

分心木化学成分及其体外抗肿瘤活性研究

陈良^{1,3,4}, 葛朝伦¹, 魏鸿雁², 马晓玲², 买迪娜^{1,3*}, 石磊岭^{2*}

1. 新疆医科大学附属中医医院 药学部 省部共建中亚高发疾病成因与防治国家重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830000
2. 新疆维吾尔自治区中药民族药研究所, 新疆 乌鲁木齐 830002
3. 中国科学院新疆理化技术研究所, 新疆 乌鲁木齐 830011
4. 中国科学院大学, 北京 100049

摘要: 目的 研究分心木 *Diaphragma Juglandis Fructus* 的化学成分及其体外抗肿瘤活性。方法 综合应用多种色谱技术方法进行分离纯化, 结合现代波谱技术及理化性质进行结构鉴定; 采用 MTT 法检测化合物对人宫颈癌 HeLa 细胞和人胃癌 HGC-27 细胞的体外抑制活性。结果 从分心木 95% 甲醇提取物中分离得到 16 个化合物, 分别鉴定为 isosclerone (1)、engelhardione (2)、5-dehydroxy-octahydro-demethoxycurcumin-A (3)、(E)-3,3'-dimethoxy-4,4'-dihydroxystilbene (4)、blumenol A (5)、(+)-erythro-7-O-ethylguaiaacylglycerol (6)、threo-3-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-3-ethoxypropane-1,2-diol (7)、(6R,9R)-blumenol B (8)、hexahydro-demethoxycurcumin-A (9)、blumenol C (10)、3,4-二羟基苯甲酸乙酯 (11)、(+)-异落叶松脂醇 (12)、胡桃宁 B (13)、heptanoid (14)、4,17-dimethoxy-2-oxatricyclo [13.2.2.1^{3,7}]eicosa-3,5,7(20),15,17,18-hexaene-10,16-diol (15)、alternariol 9-methyl ether (16)。结论 化合物 1~16 均为首次从分心木中分离得到, 化合物 9 和 13 对 HeLa 细胞具有抑制作用, 其半数抑制浓度 (median inhibitory concentration, IC₅₀) 分别为 25.33、16.29 $\mu\text{mol/L}$, 而化合物 13 对 HGC-27 细胞表现出一定的活性。

关键词: 分心木; (+)-异落叶松脂醇; 胡桃宁 B; hexahydro-demethoxycurcumin-A; blumenol C

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)12-3595-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.12.004

Chemical constituents from *Diaphragma Juglandis Fructus* and its antitumor activities

CHEN Liang^{1,3,4}, GE Chao-lun¹, WEI Hong-yan², MA Xiao-ling², MAI Di-na^{1,3}, SHI Lei-ling²

1. State Key Laboratory of Pathogenesis, Prevention and Treatment of High Incidence Diseases in Central Asia, Department of Pharmacy, Traditional Chinese Medicine Hospital Affiliated to Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China
2. Xinjiang Institute of Chinese and Ethnic Medicine, Urumqi 830002, China
3. Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011, China
4. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents and their antitumor activities from *Diaphragma Juglandis Fructus*. **Methods** The 95% methanol extract was isolated and purified by various chromatographic methods, and its structure was identified by modern spectroscopy and physicochemical properties. The *in vitro* inhibitory activities of the compounds on human cervical cancer cell line HeLa and human gastric cancer cell line HGC-27 were detected by MTT method. **Results** Sixteen compounds were isolated and identified as isosclerone (1), engelhardione (2), 5-dehydroxy-octahydro-demethoxy curcumin-A (3), (E)-3,3'-dimethoxy-4,4'-dihydroxystilbene (4), blumenol A (5), (+)-erythro-7-O-ethylguaiaacylglycerol (6), threo-3-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-3-ethoxypropane-1,2-diol (7), (6R,9R)-blumenol B (8), hexahydro-demethoxycurcumin-A (9), blumenol C (10),

收稿日期: 2021-11-08

基金项目: 省部共建中亚高发疾病成因与防治国家重点实验室开放课题资助项目 (SKL-HIDCA-2020-ZY12); 上海合作组织科技伙伴计划及国际科技合作计划项目 (2020E01011)

作者简介: 陈良 (1982—), 男, 博士研究生, 副主任中药师, 从事中药复方制剂研究与开发。E-mail: 864358450@qq.com

*通信作者: 石磊岭 (1977—), 男, 副研究员, 研究方向为中药学研究。E-Mail: shileiling@sina.com

买迪娜 (1968—), 女, 博士, 研究员, 研究方向为天然产物活性成分研究。E-mail: maidn@ms.xjb.ac.cn

ethyl 3,4-dihydroxybenzoate (**11**), (+)-isolariciresinol (**12**), juglanin B (**13**), heptanoid (**14**), 4,17-dimethoxy-2-oxatricyclo [13.2.2.13,7] eicosa-3,5,7(20),15,17,18-hexaene-10,16-diol (**15**) and alternariol 9-methyl ether (**16**). **Conclusion** All compounds are isolated from *Diaphragma Juglandis Fructus* for the first time. Compounds **9** and **13** show inhibitory effect on HeLa cells with IC₅₀ of 25.33 and 16.29 $\mu\text{mol/L}$, respectively. Compound **13** shows certain activity on HGC-27 cells.

Key words: *Diaphragma Juglandis Fructus*; (+)-isolariciresinol; juglanin B; hexahydro-demethoxycurcumin-A; blumenol C

分心木 *Diaphragma Juglandis Fructus* 是胡桃科植物胡桃 *Juglans regia* L. 果核内部的干燥木质隔膜, 又名胡桃夹、核桃隔膜、胡桃隔、胡桃衣。始载于《山西中药志》, 性平, 味苦、涩, 具有固肾涩精、止血止带之效^[1]。传统维医多用其泡水代茶饮, 治疗失眠多梦、肾虚等症。现代研究表明, 分心木具有抑菌、抗氧化等多种药理活性^[2-3], 并含有多种化学成分, 是具有很大开发潜力的一味药材。为了进一步研究分心木的物质基础, 本实验对分心木 95% 甲醇提取物进行了系统的分离纯化, 得到 16 个化合物, 分别鉴定为 isosclerone (**1**)、engelhardione (**2**)、5-dehydroxy-octahydro-demethoxycurcumin-A (**3**)、blumenol A (**5**)、(+)-erythro-7-O-ethylguaiacylglycerol (**6**)、threo-3-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-3-ethoxypropane-1,2-diol (**7**)、(6R,9R)-blumenol B (**8**)、hexahydro-demethoxycurcumin-A (**9**)、blumenol C (**10**)、3,4-二羟基苯甲酸乙酯 (ethyl 3,4-dihydroxybenzoate, **11**)、(+)-异落叶松脂醇 [(+)-isolariciresinol, **12**]、胡桃宁 B (juglanin B, **13**)、heptanoid (**14**)、4,17-dimethoxy-2-oxatricyclo [13.2.2.13,7] eicosa-3,5,7(20),15,17,18-hexaene-10,16-diol (**15**)、alternariol 9-methyl ether (**16**)。以上化合物均为首次从分心木中分离得到。为进一步探究分心木的有效成分, 本实验对化合物 **1~16** 进行了抗肿瘤活性筛选, 结果显示, 化合物 **9**、**13** 对人宫颈癌 HeLa 细胞表现出抑制作用, 化合物 **13** 对人胃癌 HGC-27 细胞表现出一定的活性, 其余化合物尚未表现出明显对这 2 种癌细胞的抑制活性。

1 仪器与材料

BrukerAvanceIII600 型核磁共振波谱仪 (德国 Bruker), 赛默飞世尔 (Thermo Fisher) LTQ-Obitrax XL 液质联用仪, 制备型 Agilent 高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司), 色谱柱 YMC-Pack ODS-A (250 mm×10 mm, 5 μm , 日本 YMC 公司), Sephadex LH-20 凝胶 (Pharmacia 公司), MCI 填料 (日本三菱化学公司), 柱色谱硅胶 (青岛海洋化工有限公

司), 薄层色谱用硅胶 G、H、GF₂₅₄ (青岛海洋化工有限公司), 常规试剂均为分析纯。HeLa 细胞、HGC-27 细胞购自 sigma-aldrich 公司

分心木采购于新疆和田药材市场, 经新疆中药民族药研究所贾晓光研究员鉴定为胡桃科植物胡桃 *J. regia* L. 果核内部的干燥木质隔膜。

2 提取与分离

分心木 8.34 kg, 粉碎为粗粉, 用体积分数 95% 甲醇加热回流提取, 减压浓缩得 753 g 总浸膏。总浸膏用水分散处理后, 依次用石油醚、氯仿、醋酸乙酯、正丁醇进行萃取至无色, 萃取液减压浓缩至干, 得到石油醚部位总浸膏 45.8 g、氯仿部位总浸膏 47.6 g、醋酸乙酯部位总浸膏 159.8 g、正丁醇部位总浸膏 93.5 g。取氯仿部位 (47.6 g) 经硅胶 (100~200 目) 柱色谱, 氯仿-甲醇 (1:0~0:1) 梯度洗脱得到 11 个流分 Fr. 1~11。

Fr. 3 (氯仿-甲醇 90:1) 经过 MCI 色谱柱, 薄层色谱检测, 合并得到 5 个组分 Fr. 3-1~3-5。Fr. 3-1 经半制备液相色谱 (46% 甲醇) 分离纯化, 得到化合物 **6** (5.7 mg)、**7** (1.6 mg)、**8** (1.2 mg)。Fr. 3-2 经半制备液相色谱 (53% 甲醇) 分离纯化, 得到化合物 **4** (2.2 mg)、**5** (5.7 mg)。Fr. 3-3 经半制备液相色谱 (72% 甲醇) 分离纯化, 得到化合物 **11** (1.2 mg)。Fr. 3-4 经半制备液相色谱 (78% 甲醇) 分离纯化, 得到化合物 **9** (6.9 mg)、**10** (8.6 mg)。Fr. 3-5 经半制备液相色谱 (90% 甲醇) 分离纯化, 得到化合物 **3** (5.7 mg)。Fr. 5 (氯仿-甲醇 60:1) 经过 Sephadex LH-20 凝胶色谱柱, 得到 5 个组分 Fr. 5-1~5-5。Fr. 5-2 经半制备液相色谱 (52% 甲醇) 分离纯化, 得到化合物 **12** (1.9 mg)。Fr. 5-5 经半制备液相色谱 (48% 甲醇) 分离纯化, 得到化合物 **1** (1.5 mg)、**2** (1.0 mg)。Fr. 6 (氯仿-甲醇 40:1) 经 ODS 反相色谱柱分离, 得到 6 个组分 Fr. 6-1~6-6。Fr. 6-3 经半制备液相色谱 (60% 甲醇) 分离纯化, 得到化合物 **13** (8.5 mg)。Fr. 6-4 经半制备液相色谱 (65% 甲醇) 分离纯化, 得到化合物 **14** (1.2 mg)、**15** (1.1 mg)、**16** (1.6 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末 (甲醇)。[α]_D²⁵ -67° (c 0.05, MeOH)。ESI-MS m/z : 201 [M+Na]⁺, 结合 ¹³C-NMR、APT 谱确定分子式为 C₁₀H₁₀O₃。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 4.85 (1H, dd, J = 7.8, 3.6 Hz, H-4), 7.08 (1H, d, J = 7.2 Hz, H-5), 7.53 (1H, t, J = 7.8 Hz, H-6), 6.85 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-7), 2.90 (1H, m, H-2a), 2.68 (1H, m, H-2b), 2.31 (1H, m, H-3a), 2.13 (1H, m, H-3b); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 206.4 (C-1), 36.2 (C-2), 32.7 (C-3), 68.4 (C-4), 148.8 (C-4a), 119.1 (C-5), 138.1 (C-6), 119.0 (C-7), 163.8 (C-8), 117.9 (C-8a)。以上数据与文献报道基本一致^[4], 故鉴定化合物 **1** 为 isosclerone。

化合物 **2**: 无色结晶 (甲醇)。mp 73~76 °C。ESI-MS m/z : 335 [M+Na]⁺, 结合 ¹³C-NMR、APT 谱确定分子式为 C₁₉H₂₀O₄。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 2.84 (2H, m, H-1), 2.32 (2H, m, H-2), 1.87 (2H, m, H-4), 1.54 (2H, m, H-5), 1.69 (2H, m, H-6), 2.68 (2H, m, H-7), 5.59 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-2'), 6.72 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 6.56 (1H, dd, J = 8.4, 2.4 Hz, H-6'), 6.86 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2''), 6.84 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-5''), 6.79 (1H, dd, J = 7.8, 1.8 Hz, H-6''); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 28.4 (C-1), 42.4 (C-2), 213.3 (C-3), 47.6 (C-4), 20.5 (C-5), 28.4 (C-6), 36.8 (C-7), 134.6 (C-1'), 114.1 (C-2'), 149.8 (C-3'), 143.2 (C-4'), 117.2 (C-5'), 122.9 (C-6'), 141.4 (C-1''), 119.9 (C-2''), 145.1 (C-3''), 141.5 (C-4''), 125.3 (C-5''), 123.1 (C-6'')。以上数据与文献报道基本一致^[5], 故鉴定化合物 **2** 为 engelhardione。

化合物 **3**: 无色油状物。ESI-MS m/z : 353 [M+Na]⁺, 结合 ¹³C-NMR、APT 谱确定分子式为 C₂₀H₂₆O₄。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 2.56 (2H, m, H-1), 1.84 (2H, m, H-2), 3.62 (1H, m, H-3), 1.54 (2H, m, H-4), 1.51 (1H, m, H-5a), 1.37 (1H, m, H-5b), 1.63 (2H, m, H-6), 2.45 (2H, t, J = 7.8 Hz, H-7), 6.63 (1H, d, J = 1.2 Hz, H-2'), 6.95 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 6.54 (1H, dd, J = 8.4, 1.2 Hz, H-6'), 7.04 (2H, d, J = 7.8 Hz, H-2'', 6''), 6.71 (2H, d, J = 7.8 Hz, H-3'', 5''), 3.72 (3H, s, 3'-OCH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 30.6 (C-1), 38.5 (C-2), 68.9 (C-3), 37.0 (C-4), 25.1 (C-5), 31.5 (C-6), 34.8 (C-7), 132.5 (C-1'), 112.4 (C-2'), 147.3 (C-3'), 155.1 (C-4'), 115.0 (C-5'), 120.2 (C-6'), 133.2 (C-1''), 129.6 (C-2'', 6''),

115.2 (C-3'', 5''), 155.1 (C-4''), 55.5 (3'-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[6], 故鉴定化合物 **3** 为 5-dehydroxy-octahydro-demethoxycurcumin-A。

化合物 **4**: 白色结晶 (甲醇)。mp 211~213 °C。ESI-MS m/z : 295 [M+Na]⁺, 结合 ¹³C-NMR、APT 谱确定分子式为 C₁₆H₁₆O₄。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.20 (2H, d, J = 1.8 Hz, H-2, 2'), 6.86 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-5, 5'), 7.11 (2H, dd, J = 8.4, 1.8 Hz, H-6, 6'), 6.78 (2H, s, H-7, 7'), 3.73 (6H, s, 3, 3'-OCH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 130.5 (C-1, 1'), 109.4 (C-2, 2'), 147.3 (C-3, 3'), 144.7 (C-4, 4'), 115.2 (C-5, 5'), 120.3 (C-6, 6'), 127.6 (C-7, 7')。以上数据与文献报道基本一致^[7], 故鉴定化合物 **4** 为 (E)-3,3'-dimethoxy-4,4'-dihydroxystilbene。

化合物 **5**: 白色粉末 (甲醇)。mp 118~122 °C。ESI-MS m/z : 247 [M+Na]⁺, 结合 ¹³C-NMR、APT 谱确定分子式为 C₁₃H₂₀O₃。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 2.37 (1H, d, J = 16.8 Hz, H-2a), 2.07 (1H, d, J = 16.8 Hz, H-2b), 5.78 (1H, s, H-4), 5.66 (1H, d, J = 15.6 Hz, H-7), 5.71 (1H, dd, J = 15.6, 4.8 Hz, H-8), 4.18 (1H, m, H-9), 1.11 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-10), 0.91 (3H, s, Me-11), 0.93 (3H, s, Me-12), 1.80 (3H, d, J = 1.2 Hz, Me-13); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 40.9 (C-1), 49.4 (C-2), 197.4 (C-3), 125.5 (C-4), 164.4 (C-5), 77.8 (C-6), 135.8 (C-7), 127.9 (C-8), 66.1 (C-9), 24.1 (C-10), 23.0 (C-11), 23.9 (C-12), 19.0 (C-13)。以上数据与文献报道基本一致^[8], 故鉴定化合物 **5** 为 blumenol A。

化合物 **6**: 白色粉末 (甲醇)。[α]_D²⁰ -19.6° (c 0.2, MeOH)。ESI-MS m/z : 265 [M+Na]⁺, 结合 ¹³C-NMR、APT 谱确定分子式为 C₁₂H₁₈O₅。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.82 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2), 6.72 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-5), 6.67 (1H, dd, J = 7.8, 1.8 Hz, H-6), 4.11 (1H, d, J = 6.0 Hz, H-7), 3.47 (1H, m, H-8), 3.08 (1H, dd, J = 12.0, 6.0 Hz, H-9a), 3.25 (1H, m, H-9b), 3.28 (2H, m, H-1'), 1.08 (3H, t, J = 7.2 Hz, H-2'), 3.74 (3H, s, 3-OCH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 131.0 (C-1), 111.2 (C-2), 147.1 (C-3), 145.7 (C-4), 115.0 (C-5), 119.7 (C-6), 81.8 (C-7), 75.1 (C-8), 62.4 (C-9), 63.5 (C-1'), 15.3 (C-2'), 55.5 (3-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **6** 为 (+)-erythro-7-O-ethyl-guaiacylglycerol。

化合物 **7**: 白色粉末 (甲醇), $[\alpha]_D^{25} + 28^\circ$ (c 0.10, CHCl_3)。ESI-MS m/z : 295 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 结合 ^{13}C -NMR、APT 谱确定分子式为 $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_6$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 3.17 (1H, dd, $J = 4.2, 11.8$ Hz, H-1a), 3.28 (1H, dd, $J = 3.0, 11.8$ Hz, H-1b), 3.48 (1H, m, H-2), 4.11 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-3), 6.53 (2H, s, H-2', 6'), 3.11 (1H, m, H-1''a), 3.26 (1H, m, H-1''b), 1.11 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, H-2''), 3.73 (6H, s, 3', 5'- OCH_3); ^{13}C -NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 62.5 (C-1), 75.1 (C-2), 82.0 (C-3), 130.2 (C-1'), 104.5 (C-2', 6'), 147.7 (C-3', 5'), 134.7 (C-4'), 55.9 (3', 5'- OCH_3), 63.6 (C-1''), 15.3 (C-2'')。以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **7** 为 *threo*-3-(4'-hydroxy-3',5'-dimethoxyphenyl)-3-ethoxypropane-1,2-diol。

化合物 **8**: 无色油状物。ESI-MS m/z : 249 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 结合 ^{13}C -NMR、APT 谱确定分子式为 $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}_3$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 2.06 (1H, d, $J = 18.0$ Hz, H-2a), 2.48 (1H, d, $J = 18.0$ Hz, H-2b), 5.74 (1H, s, H-4), 1.63 (1H, m, H-7a), 1.80 (1H, m, H-7b), 1.25 (1H, m, H-8a), 1.52 (1H, m, H-8b), 3.49 (1H, m, H-9), 1.03 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-10), 1.93 (3H, d, $J = 1.2$ Hz, H-11), 1.00 (3H, s, H-12), 0.91 (3H, s, H-13); ^{13}C -NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 41.4 (C-1), 49.8 (C-2), 196.7 (C-3), 125.0 (C-4), 168.5 (C-5), 77.0 (C-6), 34.1 (C-7), 34.0 (C-8), 66.4 (C-9), 24.2 (C-10), 21.1 (C-11), 23.5 (C-12), 23.6 (C-13)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **8** 为 (6*R*,9*R*)-blumenol B。

化合物 **9**: 无色油状物。ESI-MS m/z : 351 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 结合 ^{13}C -NMR、APT 谱确定分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_5$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 2.84 (2H, m, H-1), 2.68 (2H, m, H-2), 2.56 (2H, m, H-4), 4.06 (1H, m, H-5), 1.78 (1H, m, H-6a), 1.49 (1H, m, H-6b), 2.64 (1H, m, H-7a), 2.47 (1H, m, H-7b), 6.65 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2'), 6.97 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-5'), 6.55 (1H, dd, $J = 7.8, 2.4$ Hz, H-6'), 7.17 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2'', 6''), 6.65 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3'', 5''), 3.73 (3H, s, 3'- OCH_3); ^{13}C -NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 20.1 (C-1), 44.7 (C-2), 209.2 (C-3), 50.4 (C-4), 66.2 (C-5), 40.0 (C-6), 30.9 (C-7), 133.3 (C-1'), 112.4 (C-2'), 147.4 (C-3'), 144.4 (C-4'), 115.0 (C-5'), 120.3 (C-6'), 132.9 (C-1''), 129.1 (C-2'', 6''), 115.3 (C-3'', 5''), 155.4 (C-4''), 55.5 (3'- OCH_3)。以上数据与

文献报道基本一致^[6], 故鉴定化合物 **9** 为 hexahydro-demethoxycurcumin-A。

化合物 **10**: 淡黄色油状物。ESI-MS m/z : 233 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 结合 ^{13}C -NMR、APT 谱确定分子式为 $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}_2$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 2.34 (1H, d, $J = 17.4$ Hz, H-2a), 2.00 (1H, d, $J = 17.4$ Hz, H-2b), 5.71 (1H, s, H-4), 3.53 (1H, m, H-9), 1.04 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-10), 0.93 (1H, s, H-11), 0.99 (1H, s, H-12), 1.95 (1H, s, H-13); ^{13}C -NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 36.4 (C-1), 47.4 (C-2), 198.5 (C-3), 124.6 (C-4), 166.4 (C-5), 50.6 (C-6), 26.1 (C-7), 38.9 (C-8), 66.3 (C-9), 24.1 (C-10), 27.2 (C-11), 28.9 (C-12), 24.5 (C-13)。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **10** 为 blumenol C。

化合物 **11**: 白色粉末 (甲醇)。mp 132~134 $^\circ\text{C}$ 。ESI-MS m/z : 205 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 结合 ^{13}C -NMR、APT 谱确定分子式为 $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_4$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 7.35 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2), 7.31 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-5), 6.80 (1H, dd, $J = 7.8, 1.8$ Hz, H-6), 4.22 (2H, m, H-2'), 1.27 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, H-3'); ^{13}C -NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 121.7 (C-1), 116.2 (C-2), 150.4 (C-3), 145.0 (C-4), 115.3 (C-5), 120.7 (C-6), 165.7 (C-1'), 60.0 (C-2'), 14.3 (C-3')。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **11** 为 3,4-二羟基苯甲酸乙酯。

化合物 **12**: 白色粉末 (甲醇)。 $[\alpha]_D^{20} + 34.0^\circ$ (c 0.1, MeOH)。ESI-MS m/z : 383 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 结合 ^{13}C -NMR、APT 谱确定分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_6$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 6.69 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-2), 6.72 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-5), 6.25 (1H, dd, $J = 7.8, 1.2$ Hz, H-6), 3.81 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-7), 1.65 (1H, m, H-8), 3.16 (1H, m, H-9a), 3.43 (1H, m, H-9b), 6.59 (1H, s, H-2'), 6.08 (1H, s, H-5'), 2.84 (1H, d, $J = 5.4$ Hz, H-7'a), 2.81 (1H, d, $J = 5.4$ Hz, H-7'b), 1.86 (1H, m, H-8'), 3.41 (1H, m, H-9'a), 3.61 (1H, m, H-9'b), 3.67 (3H, s, 3- OMe), 3.73 (3H, s, 3'- OMe); ^{13}C -NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 134.1 (C-1), 114.6 (C-2), 146.6 (C-3), 144.5 (C-4), 114.7 (C-5), 122.5 (C-6), 43.0 (C-7), 44.0 (C-8), 60.6 (C-9), 126.6 (C-1'), 111.6 (C-2'), 146.1 (C-3'), 144.2 (C-4'), 116.1 (C-5'), 131.5 (C-6'), 31.8 (C-7'), 33.4 (C-8'), 63.2 (C-9'), 55.6 (3- OMe), 55.4 (3'- OMe)。以上数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 **12** 为 (+)-异落叶松脂醇。

化合物 **13**: 无色结晶 (氯仿)。mp 180~182℃。[α]_D²⁰ +6.0° (c 0.5, MeOH)。ESI-MS m/z : 351 [M+Na]⁺, 结合 ¹³C-NMR、APT 谱确定分子式为 C₂₀H₂₄O₄。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 2.93 (1H, m, H-1a), 2.52 (1H, m, H-1b), 1.99 (1H, m, H-2a), 1.85 (1H, m, H-2b), 1.70 (1H, m, H-3a), 1.47 (1H, m, H-3b), 1.83 (1H, m, H-4a), 1.57 (1H, m, H-4b), 4.04 (1H, t, J = 9.6 Hz, H-5), 2.25 (1H, m, H-6a), 1.66 (1H, m, H-6b), 2.84 (2H, m, H-7), 6.72 (1H, s, H-2'), 7.76 (1H, s, H-6'), 7.04 (1H, dd, J = 8.4, 1.8 Hz, H-2''), 6.80 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-3'), 7.19 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-6''), 3.86 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : (C-1), 28.0 (C-2), 24.2 (C-3), 40.8 (C-4), 69.5 (C-5), 35.8 (C-6), 28.0 (C-7), 132.3 (C-1'), 112.5 (C-2'), 149.8 (C-3'), 141.8 (C-4'), 127.4 (C-5'), 126.9 (C-6'), 31.6 132.2 (C-1''), 130.8 (C-2''), 117.4 (C-3''), 152.7 (C-4''), 127.2 (C-5''), 135.1 (C-6''), 57.0 (-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 **13** 为胡桃宁 B。

化合物 **14**: 棕色粉末 (甲醇)。[α]_D²⁵ +15.9° (c 0.19, MeOH)。ESI-MS m/z : 369 [M+Na]⁺, 结合 ¹³C-NMR、APT 谱确定分子式为 C₂₀H₂₆O₅。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1.94~1.29 (8H, m, H-2, 4a, 4b, 5a, 5b, 6a, 6b), 3.45 (1H, m, H-3), 4.26 (1H, dd, J = 10.8, 1.8 Hz, H-7), 7.00 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2', 6'), 6.68 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-3', 5'), 6.67 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2''), 6.76 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5''), 6.81 (1H, dd, J = 8.4, 1.8 Hz, H-6''), 3.86 (3H, s, 3'-OCH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 32.0 (C-1), 39.8 (C-2), 79.0 (C-3), 32.6 (C-4), 25.3 (C-5), 34.6 (C-6), 81.5 (C-7), 134.6 (C-1'), 130.6 (C-2', 6'), 116.2 (C-3', 5'), 156.5 (C-4'), 136.5 (C-1''), 111.3 (C-2''), 149.0 (C-3''), 147.0 (C-4''), 116.0 (C-5''), 120.1 (C-6''), 56.5 (3''-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 **14** 为 heptanoid。

化合物 **15**: 白色粉末 (氯仿)。[α]_D¹⁵ -58.5° (c 0.3, CHCl₃)。ESI-MS m/z : 381 [M+Na]⁺, 结合 ¹³C-NMR、APT 谱确定分子式为 C₂₁H₂₆O₅。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.04 (1H, m, H-1a), 2.35 (1H, m, H-1b), 1.83 (3H, m, H-2a, 6), 1.49 (1H, m, H-2b), 3.09 (1H, m, H-3a), 1.79 (1H, m, H-3b), 1.26 (1H, m, H-4a), 1.04 (1H, m, H-4b), 3.15 (1H, m, H-5), 2.61 (1H, m, H-7a), 2.52 (1H, m, H-7b), 6.60 (1H, d, J = 8.4 Hz,

H-5'), 6.91 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-6'), 6.66 (1H, dd, J = 8.4, 1.8 Hz, H-2''), 6.88 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-3''), 5.70 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-6''), 3.90 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.83 (3H, s, 4''-OCH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 29.4 (C-1), 37.4 (C-2), 72.7 (C-3), 39.8 (C-4), 23.8 (C-5), 30.1 (C-6), 30.3 (C-7), 136.5 (C-1'), 115.1 (C-2'), 150.9 (C-3'), 147.8 (C-4'), 114.0 (C-5'), 123.1 (C-6'), 128.7 (C-1''), 126.7 (C-2''), 148.5 (C-3''), 142.7 (C-4''), 147.8 (C-5''), 116.2 (C-6''), 57.1 (3'-OCH₃), 61.9 (4''-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[17], 故鉴定化合物 **15** 为 4,17-dimethoxy-2-oxatricyclo [13.2.2.13,7] eicosa-3,5,7(20),15,17,18-hexaene-10,16-diol。

化合物 **16**: 黄色针状结晶 (甲醇)。mp 267~270 °C。ESI-MS m/z : 295 [M+Na]⁺, 结合 ¹³C-NMR、APT 谱确定分子式为 C₁₅H₁₂O₅。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 6.71 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-2), 6.62 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-4), 6.56 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-8), 7.29 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-10), 2.77 (3H, s, 1-CH₃), 3.93 (3H, s, 9-OCH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 140.1 (C-1), 118.8 (C-2), 160.2 (C-3), 103.0 (C-4), 167.3 (C-6), 99.8 (C-6a), 166.7 (C-7), 100.2 (C-8), 168.4 (C-9), 105.1 (C-10), 139.9 (C-10a), 111.0 (C-10b)。以上数据与文献报道基本一致^[18], 故鉴定化合物 **16** 为 alternariol 9-methyl ether。

4 体外抗肿瘤活性

将对数生长期的 HeLa 细胞和 HGC-27 细胞分别接种于 96 孔板上, 每孔 100 μ L, 在培养箱 (37 °C、5% CO₂) 中培养 24 h。待细胞贴壁后, 实验组加入药物, 使终质量浓度为 50 μ g/mL, 阳性对照组加入等量的顺铂 (DDP), 对照组加入稀释 250 倍的二甲基亚砜 (DMSO), 在 37 °C、5% CO₂ 培养箱中孵育 48 h 后, 分别加入 MTT (0.5 mg/mL) 继续培养 4 h, 取出吸去上清液, 加入 DMSO 150 μ L 震荡溶解, 在酶标仪 570 nm 测定吸光度 (A) 值, 根据 A 值计算半数抑制浓度 (median inhibitory concentration, IC₅₀)。

实验以 DDP (50 μ mol/L) 为阳性对照药, 检测了 16 个化合物对 HeLa 细胞和 HGC-27 细胞的体外抑制活性。结果表明化合物 **9**、**13** 可明显抑制 HeLa 细胞, 化合物 **13** 对 HGC-27 细胞表现出一定的抑制活性, 其余化合物未检出有抑制活性。其 IC₅₀ 值见表 1。

5 讨论

分心木为核桃果核内的木质隔膜, 在民间药用

表 1 化合物 9、13 对 HeLa 细胞和 HGC-27 细胞的抑制作用

Table 1 Inhibitory effects of compounds 9 and 13 on HeLa and HGC-27 cells

化合物	IC ₅₀ /(μmol·L ⁻¹)	
	HeLa 细胞	HGC-27 细胞
9	25.33	—
13	16.29	40.72
DDP	3.41	32.94

历史悠久，维吾尔族百姓素有将其泡水代茶饮的习惯，有着良好的安眠和益肾的功效，具有良好的开发和应用前景^[19]。并且其成分丰富，但目前对于分心木的相关研究仍然不够透彻。本实验通过色谱方法结合波谱法，从分心木中首次分离了 16 个化合物，通过 MTT 法考察了所有化合物对肿瘤细胞的体外抑制活性，结果提示分心木具有潜在的抗肿瘤活性，旨在为分心木的新药开发提供了物质基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 景援朝, 赵焕新, 白虹. 分心木的研究进展 [J]. 药学研究, 2014, 33(3): 167-169.
- [2] 高莉, 王艳梅, 帕提古丽·马合木提. 核桃分心木粗提物抑菌活性的研究 [J]. 食品科学, 2008, 29(11): 69-71.
- [3] Meng Q R, Li Y H, Xiao T C, et al. Antioxidant and antibacterial activities of polysaccharides isolated and purified from *Diaphragma juglandis Fructus* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 105(Pt 1): 431-437.
- [4] 许晓妍. 海洋真菌 H1-04 次级代谢产物抗肿瘤活性成分研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2004.
- [5] Lin W Y, Peng C F, Tsai I L, et al. Antitubercular constituents from the roots of *Engelhardia roxburghiana* [J]. *Planta Med*, 2005, 71(2): 171-175.
- [6] Zeng Y C, Qiu F, Liu Y, et al. Isolation and identification of phase 1 metabolites of demethoxycurcumin in rats [J]. *Drug Metab Dispos*, 2007, 35(9): 1564-1573.
- [7] 蔡芷辰, 李振麟, 徐谦, 等. 桂枝的化学成分分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(22): 57-60.
- [8] Fan W Q. Chemical constituents of *Alternanthera philoxeroides* [J]. *Chin J Nat Med*, 2008, 6(2): 112-115.
- [9] Chen J, Xu X Q, Kang X D, et al. Three new phenolic compounds from *Eucommia ulmoides* [J]. *Chem Nat Compd*, 2017, 53(2): 254-256.
- [10] Lee T H, Kuo Y C, Wang G J, et al. Five new phenolics from the roots of *Ficus beecheana* [J]. *J Nat Prod*, 2002, 65(10): 1497-1500.
- [11] Almeida M, Melo A, Pinheiro M, et al. Chemical constituents and leishmanicidal activity of *Gustavia elliptica* (Lecythidaceae) [J]. *Química Nova*, 2010, 34(7): 1182-1187.
- [12] 岳喜典, 姚芳, 张雷, 等. 白英中的倍半萜类化合物 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(3): 453-456.
- [13] El-Ghazooly M G, El-Lakany A M, Abou-Shoer M I, et al. Chemical constituents of *Helichrysum conglobatum* growing in Egypt [J]. *Nat Prod Sci*, 2003, 9(4): 213-219.
- [14] Jutiviboonsuk A, Zhang H J, Tan G T, et al. Bioactive constituents from roots of *Bursera tonkinensis* [J]. *Phytochemistry*, 2005, 66(23): 2745-2751.
- [15] Yang H, Sung S, Kim J, et al. Neuroprotective diarylheptanoids from the leaves and twigs of *Juglans sinensis* against glutamate-induced toxicity in HT22 cells [J]. *Planta Med*, 2011, 77(8): 841-845.
- [16] Son J, Al E A E. Two new diarylheptanoids from *Juglans mandshurica* [J]. *Bull Korean Chem Soc*, 2006, 37(16): 1878-1180.
- [17] Liu J X, Di D L, Wei X N, et al. Cytotoxic diarylheptanoids from the pericarps of walnuts (*Juglans regia*) [J]. *Planta Med*, 2008, 74(7): 754-759.
- [18] Lou J, Yu R, Wang X, et al. Alternariol 9-methyl ether from the endophytic fungus *Alternaria* sp. Samif01 and its bioactivities [J]. *Brazilian J Microbiol*, 2016, 47(1): 96-101.
- [19] 罗婕, 张艺. 中华民族共同体视野下的民族医药传承创新 [J]. 世界中医药, 2021, 16(15): 2211-2216.

[责任编辑 王文倩]