中分离得到一系列结构新颖的 28-降齐墩果烷型螺环三萜 (降三萜) 类化合物, 活性测试显示该类化合物具有较好的生物活性^[16-21]。宽苞糙苏 *Phlomis umbrosa* Turcz. var. *latibracteata* Sun ex C. H. Hu 为药用植物糙苏的 1 个变种。课题组前期对宽苞糙苏的化学成分进行了初步研究, 发现其中也含有降三萜类化合物^[22]。为了进一步阐明宽苞糙苏降三萜类化合物结构及活性

收稿日期: 2020-07-08

基金项目: 河南省高校科技创新人才支持计划 (20HASTIT008); 国家自然科学基金-河南联合基金资助项目 (U1404831)

作者简介: 邓瑞雪 (1978—), 女, 博士, 副教授, 从事天然有机化学研究。

*通信作者: 刘 普 (1978—), 男, 博士, 教授, 研究方向为天然产物化学。E-mail: liuputju@163.com

特点, 本研究对其降三萜类化学成分进行了分离鉴定, 采用硅胶柱色谱、凝胶柱色谱以及制备高效液相色谱等多种分离方法, 从宽苞糙苏的 95%乙醇提取物中分离得到 8 个降三萜类化合物(图 1), 分别鉴定为糙苏醛 A (phlomisal A, 1)、糙苏酮 (phlomisone, 2)、糙苏四醇 A (phlomistetraol A, 3)、糙苏四醇 B (phlomistetraol B, 4)、糙苏六醇 A

(phlomishexaol A, 5)、糙苏六醇 B (phlomishexaol B, 6)、糙苏六醇 C (phlomishexaol C, 7) 和糙苏六醇 D (phlomishexaol D, 8)。其中, 化合物 1 为新化合物, 化合物 3、4、6~8 为首次从宽苞糙苏中分离得到的化合物, 这些降三萜类化合物表现出一定的抑制肿瘤细胞活性。该研究为宽苞糙苏的研究开发利用奠定了基础。

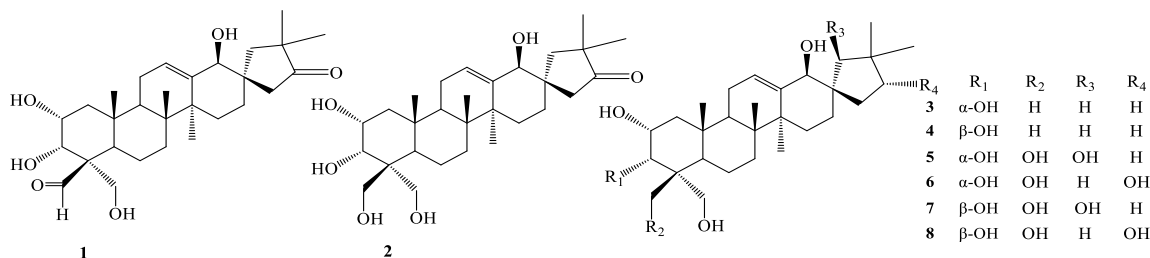


图 1 化合物 1~8 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—8

1 仪器与材料

Bruker AVANCE 400 MHz 核磁共振仪 (Bruker 公司, 瑞士); Alliance 2695, Quattro Micro TM ESI 液质联用色谱仪 (Waters 公司, 美国); Waters 600 制备高效液相色谱仪 (Waters 公司, 美国); 制备 HPLC 色谱柱: YMC SL12S05-2520 WT 柱 (250 mm×20 mm, 5 μm, YMC 公司), YMC ODS-A 柱 (250 mm×22 mm, 10 μm, YMC 公司); 凝胶色谱柱 (Toyopearl HW-40C, Tosoh 公司); 柱色谱和薄层色谱用硅胶 (青岛海洋化工厂); 所用试剂均为分析纯。

药材根于 2015 年 9 月采自河南省嵩县车村镇, 由河南农业大学农学院高致明教授鉴定宽苞糙苏 *P. umbrosa* Turcz. var. *latibracteata* Sun ex C. H. Hu 的根, 标本 (FNS2015012) 存放于河南科技大学天然产物资源标本馆。

实验用人非小细胞肺癌 A549 细胞、人宫颈癌 HeLa 细胞、小鼠成纤维 L929 细胞、人结肠癌 HT-29 细胞、人结肠癌 HCT-116 细胞、人脐静脉内皮细胞 HUVEC 和人正常干细胞 WRL-68 由河南科技大学第一附属医院提供。其他生化试剂购自洛阳市洛龙区科迈教学仪器经销部。

2 提取与分离

取自然干燥的宽苞糙苏根 10.5 kg, 粉碎后用 95%乙醇加热回流提取 3 次, 每次 4 h, 提取液减压浓缩得乙醇粗提物浸膏。取乙醇粗提物加入适量的

蒸馏水搅拌, 制备得到乙醇混悬液。然后依次加入不同溶剂分别萃取, 收集萃取液减压浓缩除去溶剂, 得石油醚浸膏 55 g、醋酸乙酯浸膏 83 g、正丁醇浸膏 410 g。

取糙苏根醋酸乙酯萃取层浸膏 80 g, 采用硅胶柱色谱分离, 分别用氯仿-甲醇 (15:1、12:1、9:1、5:1、3:1、1:1) 梯度洗脱, 经过薄层色谱 (TLC) 分析合并获得 22 个流分 Fr. 1~22。Fr. 8 (3.6 g) 采用硅胶柱色谱分离, 氯仿-甲醇 (15:1、13:1、11:1、9:1、7:1、5:1) 梯度洗脱, 得到组分 Fr. 8.1~8.8。Fr. 8.3 (569 mg) 采用半制备高效液相色谱分离 [体积流量 5 mL/min, 甲醇-水 (3:7), 色谱柱 ODS-AQ], 得到化合物 3 ($t_R=12.65$ min, 14.6 mg) 和 6 ($t_R=18.23$ min, 12.3 mg)。Fr. 8.6 (765 mg) 采用半制备高效液相色谱分离 [体积流量 5 mL/min, 甲醇-水 (3:7), 色谱柱 ODS-AQ], 得到化合物 4 ($t_R=9.36$ min, 8.9 mg)、7 ($t_R=12.37$ min, 20.3 mg) 和 8 ($t_R=17.66$ min, 15.4 mg)。Fr. 12 (2.5 g) 经过 TLC 分析, 采用半制备高效液相色谱分离 [体积流量 5 mL/min, 流动相甲醇-水 (4:6)], 色谱柱 ODS-AQ], 得到化合物 1 (18.5 mg)。Fr. 14 (5.8 g) 采用硅胶柱色谱分离, 氯仿-甲醇 (8:1、6:1、4:1、5:1、3:1、1:1) 梯度洗脱, 得到组分 Fr. 14.1~14.4。Fr. 14.4 以半制备高效液相色谱分离 [体积流量 5 mL/min, 流动相甲醇-水 (8:2), 色谱柱 ODS-AQ], 得到化合物 2 ($t_R=15.61$ min, 35.6 mg)。

Fr. 17 (3.3 g) 经过 Sephadex LH-20 凝胶柱分离得到流分 Fr. 17.1~17.4, Fr. 17.4 采用半制备高效液相色谱分离 [体积流量 5 mL/min、流动相甲醇-水(4:6)、色谱柱 ODS-AQ], 得到化合物 **5** ($t_R=13.47$ min, 9 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色晶体 (甲醇), $[\alpha]_D^{25} +13.18^\circ$ (c 1.22, MeOH), HR-ESI-MS 测得化合物分子离子峰为 m/z 489.330 1 $[M+H]^+$ (计算值 489.331 6), 结合 1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 的数据推测其分子式为 $C_{29}H_{26}O_8$ 。红外光谱 (IR) 显示该化合物有羟基 (3401 cm^{-1})、羰基 (1719 、 1728 cm^{-1}) 等吸收峰。

化合物 **1** 的 1H -NMR (600 MHz, C_5D_5N) 表明化合物有 5 个甲基单峰信号 δ_H 0.91 (3H, s), 0.97 (3H, s), 1.02 (3H, s), 1.17 (3H, s), 1.34 (3H, s); 3 个与吸电子相连次甲基质子峰信号 δ_H 4.18 (1H, brs), 4.51 (1H, m), 5.22 (1H, br s); 1 个和吸电基团相连的亚甲基质子信号 δ_H 4.33 (2H, d, $J=11.0$ Hz); 1 个双键质子信号 δ_H 6.22 (1H, brs) 和 1 个醛基质子信号 δ_H 10.17 (1H, s)。

化合物 **1** 的 ^{13}C -NMR (150 MHz, C_5D_5N) 和 DEPT 谱数据, 在低磁场区域可以观测到 1 个酮羰基碳信号 δ_C 221.8, 1 个醛羰基碳信号 δ_C 205.5 (s) 和 1 个双键碳信号 δ_C 119.3 (d), 142.0 (s); 还可以在

中低磁场区域观测到 3 个吸电子基团取代次甲基碳信号 δ_C 65.6, 74.7, 69.3 和 1 个吸电基团取代的亚甲基碳信号 δ_C 63.3; 较高场可以看到 5 个甲基碳信号 δ_C 16.2, 17.7, 22.5, 28.8, 25.3; 9 个亚甲基的碳信号 δ_C 45.8, 17.9, 34.2, 23.3, 27.4, 35.3, 39.4, 41.0, 50.3, 2 个次甲基的碳信号 δ_C 42.6, 46.4; 6 个季碳信号 δ_C : 59.1, 39.3, 38.5, 43.9, 43.0, 44.9 (表 1)。以上波谱数据表明该化合物的碳数目为 29, 其中存在 1 个双键碳信号, 4 个与羟基基团相连接的碳信号, 1 个醛羰基碳信号和 1 个酮羰基碳信号。

从以上波谱数据信息可以看出化合物 **1** 和从糙苏中分离得到的 28-降齐墩果烷型螺环三萜类化合物波谱特征相似^[16-21], 因此推测化合物 **1** 也为齐墩果烷型的降三萜类化合物。从化合物的氢谱数据和碳谱数据可以看出, 化合物 **1** 与从该植物中分离得到的降三萜类化合物 phlomisone 的核磁共振数据非常相似^[20-21]。与化合物 phlomisone 相比, 化合物 **1** 少了一组被羟基取代的次甲基质子信号和与吸电子基团氧相连的碳信号, 多了 1 个醛基质子信号和醛羰基碳信号, 推测化合物 **1** 可能为化合物 phlomisone 中的 1 个仲醇基团被氧化为醛基基团。

从化合物 **1** 的 HMBC 相关可以推出, 化合物 **1** 分子中的 4 个羟基分别连在 C-2、C-3、C-18 和 C-23 上 (表 1 和图 2)。H-19 到 C-18、C-20、C-21 和

表 1 化合物 **1** 的核磁共振数据 (600/150 MHz, C_5D_5N)

Table 1 NMR spectral data of compound **1** (600/150 MHz, C_5D_5N)

碳位	δ_H	δ_C	HMBC (H→C)	碳位	δ_H	δ_C	HMBC (H→C)
1	1.77 (m), 2.01 (m)	42.6	2,3,5,10,25	16	1.55~1.70 (m)	35.3	15,17
2	4.51 (m)	65.6	1,3,4,10	17		43.9	
3	5.22 (brs)	69.3	1,2,4,5,23,24	18	4.18 (brs)	74.7	13,14,16,17,19
4		59.1		19	2.48, 1.67 (d, $J=13.5$ Hz)	50.3	16,17,18,21,22,29,30
5	2.13 (m)	45.8	3,4,6,10	20		44.9	
6	1.73 (m), 1.89 (m)	17.9	5,7	21		221.8	
7	1.46 (m), 1.60 (m)	34.2	6,8	22	2.69, 2.24 (d, $J=17.8$ Hz)	41.0	16,17,18,19,20,21
8		39.3		23	4.33 (s)	63.3	3,4,5,24
9	1.74 (m)	46.4	8,10,11	24	10.17 (s)	205.4	3,4,5,23
10		38.5		25	0.97 (s)	16.2	1,5,9,10,11
11	2.01 (m), 1.89 (m)	23.3	9,12,13	26	0.91 (s)	17.7	7,8,9,10,14
12	6.22 (brs)	119.3	9,11,13,14	27	1.02 (s)	22.5	8,13,14,15
13		142.0		29	1.34 (s)	25.4	19,20,21,30
14		43.9		30	1.17 (s)	28.8	19,20,21,29
15	1.66 (m), 1.04 (m)	27.4	14,16				

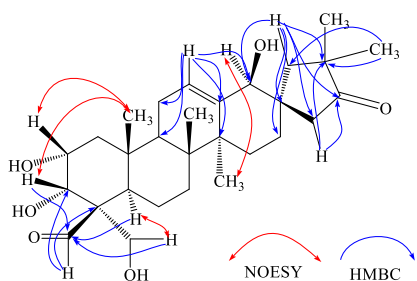


图 2 化合物 1 的主要 HMBC 和 NOESY 相关

Fig. 2 Key HMBC and NOESY correlations of compound 1

C-22 的 HMBC 相关, 从 H-29 到 C-19, C-20 和 C-21 的 HMBC 相关, 以及从 H-22 到 C-18, C-19, C-20 和 C-21 的 HMBC 相关可以推测酮羰基在 C-21 位上。同样, 从化合物 1 的 H-23 到 C-24, H-3 到 C-24, H-5 到 C-24 的 HMBC 相关可以看出, 化合物 1 中醛基连接在 C-24 位。从 H-5 和 H-23 的 NOESY 相关可以推测 C-23 位有羟基取代。

化合物 1 的相对构型可以通过 NOESY 相关来确定。从化合物 1 中 H-2 和 H-25, 以及 H-3 和 H-25 之间的 NOESY 相关可以推测 C-2 和 C-3 的羟基为 α 构型; 从 H-18 和 H-27 的 NOESY 相关可以推测 C-18 的羟基为 β 构型。因此化合物 1 的相对构型与文献报道的化合物 phlomisone 一致^[20-21]。故化合物 1 鉴定为 (17*S*)-2 α ,3 α ,18 β ,23-tetrahydroxy-19(18 $\rightarrow$ 17)-abeo-28-norolean-12-en-21-oxo-24-aldehyde, 通过检索 SciFinder, 发现该化合物为未见文献报道的新化合物, 命名为糙苏醛 A。

化合物 2: 白色晶体 (甲醇); mp 289.5~290.5 °C; ESI-MS m/z : 513 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{29}H_{46}O_6$; 1H -NMR (400 MHz, C_5D_5N) δ : 0.97 (3H, s, H-26), 1.10 (3H, s, H-27), 1.18 (3H, s, H-25), 1.22 (3H, s, H-29), 1.39 (3H, s, H-30), 1.90, 2.55 (各 1H, d, J = 13.5 Hz, H-19), 2.21, 2.75 (各 1H, d, J = 17.6 Hz, H-22), 4.10, 4.27 (各 1H, d, J = 11.0 Hz, H-24), 4.25 (1H, brs, H-18), 4.44, 4.65 (各 1H, d, J = 11.1 Hz, H-23), 4.52 (1H, m, H-2), 5.14 (1H, brs, H-3), 6.25 (1H, brs, H-12); ^{13}C -NMR (100 MHz, C_5D_5N) δ : 44.0 (C-1), 66.9 (C-2), 74.3 (C-3), 48.1 (C-4), 45.5 (C-5), 19.5 (C-6), 35.3 (C-7), 40.3 (C-8), 48.5 (C-9), 38.8 (C-10), 24.1 (C-11), 120.0 (C-12), 142.7 (C-13), 44.7 (C-14), 28.3 (C-15), 36.1 (C-16), 43.7 (C-17), 75.5 (C-18), 51.1 (C-19), 45.8 (C-20), 222.1 (C-21), 41.8 (C-22), 69.8 (C-23), 64.7 (C-24), 18.0 (C-25), 18.3 (C-26), 23.5 (C-27), 26.2 (C-28), 29.5 (C-29)。以上波

谱数据与文献报道的数据基本一致^[20-21], 故鉴定化合物 2 为糙苏酮。

化合物 3: 白色无定形粉末; ESI-MS m/z : 483 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{29}H_{48}O_4$; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 0.80 (3H, s, H-24), 0.98 (3H, s, H-26), 1.02 (3H, s, H-29), 1.03 (3H, s, H-30), 1.08 (3H, s, H-25), 1.14 (3H, s, H-27), 3.41, 3.54 (各 1H, d, J = 11.0 Hz, H-23), 3.61 (1H, brs, H-3), 3.90 (2H, m, H-2, 18), 5.78 (1H, brs, H-12); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 42.7 (C-1), 67.3 (C-2), 78.9 (C-3), 42.7 (C-4), 44.5 (C-5), 19.1 (C-6), 34.7 (C-7), 40.8 (C-8), 48.3 (C-9), 39.3 (C-10), 24.0 (C-11), 119.2 (C-12), 143.7 (C-13), 45.4 (C-14), 28.2 (C-15), 37.1 (C-16), 51.2 (C-17), 76.4 (C-18), 53.1 (C-19), 39.9 (C-20), 43.1 (C-21), 30.8 (C-22), 71.4 (C-23), 17.8 (C-24), 17.9 (C-25), 18.3 (C-26), 23.6 (C-27), 30.5 (C-28), 30.7 (C-29)。以上波谱数据与文献报道的数据基本一致^[20], 故鉴定化合物 3 为糙苏四醇 A。

化合物 4: 白色无定形粉末; ESI-MS m/z : 483 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{29}H_{48}O_4$; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 0.71 (3H, s, H-24), 0.98 (3H, s, H-25), 1.02 (3H, s, H-29), 1.04 (3H, s, H-30), 1.10 (3H, s, H-26), 1.12 (3H, s, H-27), 3.26, 3.51 (各 1H, d, J = 11.0 Hz, H-23), 3.38 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-3), 3.74 (1H, m, H-2), 3.90 (1H, brs, H-18), 5.78 (1H, brs, H-12); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 48.1 (C-1), 69.8 (C-2), 78.3 (C-3), 44.2 (C-4), 48.2 (C-5), 19.1 (C-6), 34.6 (C-7), 40.7 (C-8), 48.6 (C-9), 39.0 (C-10), 24.1 (C-11), 119.2 (C-12), 143.7 (C-13), 45.3 (C-14), 28.1 (C-15), 37.0 (C-16), 31.2 (C-17), 76.4 (C-18), 53.1 (C-19), 39.8 (C-20), 43.1 (C-21), 30.7 (C-22), 66.3 (C-23), 14.1 (C-24), 18.1 (C-25), 18.2 (C-26), 23.7 (C-27), 30.5 (C-28), 30.5 (C-29)。以上波谱数据与文献报道的数据基本一致^[20], 故鉴定化合物 4 为糙苏四醇 B。

化合物 5: 白色无定形粉末; ESI-MS m/z : 515 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{29}H_{48}O_6$; 1H -NMR (400 MHz, C_5D_5N) δ : 1.09 (3H, s, H-27), 1.12 (3H, s, H-26), 1.19 (3H, s, H-25), 1.27 (3H, s, H-30), 1.32 (3H, s, H-29), 4.14, 4.28 (各 1H, d, J = 11.1 Hz, H-24), 4.48 (1H, m, H-2), 4.50, 4.66 (各 1H, d, J = 11.1 Hz, H-23), 4.53 (1H, brs, H-18), 4.75 (1H, s, H-19), 4.92 (1H, brs, H-3), 6.36 (1H, brs, H-12); ^{13}C -NMR (100 MHz,

C₅D₅N) δ : 44.0 (C-1), 67.1 (C-2), 74.3 (C-3), 48.1 (C-4), 45.5 (C-5), 19.6 (C-6), 35.2 (C-7), 40.4 (C-8), 48.6 (C-9), 38.8 (C-10), 24.2 (C-11), 119.2 (C-12), 144.3 (C-13), 44.5 (C-14), 27.3 (C-15), 29.3 (C-16), 51.9 (C-17), 73.8 (C-18), 82.7 (C-19), 43.1 (C-20), 38.8 (C-21), 28.4 (C-22), 69.6 (C-23), 64.8 (C-24), 17.9 (C-25), 18.4 (C-26), 23.6 (C-27), 22.5 (C-28), 29.8 (C-29)。以上波谱数据与文献报道的数据基本一致^[20], 故鉴定化合物 **5** 为糙苏六醇 A。

化合物 **6**: 白色无定形粉末; ESI-MS m/z : 515 [M+Na]⁺, 分子式为 C₂₉H₄₈O₆; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 0.96 (3H, s, H-26), 0.97 (3H, s, H-30), 1.02 (3H, s, H-27), 1.06 (3H, s, H-25), 1.14 (3H, s, H-29), 3.45 (1H, d, J = 4.1 Hz, H-21), 3.60, 3.70 (各 1H, d, J = 11.1 Hz, H-24), 4.16 (2H, m, H-2, 18), 3.71, 3.91 (各 1H, d, J = 11.1 Hz, H-23), 4.02 (1H, brs, H-3), 5.83 (1H, brs, H-12); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 43.0 (C-1), 67.2 (C-2), 73.8 (C-3), 48.0 (C-4), 45.1 (C-5), 19.6 (C-6), 35.3 (C-7), 40.8 (C-8), 48.8 (C-9), 39.1 (C-10), 24.2 (C-11), 120.1 (C-12), 143.1 (C-13), 45.0 (C-14), 28.5 (C-15), 38.5 (C-16), 48.5 (C-17), 75.2 (C-18), 50.1 (C-19), 45.1 (C-20), 82.0 (C-21), 39.5 (C-22), 69.1 (C-23), 64.6 (C-24), 17.7 (C-25), 18.1 (C-26), 23.3 (C-27), 24.1 (C-28), 29.3 (C-29)。以上波谱数据与文献报道的数据基本一致^[20], 故鉴定化合物 **6** 为糙苏六醇 B。

化合物 **7**: 白色无定形粉末; ESI-MS m/z : 515 [M+Na]⁺, 分子式为 C₂₉H₄₈O₆; ¹H-NMR (400 MHz, C₅D₅N) δ : 1.08 (3H, s, H-27), 1.15 (3H, s, H-26), 1.20 (3H, s, H-25), 1.29 (3H, s, H-29), 1.31 (3H, s, H-30), 4.15, 4.28 (各 1H, d, J = 11.2 Hz, H-24), 4.51 (1H, m, H-2), 4.47, 4.65 (各 1H, d, J = 11.4 Hz, H-23), 4.55 (1H, brs, H-18), 4.76 (1H, s, H-19), 4.42 (1H, d, J = 9.7 Hz, H-3), 6.31 (1H, brs, H-12); ¹³C-NMR (100 MHz, C₅D₅N) δ : 48.3 (C-1), 69.6 (C-2), 80.1 (C-3), 48.4 (C-4), 49.1 (C-5), 19.5 (C-6), 34.3 (C-7), 40.4 (C-8), 48.6 (C-9), 38.7 (C-10), 24.2 (C-11), 119.2 (C-12), 144.3 (C-13), 44.6 (C-14), 27.3 (C-15), 28.4 (C-16), 51.5 (C-17), 73.8 (C-18), 82.8 (C-19), 43.2 (C-20), 38.8 (C-21), 29.4 (C-22), 69.6 (C-23), 64.5 (C-24), 18.1 (C-25), 18.4 (C-26), 23.7 (C-27), 29.9 (C-28), 22.5 (C-29)。以上波谱数据与文献报道的数据基本一致^[19], 故鉴定化合物 **7** 为糙苏六醇 C。

化合物 **8**: 白色无定形粉末; ESI-MS m/z : 515 [M+Na]⁺, 分子式为 C₂₉H₄₈O₆; ¹H-NMR (400 MHz, C₅D₅N) δ : 1.07 (3H, s, H-26), 1.08 (3H, s, H-29), 1.10 (3H, s, H-27), 1.21 (3H, s, H-25), 1.32 (3H, s, H-30), 3.84 (1H, m, H-21), 4.12, 4.26 (各 1H, d, J = 11.2 Hz, H-24), 4.33 (2H, m, H-2, 18), 4.46, 4.66 (各 1H, d, J = 11.2 Hz, H-23), 4.40 (1H, d, J = 9.7 Hz, H-3), 6.33 (1H, brs, H-12); ¹³C-NMR (100 MHz, C₅D₅N) δ : 48.4 (C-1), 69.5 (C-2), 80.2 (C-3), 48.3 (C-4), 49.1 (C-5), 19.6 (C-6), 34.2 (C-7), 40.3 (C-8), 48.6 (C-9), 38.8 (C-10), 24.1 (C-11), 119.7 (C-12), 143.5 (C-13), 44.6 (C-14), 28.2 (C-15), 38.1 (C-16), 49.7 (C-17), 74.6 (C-18), 49.9 (C-19), 44.9 (C-20), 81.5 (C-21), 39.8 (C-22), 69.7 (C-23), 64.8 (C-24), 17.9 (C-25), 18.3 (C-26), 23.5 (C-27), 29.5 (C-29), 25.0 (C-30)。以上波谱数据与文献报道的数据基本一致^[19], 故鉴定化合物 **8** 为糙苏六醇 D。

4 抑制肿瘤细胞活性测试

采用 MTT 方法^[23], 评价了分离得到的降三萜类化合物对待测细胞株的抑制作用。

降三萜类化合物抑制肿瘤细胞的活性见表 2。研究结果显示, 分离得到的降三萜类化合物对多种肿瘤细胞株均具有一定的抑制作用。所有 8 个化合物对 3 种肿瘤细胞 A549、HT-29 和 HCT-116 均具有较强的抑制作用, 其 IC₅₀ 值均小于 50 μ g/mL; 化合物 **1**、**2**、**4** 和 **6~8** 对肿瘤细胞株 Hela 和 L929 表现出较强的抑制作用。所有化合物对 HUVEC 和 WRL-68 细胞的抑制作用较弱, 这表明降三萜类化合物对正常细胞株没有明显的毒性作用。

5 讨论

采用多种分离方法, 从宽苞糙苏根的 95%乙醇提取物中分离得到 8 个 28-降齐墩果烷型螺环三萜类化合物, 其中, 化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **3**、**4** 和 **6~8** 为首次从宽苞糙苏中分离得到的化合物。

28-降齐墩果烷型螺环三萜类化合物是一种结构罕见的化合物, 生源关系的研究推测该类化合物可能由齐墩果烷型三萜转化得到^[20]。28-降齐墩果烷型螺环三萜目前只在唇形科 (Labiatae) 糙苏属 *Phlomis* Linn. 植物 *P. spectabilis* Falc. ex Benth.^[24] 和 *P. viscosa* Poir.^[25], 钩萼草属 *Notochaete* Benth. 植物 *N. hamosa* Benth.^[26], 钩子木属 *Rostrinucula* Kud. 植物 *R. dependens* (Rehd.) Kudo^[27] 以及益母草属 *Leonurus* Linn. 植物益母草 *L. heterophyllus* Sweet^[28]

表 2 分离得到的化合物的抗肿瘤活性

Table 2 Antitumor activities of isolated compounds

化合物	IC ₅₀ /(μg·mL ⁻¹)						
	A549	HeLa	L929	HT-29	HCT-116	HUVEC	WRL-68
1	18.65±2.13	26.14±3.66	28.64±3.22	40.65±4.22	11.34±1.22	134.62±12.36	102.38±9.68
2	14.32±1.65	30.24±4.08	24.16±3.41	12.21±1.06	20.45±3.01	125.41±14.22	78.45±8.31
3	24.52±3.01	74.10±10.52	68.17±5.47	10.51±1.33	10.05±0.95	108.91±11.45	195.23±20.14
4	17.64±1.87	43.04±5.32	9.03±0.84	13.65±1.45	31.24±4.22	99.58±10.56	164.32±15.44
5	14.86±1.33	150.36±20.44	141.28±16.21	11.62±1.24	20.64±2.41	86.12±7.26	147.24±16.49
6	7.36±0.89	15.68±1.96	7.68±0.54	10.98±0.57	20.14±2.25	77.41±8.24	88.21±10.22
7	22.12±3.27	24.06±1.78	22.23±2.43	21.02±2.31	40.08±4.33	145.25±13.41	95.36±11.64
8	9.44±0.68	8.58±0.65	1.34±0.21	10.48±0.88	20.23±2.35	134.15±15.74	124.51±13.87

等植物中被分离得到。由于从这些植物中分离得到的该类化合物数量和质量都较少,尚未有关于该类型化合物活性研究的文献报道。课题组从药用植物糙苏及其变种宽苞糙苏中分离得到一系列 28-降齐墩果烷型螺环三萜类化合物。从文献报道可以看出,28-降齐墩果烷型螺环三萜目前只在唇形科植物中被发现,并在糙苏属植物中分布较多。上述研究揭示 28-降齐墩果烷型螺环三萜类化合物有可能是唇形科,尤其是糙苏属植物中的具有代表性的活性成分,该类成分在糙苏属的其它物种中也可能有分布。因此有必要对 28-降齐墩果烷型螺环三萜类化合物进行深入的化学成分分离和活性测定的研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第 66 卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1977: 119-905.
- [2] Li M X, Shang X F, Jia Z P, *et al.* Phytochemical and biological studies of plants from the genus *Phlomis* [J]. *Chem Biodivers*, 2010, 7(2): 283-301.
- [3] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴 (第二册) [M]. 北京: 科学出版社, 1980: 650.
- [4] 南京中医药大学. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 3759.
- [5] Shang X F, Wang J H, Li M X, *et al.* Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Phlomis umbrosa* Turcz. extract [J]. *Fitoterapia*, 2011, 82(4): 716-721.
- [6] 易进海, 钟焱昌, 罗泽渊, 等. 糙苏属和独一味属植物的化学成分及其分类学的意义 [J]. 中草药, 1992, 23(7): 382-384.
- [7] But P P H, Kimura T, Sung C K, *et al.* *International Collation of Traditional Folk Medicine* [M]. New Jersey: World Scientific Publishing, 1997: 137.
- [8] 田光辉, 刘存芳, 赖普辉, 等. 糙苏叶子挥发油成分及其生物活性的研究 [J]. 食品工业科技, 2008, 29(5): 106-109.
- [9] 田光辉, 刘存芳, 危冲, 等. 中药糙苏中的多糖研究 [J]. 食品科技, 2009, 34(6): 206-209.
- [10] Chu S S, Liu Q Z, Jiang G H, *et al.* Chemical composition and insecticidal activity of the essential oil derived from *Phlomis umbrosa* against two grain storage insects [J]. *J Essent Oil Bear Plants*, 2013, 16(1): 51-58.
- [11] Guo S J, Gao L M, Cheng D L. Iridoids from *Phlomis umbrosa* [J]. *Pharmazie*, 2001, 56(2): 178-180.
- [12] 赵静, 杨秀伟, 付宏征, 等. 糙苏化学成分的研究 [J]. 中草药, 1999, 30(2): 3-5.
- [13] 刘世旺, 付宏征, 林文翰. 糙苏的化学成分研究 (I) [J]. 中草药, 1999, 30(3): 3-5.
- [14] 杨永利, 郭守军, 孙坤, 等. 中药糙苏亲水性化学成分的研究 [J]. 兰州大学学报, 2004, 40(2): 67-71.
- [15] Ding M M, Yan F L, Tan J, *et al.* Two new dammarane-type glycosides from *Phlomis umbrosa* [J]. *Nat Prod Res*, 2014, 28(1): 18-23.
- [16] Liu P, Yao Z, Li H Q, *et al.* Four new nortriterpenoids from *Phlomis umbrosa* [J]. *Helvetica Chimica Acta*, 2007, 90(3): 601-606.
- [17] Liu P, Li L Y, Niu R Q, *et al.* Two novel nortriterpenes from the roots of *Phlomis umbrosa* [J]. *Chin Chem Lett*, 2008, 19(10): 1228-1230.
- [18] Liu P, Deng R X, Yin W P, *et al.* A new nortriterpenoid from *Phlomis umbrosa* [J]. *Chem Nat Compd*, 2010, 46(4): 566-568.
- [19] Deng R X, Duan W L, Liu P, *et al.* Secondary metabolites from the roots of *Phlomis umbrosa* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2011, 13(3): 230-237.
- [20] Liu P, Yao Z, Zhang W, *et al.* Novel nortriterpenes from

- Phlomis umbrosa* [J]. *Chem Pharm Bull* (Tokyo), 2008, 56(7): 951-955.
- [21] Liu P, Qiao W, Jia W, *et al.* (17*S*)-2 α ,3 α ,18 β ,23,24-Pentahydroxy-19(18 $\rightarrow$ 17)-abeo-28-norolean-12-en-21-one from the rhizome of *Phlomis umbrosa* [J]. *Acta Cryst E*, 2006, 62(3): o919-o921.
- [22] 张丽娜, 邓瑞雪, 王玉, 等. 宽苞糙苏根化学成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2019, 54(6): 450-456.
- [23] Gao J Y, Zhao H Y, Hylands P J, *et al.* Secondary metabolite mapping identifies *Scutellaria* inhibitors of human lung cancer cells [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 53(3): 723-728.
- [24] Kumar R, Bhan S, Kalla A K, *et al.* 28-Noroleana-16, 21-diene triterpenes from *Phlomis spectabilis* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(8): 2797-2799.
- [25] Çalış İ, Kırmızıbekmez H, Taşdemir D, *et al.* Two new triterpene and a new nortriterpene glycosides from *Phlomis viscosa* [J]. *Helv Chim Acta*, 2004, 87(3): 611-619.
- [26] Luo Y G, Feng C, Tian Y J, *et al.* Three novel nortriterpenoids from *Notochaete hamosa* Benth. (Labiateae) [J]. *Tetrahedron*, 2003, 59(41): 8227-8232.
- [27] Peng S L, Li R, Bao T N, *et al.* A new nortriterpenoid from *Rostrinucula dependens* [J]. *Fitoterapia*, 2005, 76(7/8): 625-628.
- [28] 郑玉清, 闫合, 韩婧, 等. 中药菟蔚子中一个新 C-28 降三萜 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(14): 2088-2091.

[责任编辑 王文倩]