

• 化学成分 •

江南山梗菜中 1 个新的三萜类化合物及其生物活性研究

邱珏琳^{1,2,3}, 陈俊磊^{1,2}, 魏英煊^{1,2}, 王朝阳^{1,2}, 李欢阳^{1,2}, 付 茂^{1,2}, 苑春茂^{1,2}, 黄烈军^{1,2},
郝小江^{1,2,4*}, 顾 玮^{1,2*}

1. 贵州医科大学 省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室, 贵州 贵阳 550014

2. 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵州 贵阳 550014

3. 贵州医科大学药学院, 贵州 贵阳 550025

4. 中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650201

摘要:目的 对江南山梗菜 *Lobelia davidii* 中的三萜类成分及其生物活性进行研究。方法 采用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 及 HPLC 等色谱技术进行分离纯化, 运用 NMR、MS 等波谱技术进行化合物的结构鉴定。采用四甲基偶氮唑盐 [3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide, MTT] 法筛选分离得到化合物对人非小细胞肺癌 A549 细胞的细胞毒性; 采用 4-硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷 (4-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside, PNPG) 法测定分离得到化合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性。**结果** 从江南山梗菜的醋酸乙酯部位中分离得到 6 个三萜类化合物, 分别鉴定为 3 β -正十六酸酯-齐墩果烷-12-烯-11-酮 (1)、熊果酸 (2)、齐墩果酸 (3)、sumaresinolic acid (4)、3 β -羟基-齐墩果烷-12-烯-11-酮 (5)、32,33,34-三甲基-细菌萜烷-16-烯-3-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 (6)。细胞毒性筛选结果表明, 化合物 1 和 5 对 A549 细胞增殖有显著的抑制活性, 其半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 分别为 (26.72 $\pm$ 2.05)、(36.70 $\pm$ 3.43) μ mol/L。 α -葡萄糖苷酶抑制活性筛选结果表明, 化合物 2 和 3 对 α -葡萄糖苷酶有较强的抑制活性, 其 IC₅₀ 分别为 (28.97 $\pm$ 1.73)、(11.87 $\pm$ 1.18) μ mol/L, 抑制活性均高于阳性药阿卡波糖; 化合物 1 对 α -葡萄糖苷酶抑制活性的 IC₅₀ 为 (148.47 $\pm$ 2.09) μ mol/L, 抑制活性与阳性药阿卡波糖相当。**结论** 化合物 1 为新化合物, 命名为山梗菜萜 A; 化合物 2~6 均为首次从江南山梗菜中分离得到。化合物 1 和化合物 5 对 A549 细胞有较强的细胞毒性。化合物 1~3 对 α -葡萄糖苷酶有一定的抑制活性。

关键词: 江南山梗菜; 三萜; 山梗菜萜 A; 细胞毒性; α -葡萄糖苷酶抑制活性; 熊果酸; 齐墩果酸; 3 β -羟基-齐墩果烷-12-烯-11-酮
中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2023)06-1713-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.06.002

A new triterpenoids and biological activities from *Lobelia davidii*

QIU Jue-lin^{1,2,3}, CHEN Jun-lei^{1,2}, WEN Ying-huan^{1,2}, WANG Zhao-yang^{1,2}, LI Huan-yang^{1,2}, FU Mao^{1,2},
YUAN Chun-mao^{1,2}, HUANG Lie-jun^{1,2}, HAO Xiao-jiang^{1,2,4}, GU Wei^{1,2}

1. State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Guizhou Medical University, Guiyang 550014, China

2. The Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550014, China

3. Pharmacy of Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China

4. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents and biological activities of triterpenoids from *Lobelia davidii*. **Methods** The chemical constituents were isolated and purified by silica gel, Sephadex LH-20 and HPLC. The chemical structures were identified by the spectroscopic methods (NMR and MS). The cytotoxic activities to the human non-small-cell lung cancer A549 cells of the compounds were determined by 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) assay. Moreover, the

收稿日期: 2023-01-10

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32060081); 国家自然科学基金项目 (31860074); 国家自然科学基金项目 (U1812403); 贵州医科大学学术新苗项目 (19NSP003)

作者简介: 邱珏琳, 女, 硕士, 研究方向为天然药物化学。E-mail: 1214316595@qq.com

***通信作者:** 顾 玮, 女, 博士, 副研究员, 研究方向为民族药物化学。Tel: (0851)63804492 E-mail: guwei@mail.kib.ac.cn

郝小江, 男, 博士, 研究员, 研究方向为化学生物学。Tel: (0851)63804492 E-mail: haoxj@mail.kib.ac.cn

α -glycosidase inhibitory activity of the compounds were determined by 4-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (PNPG) assay. **Results** Six triterpenoids were isolated from *L. davidii*. and identified as 3 β -hexadecanoate-olean-12-en-11-one (**1**), ursolic acid (**2**), oleanic acid (**3**), sumaresinolic acid (**4**), 3 β -hydroxy-olean-12-en-11-one (**5**), and 32,33,34-trimethyl-bacteriohopan-16-ene 3-*O*- β -D-glucopyranoside (**6**). The screening results showed that compounds **1** and **5** had strong inhibitory activity for the A549 cells with the IC₅₀ value of (26.72 $\pm$ 2.05) μ mol/L and (36.70 $\pm$ 3.43) μ mol/L. While compounds **2** and **3** had strong inhibitory activities against α -glycosidase with the IC₅₀ values of (28.97 $\pm$ 1.73) and (11.87 $\pm$ 1.18) μ mol/L, respectively, which were higher than that of acarbose, and compound **1** exhibited moderate inhibitory activities against α -glycosidase with the IC₅₀ value of (148.47 $\pm$ 2.09) μ mol/L, which was similar to acarbose. **Conclusion** Compound **1** is a new compound named davidioterpene A. Compounds **2**–**6** are isolated from *L. davidii* for the first time. Compounds **2** and **5** have strong inhibitory activity against A549 cells. Compounds **1**–**3** are found to have definite α -glycosidase inhibitory activity.

Key words: *Lobelia davidii* Franch.; triterpenoids; davidioterpene A; cytotoxic activity; α -glycosidase inhibitory; ursolic acid; oleanic acid; 3 β -hydroxy-olean-12-en-11-one

江南山梗菜 *Lobelia davidii* Franch. 为桔梗科 (Campanulaceae) 半边莲属 *Lobelia* L. 多年生草本植物, 又名大种半边莲、节节花、江南大将军、大半边莲、江南苦菜。该植物生于海拔 2300 m 以下的山地林边或沟边较阴湿处, 主要分布在我国贵州、福建、江西、浙江、安徽等南方各地^[1]。临床上主要用于治疗痈肿疔疮、蛇虫咬伤、骨结核、胃寒痛^[2]。江南山梗菜作为一种重要的中药资源, 目前国内外对于江南山梗菜的化学成分及其生物活性的研究报道较少, 张明哲等^[3]从中分离得到 8 个化合物, 分别为三萜类、生物碱类及甾醇类, 且并未对其活性成分做进一步研究。因此对其化学成分和生物活性进行系统的研究, 可以更深入地阐明该植物的药效物质基础, 为该药用植物的开发应用提供科学依据。本实验对江南山梗菜全草的乙醇提取物中的化学成分进行深入研究, 共分离得到 6 个三萜类化合物, 分别鉴定为 3 β -正十六酸酯-齐墩果烷-12-烯-11-酮 (3 β -hexadecanoate-olean-12-en-11-one, **1**)、熊果酸 (ursolic acid, **2**)、齐墩果酸 (oleanic acid, **3**)、sumaresinolic acid (**4**)、3 β -羟基-齐墩果烷-12-烯-11-酮 (3 β -hydroxy-olean-12-en-11-one, **5**)、32,33,34-三甲基-细菌藿烷-16-烯-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 (32,33,34-trimethyl-bacteriohopan-16-ene-3-*O*- β -D-glucopyranoside, **6**)。其中化合物 **1** 为新化合物, 命名为山梗菜萜 A; 化合物 **2**~**6** 均为首次从江南山梗菜中分离得到。进一步采用 MTT 法测定分离得到化合物对人非小细胞肺癌 A549 细胞的细胞毒活性; 采用 PNPG 法测定分离得到化合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性。

1 仪器与材料

UV-2401PC 紫外光谱仪 (日本岛津公司);

Autopol VI 自动旋光仪 (美国鲁道夫公司); Bruker Avance NEO 600MHz 超导核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); HITACHI 高效液相色谱仪 Primaide (日本日立公司); Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱 (半制备柱, 250 mm $\times$ 9.4 mm, 5 μ m, 美国安捷伦公司); QE Focus 型串联四极杆飞行时间液质谱联用仪 (赛默飞世尔科技有限公司); EYELA-1100 型旋转蒸发仪 (日本东京理化器械株式会社); BioTek Epoch 全波长酶标仪 (美国 BioTek 公司); 40~80 目和 200~300 目柱色谱硅胶 (青岛海洋化工厂); 反相填充材料 RP-C₁₈ (25~40 μ m, 德国默克公司); Sephadex LH-20 凝胶 (瑞典 Pharmacia 公司); 甲醇、石油醚、三氯甲烷、醋酸乙酯等试剂购买于天津市富宇精细化工有限公司; 色谱甲醇 (上海星可高纯溶剂有限公司); 磷酸盐缓冲溶液 (phosphate buffered saline, PBS) 和 四 甲 基 偶 氮 唑 盐 [3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide, MTT], 上海麦克林生化科技有限公司; 4-硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷 (4-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside, PNPG) 和 α -葡萄糖苷酶 (美国 Sigma Chemical 公司); A549 细胞来源于美国模式培养物集训库 (American type culture collection, ATCC); 阿卡波糖 (上海毕得医药公司, 批号 BD111950); 顺铂 (上海源叶生物科技有限公司, 批号 B24462)。

江南山梗菜全草 2020 年 9 月采自贵州省毕节市, 经贵州省中国科学院天然产物重点实验室顾玮副研究员鉴定为江南山梗菜 *L. davidii* Franch., 凭证标本 (GZCNG-2020-0047) 存放于贵州省中国科学院天然产物重点实验室。

2 提取与分离

江南山梗菜全草 (30 kg) 粉碎后用 75%乙醇回

流提取 3 次, 每次 3 h, 滤过, 合并提取液, 减压浓缩后将浸膏 (6.1 kg) 分散于水中, 依次用醋酸乙酯、正丁醇萃取。将各个部位萃取液浓缩, 得到醋酸乙酯部位 (1.0 kg), 正丁醇部位 (760.3 g)。醋酸乙酯部位首先通过正相硅胶柱色谱 (40~80 目), 分别以石油醚-醋酸乙酯 (20:1~2:1)、三氯甲烷-甲醇 (100:0~1:1) 梯度洗脱, 并分段收集, 通过薄层色谱 (TCL) 检测分析, 合并得到 9 个组分 Fr. 1~9。Fr. 1 (31.1 g) 经硅胶色谱 [石油醚-醋酸乙酯 (100:0~1:50)] 洗脱得到 5 个亚流分 (Fr. 1-1~1-5)。Fr. 1-3 (5.9 g) 经过凝胶柱色谱 [三氯甲烷-甲醇 (1:1)] 纯化后重结晶得到化合物 **1** (1.1 g)。Fr. 1-5 (18.7 g) 反复用硅胶柱色谱 [三氯甲烷-甲醇 (15:1)] 纯化后经过 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 [三氯甲烷-甲醇 (1:1)] 分离得到化合物 **3** (1.5 g)。Fr. 4 (76.4 g) 首先经过 RP-C₁₈ 柱色谱, 以水-甲醇 (60:40~0:100) 梯度洗脱得到 7 个亚流分 (Fr. 4-1~4-7)。Fr. 4-1 (6.5 g) 经硅胶色谱柱 [氯仿-甲醇 (10:1~1:1)] 梯度洗脱得到 5 个次流分 (Fr. 4-1-1~4-1-5)。Fr. 4-1-3 (1.3 g) 经过 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 [三氯甲烷-甲醇 (1:1)] 纯化再经半制备型 HPLC [甲醇-水 (43:57), 2 mL/min] 纯化得到化合物 **5** (11.0 mg, *t_R*=37.5 min)。Fr. 4-3 (6.4 g) 经硅胶色谱柱色谱 [氯仿-甲醇 (20:1~2:1)] 梯度洗脱得到化合物 **2** (3.9 g)。Fr. 4-6 (6.4 g) 用硅胶柱色谱, 依次用石油醚-醋酸乙酯 (10:1)、三氯甲烷-甲醇 (15:1) 梯度洗脱得到 8 个次流分 (Fr. 4-6-1~4-6-8)。Fr. 4-6-2 (1.4 g) 经过 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 [三氯甲烷-甲醇 (1:1)] 分离得到化合物 **4** (20.0 mg), Fr. 4-6-3 (1.4 g) 经过 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 [三氯甲烷-甲醇 (1:1)] 分离得到化合物 **6** (32.0 mg)

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末, 5% 硫酸-乙醇显色紫红色; $[\alpha]_D^{25} + 39.84$ (c 0.1, MeOH); UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 250 (3.4)、200 (3.5); HR-ESI-MS *m/z* 679.600 6 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 给出分子式为 C₄₆H₇₈O₃ (计算值 679.602 4 $[\text{M}+\text{H}]^+$), 不饱和度为 8; IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 2921, 2850, 1732, 1653, 1467, 1363, 1211, 985, 提示分子中存在羰基和双键; 在 ¹H-NMR 谱中 (表 1) 中, 显示有 9 个甲基质子信号 δ_{H} 1.36 (3H, s), 1.16 (3H, s), 1.13 (3H, s), 0.92 (3H, s), 0.91 (3H, s), 0.90 (3H, s), 0.89 (3H, s), 0.88 (3H, s), 0.85 (3H, m), 1 个烯烃质子信号

表 1 化合物 **1** 的核磁共振波谱数据 (600/150 MHz, CDCl₃)

Table 1 NMR data of compound **1** (600/150 MHz, CDCl₃)

碳位	δ_{H}	δ_{C}
1	2.78 (1H, d, <i>J</i> = 13.7 Hz), 1.05 (1H, m)	38.8
2	1.61 (1H, m), 1.68 (1H, m)	25.2
3	4.51 (1H, dd, <i>J</i> = 11.8, 4.7 Hz)	80.3
4		38.1
5	0.80 (1H, d, <i>J</i> = 11.5 Hz)	55.0
6	1.46 (1H, m), 1.59 (1H, m)	17.4
7	1.45 (1H, m), 1.67 (1H, m)	32.7
8		45.5
9	2.35 (1H, s)	61.7
10		37.0
11		200.2
12	5.58 (1H, s)	128.1
13		170.7
14		43.4
15	1.83 (1H, m), 2.08 (1H, m)	26.5
16	1.18 (1H, m), 0.96 (1H, m)	25.5
17		37.0
18	2.12 (1H, dd, <i>J</i> = 13.7, 3.8 Hz)	47.6
19	1.68 (1H, m), 1.10 (1H, m)	45.2
20		31.9
21	1.25 (1H, m), 1.41 (1H, m)	32.7
22	1.64 (1H, m), 1.66 (1H, m)	32.4
23	0.91 (3H, s)	28.1
24	0.89 (3H, s)	16.8
25	1.16 (3H, s)	16.4
26	1.13 (3H, s)	18.7
27	1.36 (3H, s)	23.5
28	0.88 (3H, s)	28.9
29	0.92 (3H, s)	33.1
30	0.90 (3H, s)	23.4
1'		173.7
2'	2.29 (2H, t, <i>J</i> = 7.0 Hz)	34.9
3'		34.5
4'~13'		28.2~29.7
14'		23.6
15'	1.25 (2H, m)	22.7
16'	0.85 (3H, m)	14.1

δ_{H} 5.58 (1H, s), 1 个连氧碳上的氢信号 δ_{H} 4.51 (1H, dd, *J* = 11.8, 4.7 Hz); 在 ¹³C-NMR 谱 (表 1) 并结合 HMQC 谱图, 确认该化合物有 46 个碳信号, 分别

为 9 个季碳、5 个次甲基、23 个亚甲基、9 个甲基。其中包括 2 个羰基 (δ_{C} 200.2, 173.7) 信号、1 个双键 (δ_{C} 170.7, 128.1), 1 个连氧碳 (δ_{C} 80.3) 和 9 个甲基碳 (δ_{C} 33.1, 28.9, 28.1, 23.5, 23.4, 18.7, 16.8, 16.4, 14.1)。通过以上分析,除了正十六酸甲酯的 16 个碳外,其余均为五环三萜类骨架。通过 HMBC 谱(图 1)可以看到 H-3 (δ_{H} 4.51) 与 C-1' (δ_{C} 173.7) 的相关,表明正十六酸甲酯的 C-1' 位与五环三萜的 C-3 位通过氧原子相连。进一步结合文献报道^[4]分析,该化合物与 procerenone 平面结构基本相似,但是在 C-28 位是 1 个甲基。根据 H-3 的耦合常数 (δ_{H} 4.51, dd, $J = 11.8, 4.7$ Hz) 可以推断 H-3 为 α 构型。进一步通过旋光的数据进行对比,确定化合物 1 的绝对构型与 procerenone 一致。因此,化合物 1 确定为 3 β -正十六酸酯-齐墩果烷-12-烯-11-酮。经检索,该化合物为未见报道的新化合物,命名为山梗菜萜 A。

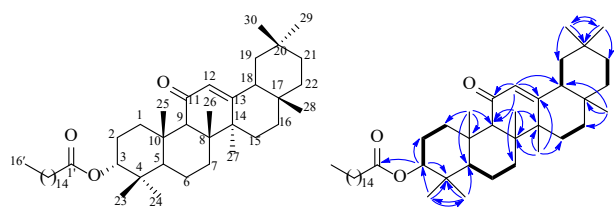


图 1 化合物 1 的结构、主要 ^1H - ^1H COSY (—) 和 HMBC (---) 相关

Fig. 1 Structure, key ^1H - ^1H COSY (—) and HMBC (---) correlations of compound 1

化合物 2: 白色粉末, 分子式 $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$; ESI-MS m/z 479 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 5.13 (1H, dd, $J = 6.8, 3.2$ Hz, H-12), 3.00 (1H, m, H-3), 2.11 (1H, d, $J = 11.3$ Hz, H-18), 1.93 (2H, dd, $J = 13.4, 4.2$ Hz, H-11), 1.59 (1H, dt, $J = 6.4, 3.2$ Hz, H-9), 1.57 (2H, m, H-1), 1.54 (2H, m, H-22), 1.54 (2H, m, H-16), 1.49 (1H, m, H-20), 1.46 (1H, m, H-6a), 1.42 (2H, m, H-2), 1.31 (1H, m, H-19), 1.29 (1H, m, H-6b), 1.29 (2H, m, H-21), 1.26 (2H, m, H-7), 1.05 (3H, s, H-27), 1.01 (2H, m, H-15), 0.92 (3H, s, H-30), 0.90 (3H, s, H-23), 0.87 (3H, s, H-25), 0.82 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-29), 0.75 (3H, s, H-26), 0.68 (3H, s, H-24), 0.66 (1H, s, H-5); ^{13}C -NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 178.8 (C-28), 138.7 (C-13), 125.0 (C-12), 77.3 (C-3), 55.2 (C-5), 52.8 (C-18), 47.3 (C-9), 47.3 (C-16), 42.1 (C-14), 39.6 (C-8), 39.0 (C-20), 38.9 (C-19), 38.8 (C-4), 38.7 (C-1), 37.0

(C-10), 36.80 (C-22), 32.2 (C-15), 30.7 (C-7), 28.7 (C-23), 28.0 (C-21), 27.4 (C-2), 24.3 (C-11), 23.7 (C-27), 23.3 (C-16), 21.6 (C-30), 18.5 (C-6), 17.5 (C-29), 17.4 (C-24), 16.5 (C-25), 15.7 (C-26)。以上数据与文献报道一致^[5], 故鉴定化合物 2 为熊果酸。

化合物 3: 白色粉末, 分子式 $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$; ESI-MS m/z 479 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 5.16 (1H, m, H-12), 1.19 (3H, s, H-27), 0.89 (3H, s, H-26), 0.85 (9H, s, H-23, 25, 30), 0.72 (3H, s, H-29), 0.68 (3H, s, H-24); ^{13}C -NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 179.1 (C-28), 144.3 (C-13), 122.0 (C-12), 77.3 (C-3), 55.2 (C-5), 47.5 (C-9), 46.1 (C-19), 45.9 (C-17), 41.8 (C-14), 41.2 (C-18), 40.4 (C-8), 39.3 (C-8), 38.8 (C-4), 38.5 (C-1), 37.0 (C-10), 33.8 (C-21), 33.3 (C-29), 32.9 (C-7), 32.5 (C-22), 30.9 (C-20), 28.6 (C-23), 27.6 (C-15), 27.4 (C-2), 26.0 (C-27), 23.8 (C-30), 23.4 (C-11), 23.0 (C-16), 18.5 (C-6), 17.3 (C-26), 16.5 (C-24), 15.6 (C-25)。以上数据与文献报道一致^[6], 故鉴定化合物 3 为齐墩果酸。

化合物 4: 白色粉末, 分子式 $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_4$; ESI-MS m/z 471 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 5.34 (1H, t, $J = 3.2$ Hz, H-12), 4.56 (1H, s, H-6), 3.18 (1H, dd, $J = 10.6, 5.4$ Hz, H-3), 1.32 (3H, s, H-26), 1.20 (3H, s, H-25), 1.12 (3H, s, H-24), 1.09 (3H, s, H-23), 1.09 (3H, s, H-27), 0.94 (3H, s, H-29), 0.92 (3H, s, H-30); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 184.0 (C-28), 142.8 (C-13), 122.8 (C-12), 79.1 (C-3), 68.6 (C-6), 55.7 (C-5), 47.9 (C-9), 46.5 (C-17), 45.9 (C-19), 42.2 (C-14), 40.9 (C-18), 40.5 (C-7), 40.3 (C-1), 39.5 (C-4), 38.4 (C-8), 36.5 (C-10), 33.9 (C-21), 33.1 (C-29), 32.3 (C-22), 30.7 (C-20), 27.6 (C-15), 27.9 (C-23), 27.3 (C-2), 26.0 (C-27), 23.3 (C-11), 23.0 (C-16), 23.6 (C-30), 18.2 (C-26), 17.1 (C-24), 17.0 (C-25)。以上数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物 4 为 sumaresinolic acid。

化合物 5: 白色粉末, 分子式 $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_2$; ESI-MS m/z 439 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 5.60 (1H, s, H-12), 3.24 (1H, dd, $J = 11.4, 4.8$ Hz, H-3), 2.34 (1H, s, H-9), 2.13 (1H, d, $J = 13.6, 3.6$ Hz, H-18), 1.83 (1H, m, H-2), 1.67 (3H, m, H-26), 1.37 (3H, m, H-27), 1.01 (3H, s, H-28), 0.91 (3H, s, H-30), 0.70 (1H, m, H-5); ^{13}C -NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 200.4 (C-11), 170.7 (C-13), 128.1 (C-12), 78.8 (C-3),

61.8 (C-9), 54.9 (C-5), 47.6 (C-18), 45.4 (C-14), 45.2 (C-19), 43.4 (C-8), 39.2 (C-4), 37.1 (C-10), 36.5 (C-22), 34.4 (C-21), 33.1 (C-29), 32.8 (C-7), 32.4 (C-17), 31.1 (C-20), 28.8 (C-23), 27.3 (C-16), 26.5 (C-2), 26.4 (C-15), 23.5 (C-27), 18.7 (C-26), 17.5 (C-6), 16.4 (C-24), 15.6 (C-15)。以上数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 **5** 为 3 β 羟基-齐墩果烷-12-烯-11-酮。

化合物 **6**: 白色粉末, 分子式 $C_{44}H_{76}O_6$; ESI-MS m/z 723 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 5.32 (1H, s, H-16), 4.92 (2H, m, H-6'), 4.21 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-4'), 3.13 (1H, m, H-2'), 3.08 (1H, m, H-5'), 1.94 (2H, m, H-2), 1.15 (3H, m, H-29), 0.99 (1H, m, H-21), 0.64 (3H, m, H-33); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 140.9 (C-17), 121.7 (C-16), 101.2 (C-1'), 77.4 (C-3), 77.2 (C-3'), 77.1 (C-2'), 73.9 (C-5'), 70.6 (C-4'), 61.5 (C-5'), 56.6 (C-21), 55.9 (C-5), 51.0 (C-13), 50.1 (C-13), 45.6 (C-4), 42.3 (C-14), 42.2 (C-18), 40.3 (C-10), 39.4 (C-20), 38.7 (C-23), 37.3 (C-19), 36.7 (C-2), 35.9 (C-22), 33.8 (C-15), 31.9 (C-2), 29.7 (C-20), 29.2 (C-23), 28.3 (C-15), 25.9 (C-34), 24.3 (C-12), 23.1 (C-31), 23.1 (C-32), 21.6 (C-11), 21.4 (C-33), 21.1 (C-29), 20.2 (C-26), 19.6 (C-27), 19.4 (C-25), 19.3 (C-24), 19.1 (C-28), 12.6 (C-32), 12.3 (C-34), 12.3 (C-33), 12.1 (C-35)。以上数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 **6** 为 32,33,34-三甲基-细菌甾烷-16-烯-3- O - β -D-吡喃葡萄糖苷。

4 生物活性评价

4.1 对 A549 细胞的细胞毒性实验

采用 MTT 法对分离鉴定的 6 个化合物进行 A549 细胞的细胞毒性测定, 以顺铂为阳性药, 具体的细胞毒活性实验操作流程和操作方法参考本课题组前期研究报道^[10]。

结果显示, 化合物 **1** 对 A549 细胞增殖有显著的抑制活性, 其半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC_{50}) 为 $(26.72 \pm 2.05) \mu\text{mol/L}$, 化合物 **5** 对 A549 细胞增殖同样有显著的抑制活性, 其 IC_{50} 为 $(36.70 \pm 3.43) \mu\text{mol/L}$ 。与阳性对照顺铂 [IC_{50} 为 $(11.71 \pm 0.85) \mu\text{mol/L}$] 相比, 对 A549 细胞增殖的抑制活性均稍低于阳性药。其余化合物对 A549 细胞增殖的抑制活性较弱, 在初筛 200 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下, 抑制率均低于 50%, 具体活性评价结果数据见表 2。

4.2 α -葡萄糖苷酶抑制活性测定

采用 PNPG 法对分离鉴定的 6 个化合物进行体

表 2 化合物 1~6 对 A549 细胞、 α -葡萄糖苷酶的 IC_{50} ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 IC_{50} values of A549 cell and α -glycosidase with compounds 1—6 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

化合物	$IC_{50}/(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	
	A549 细胞	α -葡萄糖苷酶
1	26.72 ± 2.05	148.47 ± 2.09
2	>200	28.97 ± 1.73
3	>200	11.87 ± 1.18
4	>200	>200
5	36.70 ± 3.43	>200
6	>200	>200
阳性对照	11.71 ± 0.85^a	249.55 ± 2.26^b

a-顺铂 b-阿卡波糖

a-cisplatin b-acarbose

外 α -葡萄糖苷酶抑制活性测定, 以阿卡波糖为阳性对照药物, 具体的抑制活性实验操作流程和操作方法见本课题组前期研究报道^[11-12]。

实验结果显示, 发现有 3 个化合物具有显著的 α -葡萄糖苷酶抑制活性, 具体活性评价结果数据见表 2。化合物 **1** 的 IC_{50} 值为 $(148.47 \pm 2.09) \mu\text{mol/L}$, 抑制活性约为阳性对照阿卡波糖的 1.68 倍, 化合物 **2** 的 IC_{50} 值为 $(28.97 \pm 1.73) \mu\text{mol/L}$, 抑制活性约为阳性对照阿卡波糖的 8.61 倍, 化合物 **3** 的 IC_{50} 值为 $(11.87 \pm 1.18) \mu\text{mol/L}$, 抑制活性约为阳性对照阿卡波糖的 21.02 倍。

5 讨论

本实验运用多种色谱分离方法和波谱鉴定技术从江南山梗菜醋酸乙酯部位分离鉴定了 6 个三萜类化合物 (**1**~**6**), 其中化合物 **1** 为新化合物, 命名为山梗菜萜 A; 化合物 **2**~**6** 均为首次从江南山梗菜中分离得到。A549 细胞的细胞毒性实验表明, 化合物 **1** 和化合物 **5** 对 A549 细胞增殖有较强的抑制活性。 α -葡萄糖苷酶抑制活性测定表明, 化合物 **1** 对 α -葡萄糖苷酶有一定的抑制活性, 其活性与阳性药阿卡波糖相当; 化合物 **2** (熊果酸) 和 **3** (齐墩果酸) 对 α -葡萄糖苷酶表现出较强的抑制活性, 熊果酸和齐墩果酸是很多植物体内的常见成分, 关于二者的降糖作用前人已有报道。李明等^[13]构建 2 型糖尿病模型观察了熊果酸对 2 型糖尿病大鼠血糖的影响, 发现熊果酸高、中剂量组对 2 型糖尿病大鼠空腹血糖有明显降低作用且与模型组差异显著。宋志成等^[14]用 PNPG 法对齐墩果酸及其衍生物的 α -葡萄糖苷酶

抑制活性进行了筛选,发现齐墩果酸表现出显著的 α -葡萄糖苷酶体外抑制活性。本研究结果进一步印证了 2 种三萜化合物的降糖活性。可以为未来开发该类化合物的降糖药物提供一定的启示。综上,本实验从江南山梗菜中得到 1 个新的三萜类化合物,并印证了江南山梗菜化学成分的抗肿瘤活性和降糖活性,为发现潜在的抗癌活性成分和降糖活性成分提供参考,也为江南山梗菜资源的进一步开发和利用奠定了基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国植物志编辑委员会. 中国植物志. 第 73(2)卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1983: 165.
- [2] 赵娜娜. 山梗菜生物碱类化学成分的研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2010.
- [3] 张明哲, 王景朝. 江南山梗菜化学成分的研究 [J]. 植物学报, 1992, 34 (1): 58-64.
- [4] Ngamgwe R F, Yankam R, Chouna J R, et al. Procerenone: A fatty acid triterpenoid from the fruit pericarp of *Omphalocarpum procerum* (Sapotaceae) [J]. *Iran J Pharm Res*, 2014, 13(4): 1425-1430.
- [5] 王军民, 刘思远, 杨莹, 等. 茯神化学成分的研究 [J]. 中成药, 2021, 43(10): 2728-2732.
- [6] Al-Oqail M, Hassan W H, Ahmad M S, et al. Phytochemical and biological studies of *Solanum schimperianum* Hochst [J]. *Saudi Pharm J*, 2012, 20(4): 371-379.
- [7] 王峰, 方振峰. 安息香化学成分研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(17): 89-92.
- [8] Martins L R, Takahashi J A. Rearrangement and oxidation of beta-amyrin promoted by growing cells of *Lecanicillium muscarinium* [J]. *Nat Prod Res*, 2010, 24(8): 767-774.
- [9] 李秋萍, 姚彩云, 吴玲玲, 等. 节节红化学成分研究 [J]. 中国现代中药, 2019, 21(5): 572-576.
- [10] 胡永, 段玉书, 苑春茂, 等. 艾纳香中 1 个新倍半萜内酯及其细胞毒活性研究 [J]. 中草药, 2019, 50(14): 3274-3278.
- [11] Xie R X, Chen J L, Zhou L Q, et al. Oreocharioside A-G, new acylated C-glycosylflavones from *Oreocharis auricula* (Gesneriaceae) [J]. *Fitoterapia*, 2022, 158: 105158.
- [12] Tao L L, Xu S Y, Zhang Z Z, et al. Bioassay-guided isolation of α -glucosidase inhibitory constituents from *Hypericum sampsonii* [J]. *Chin J Nat Med*, 2022, 21(0): 1-12.
- [13] 李明, 韩淑英. 熊果酸对 2 型糖尿病大鼠的降糖作用 [J]. 华北理工大学学报: 医学版, 2016, 18(5): 353-355.
- [14] 宋志成, 王世盛, 宋其玲, 等. 齐墩果酸的结构修饰和 α -葡萄糖苷酶抑制活性 [J]. 高等学校化学学报, 2012, 33(4): 744-749.

[责任编辑 王文倩]