

臭阿魏化学成分研究

张旭, 李敏, 王月, 陈倩, 刘敬勃, 李韶勇, 唐生安*

天津医科大学药学院, 天津市临床药物关键技术重点实验室, 天津 300070

摘要:目的 研究阿魏属植物臭阿魏 *Ferula teterrima* 的化学成分及其抗肿瘤活性。方法 采用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱及半制备高效液相色谱等色谱方法分离纯化得到单体化合物, 利用 MS、¹H-NMR、¹³C-NMR、DEPT、2D NMR 等波谱学方法鉴定化合物的结构。采用计算电子圆二色谱法 (ECD) 判定新化合物的绝对构型。同时以人肝癌 HepG2 细胞株为筛选模型对分离得到的化合物进行抗肿瘤活性测试。结果 从臭阿魏中分离得到了 9 个化合物, 分别鉴定为臭阿魏脂素 A (1)、镰叶芹二醇 (2)、阿魏酸 (3)、阿魏酸松柏酯 (4)、badrakemin acetate (5)、fekolone (6)、mogoltadone (7)、香草醛 (8)、 γ -甲氧基异丁香酚 (9)。化合物 1 为降木脂素类成分, 2 为聚炔类成分, 5~7 为倍半萜香豆素类成分, 3、4 为苯丙素类成分。结论 化合物 1 为新化合物, 化合物 2、4 和 9 为首次从阿魏属中分离得到, 化合物 3、6~8 为首次从该植物中得到。化合物 4、6 和 7 表现出潜在的抗肿瘤活性, 半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 分别为 11.09、17.95 和 23.06 μ mol/L。

关键词: 臭阿魏; 臭阿魏脂素 A; 阿魏酸松柏酯; 香草醛; fekolone; mogoltadone

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)08-2373-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.08.003

Study on chemical constituents from *Ferula teterrima*

ZHANG Xu, LI Min, WANG Yue, CHEN Qian, LIU Jing-bo, LI Shao-yong, TANG Sheng-an

Tianjin Key Laboratory on Technologies Enabling Development of Clinical Therapeutics and Diagnostics (Theranostics), School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China.

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents from *Ferula teterrima* and their antitumor activities. **Methods** The chemical constituents were separated and purified by silica gel, Sephadex LH-20, semi-prepared HPLC and other chromatography techniques. The structures of monomer compounds were determined by MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT, 2D NMR and other spectroscopic methods. The absolute configuration of new compound was determined by ECD. The cytotoxic activity of isolated compounds on human liver cancer (HepG2) cell line was determined. **Results** Nine compounds (1—9) were isolated, and were identified as teterrimanol A (1), falcariindiol (2), ferulic acid (3), coniferyl ferulate (4), badrakemin acetate (5), fekolone (6), mogoltadone (7), vanillin (8), 2-methoxy-4-(3-methoxy-1-propenyl)-phenol (9). Compounds 1 were lignans, 2 were polyacetylene, 5—7 were sesquiterpene coumarins, and 3 and 4 were phenylpropanes. **Conclusion** Compound 1 is a new compound; Compounds 2, 4 and 9 are isolated from the genus *Ferula* for the first time; Compounds 3, 6—8 are isolated from this plant for the first time. Compounds 4, 6 and 7 showed potential antitumor activity with 50% inhibitory concentration (IC₅₀) values of 11.09, 17.95 and 23.06 μ mol/L, respectively.

Key words: *Ferula teterrima* Kar. et Kir.; teterrimanol A; coniferyl ferulate; vanillin; fekolone; mogoltadone

臭阿魏 *Ferula teterrima* Kar. et Kir. 为伞形科 (Umbelliferae) 阿魏属 *Ferula* L. 植物, 因能散发处出似葱蒜的臭味, 故得名臭阿魏。臭阿魏产于新疆的伊犁和准噶尔地区; 亦分布于哈萨克斯坦^[1]。臭阿魏为《藏药标准》1979 年版收载“阿魏”的基原

植物, 药用其树脂。有杀虫、散痞、消积之功效。用于虫积腹痛、腹中痞块、肉食积滞、瘀血癥瘕; 阿魏油外用于关节痛^[2]。臭阿魏中的特征性成分为倍半萜香豆素类成分, 还含有甾体类、含硫化合物类等成分^[3-5]。近年来药理学研究结果表明, 阿魏属

收稿日期: 2023-02-18

基金项目: 天津市教委科研计划项目 (2019ZD031)

作者简介: 张旭 (1997—), 男, 硕士, 研究方向为天然药物化学。

*通信作者: 唐生安 (1977—), 男, 副教授, 研究方向为天然药物化学。Tel: (022)83336658 E-mail: tangshengan@tmu.edu.cn

多种植物具有很好的抗肿瘤活性^[6-7], 并且其特征性成分倍半萜香豆素类单体化合物的抗肿瘤活性研究也取得了一定进展^[8-9]。

由于对臭阿魏的相关文献报道较少, 为了进一步明确臭阿魏的活性成分, 便于对其进行后续研究和开发利用, 本实验采用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱及半制备高效液相色谱等色谱分离方法分离纯化得到单体化合物, 用核磁共振波谱和质谱等波谱学方法鉴定单体化合物的结构, 采用计算电子圆二色谱法 (ECD) 判定新化合物的绝对构型。同时以人肝癌 HepG2 细胞为筛选模型对分离得到的单体化合物进行抗肿瘤活性测试。从臭阿魏中分离得到了 9 个化合物, 分别鉴定为 teterrimanol A (1)、镰叶芹二醇 (faltarindiol, 2)、阿魏酸 (ferulic acid, 3)、阿魏酸松柏酯 (coniferyl ferulate, 4)、badrakemin acetate (5)、fekolone (6)、mogoltadone (7)、香草醛 (vanillin, 8)、 γ -甲氧基异丁香酚 [2-methoxy-4-(3-methoxy-1-propenyl)-phenol, 9]。其中化合物 1 为新化合物, 属于降木脂素类成分, 采用 ECD 确定了新化合物的绝对构型, 化学结构见图 1。活性筛选结果表明, 化合物 4、6 和 7 表现出潜在的抗肿瘤活性。

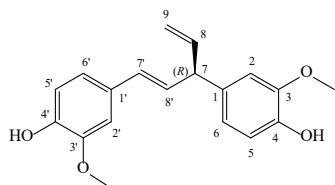


图 1 化合物 1 的化学结构

Fig. 1 Chemical structure of compound 1

1 仪器与材料

Bruker AVANCE 400 ($^1\text{H-NMR}$, 400MHz; $^{13}\text{C-NMR}$, 100MHz)。Agilent 6200 series TOF/6500 series (QTOF B.06.01) 质谱仪采集。LC3000 半制备型高效液相色谱仪, 色谱柱为 YMC-Pack ODS-A 柱 (250 mm×20 mm, 5 μm ; YMC Co. Ltd., Kyoto, Japan)。薄层硅胶 GF254 和柱色谱硅胶 (青岛海洋化工厂), Sephadex LH-20 填料 (Amersham Biosciences 公司), 反相 ODS 填料 (Merck 公司)。实验所用试剂均为分析纯有机试剂, 为天津市津东天正精细化学试剂厂产品; 氘代试剂 (Cambridge Isotope Laboratories, Inc. 美国)。

人肝癌细胞 HepG2 细胞株 (武汉普诺赛生命科

技有限公司); MTT (北京索莱宝科技有限公司); DMEM 培养基 (美国 Gibco 公司); PBS (北京索莱宝科技有限公司); 胰蛋白酶 (美国 Gibco 公司); 紫杉醇 [阿拉丁试剂 (上海) 有限公司]; DMSO (阿拉丁试剂 (上海) 有限公司); 5% CO_2 细胞培养箱 (美国赛默飞世尔科技公司); CKX31 倒置显微镜 (日本 Olympus 公司); 96 孔细胞培养板 (美国 Corning 公司)。

臭阿魏药材购买于新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市, 经天津医科大学唐生安副教授鉴定其为臭阿魏 *F. teterrima* Kar. et Kir. 的树脂。现保存于天津医科大学药学院天然药物化学实验室, 编号为 CAW20201022。

2 提取与分离

臭阿魏树脂 (1.0 kg) 打磨粉碎, 用甲醇回流提取, 每次 1 L 回流 2 h, 共提取 3 次。合并提取液浓缩后得到 703.0 g 提取物。提取物用水混悬, 依次用石油醚, 醋酸乙酯, 正丁醇萃取, 各萃取 3 次, 最终得到石油醚部位 30.0 g、醋酸乙酯部位 343.0 g、正丁醇部位 31.0 g。

醋酸乙酯层萃取物 (343.0 g) 经正相硅胶柱色谱纯化, 依次以石油醚-醋酸乙酯 (50:1、20:1、10:1、5:1、2:1、1:1) 进行梯度洗脱, 最后再依次用 100% 醋酸乙酯、100% 甲醇冲洗, 将所有流分经 TLC 分析合并后最终得到 16 个组分 0101~0116。

将组分 0112 (24.0 g) 继续用硅胶柱色谱分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (4:1、2:1、1:1) 为流动相进行梯度洗脱, 共得到 17 个组分 0201~0217; 组分 0210 (125.0 mg) 经反相半制备 HPLC 分离, 以甲醇-水 (75:25) 为流动相, 体积流量 5 mL/min, 得到化合物 3 ($t_R=13$ min, 23.0 mg)、4 ($t_R=15$ min, 1.3 mg)。改变流动相的比例为甲醇-水 (80:20), 体积流量 5 mL/min, 取 0205 (248.0 mg) 经反相半制备 HPLC 分离纯化后, 得到化合物 1 ($t_R=18$ min, 3.0 mg)、2 ($t_R=40$ min, 2.2 mg)、5 ($t_R=94$ min, 5.0 mg)、6 ($t_R=46$ min, 9.1 mg)、7 ($t_R=50$ min, 8.2 mg)、8 ($t_R=13$ min, 14.9 mg) 和 9 ($t_R=14$ min, 6.6 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 淡黄色油状物; $[\alpha]_D^{25}-1.807$ (c 0.83, CH_3OH); 经 HR-ESIMS m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 335.126 3 (计算值 335.125 9, $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_4\text{Na}$) 确定其分子式为 $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_4$, 不饱和度为 10。 $^1\text{H-NMR}$ (表 1) 显示,

表 1 化合物 1 的 ^1H NMR (400 MHz) 和 ^{13}C NMR (100 MHz) 数据 (in CDCl_3)Table 1 ^1H and ^{13}C -NMR spectral data of compound 1 (400/100 MHz, in CDCl_3)

碳位	δ_{H}	δ_{C}
1		134.7
2	6.75 (1H, d, $J = 1.6$ Hz)	110.6
3		146.6
4		144.3
5	6.86 (1H, d, $J = 8.1$ Hz)	114.3
6	6.76 (1H, dd, $J = 8.1, 1.6$ Hz)	120.7
7	4.13 (1H, dd, $J = 6.6, 6.8$ Hz)	52.0
8	6.09 (1H, ddd, $J = 6.8, 10.4, 17.2$ Hz)	140.4
9	5.13 (1H, d, $J = 17.2$ Hz)	115.4
	5.17 (1H, d, $J = 10.4$ Hz)	
1'		130.0
2'	6.89 (1H, brs)	108.2
3'		146.5
4'		145.2
5'	6.86 (1H, d, $J = 8.1$ Hz)	114.3
6'	6.88 (1H, overlapped)	119.9
7'	6.33 (1H, d, $J = 15.6$ Hz)	130.3
8'	6.20 (1H, dd, $J = 15.6, 6.6$ Hz)	129.8
3-OCH ₃	3.89 (3H, s)	55.94
3'-OCH ₃	3.88 (3H, s)	55.90

在高场区共出现 2 组甲氧基信号 [δ_{H} 3.88 (3H, s, 3'-OMe), 3.89 (3H, s, 3-OMe)]; 在低场区存 6 个未取代的苯环质子信号 [δ_{H} 6.86 (2H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5',5), 6.88 (1H, overlapped, H-6'), 6.89 (1H, brs, H-2'), 6.76 (1H, dd, $J = 8.1, 1.6$ Hz, H-6) 和 6.75 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-2)]; 该化合物结构中还包括 5 个烯质子信号 [δ_{H} 6.33 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-7'), 6.20 (1H, dd, $J = 6.6, 15.6$ Hz, H-8'), 6.09 (1H, ddd, $J = 6.8, 10.4, 17.2$ Hz, H-8), 5.13 (1H, d, $J = 17.2$ Hz, H-9a), 5.17 (1H, d, $J = 10.4$ Hz, H-9b)]; 1 个次甲基信号 [δ_{H} 4.13 (1H, dd, $J = 6.6, 6.8$ Hz, H-7)]; 综合 ^{13}C NMR、DEPT 和 HSQC 谱, 发现该化合物含有 19 个碳信号, 其中包括 2 个甲氧基碳信号 [δ_{C} 55.90 (3'-OMe), 55.94 (3-OMe)], 1 个烯碳 CH_2 信号 δ_{C} 115.4 (C-9), 10 个 CH 信号 [δ_{C} 114.3 (C-5'), 119.9 (C-6'), 108.2 (C-2'), 130.3 (C-7'), 129.8 (C-8'), 52.0 (C-7), 140.4 (C-8), 114.3 (C-5), 120.7 (C-6), 110.6 (C-2)], 6 个 C 信号 [δ_{C} 146.5 (C-3'), 145.2 (C-4'),

130.0 (C-1'), 146.6 (C-3), 144.3 (C-4), 134.7 (C-1)]。

解析化合物 1 的 ^1H - ^1H COSY 谱, 共发现 3 组自旋偶合体系: H-2/H-5/H-6, H-2'/H-5'/H-6', H-9/H-8/H-7/H-7'/H-8'。分析该化合物的 HMBC 谱共发现 8 组远程相关信号, H-2 与 C-3, C-4, H-5 与 C-4, H-7 与 C-1, C-2, C-6, H-2' 与 C-3', C-4', H-5' 与 C-4', H-7' 与 C-1', C-2', C-6'。解析 2 个甲氧基的 HMBC 相关信号发现, 3-OCH₃ 和 3'-OCH₃ 分别与 146.6 (C-3) 和 146.5 (C-3') 相关, 确定甲氧基分别连接于 C-3 和 C-3' 位。综合上述数据结果解析出化合物 1 的平面结构。见图 2。

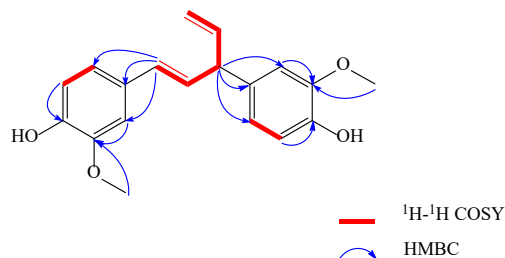


图 2 化合物 1 的主要 ^1H - ^1H COSY 和 HMBC 相关信号
Fig. 2 Key ^1H - ^1H COSY and HMBC correlations for compound 1

在 Discovery studio 4.0 软件中, 采用随机搜索的方法, 获得能量在 10 kcal/mol 以内的低能量构象, 将得到的构象在 Gaussian 09^[10] 软件中以密度泛函理论 (DFT) 为基础, 在 cam-b3lyp/6-31g 水平下进行优化。将优化后的构象运用同一理论水平进行频率计算, 所得结果显示这些构象没有虚频。对能量在 0~2.5 kcal/mol 内的构象, 应用含时微扰密度泛函理论 (TDDFT), 在上述的计算水平上进行 40 个单激发态的计算。为了去除溶剂对 ECD 谱的影响, 计算时采用了极化连续溶剂模型 (polarizable continuum model, PCM)。最后, 应用玻耳兹曼分布进行了 ECD 模拟, 最终 ECD 谱由 SpecDis 1.63^[11] 程序生成。

以上述方法计算化合物 1 的理论 ECD 光谱, 并将其与甲醇中测得的实际光谱进行比对。如图 3 所示, 在 TD-cam-b3lyp/6-31g// cam-b3lyp/6-31g 水平上计算得到的 ECD 谱图与实验值吻合良好。根据图中的 ECD 比较, 可以将化合物 1 中手性次甲基的绝对构型确定为 R 构型。经与数据库比对, 确定其为未经报道的新化合物, 命名为臭阿魏脂素 A。

化合物 2: 无色油状物。ESI-MS m/z : 261 [$\text{M} + \text{H}$]⁺, 分子式为 $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_2$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3)

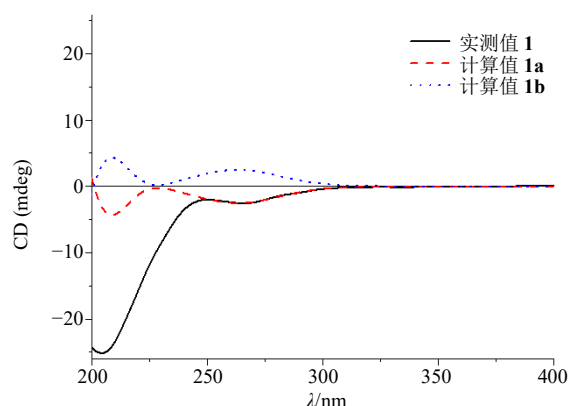


图 3 化合物 1 的实测和计算 ECD 谱图

Fig. 3 Experimental and calculated ECD spectra of compound 1

δ : 5.94 (1H, ddd, $J = 5.6, 10.4, 16.0$ Hz, H-2), 5.63 (1H, m, H-10), 5.52 (1H, brd, $J = 8.4$ Hz, H-9), 5.48 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-1a), 5.26 (1H, brd, $J = 10.4$ Hz, H-1b), 5.20 (1H, brd, $J = 8.4$ Hz, H-8), 4.94 (1H, brd, $J = 5.2$ Hz, H-3), 2.11 (2H, m, H-11), 0.88 (3H, t, $J = 6.5$ Hz, H-17); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 117.4 (C-1), 135.8 (C-2), 63.5 (C-3), 78.2 (C-4), 70.3 (C-5), 68.7 (C-6), 79.9 (C-7), 58.6 (C-8), 127.7 (C-9), 134.7 (C-10), 27.7 (C-11), 29.2 (C-12), 29.1 (C-13), 31.8 (C-15), 22.6 (C-16), 14.1 (C-17)。以上数据与文献报道基本一致^[12], 鉴定化合物 2 为镰叶芹二醇。

化合物 3: 浅黄色固体。ESI-MS m/z : 195 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, pyridine- d_5) δ : 8.10 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-7), 7.55 (1H, brs, H-2), 7.26 (1H, brd, $J = 8.0$ Hz, H-6), 7.18 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.86 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H- α), 3.75 (3H, s, 3-OCH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, pyridine- d_5) δ : 127.4 (C-1), 117.3 (C-2), 149.4 (C-3), 151.2 (C-4), 117.8 (C-5), 123.8 (C-6), 145.3 (C-7), 111.8 (C-8), 171.2 (C-9), 56.3 (3-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 3 为阿魏酸。

化合物 4: 浅黄色固体。ESI-MS m/z : 357 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_6$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, pyridine- d_5) δ : 8.00 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-7), 7.33 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-2'), 7.25 (1H, dd, $J = 1.8, 8.2$ Hz, H-6), 7.22 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5'), 7.21 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 7.19 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2), 7.11 (1H, dd, $J = 1.8, 8.2$ Hz, H-6'), 6.80 (1H, brd, $J = 15.9$ Hz, H-7'), 6.69 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8), 6.44 (1H, dt,

$J = 6.4, 15.9$ Hz, H-8'), 5.00 (2H, d, $J = 6.4$ Hz, H-9'), 3.77 (3H, s, -OMe), 3.76 (3H, s, -OMe); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, pyridine- d_5) δ : 135.3 (C-1), 111.9 (C-2), 151.7 (C-3), 149.3 (C-4), 121.6 (C-5), 129.0 (C-6), 146.2 (C-7), 117.3 (C-8), 167.7 (C-9), 124.1 (C-1'), 110.9 (C-2'), 149.4 (C-3'), 149.3 (C-4'), 121.1 (C-5'), 127.6 (C-6'), 117.1 (C-7'), 115.7 (C-8'), 65.9 (C-9), 56.3 (-OMe), 56.3 (-OMe)。以上数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 4 为阿魏酸松柏酯。

化合物 5: 白色固体粉末。ESI-MS m/z : 425 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{O}_5$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.65 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-4), 7.37 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5), 6.85 (1H, dd, $J = 2.4, 8.6$ Hz, H-6), 6.82 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-8), 6.25 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-3), 4.93 (1H, brs, H-12'b), 4.70 (1H, brs, H-3'), 4.55 (1H, brs, H-12'a), 4.23 (1H, dd, $J = 4.1, 9.6$ Hz, H-11'a), 4.18 (1H, dd, $J = 7.9, 9.6$ Hz, H-11'b), 2.48 (1H, d, $J = 12.3$ Hz, H-7'b), 2.34 (1H, m, H-9'), 2.16 (1H, dt, $J = 4.6, 12.3$ Hz, H-7'a), 0.93 (3H, s, H-14'), 0.89 (3H, s, H-13'), 0.88 (3H, s, H-15'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 161.3 (C-2), 113.1 (C-3), 143.4 (C-4), 128.7 (C-5), 113.0 (C-6), 162.3 (C-7), 101.4 (C-8), 155.9 (C-9), 112.5 (C-10), 32.5 (C-1'), 23.3 (C-2'), 77.8 (C-3'), 36.9 (C-4'), 49.3 (C-5'), 23.2 (C-6'), 37.4 (C-7'), 146.4 (C-8'), 54.8 (C-9'), 38.7 (C-10'), 65.6 (C-11'), 107.8 (C-12'), 21.9 (C-13'), 28.1 (C-14'), 15.3 (C-15'), 170.7 (C-1''), 21.3 (C-2'')。以上数据与文献报道基本一致^[3], 故鉴定化合物 5 为 badrakemin acetate。

化合物 6: 淡黄色固体。ESI-MS m/z : 381 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{O}_4$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.65 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-4), 7.37 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5), 6.85 (1H, dd, $J = 2.4, 8.6$ Hz, H-6), 6.82 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-8), 6.25 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-3), 5.45 (1H, brt, $J = 6.5$ Hz, H-9'), 5.03 (1H, brs, H-15'a), 4.88 (1H, brs, H-15'b), 4.61 (2H, d, $J = 6.5$ Hz, H-11'), 1.76 (3H, s, H-12'), 1.02 (3H, s, H-13'), 0.7 (3H, s, H-14'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 161.3 (C-2), 113.0 (C-3), 143.4 (C-4), 128.7 (C-5), 113.2 (C-6), 162.1 (C-7), 101.6 (C-8), 155.9 (C-9), 112.5 (C-10), 30.7 (C-1'), 37.6 (C-2'), 215.1 (C-3'), 49.0 (C-4'), 55.9 (C-5'), 25.4 (C-6'), 37.3 (C-7'), 141.9 (C-8'), 118.8 (C-9'), 144.7 (C-10'), 65.4 (C-11'), 16.8

(C-12'), 27.2 (C-13'), 21.3 (C-14'), 113.5 (C-15')。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 **6** 为 fekolone。

化合物 **7**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 381 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{24}H_{28}O_4$ 。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.63 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-4), 7.36 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5), 6.80 (1H, dd, $J = 2.4, 8.3$ Hz, H-6), 6.78 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-8), 6.25 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3), 4.90 (1H, s, H-12'a), 4.81 (1H, s, H-12'b), 4.26 (1H, dd, $J = 6.2, 9.9$ Hz, H-11'a), 4.04 (1H, dd, $J = 5.8, 9.9$ Hz, H-11'b), 1.21 (3H, s, H-13'), 1.14 (3H, s, H-14'), 1.06 (3H, s, H-15'); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 161.1 (C-2), 113.0 (C-3), 143.3 (C-4), 128.8 (C-5), 113.2 (C-6), 161.7 (C-7), 101.6 (C-8), 155.9 (C-9), 112.6 (C-10), 35.5 (C-1'), 35.1 (C-2'), 215.7 (C-3'), 47.9 (C-4'), 47.7 (C-5'), 23.9 (C-6'), 32.1 (C-7'), 146.1 (C-8'), 56.1 (C-9'), 37.4 (C-10'), 68.1 (C-11'), 112.2 (C-12'), 25.8 (C-13'), 21.1 (C-14'), 22.3 (C-15')。以上数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 **7** 为 mogoltadone。

化合物 **8**: 白色固体粉末。ESI-MS m/z : 153 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_8H_8O_3$ 。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 9.83 (1H, s, H-7), 7.42 (1H, brd, $J = 8.5$ Hz, H-6), 7.42 (1H, brs, H-2), 7.04 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5), 3.96 (3H, s, 3-OCH₃); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 56.1 (3-OCH₃), 108.8 (C-5), 114.4 (C-2), 127.5 (C-6), 129.9 (C-1), 147.2 (C-3), 151.7 (C-4), 190.9 (C-7)。以上数据与文献报道基本一致^[17], 故鉴定化合物 **8** 为 4-羟基-3-甲氧基-苯甲醛, 即香草醛。

化合物 **9**: 淡黄色固体。ESI-MS m/z : 195 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{11}H_{14}O_3$ 。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.92 (1H, brs, H-2), 6.89 (1H, brd, $J = 8.1$ Hz, H-6), 6.86 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5), 6.53 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-7), 6.13 (1H, dt, $J = 15.6, 6.4$ Hz, H-8), 4.07 (2H, d, $J = 6.4$ Hz, H-9), 3.90 (3H, s, 3-OMe), 3.38 (3H, s, 9-OMe); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 55.9 (9-OMe), 57.9 (3-OMe), 73.2 (C-9), 108.3 (C-7), 114.4 (C-2), 120.4 (C-5), 123.6 (C-6), 129.3 (C-1), 132.6 (C-8), 145.6 (C-4), 146.6 (C-3)。以上数据与文献报道基本一致^[18-20], 故鉴定化合物 **9** 为 γ -甲氧基异丁香酚。

4 细胞毒活性研究

采用 MTT 法^[21]测定细胞毒活性。将处于对数

生长期的细胞计数后, 以 5×10^4 个/mL 的密度接种于 96 孔板中, 每孔加入 200 μ L 的细胞悬液, 再设置空白培养基对照以去除培养基颜色对最终吸光度 (A) 值的影响, 孔板周围用 200 μ L PBS 填充, 放置于培养箱中培养。待细胞贴壁后, 每孔加入 0.5 μ L 8 mmol/L 的待测化合物, 阳性对照孔加入 0.5 μ L 8 mmol/L 的阳性药紫杉醇 (taxol), 对照组加入 0.5 μ L 的 DMSO, 每组设置 3 个复孔, 置于孵箱中培养。24 h 后取出孔板, 在避光条件下, 在实验孔每孔加入 20 μ L MTT 溶液, 轻拍摇匀后放置于孵箱中。4 h 后, 取出孔板, 将上清全部吸走后, 每孔加入 150 μ L DMSO, 置于摇床上震荡, 待甲臞结晶全部溶解后, 用酶联免疫仪在 490 nm 波长下检测 A , 并利用公式计算出药物对于细胞的抑制率。

$$\text{抑制率} = 1 - (A_{\text{给药}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

表 2 化合物 **4**、**6**、**7** 对 HepG2 细胞的抑制活性

Table 2 Inhibition effects of compounds **4**, **6** and **7** on HepG2 cells

化合物	IC ₅₀ /(μ mol·L ⁻¹)
4	11.09
6	17.95
7	23.06
Taxol	<0.008

5 讨论

肿瘤是严重威胁人类身心健康的重大疾病, 如何切实有效的对其进行预防和治疗一直是多个领域需要解决的难题。从民族药中寻找出可以预防和治疗肿瘤的特色药并且结合相关理论和诊疗技法, 可以为肿瘤防治提供新思路。本研究利用各种色谱分离技术和现代波谱学技术, 从臭阿魏的乙酸乙酯层萃取物中分离鉴定出 9 个单体成分, 其中化合物 **1** 为新化合物, 并通过计算 ECD 的方法确定了化合物 **1** 的绝对构型。抗肿瘤活性筛选实验结果表明化合物 **4**、**6** 和 **7** 对 HepG2 细胞株表现出潜在的细胞毒活性。本研究为民族药臭阿魏在抗肿瘤药物方面的进一步开发提供了一定的数据支持。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第八卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1992: 94-96.
- [2] 杨秀伟. 阿魏属药用植物的物质基础 [J]. 中国现代中药, 2018, 20(2): 123-144.
- [3] 杨俊荣, 李国强, 李志宏, 等. 臭阿魏化学成分研究

- [J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(2): 246-248.
- [4] Sokolova A I, Sklyar Y E, Pimenov M G. Terpenoid coumarins from *Ferula teterrima* [J]. *Chem Nat Compd*, 1978, 14(1): 109-110.
- [5] Jiang M, Lan S Q, Wang Z K, *et al.* Analysis of the volatile components in different parts of three *Ferula* species via combined DHSA-GC-MS and multivariate statistical analysis [J]. *LWT*, 2022, 167: 113846.
- [6] 阎鲁娜, 赵生俊, 张海英. 新疆 5 种阿魏对人胃癌 SGC-7901 细胞体外增殖抑制及凋亡作用研究 [J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(11): 5486-5490.
- [7] 乔美玲, 骆骄阳, 杨明翰, 等. 多伞阿魏对人胃癌 MGC-803 裸鼠移植瘤生长及凋亡的影响 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(13): 2827-2834.
- [8] Zhang Q, Qiao H W, Wu D D, *et al.* Curcumin potentiates the galbanic acid-induced anti-tumor effect in non-small cell lung cancer cells through inhibiting Akt/mTOR signaling pathway [J]. *Life Sci*, 2019, 239: 117044.
- [9] Zhang L J, Sun X B, Si J Y, *et al.* Umbelliprenin isolated from *Ferula sinkiangensis* inhibits tumor growth and migration through the disturbance of Wnt signaling pathway in gastric cancer [J]. *PLoS One*, 2019, 14(7): e0207169.
- [10] Frisch M, Trucks G, Schlegel H, *et al.* Gaussian 09, Revision E. 01, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2009.
- [11] Bruhn T, Schaumlöffel A, Hemberger Y, *et al.* SpecDis: Quantifying the comparison of calculated and experimental electronic circular dichroism spectra [J]. *Chirality*, 2013, 25(4): 243-249.
- [12] 王继栋, 董美玲, 张文, 等. 红树林植物桐花树的化学成分 [J]. 中国天然药物, 2006, 4(4): 275-277.
- [13] 王月娥, 斯建勇, 李晓瑾, 等. 新疆阿魏种子化学成分的研究 (I) [J]. 中国现代中药, 2011, 13(1): 26-28.
- [14] 赵倩倩, 王静, 王旭阳, 等. 离舌橐吾的化学成分研究 [J]. 中草药, 2019, 50(21): 5212-5216.
- [15] 杨俊荣, 敬松, 李志宏, 等. 新疆阿魏化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(22): 2382-2384.
- [16] Valiahdi S M, Iranshahi M, Sahebkar A. Cytotoxic activities of phytochemicals from *Ferula* species [J]. *DARU J Pharm Sci*, 2013, 21(1): 39.
- [17] 郑友兰, 鲍建才, 刘刚, 等. 西洋参根中 4-羟基-3-甲氧基-苯甲醛的分离鉴定 [J]. 中国药学杂志, 2006, 41(7): 497-499.
- [18] 刘隽涵, 孙建奎, 肖领平, 等. 金属钼催化云杉制备松柏醇醚及全组分利用 [J]. 林业工程学报, 2019, 4(5): 78-83.
- [19] 张鹏, 杨秀伟. 羌活化学成分进一步研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(24): 2918-2921.
- [20] Naito T, Niitsu K, Ikeya Y, *et al.* A phthalide and 2-farnesyl-6-methyl benzoquinone from *Ligusticum chuangxiong* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(5): 1787-1789.
- [21] Song Z, Xiang X, Li J, *et al.* Ruscogenin induces ferroptosis in pancreatic cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2020, 43(2): 516-524.

[责任编辑 王文倩]