

核桃花化学成分的研究

李 倩

河南农业大学食品科学技术学院, 河南省食品加工与流通安全控制工程技术研究中心, 河南 郑州 450002

摘 要: 目的 研究核桃 *Juglans regia* 花的化学成分。方法 利用正和反相硅胶、Sephadex LH-20 及制备液相等柱色谱方法进行分离纯化, 根据谱学数据及理化性质鉴定化合物结构, 并采用 MTT 法检测化合物的体外细胞毒活性。结果 从核桃花 95% 乙醇水提取物中分离得到 12 个黄酮类化合物和 7 个生物碱类化合物, 分别鉴定为金合欢素 (1)、柚皮素 (2)、5,7-二羟基-6,8,4'-三甲氧基黄酮 (3)、木犀草素 (4)、草质素 (5)、白杨素 (6)、异野樱素 (7)、3,5-二羟基-4',7-二甲氧基黄酮醇 (8)、槲皮苷 (9)、异槲皮苷 (10)、山柰酚 (11)、槲皮素 (12)、2-(4-羟基苯乙基)异吲哚啉-1,3-二酮 (13)、吲哚-3-甲酸乙酯 (14)、1,2,3,4-四氢去甲哈尔满-1-酮 (15)、3-醛基吲哚 (16)、马齿苋酰胺 E (17)、青兰素 C (18)、*N*-苯甲酰-L-苯丙氨酸 (19)。结论 除化合物 4 和 9~12 外, 其余化合物均为首次从胡桃属中分离得到, 其中化合物 13 为 1 个新的天然产物。化合物 2、3 和 5 具有抑制人结肠癌 HCT-116 细胞、人肝癌 HepG2 细胞、人胃癌 BGC-823 细胞、人肺支气管癌 NCI-H1650 细胞、人卵巢癌 A2780 细胞的增殖作用。

关键词: 核桃花; 黄酮; 生物碱; 抗肿瘤; 2-(4-羟基苯乙基)异吲哚啉-1,3-二酮; 柚皮素; 5,7-二羟基-6,8,4'-三甲氧基黄酮; 草质素

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)24-7413-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.24.002

Chemical constituents from flowers of *Juglans regia*

LI Qian

Henan Province Engineering Research Center for Food Safety Control of Processing and Circulation, College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents from the flowers of *Juglans regia*. **Methods** The compounds were isolated and purified by various column chromatographies, and their structures were identified by physicochemical properties and spectroscopic data. MTT assay was used to detect the cytotoxic activity of the compounds *in vitro*. **Results** Nineteen compounds were isolated from the EtOH extract of the flowers of *J. regia*, which were identified as acacetin (1), naringenin (2), 5,7-dihydroxy-6,8,4'-dimethoxyflavone (3), luteolin (4), herbacetin (5), chrysin (6), isosakuranetin (7), 3,5-dihydroxy-4',7-dimethoxyflavone (8), quercitrin (9), isoquercitrin (10), kaempferol (11), quercetin (12), 2-(4-hydroxyphenethyl) isoindoline-1,3-dione (13), 1*H*-indole-3-carboxylic acid-ethyl ester (14), 1,2,3,4-tetrahydronorharman-1-one (15), 1*H*-indole-3-carbaldehyde (16), oleracein E (17), dracocephin C (18), *N*-benzoyl-L-phenylalanine (19). **Conclusion** All compounds were isolated from this genus for the first time except for compounds 4, 9—12. Compounds 2, 3 and 5 exhibited significant *in vitro* growth inhibitory activity against the HCT-116, HepG2, BGC-823, NCI-H1650, and A2780 cancer cell lines.

Key words: flowers of *Juglans regia*; flavones; alkaloids; anticancer; 2-(4-hydroxyphenethyl) isoindoline-1,3-dione; naringenin; 5,7-dihydroxy-6,8,4'-dimethoxyflavone; herbacetin

核桃 *Juglans regia* L. 是胡桃科 (Juglandaceae) 胡桃属落叶乔木植物, 在我国大部分地区作为观赏植物和经济植物广泛种植。其果实核桃仁深受大家喜爱, 其未成熟的花絮也是我国一些民间地区流行

的蔬菜。该植物具有多种药用价值, 其干燥成熟种子被《中国药典》2020 年版收录用于治疗疾病^[1-2]。在我国一些民间地区, 核桃花也被用来预防癌症。为进一步开发核桃资源的应用途径, 在前期研究^[3-5]

收稿日期: 2021-03-25

基金项目: 河南农业大学科技创新基金资助项目 (KJCX2021A19)

作者简介: 李 倩, 女, 博士, 讲师, 从事天然产物活性成分研究。E-mail: lgq1991@163.com

的基础上,本实验对核桃花乙醇提取液的醋酸乙酯萃取物化学成分进行研究,从中分离得到 19 个化合物,12 个黄酮类化合物分别鉴定为金合欢素(acacetin, 1)、柚皮素(naringenin, 2)、5,7-二羟基-6,8,4'-三甲氧基黄酮(5,7-dihydroxy-6,8,4'-dimethoxyflavone, 3)、木犀草素(luteolin, 4)、草质素(herbacetin, 5)、白杨素(chrysin, 6)、异野樱素(isosakuranetin, 7)、3,5-二羟基-4',7-二甲氧基黄酮醇(3,5-dihydroxy-4',7-dimethoxyflavone, 8)、槲皮苷(quercitrin, 9)、异槲皮苷(isoquercitrin, 10)、山柰酚(kaempferol, 11)、槲皮素(quercetin, 12);7 个生物碱类化合物分别鉴定为 2-(4-羟基苯乙基)异吲哚啉-1,3-二酮[2-(4-hydroxyphenethyl)-isoindoline-1,3-dione, 13]、吲哚-3-甲酸乙酯(1*H*-indole-3-carboxylic acid-ethyl ester, 14)、1,2,3,4-四氢去甲哈尔满-1-酮(1,2,3,4-tetrahydronorharman-1-one, 15)、3-醛基吲哚(1*H*-indole-3-carbaldehyde, 16)、马齿苋酰胺 E(oleracein E, 17)、青兰素(dracocephin C, 18)、*N*-苯甲酰-L-苯丙氨酸(*N*-benzoyl-L-phenylalaninol, 19)等。除化合物 4 和 9~12 外,其余均为首次从胡桃属植物中分离得到,其中化合物 13 为 1 个新的天然产物。测定了该 19 个化合物对 5 种人癌细胞的细胞毒活性,结果表明,化合物 2、3 和 5 具有较好的抑制肿瘤细胞增殖的作用。

1 仪器与材料

Agilent 1100 series LC/MSD Trap SL 型质谱仪(美国 Agilent 公司);Mercury-400、Inova-500、VNS-600 型核磁共振仪(美国 Varian 公司);Bruker Avance-III-600 型核磁共振仪(Bruker 公司);Perkin-Elmer 241 型旋光仪(德国 Perkin-Elmer 公司);薄层色谱用硅胶 GF₂₅₄ 和硅胶 G 以及柱色谱用硅胶(200~300 目)均为青岛海洋化工厂生产;ODS-A-HG 为日本 YMC 公司产品;MCI GEL 为日本三菱公司产品;Sephadex LH-20 为 Pharmacia 公司产品;Agilent 1200 型高效液相色谱仪;日本岛津 Prominence UFLC;日本岛津 LC-6AD 型制备型高效液相色谱仪(紫外检测器 SPD-20A, PRC-ODS 色谱柱 250 mm×20 mm, 5 μm);色谱用水为杭州娃哈哈公司生产,其余用水为市售去离子水,分析纯试剂为北京化工厂生产,色谱纯试剂为美国 Fisher 公司产品;实验用人结肠癌 HCT-116 细胞、人肝癌 HepG2 细胞、人胃癌 BGC-823 细胞、人肺支气管

癌 NCI-H1650 细胞、人卵巢癌 A2780 细胞均由北京协和医学院药物研究所药理室提供。

实验用核桃花于 2014 年 5 月采自北京天坛公园,经中国医学科学院药物研究所马林副研究员鉴定为核桃 *J. regia* L. 的花序。植物标本(ID-S-2601)保存于中国医学科学院药物研究所植物标本室。

2 提取与分离

取干燥的核桃花 75 kg,粉碎,用 95%乙醇回流提取 2 次,分别为 2、1 h,每次用溶剂量均以浸没过药材为度。合并乙醇提取液并浓缩;浓缩液用等体积的石油醚萃取 3 次;将醇溶液减压回收溶剂至无醇,加适量水混悬溶解;此混悬液用等体积的醋酸乙酯萃取 3 次,合并醋酸乙酯萃取液并减压浓缩,浓缩液(约 3 L)用 pH=2 的稀盐酸萃取 3 次(每次 1.95 L),醋酸乙酯层用蒸馏水洗 3 次后,减压浓缩得中性醋酸乙酯部分 450 g。将此醋酸乙酯萃取物用硅胶柱色谱进行分离,以三氯甲烷-甲醇(25:1、20:1、15:1、10:1、5:1)梯度洗脱,经薄层色谱检测分为 5 个洗脱部分(Fr. 1~5)。

Fr. 1(58 g, 三氯甲烷-甲醇 25:1)经反相 MCI 柱色谱,依次以 30%、50%、70%乙醇水梯度洗脱,得到 3 个洗脱部分(Fr. 1.1~1.3)。Fr. 1.1(15 g, 30%乙醇)经中压制备色谱(MPLC),依次以 30%、50%、70%、100%甲醇梯度洗脱,得到 4 个洗脱部分(Fr. 1.1.1~1.1.4)。Fr. 1.1.1(2.48 g, 30%甲醇)经凝胶柱色谱,以甲醇洗脱,其中 Fr. 1.1.1-8~1.1.1-9(80 mg)经反相制备色谱,以甲醇-水(60:40)为流动相,体积流量 6 mL/min,以 230 nm 作为 UV 检测波长制备得到化合物 15(4 mg, *t_R*=21 min);Fr. 1.1.1-10~1.1.1-12(72 mg)经反相制备色谱,以甲醇-水(60:40)为流动相,体积流量 6 mL/min,以 230 nm 作为 UV 检测波长制备得化合物 2(24 mg, *t_R*=28 min);Fr. 1.1.3(2.1 g, 70%甲醇)经凝胶柱色谱,以甲醇洗脱,其中 Fr. 1.1.3-5~1.1.3-6(70 mg)经反相制备色谱,以甲醇-水(65:35)为流动相,体积流量 6 mL/min,以 230 nm 作为 UV 检测波长进行二次制备得化合物 3(16 mg, *t_R*=16 min);Fr. 1.1.3-8(38 mg)经反相制备色谱,以甲醇-水(70:30)为流动相,体积流量 6 mL/min,以 230 nm 作为 UV 检测波长进行二次制备得化合物 4(4 mg, *t_R*=37 min);Fr. 1.3(11 g, 70%乙醇)经 MPLC,依次以 40%、50%、60%、80%、100%甲醇梯度洗脱,得到 5 个洗脱部分(Fr. 1.3.1~

1.3.5)。Fr. 1.3.4 (2.5 g, 80%甲醇)经凝胶柱色谱,以甲醇洗脱,其中 Fr. 1.3.4-12~1.3.4-15 (160 mg)经反相制备色谱,以甲醇-水(70:30)为流动相,体积流量 6 mL/min,以 230 nm 作为 UV 检测波长制备得化合物 **5** (54 mg, $t_R=50$ min); Fr. 1.3.4-18~1.3.4-19 (180 mg)经反相制备色谱,以甲醇-水(65:35)为流动相,体积流量 6 mL/min,以 230 nm 作为 UV 检测波长制备得化合物 **6** (7 mg, $t_R=29$ min)、**7** (6 mg, $t_R=47$ min) 和 **8** (7 mg, $t_R=93$ min)。

Fr. 2 (72 g, 三氯甲烷-甲醇 20:1)经硅胶柱色谱,以三氯甲烷-甲醇梯度洗脱(100:1、50:1、25:1、15:1、5:1),经薄层色谱检测分为 5 个洗脱部分(Fr. 2.1~2.5)。Fr. 2.1 (14 g, 三氯甲烷-甲醇 100:1)经 MPLC,依次以 30%、40%、50%、65%、80%、100%甲醇梯度洗脱,得到 6 个洗脱部分(Fr. 2.1.1~2.1.6)。Fr. 2.1.1 (2.4 g, 30%甲醇)经凝胶柱色谱,以甲醇洗脱,其中 Fr. 2.1.1-8~2.1.1-9 (120 mg)经反相制备色谱,以甲醇-水(45:50)为流动相,体积流量为 6 mL/min,以 230 nm 作为 UV 检测波长制备得化合物 **9** (8 mg, $t_R=22$ min) 和 **10** (15 mg, $t_R=27$ min); Fr. 2.1.2 (3.5 g, 40%甲醇)经凝胶柱色谱,以甲醇洗脱,得到 4 个洗脱部分(Fr. 2.1.2.1~2.1.2.4),其中 Fr. 2.1.2.3 (80 mg)经反相制备色谱,以甲醇-水(55:45)为流动相,体积流量 6 mL/min,以 230 nm 作为 UV 检测波长制备得化合物 **16** (10 mg, $t_R=18$ min); Fr. 2.1.3 (2.5 g, 50%甲醇)经凝胶柱色谱,以甲醇洗脱,其中 Fr. 2.1.3-1~2.1.3-4 (180 mg)经反相制备色谱,以乙腈-水(40:60)为流动相,体积流量 6 mL/min,以 230 nm 作为 UV 检测波长制备得化合物 **19** (12 mg, $t_R=28$ min); Fr. 2.1.4 (2 g, 65%甲醇)经凝胶柱色谱,以甲醇洗脱,其中 Fr. 2.1.4-7~2.1.4-8 (120 mg)经反相制备色谱,以乙腈-水(45:55)为流动相,体积流量为 6 mL/min,以 230 nm 作为 UV 检测波长制备得化合物 **13** (4 mg, $t_R=35$ min) 和 **14** (5 mg, $t_R=44$ min); Fr. 2.1.6 (2 g, 甲醇)经凝胶柱色谱,以甲醇洗脱,其中 Fr. 2.1.6~2.1.11 (50 mg)经反相制备色谱,以甲醇-水(65:35)为流动相,体积流量为 6 mL/min,以 230 nm 作为 UV 检测波长制备得化合物 **11** (18 mg, $t_R=78$ min); Fr. 2.1.6-15~2.1.6-16 (30 mg)经反相制备色谱,以甲醇-水(65:35)为流动相,体积流量为 6 mL/min,以 230 nm 作为 UV 检测波长制备得化

物 **1** (14 mg, $t_R=52$ min); Fr. 2.2 (10 g, 三氯甲烷-甲醇 50:1)经 MPLC,依次以 60%、70%、90%甲醇梯度洗脱,得到 3 个洗脱部分(Fr. 2.2.1~2.2.3)。Fr. 2.2.1 (2 g, 60%甲醇)经凝胶柱色谱,以甲醇洗脱,其中 Fr. 2.2.1-3 (65 mg)经反相制备色谱,以甲醇-水(40:60)为流动相,体积流量为 6 mL/min,以 230 nm 作为 UV 检测波长制备得化合物 **17** (15 mg, $t_R=15$ min); Fr. 2.2.2 (2.2 g, 70%甲醇)经凝胶柱色谱,以甲醇洗脱,其中 Fr. 2.2.1-12 (100 mg)经反相制备色谱,以甲醇-水(55:45)为流动相,体积流量 6 mL/min,以 230 nm 作为 UV 检测波长制备得化合物 **18** (20 mg, $t_R=38$ min); Fr. 2.3 (12 g, 三氯甲烷-甲醇 25:1)经 MPLC,依次以 60%、80%、100%甲醇梯度洗脱,得到 3 个洗脱部分(Fr. 2.3.1~2.3.3)。Fr. 2.3.1-5 (200 mg)经反相制备色谱,以甲醇-水(40:60)为流动相,体积流量 6 mL/min,以 230 nm 作为 UV 检测波长二次制备得化合物 **12** (12 mg, $t_R=8$ min)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 285 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.03 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-2', 6'), 7.11 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-3', 5'), 6.87 (1H, s, H-3), 6.49 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 6.19 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 3.85 (3H, s, -OMe); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 182.1 (C-4), 163.3 (C-2), 162.2 (C-4'), 164.1 (C-7), 161.9 (C-5), 128.8 (C-2', 6'), 115.0 (C-3', 5'), 103.4 (C-3), 99.2 (C-6), 94.4 (C-8), 56.0 (-OMe)。以上数据与文献报道一致^[6], 故鉴定化合物 **1** 为金合欢素。

化合物 **2**: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 273 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.13 (1H, s, 5-OH), 10.76 (1H, s, 7-OH), 9.56 (1H, s, 4'-OH), 7.29 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-2', 6'), 6.77 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-3', 5'), 5.86 (2H, brs, H-6, 8), 5.42 (1H, dd, $J=12.8, 2.4$ Hz, H-2), 3.25 (1H, dd, $J=17.2, 13.2$ Hz, H-3_{ax}), 2.26 (1H, dd, $J=17.2, 2.4$ Hz, H-3_{ex}); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 196.9 (C-4), 167.1 (C-7), 163.9 (C-5), 163.4 (C-9), 158.2 (C-4'), 129.3 (C-1'), 128.8 (C-2', 6'), 115.6 (C-3', 5'), 102.2 (C-10), 96.2 (C-6), 95.4 (C-8), 78.9 (C-2), 42.4 (C-3)。以上数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物 **2** 为柚皮素。

化合物 **3**: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 345 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.71 (1H, s,

5-OH), 8.00 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2', 6'), 7.11 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3', 5'), 6.54 (1H, s, H-3), 3.84 (3H, s, 8-OMe), 3.77 (3H, s, 4'-OMe), 3.73 (3H, s, 6-OMe); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 182.4 (C-4), 127.8 (C-2', 6'), 114.6 (C-3', 5'), 102.4 (C-3), 60.5 (8-OMe), 59.4 (6-OMe), 55.0 (4'-OMe)。以上数据与文献报道一致^[8-9], 故鉴定化合物 **3** 为 5,7-二羟基-6,8,4'-三甲氧基黄酮。

化合物 **4**: 黄色粉末; ESI-MS m/z : 287 $[\text{M}+\text{H}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.75 (1H, s, 5-OH), 10.46, 9.78, 9.67 (各 1H, brs, 7, 3', 4'-OH), 7.70 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 7.67 (1H, dd, $J = 8.0$, 2.0 Hz, H-6'), 6.97 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.87 (1H, s, H-3), 6.47 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.24 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 181.4 (C-4), 122.0 (C-6'), 116.0 (C-5'), 113.6 (C-2'), 103.8 (C-3), 99.2 (C-6), 94.5 (C-8)。以上数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **4** 为木犀草素。

化合物 **5**: 淡黄色固体; ESI-MS m/z : 344 $[\text{M}+\text{H}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.71 (1H, s, 5-OH), 10.74 (1H, s, 3-OH), 8.00 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2', 6'), 7.11 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3', 5'), 6.55 (1H, s, H-6), 3.84, 3.77, 3.74 (各 3H, s, 3 $\times$ OMe); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.7 (C-4), 161.8 (C-4'), 157.9 (C-7), 155.8 (C-5), 152.9 (C-2), 152.1 (C-9), 138.1 (C-3), 131.6 (C-8), 130.5 (C-1'), 122.7 (C-2', 6'), 114.7 (C-3', 5'), 105.2 (C-10), 94.5 (C-6), 60.5 (7-OMe), 60.2 (8-OMe), 55.9 (4'-OMe)。以上数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 **5** 为草质素。

化合物 **6**: 浅黄色针状结晶(丙酮); ESI-MS m/z : 255 $[\text{M}+\text{H}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.82 (1H, s, 5-OH), 8.07 (2H, d, $J = 7.2$ Hz, H-2', 6'), 7.58 (3H, m, H-3'~5'), 6.96 (1H, s, H-3), 6.51 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-8), 6.21 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 182.3 (C-4), 165.3 (C-7), 163.6 (C-2), 161.9 (C-9), 158.0 (C-5), 132.5 (C-4'), 131.2 (C-1'), 129.6 (C-3', 5'), 126.9 (C-2', 6'), 105.6 (C-3), 104.3 (C-10), 99.6 (C-6), 94.6 (C-8)。以上数据与文献报道一致^[12-13], 故鉴定化合物 **6** 为白杨素。

化合物 **7**: 淡黄色固体; ESI-MS m/z : 287 $[\text{M}+\text{H}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.12 (1H, s, 5-OH), 9.64 (1H, s, 7-OH), 7.32 (2H, d, $J = 8.0$ Hz,

H-2', 6'), 6.79 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3', 5'), 6.10 (1H, s, H-6), 6.08 (1H, s, H-8), 5.48 (1H, d, $J = 12.8$ Hz, H-2), 3.78 (3H, s, -OMe), 3.32 (1H, overlapped, H-3a), 2.72 (1H, dd, $J = 17.2$, 2.4 Hz, H-3b); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 197.0 (C-4), 167.4 (C-7), 163.2 (C-5), 162.8 (C-9), 157.8 (C-4'), 128.4 (C-2', 6'), 126.5 (C-1'), 115.2 (C-3', 5'), 102.6 (C-10), 94.7 (C-6), 93.8 (C-8), 78.6 (C-2), 55.9 (4'-OMe), 42.0 (C-3)。以上数据与文献报道一致^[6], 故鉴定化合物 **7** 为异野樱素。

化合物 **8**: 黄色固体; ESI-MS m/z : 315 $[\text{M}+\text{H}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.04 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2', 6'), 7.15 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-3', 5'), 6.46 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.21 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-6), 3.88, 3.81 (各 3H, s, -OMe)。以上数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 **8** 为 3,5-二羟基-4',7-二甲氧基黄酮醇。

化合物 **9**: 黄色粉末; ESI-MS m/z : 449 $[\text{M}+\text{H}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.69 (1H, s, 5-OH), 7.33 (1H, brs, H-2'), 7.28 (1H, brd, $J = 8.5$ Hz, H-6'), 6.89 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 6.42 (1H, brs, H-8), 6.24 (1H, brs, H-6), 5.28 (1H, brs, Rha-H-1), 4.00 (1H, brs, Rha-H-2), 3.51 (1H, brs, Rha-H-3), 3.24 (1H, m, Rha-H-5), 3.19 (1H, m, Rha-H-4), 0.84 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, Rha-Me); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.3 (C-4), 157.0 (C-2), 148.8 (C-4'), 145.6 (C-3'), 134.7 (C-3), 121.6 (C-6'), 116.1 (C-5'), 115.9 (C-2'), 101.7 (Rha-C-1), 98.6 (C-6), 93.5 (C-8), 17.9 (Rha-C-6)。以上数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 **9** 为槲皮苷。

化合物 **10**: 黄色粉末; ESI-MS m/z : 465 $[\text{M}+\text{H}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.66 (1H, s, 5-OH), 10.88 (1H, s, 7-OH), 9.74 (1H, s, 3'-OH), 9.17 (1H, s, 4'-OH), 7.70 (1H, brd, $J = 8.0$ Hz, H-6'), 7.55 (1H, brs, H-2'), 6.84 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.43 (1H, brs, H-8), 6.23 (1H, brs, H-6), 5.41 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, Glc-H-1), 3.68~3.33 (6H, m, Glc-H-2~6); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 177.3 (C-4), 156.8 (C-2), 148.5 (C-4'), 145.0 (C-3'), 133.9 (C-3), 121.8 (C-6'), 116.3 (C-5'), 115.7 (C-2'), 100.7 (G-1), 98.5 (C-6), 93.4 (C-8), 61.2 (C-6)。以上数据与化合物 **10** 相比, 二者黄酮母环的数据一致, 最大的区别在于糖的差异。该数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 **10**

为异槲皮苷。

化合物 **11**: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 329 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.93 (1H, s, -OH), 8.07 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-2', 6'), 7.02 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.55 (1H, brs, H-8), 6.49 (1H, brs, H-6); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 176.2 (C-4), 156.1 (C-4'), 147.1 (C-2), 136.0 (C-3), 129.4 (C-2', 6'), 115.8 (C-3', 5'), 98.5 (C-6), 93.8 (C-8)。以上数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 **11** 为山柰酚。

化合物 **12**: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 303 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.45, 10.73, 9.54, 9.31, 9.26 (各 1H, s, 5 $\times$ OH), 7.64 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-2'), 7.50 (1H, dd, J = 8.4, 2.0 Hz, H-6'), 6.84 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 6.36 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 6.15 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 176.3 (C-4), 164.3 (C-7), 161.2 (C-9), 156.6 (C-5), 148.1 (C-4'), 147.2 (C-2), 145.5 (C-3'), 136.2 (C-3), 122.4 (C-1'), 120.4 (C-6'), 116.1 (C-5'), 115.5 (C-2'), 103.5 (C-10), 98.6 (C-6), 93.8 (C-8)。以上数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 **12** 为槲皮素。

化合物 **13**: 黄色油状物; HR-ESI-MS m/z : 268.095 6 $[M+H]^+$ (计算值 268.089 5, $C_{16}H_{14}NO_3$); 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.20 (1H, s, -OH), 7.84 (4H, m, H-4~7), 6.97 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2', 6'), 6.63 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-3', 5'), 3.74 (2H, t, J = 7.2 Hz, H-8'), 2.78 (2H, t, J = 7.2 Hz, H-7'); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 168.1 (C-1, 3), 156.2 (C-4'), 134.8 (C-5, 6), 131.9 (C-4a, 7a), 129.9 (C-2', 6'), 128.6 (C-1'), 123.4 (C-4, 7), 115.6 (C-3', 5'), 40.5 (C-8'), 33.3 (C-7')。以上数据与文献报道一致^[18], 故鉴定化合物 **13** 为 2-(4-羟基苯乙基)异吲哚啉-1,3-二酮。该化合物系首次从天然产物中分离获得, 为 1 个新的天然产物。

化合物 **14**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 190 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.04 (1H, s, H-2), 7.98 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-7), 7.46 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-4), 7.17 (2H, m, H-5, 6), 4.26 (2H, q, J = 6.8 Hz, H-1'), 1.32 (3H, t, J = 6.8 Hz, H-2'); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 164.9 (C=O), 136.8 (C-2), 132.9 (C-7a), 126.1 (C-4a), 122.8 (C-4), 121.7 (C-6), 120.9 (C-5), 112.8 (C-7), 107.1 (C-3), 59.4 (C-1'),

15.0 (C-2')。以上数据与文献报道一致^[19], 故鉴定化合物 **14** 为吲哚-3-甲酸乙酯。

化合物 **15**: 淡黄色粉末, ESI-MS m/z : 187 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.57 (1H, s, 9-NH), 7.58 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5), 7.55 (1H, s, 2-NH), 7.38 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-8), 7.21 (1H, t, J = 7.6 Hz, H-7), 7.05 (1H, t, J = 8.0 Hz, H-6), 3.50 (2H, t, J = 6.8 Hz, H-3), 2.92 (2H, t, J = 6.8 Hz, H-4); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.3 (C-1), 137.5 (C-8a), 127.7 (C-9a), 125.4 (C-4b), 124.5 (C-7), 120.6 (C-6), 119.8 (C-4a), 118.6 (C-5), 112.9 (C-8), 41.6 (C-3), 20.8 (C-4)。以上数据结合 HMBC 实验, 与文献报道一致^[20], 故鉴定化合物 **15** 为 1,2,3,4-四氢去甲哈尔满-1-酮。

化合物 **16**: 黄色粉末; ESI-MS m/z : 146 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.92 (1H, d, J = 0.8 Hz, -CHO), 8.26 (1H, d, J = 1.2 Hz, H-2), 8.07 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-4), 7.49 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-7), 7.24 (1H, t, J = 6.4 Hz, H-6), 7.20 (1H, t, J = 6.4 Hz, H-5); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 185.4 (-CHO), 138.9 (C-2), 137.5 (C-7a), 124.6 (C-3a), 123.9 (C-6), 122.6 (C-5), 121.3 (C-4), 118.6 (C-3), 112.9 (C-7)。以上数据与文献报道一致^[21], 故鉴定化合物 **16** 为 3-醛基吲哚。

化合物 **17**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 220 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.79 (1H, s, 8-OH), 8.75 (1H, s, 9-OH), 6.49 (1H, s, H-10), 6.48 (1H, s, H-7), 4.57 (1H, t, J = 8.0 Hz, H-10b), 3.94 (1H, m, H-5a), 2.89 (1H, m, H-5b), 2.58 (2H, m, H-6), 2.57 (1H, m, H-1a), 2.38 (1H, m, H-2a), 2.19 (1H, m, H-2b), 1.57 (1H, m, H-1b); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 172.0 (C-3), 144.2 (C-8), 144.0 (C-9), 128.4 (C-10a), 123.7 (C-6a), 115.4 (C-7), 111.6 (C-10), 55.5 (C-10b), 36.6 (C-5), 31.2 (C-2), 27.4 (C-6), 27.3 (C-1)。以上数据与文献报道一致^[22], 故鉴定化合物 **17** 为马齿苋酰胺 E。

化合物 **18**: 黄色粉末, HR-ESI-MS m/z : 356.114 1 $[M+H]^+$ (计算值 355.105 6, $C_{19}H_{17}NO_6$); 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.75 (1H, s, 5-OH), 7.49 (1H, s, -NH), 7.31 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-2', 6'), 6.80 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-3', 5'), 5.94 (1H, s, H-8), 5.43 (1H, dd, J = 12.8, 2.4 Hz, H-2), 5.07 (1H, dd, J = 9.2, 5.2 Hz, H-5''), 3.25 (1H, m, H-3a), 2.71 (1H, dd, J =

17.2, 2.0 Hz, H-3b), 2.17 (2H, m, H-4''), 2.05 (2H, m, H-3''); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 197.4 (C-4), 177.3 (C-2''), 165.8 (C-7), 162.0 (C-5), 161.9 (C-9), 158.2 (C-4'), 129.3 (C-1'), 128.8 (C-2', 6'), 115.6 (C-3', 5'), 109.3 (C-6), 101.7 (C-10), 95.2 (C-8), 78.8 (C-2), 46.8 (C-5''), 42.2 (C-3), 30.9 (C-3''), 25.8 (C-4''). 以上数据与文献报道一致^[23], 故鉴定化合物 **18** 为青兰素。

化合物 **19**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 256 $[\text{M} + \text{H}]^+$; ^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.16 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-4'), 7.78 (2H, d, $J = 7.6$ Hz, H-2', 6'), 7.49 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, H-4''), 7.43 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3', 5'), 7.26~7.15 (4H, m, H-2'', 3'', 5'', 6''), 4.15 (1H, m, H-2), 3.50 (1H, dd, $J = 10.8, 5.6$ Hz, H-1a), 3.42 (1H, dd, $J = 10.4, 6.4$ Hz, H-1b), 2.95 (1H, dd, $J = 13.6, 5.2$ Hz, H-3a), 2.78 (1H, dd, $J = 13.6, 9.2$ Hz, H-3b); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 166.4 (C=O), 139.9 (C-1'), 135.2 (C-1''), 131.4 (C-4'), 129.5 (C-4''), 128.6 (C-3', 5'), 128.5 (C-3'', 5''), 127.7 (C-2'', 6''), 126.3 (C-2', 6'), 63.4 (C-1), 53.7 (C-2), 36.9 (C-3)。以上数据与文献报道一致^[24], 故鉴定化合物 **19** 为 *N*-苯甲酰-*L*-苯丙氨酸。

4 体外细胞毒活性的筛选

采用 MTT 法及文献实验方法^[25], 以紫杉醇和 1-羟基-2-甲氧基-12-甲基-[1,3]二氧并[4',5':4,5]苯并[1,2-*c*]菲啶-12-盐酸盐 (NK109)^[26] 为阳性对照药, 测定了化合物 **1**~**19** 对 5 种人癌细胞的细胞毒活性。结果表明, 化合物 **2**、**3** 和 **5** 具有抑制 HCT-116、HepG2、BGC-823、NCI-H1650 和 A2780 肿瘤细胞株增殖的作用, 化合物 **2** 的半数抑制浓度 (IC_{50}) 值分别为 2.22、2.45、2.45、2.20、1.00 $\mu\text{mol/L}$; 化合物 **3** 的 IC_{50} 值分别为 0.84、1.23、0.90、0.88、0.65 $\mu\text{mol/L}$; 化合物 **5** 的 IC_{50} 值分别为 3.87、3.96、7.61、4.14、2.87 $\mu\text{mol/L}$ 。阳性对照药紫杉醇的 IC_{50} 值分别为 0.000 2、0.007 6、0.000 6、>1 和 0.020 4 $\mu\text{mol/L}$, NK109 的 IC_{50} 值分别为 3.94、1.19、1.84、1.75 和 0.90 $\mu\text{mol/L}$ 。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 291.
- [2] 郝荣庭, 张毅萍. 中国果树志: 核桃卷 [M]. 北京: 中国林业出版社, 1996: 9-16.

- [3] Li Q, Deng A J, Ji M, *et al.* Racemic 3, 4-dihydro-4-naphthyl-naphthalen-1(2H)-ones from *Juglans regia* flowers [J]. *Fitoterapia*, 2019, 139: 104401.
- [4] 李倩, 秦海林. 核桃花中二芳基庚烷类成分研究 [J]. 中草药, 2019, 50(16): 3769-3773.
- [5] Li Q, Deng A J, Li L, *et al.* Novel azacyclo-compounds from the flower of *Juglans regia* L [J]. *J Nat Prod*, 2017, 80(8): 2189-2198.
- [6] Nath L R, Gorantla J N, Joseph S M, *et al.* Kaempferide, the most active among the four flavonoids isolated and characterized from *Chromolaena odorata*, induces apoptosis in cervical cancer cells while being pharmacologically safe [J]. *RSC Adv*, 2015, 5(122): 100912-100922.
- [7] Ibrahim M, Ambreen S, Hussain A, *et al.* Phytochemical investigation on *Eucalyptus globulus* Labill [J]. *Asian J Chem*, 2014, 26(4): 1011-1014.
- [8] Greenham J, Vassiliades D D, Harborne J B, *et al.* A distinctive flavonoid chemistry for the anomalous genus *Biebersteinia* [J]. *Phytochemistry*, 2001, 56(1): 87-91.
- [9] Liu Y, Wagner H, Bauer R. Nevadensin glycosides from *Lysionotus pauciflorus* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 42(4): 1203-1205.
- [10] 杨云裳, 何荔, 杨爱梅, 等. 藏药短穗兔耳草化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(2): 153-154.
- [11] Wollenweber E, Mann K, Roitman J N. Flavonoid aglycones excreted by three *Calceolaria* species [J]. *Phytochemistry*, 1989, 28(8): 2213-2214.
- [12] 杨燕军, 林洁红, 许雄伟. 枫香槲寄生化学成分分离与结构鉴定 [J]. 药学学报, 2005, 40(4): 351-354.
- [13] 万仲贤, 吴建国, 吴飞, 等. 白花鬼针草化学成分研究 [J]. 世界中医药, 2020, 15(10): 1391-1394.
- [14] Sultanova N A, Abilov Z A, Omurkamzinova V B, *et al.* Flavonoids of the aerial part of *Tamarix hispida* [J]. *Chem Nat Compd*, 2002, 38(1): 98-99.
- [15] Wang X W, Mao Y, Wang N L, *et al.* A new phloroglucinol diglycoside derivative from *Hypericum japonicum* Thunb [J]. *Molecules*, 2008, 13(11): 2796-2803.
- [16] Stevens J F, Hart H, Wollenweber E. The systematic and evolutionary significance of exudate flavonoids in *Aeonium* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 39(4): 805-813.
- [17] 于红威, 严铭铭, 杨智, 等. 节节草化学成分的研究 [J]. 中草药, 2011, 42(3): 450-453.
- [18] Hudgens T L, Turnbull K D. C-methylation of phenols, tyrosine derivatives, and a tyrosine containing peptide [J]. *Tetrahedron Lett*, 1999, 40(14): 2719-2722.
- [19] 杜文鹏, 徐彭, 刘波, 等. 毛竹笋化学成分研究 (I)

- [J]. 中草药, 2015, 46(3): 334-338.
- [20] Rao K V, Santarsiero B D, Mesecar A D, *et al.* New manzamine alkaloids with activity against infectious and tropical parasitic diseases from an Indonesian sponge [J]. *J Nat Prod*, 2003, 66(6): 823-828.
- [21] Wang C, Yang Y, Mei Z N, *et al.* Cytotoxic compounds from *Laminaria japonica* [J]. *Chem Nat Compd*, 2013, 49(4): 699-701.
- [22] Xiang L, Xing D M, Wang W, *et al.* Alkaloids from *Portulaca oleracea* L [J]. *Phytochemistry*, 2005, 66(21): 2595-2601.
- [23] Ren D M, Guo H F, Yu W T, *et al.* Stereochemistry of flavonoidal alkaloids from *Dracocephalum rupestre* [J]. *Phytochemistry*, 2008, 69(6): 1425-1433.
- [24] 何江波, 刘光明, 程永现. 蜂房化学成分研究 [J]. 中草药, 2011, 42(10): 1905-1908.
- [25] Deng A J, Qin H L. Cytotoxic dihydrobenzo-phenanthridine alkaloids from the roots of *Macleaya microcarpa* [J]. *Phytochemistry*, 2010, 71(7): 816-822.
- [26] Nakanishi T, Masuda A, Suwa M, *et al.* Synthesis of derivatives of NK109, 7-OH benzo[c]phenanthridine alkaloid, and evaluation of their cytotoxicities and reduction-resistant properties [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2000, 10(20): 2321-2323.

[责任编辑 王文倩]