

骆驼刺化学成分及其抗宫颈癌细胞活性研究

鲍爽^{1,2}, 宋海龙³, 热依兰木·买赛地², 凯撒·苏来曼³, 马国需^{3,4}, 石磊岭³, 张晶^{1*}, 韩莉莉^{2*}

1. 吉林农业大学中药材学院, 吉林 长春 130118

2. 新疆维吾尔自治区人民医院 妇科, 乌鲁木齐 830001

3. 新疆维吾尔自治区中药民族药研究所, 新疆 乌鲁木齐 830002

4. 中国医学科学院 北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193

摘要: **目的** 研究骆驼刺 *Alhagi sparsifolia* 地上部分的化学成分。**方法** 采用多种色谱技术进行分离纯化, 根据其理化性质和波谱数据对化合物结构进行鉴定, 并通过 MTT 法测试各化合物抗人宫颈癌 HeLa 细胞的活性。**结果** 从骆驼刺乙醇提取物二氯甲烷部位中分离得到 12 个化合物, 分别鉴定为 (2*S*,3*S*)-methylhexahydro-3*H*-pyrrolo[NH,2-*a*]imidazol-1-one (1)、5,6-二羟基-7-甲氧基黄酮 (2)、汉黄芩素 (3)、2-亚乙基-3-甲基琥珀酸 (4)、3,4'-二羟基-3'-甲氧基苯丙酮 (5)、calendin (6)、*N*-苯乙基乙酰胺 (7)、对甲氧基苯甲酸 (8)、黄芩新素 II (9)、4-羟基苯乙醇 (10)、3'-甲氧基大豆苷元 (11)、松脂素 (12)。**结论** 化合物 1 为新化合物, 命名为骆驼刺碱; 且化合物 2~11 为首次从该植物中分离得到, 化合物 1、3、9、11 具有宫颈癌 HeLa 细胞毒活性, 半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 分别为 20.20、35.25、49.11、48.73 μmol/L。

关键词: 骆驼刺; 抗宫颈癌细胞活性; 骆驼刺碱; *N*-苯乙基乙酰胺; 汉黄芩素; 黄芩新素 II; 3'-甲氧基大豆苷元

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)02-0374-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.02.003

Chemical constituents of *Alhagi sparsifolia* and its activity against cervical cancer cells

BAO Shuang^{1,2}, SONG Hailong³, Reyilanmu·Maisaidi², Kaisa·Sulaiman³, MA Guoxu^{3,4}, SHI Leiling³, ZHANG Jing¹, HAN Lili²

1. College of Chinese Medicine Material, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

2. Department of Gynecology, People's Hospital of Xinjiang Uyghur Autonomous Region, Urumqi 830001, China

3. Xinjiang Institute of Chinese and Ethnic Medicine, Urumqi 830002, China

4. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

Abstract: **Objective** To study the chemical composition of the above-ground parts of *Alhagi sparsifolia*. **Methods** Various chromatographic techniques were used for the separation and purification, the structures of the compounds were identified based on their physicochemical properties and spectral data, and the compounds were tested for their activity against human cervical cancer cells by MTT assay. **Results** Twelve compounds were isolated from the dichloromethane site of the ethanol extract of *A. sparsifolia* and identified as (2*S*,3*S*)-methylhexahydro-3*H*-pyrrolo[NH,2-*a*]imidazol-1-one (1), neglectein (2), wogonin (3), 2-ethylidene-3-methylbutanedioic acid (4), 3,4'-dihydroxy-3'-methoxyphenylacetone (5), calendin (6), *N*-phenylethyl acetamide (7), *p*-methoxybenzoic acid (8), skullcaflavone II (9), 4-hydroxyphenethyl alcohol (10), 3'-methoxydaidzein (11), pinosresinol (12). **Conclusion** Compound 1 is a new compound named alhagine, and compounds 2—11 were isolated from the plant for the first time, compounds 1, 3, 9 and 11 possessed cervical cancer HeLa cytotoxic activity with IC₅₀ of 20.20, 35.25, 49.11, 48.73 μmol/L, respectively.

Key words: *Alhagi sparsifolia* Shap; anti-cervical cancer activity; alhagine; *N*-phenethyl acetamide; wogonin; skullcaflavone II; 3'-methoxydaidzein

收稿日期: 2023-10-16

基金项目: 新疆维吾尔自治区重点研发计划项目 (2022B03018-4)

作者简介: 鲍爽 (1998—), 硕士研究生, 研究方向为中药检验与分析。E-mail: 1213981216@qq.com

*通信作者: 韩莉莉 (1977—), 女, 博士生导师, 主任医师, 研究方向为妇科肿瘤。E-mail: hanliliabcd@163.com

张晶 (1971—), 女, 博士生导师, 教授, 从事天然产物化学研究。E-mail: zhjing0701@163.com

骆驼刺 *Alhagi sparsifolia* Shap 为豆科 (Leguminosae) 蝶形花亚科 (Papilionoideae) 骆驼刺属 *Alhagi* Gagneb 的半灌木, 7、8 月份果成熟时采集地上部分, 晒干, 是维吾尔医用传统药材^[1-2]。其性温, 味甘、酸, 具有滋补强壮、涩肠止痛、止渴、除烦等功效, 在民间常用于治疗腹痛、腹泻、痢疾等症^[3-4]。骆驼刺属植物全世界共有 7 种, 我国有 3 种, 包括吉尔吉斯骆驼刺、骆驼刺和疏叶骆驼刺, 主要集中在南疆塔木河、孔雀河、东疆吐鲁番、哈密和七角井盆地, 主产区是新疆。骆驼刺含有黄酮类、木脂素类、生物碱类等化学成分, 具有抗炎抗菌、抗肿瘤、治疗腹泻等生物活性, 常被应用于维药、中成药^[3,5]。为探索骆驼刺的物质基础, 以新疆产骆驼刺地上部分为实验材料, 从其 95%乙醇提取物二氯甲烷部位中分离得到 12 个化合物, 分别鉴定为 (2*S*,3*S*)-methylhexahydro-3*H*-pyrrolo[NH,2-*a*]imidazol-1-one (**1**)、5,6-二羟基-7-甲氧基黄酮 (neglectein, **2**)、汉黄芩素 (wogonin, **3**)、2-亚乙基-3-甲基琥珀酸 (2-ethylidene-3-methyl-butanedioic acid, **4**)、3,4'-二羟基-3'-甲氧基苯丙酮 (3,4'-dihydroxy-3'-methoxyphenylacetone, **5**)、calendin(**6**)、*N*-苯乙基乙酰胺 (*N*-phenylethyl acetamide, **7**)、对甲氧基苯甲酸 (*p*-methoxybenzoic acid, **8**)、黄芩新素 II (skullcaflavone II, **9**)、4-羟基苯乙醇 (4-hydroxyphenethyl alcohol, **10**)、3'-甲氧基大豆昔元 (3'-methoxydaidzein, **11**)、松脂素 (pinoresinol, **12**)。其中, 化合物 **1** 为新化合物, 命名为骆驼刺碱 (alhagine), 化合物 **2**~**11** 为首次从该植物中分离得到; 活性筛选结果表明, 化合物 **1**、**3**、**9**、**11** 具有抗宫颈癌细胞活性。

1 仪器与材料

R-1005 型双回流旋转蒸发仪 (方圆仪器科技有限公司); Bruker AvanceIII600 型 NMR (德国布鲁克公司); KH-700DB 台式数控超声波清洗器 (苏州安源仪器有限公司); BYLABUVIII 紫外灯 (诺雷信达科技有限公司); DLSB-5/10 低温冷却液循环泵 (郑州长城科工贸有限公司); 半制备型液相色谱仪 (硅仪生化科技有限公司); RY C₁₈-A 型半制备色谱柱 (250 mm×10 mm, 5 μm, 北京中科恩源科技有限公司); 柱色谱硅胶 (创益化工有限公司); 薄层色谱硅胶 HF₂₅₄ (永德茂科技有限公司); Rp-C₁₈ (北京谱朋科技有限公司); 纯净水 (福万家纯净水有限公司)。

人宫颈癌 HeLa 细胞 (中国科学院上海细胞研究所); 5-氟尿嘧啶 (5-FU, Adamas, 批号 P1378516)。

药材-骆驼刺 2022 年 8 月采自新疆吐鲁番高昌区园艺镇, 经新疆中药民族药研究所王果平研究员鉴定为豆科蝶形花亚科骆驼刺属植物骆驼刺 *A. sparsifolia* Shap, 凭证标本号 (652101190529002 LY) 保存于新疆维吾尔自治区中药民族药研究所标本室。

2 提取与分离

取骆驼刺干燥地上部分 100 kg, 阴干粉碎后, 用 10 倍量 95%乙醇加热回流提取 3 次, 每次 1.5 h, 合并提取液, 减压浓缩干燥后得到总浸膏。总浸膏加水混悬后, 用等体积石油醚进行萃取, 得到石油醚部位 90 L 和水层。将水层用 HCl 调至 pH 值为 1~2, 再用等体积的进行萃取, 得到醋酸乙酯部位 39 L 和水层。再将水层用 NaOH 调至 pH 值为 9~10 碱性, 用等体积的二氯甲烷进行萃取, 得到二氯甲烷部位 52 L (43 g)。

取二氯甲烷部位 43 g 经硅胶 (200~300 目) 柱色谱分离, 依次用二氯甲烷-甲醇 (100:0~0:100) 梯度洗脱, 合并后得到 10 个组分 Fr. 1~10。Fr. 1 (7.1 g) 经硅胶 (200~300 目) 柱色谱分离, 石油醚-醋酸乙酯 (10:1~5:1) 以及二氯甲烷-甲醇 (100:1~0:1) 梯度洗脱, 析出黄色针状结晶化合物 **2** (3.1 mg), 合并相似洗脱液后得到 7 个组分 Fr. 1-1~1-7。Fr. 1-2 (673.6 mg) 经硅胶 (300~400 目) 柱色谱分离, 石油醚-醋酸乙酯 (10:1) 以及二氯甲烷-甲醇 (100:1~0:1) 梯度洗脱, 合并相似洗脱液后得到 7 个组分 Fr. 1-2-1~1-2-7。Fr. 1-2-3 (317.5 mg) 经硅胶 (200~300 目) 柱色谱分离, 石油醚-醋酸乙酯 (10:1~5:1) 以及二氯甲烷-甲醇 (100:1~0:1) 梯度洗脱, 合并相似洗脱液后得到 5 个组分 Fr. 1-2-3-1~1-2-3-5。Fr. 1-2-3-3 (80.2 mg) 刮板得到化合物 **3** (2.7 mg); Fr. 2 (2.9 g) 经硅胶 (300~400 目) 柱色谱分离, 二氯甲烷-甲醇 (1:0~0:1) 梯度洗脱, 合并相似洗脱液后得到 4 个组分 Fr. 2-1~2-4。Fr. 2-1 (1.6 g) 经 ODS 柱色谱分离, 甲醇-水 (30:70~100:0) 梯度洗脱, 得到 7 个组分 Fr. 2-1-1~2-1-7。Fr. 2-1-1 (481.2 mg) 经半制备液相色谱 (甲醇-水 20:80) 分离纯化得化合物 **4** (6.8 mg); Fr. 2-1-2 (451.6 mg) 经半制备液相色谱 (甲醇-水 20:80) 分离纯化得化合物 **5** (2.5 mg)、**6** (7.0 mg) 和 **7** (3.6 mg); Fr. 2-1-3 (174.9 mg) 经半制备液相色谱 (甲醇-水 45:55) 分离纯化得化合物 **12** (1.3

mg); Fr. 2-1-4 (151.1 mg) 经半制备液相色谱 (甲醇-水 55:45) 分离纯化得化合物 **8** (2.5 mg) 和 **9** (7.2 mg); Fr. 3 (3.2 g) 经 ODS 柱色谱分离, 甲醇-水 (30:70~100:0) 梯度洗脱, 得到 6 个组分 Fr. 3-1~3-6, Fr. 3-1 (2.3 g) 经半制备液相色谱 (甲醇-水 30:70) 分离纯化得化合物 **10** (2.6 mg); Fr. 3-2 (352.3 mg) 经半制备液相色谱 (甲醇-水 50:50) 分离纯化得化合物 **11** (5.3 mg); Fr. 5 (1.4 g) 经半制备液相色谱 (甲醇-水 20:80) 分离纯化得化合物 **1** (5.9 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: HR-ESI-MS m/z : 141.1021 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_7H_{12}N_2O$, 不饱和度为 3。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) 谱 (表 1) 中包括 1 个活泼氢信号 δ 8.17 (1H, s, N -H), 2 个次甲基氢信号 [δ 4.16 (1H, ddd, $J=9.0, 7.1, 1.3$ Hz, H-3), 4.08 (1H, m, H-2)], 3 个亚甲基氢信号 [δ 3.36 (2H, t, $J=4.0$ Hz, H-6), 2.11 (1H, m, H-4), 1.84 (3H, m, H-4, H-5)] 和 1 个甲基氢信号 δ 1.21 (3H, d, $J=6.9$ Hz, H-7)。 ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) 结合 HMBC 和 HSQC 谱共解析出 7 个碳信号, 其中包括 1 个内酰胺羰基碳信号 δ 166.6 (C-1), 5 个脂肪碳信号 [δ 58.7 (C-3), 50.1 (C-2), 44.9 (C-6), 27.7 (C-4), 22.4 (C-5)], 1 个甲基碳信号 δ 15.3 (C-7)。

表 1 化合物 **1** 的核磁数据 (600/150 MHz, DMSO- d_6)

Table 1 NMR data for compound **1** (600/150 MHz, DMSO- d_6)

碳位	δ_H	δ_C
1		166.6, C=O
2	4.08 (1H, m)	50.1, CH
3	4.16 (1H, ddd, $J=9.0, 7.1, 1.3$ Hz)	58.7, CH
4	1.84 (1H, m), 2.11 (1H, m)	27.7, CH ₂
5	1.84 (2H, m)	22.4, CH ₂
6	3.36 (2H, t, $J=4.0$ Hz)	44.9, CH ₂
7	1.21 (3H, d, $J=6.6$ Hz)	15.3, CH ₃
N -H	8.17 (1H, s)	

1H - 1H COSY 谱 (图 1) 中, H-2 与 N -H, H-3 与 N -H 相关, 证实存在 C-2- NH -C-3 连接片段, 结合 HMBC 谱中 H-2 与 C-1 相关, N -H 与 C-1/C-2/C-3 相关, 结合以上信息确定该化合物含有结构片段 1-氧取代吡咯烷酮。HMBC 谱中, H-7 与 C-1/C-2 相关, 1H - 1H COSY 谱中, H-7 与 H-2 相关, 确定在 2

号位存在甲基。同理, 1H - 1H COSY 谱中, H-3 与 H-4, H-4 与 H-5 以及 H-5 与 H-6 相关, 证实存在 C-3-C-4-C-5-C-6 连接片段, 结合 HMBC 谱中, H-6 与 C-1/C-3/C-4/C-5 相关, H-4 与 C-3/C-5/C-6 相关, 由此推得化合物 **1** 的平面结构 (图 1)。

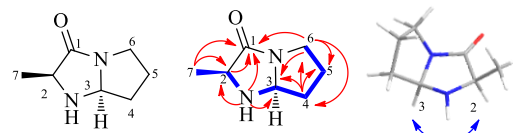


图 1 化合物 **1** 的结构和主要的 1H - 1H COSY (—), HMBC (—), NOESY (—) 相关

Fig. 1 Structure and main 1H - 1H COSY (—), HMBC (—) and NOESY (—) correlations of compound **1**

从 NOESY 谱中提出了化合物 **1** 的相对构型 (图 1)。在 NOESY 谱图上观察到 H-2 与 H-3 的 NOESY 远程相关信号, 表明 H-2 和 H-3 处于同一平面。为了进一步确定其绝对构型, 采用计算 ECD 与实验 ECD 相结合的方法来确定化合物 **1** 的绝对构型。首先对化合物 **1** 进行构象搜索、优化、激发态展宽、波尔兹曼拟合后, 其计算得到的构型为 2*S*,3*S* 的 ECD 曲线与实验的 ECD 曲线显示出很好的吻合性 (图 2), 从而确定了 **1** 的绝对构型为 2*S*,3*S*。综上, 化合物 **1** 鉴定为 (2*S*,3*S*)-methylhexahydro-3*H*-pyrrolo[2,3-*b*]imidazol-1-one, 命名为骆驼刺碱。

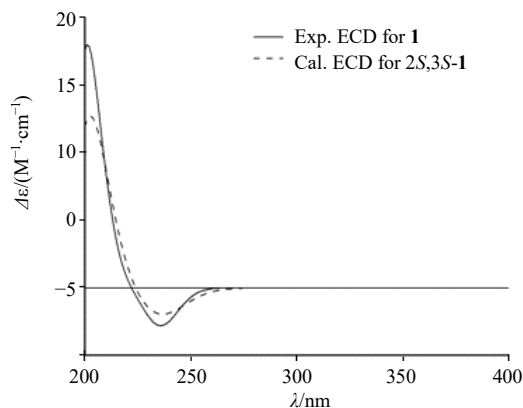


图 2 化合物 **1** 的实验 ECD 和计算 ECD 图谱

Fig. 2 Experimental and calculated ECD spectra of compound **1**

化合物 **2**: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 285.08 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{16}H_{12}O_5$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.94 (1H, s, 5-OH), 10.85 (1H, s, 6-OH), 8.08 (2H, dd, $J=7.0, 1.6$ Hz, H-2', 6'), 7.59 (3H, m, H-3'~5'), 6.99 (1H, s, H-3), 6.64 (1H, s, H-8), 3.75 (3H, s, 7-OMe); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 182.3

(C-4), 163.3 (C-7), 157.7 (C-2), 152.8 (C-5), 152.6 (C-9), 132.1 (C-1'), 131.5 (C-4'), 130.8 (C-6), 129.2 (C-3', 5'), 126.5 (C-2', 6'), 104.7 (C-10), 104.4 (C-3), 94.5 (C-8), 60.0 (7-OMe)。以上数据与文献报道波谱数据基本一致^[6], 故鉴定化合物 **2** 为 5,6-二羟基-7-甲氧基黄酮。

化合物 **3**: 黄色颗粒状结晶 (甲醇), ESI-MS m/z : 285.08 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{16}H_{12}O_5$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.52 (1H, s, 5-OH), 8.08 (2H, m, H-2', H-6'), 7.62 (3H, m, H-3'~5'), 7.00 (1H, s, H-3), 6.29 (1H, s, H-6), 3.85 (3H, s, 8-OMe); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 182.0 (C-4), 162.9 (C-2), 156.3 (C-5), 149.6 (C-9), 132.1 (C-1'), 130.9 (C-4'), 129.3 (C-3', 5'), 127.9 (C-8), 126.3 (C-2', 6'), 105.0 (C-3), 103.6 (C-10), 99.3 (C-6), 61.0 (8-OMe)。以上数据与文献报道波谱数据基本一致^[7], 故鉴定化合物 **3** 为汉黄芩素。

化合物 **4**: 黄色固体, ESI-MS m/z : 159.07 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_7H_{10}O_4$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.25 (1H, m, 1-OH), 6.61 (1H, dd, $J=7.3, 2.2$ Hz, 4-OH), 3.36 (1H, s, H-5), 2.12 (1H, m, H-3), 1.84 (3H, dd, $J=7.3, 1.3$ Hz, H-6), 1.27 (3H, d, $J=7.5$ Hz, H-7); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 179.4 (C-4), 170.2 (C-1), 133.8 (C-2), 132.7 (C-5), 37.7 (C-3), 15.1 (C-7), 14.4 (C-6)。以上数据与文献报道波谱数据基本一致^[8], 故鉴定化合物 **4** 为 2-亚乙基-3-甲基琥珀酸。

化合物 **5**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 197.08 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{10}H_{12}O_4$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.50 (1H, dt, $J=8.3, 1.4$ Hz, H-6'), 7.43 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2'), 6.85 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-5'), 3.81 (3H, s, 3'-OMe), 3.74 (2H, m, H-3), 3.04 (2H, t, $J=6.4$ Hz, H-2); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 197.2 (C-1), 152.0 (C-4'), 147.9 (C-3'), 128.7 (C-1'), 123.2 (C-6'), 114.9 (C-2'), 111.0 (C-5'), 57.3 (C-3), 55.6 (3'-OMe), 40.9 (C-2)。以上数据与文献报道波谱数据基本一致^[9], 故鉴定化合物 **5** 为 3,4'-二羟基-3'-甲氧基苯丙酮。

化合物 **6**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 197.12 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{11}H_{16}O_3$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 5.78 (1H, s, H-3), 4.08 (1H, t, $J=3.5$ Hz, H-6), 2.29 (1H, dt, $J=13.3, 2.6$ Hz, H-7a), 1.86 (1H, dt, $J=14.1, 2.6$ Hz, H-5), 1.66 (3H, d, $J=0.8$ Hz, 7a-Me), 1.62 (1H, dd, $J=13.3, 4.0$ Hz, H-7b), 1.41 (1H, dd, $J=14.1, 3.7$ Hz, H-5), 1.37 (3H, s, H-9), 1.19 (3H, s, H-10); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 183.1 (C-3a), 171.1 (C-2), 112.2 (C-3), 86.6 (C-7a), 64.9 (C-6), 46.6

(C-5), 45.3 (C-7), 35.7 (C-4), 30.5 (C-8), 26.9 (C-10), 26.2 (C-9)。以上数据与文献报道波谱数据基本一致^[9], 故鉴定化合物 **6** 为 calendin。

化合物 **7**: 无色胶状物, ESI-MS m/z : 164.11 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{10}H_{13}NO$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.94 (1H, t, $J=5.8$ Hz, N-H), 7.29 (2H, m, H-2', 6'), 7.20 (3H, m, H-3'~5'), 3.23 (2H, ddd, $J=8.5, 7.4, 5.8$ Hz, H-3), 2.69 (2H, t, $J=7.5$ Hz, H-4), 1.77 (3H, s, H-1); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 169.1 (C-2), 139.6 (C-1'), 128.7 (C-3', C-5'), 128.4 (C-2', C-6'), 126.1 (C-4'), 40.3 (C-3), 35.3 (C-4), 22.7 (C-1)。以上数据与文献报道波谱数据基本一致^[10], 故鉴定化合物 **7** 为 *N*-苄乙基乙酰胺。

化合物 **8**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 153.05 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_8H_8O_3$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.50 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-2, 6), 6.99 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-3, 5), 3.78 (3H, s, 4-OMe); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 174.6 (C-7), 158.9 (C-1), 130.1 (C-2, 6), 124.3 (C-4), 113.6 (C-3, 5), 55.2 (4-OMe)。以上数据与文献报道波谱数据基本一致^[11], 故鉴定化合物 **8** 为对甲氧基苯甲酸。

化合物 **9**: 黄色片状结晶 (甲醇), ESI-MS m/z : 175.11 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{19}H_{18}O_8$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.64 (1H, s, 5-OH), 10.33 (1H, s, 2'-OH), 7.32 (1H, t, $J=8.3$ Hz, H-4'), 6.62 (2H, dd, $J=8.5, 1.5$ Hz, H-3', 5'), 6.34 (1H, s, H-3), 4.00, 3.82, 3.79, 3.75 (3H $\times$ 4, s, 6, 7, 8, 6'-OMe); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 182.6 (C-4), 162.5 (C-2), 158.3 (C-7), 156.8 (C-5), 152.6 (C-6'), 148.6 (C-9), 146.3 (C-2'), 135.8 (C-6), 132.6 (C-8, 4'), 112.0 (C-3'), 108.9 (C-1'), 108.8 (C-3), 106.3 (C-10), 102.2 (C-5'), 61.8, 61.6, 60.7, 55.9 (6, 7, 8, 6'-OMe)。以上数据与文献报道波谱数据基本一致^[12], 故鉴定化合物 **9** 为 2',5-二羟基-6,6',7,8-四甲氧基黄酮, 即黄芩新素II。

化合物 **10**: 无色针晶 (甲醇), ESI-MS m/z : 139.08 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_8H_{10}O_2$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.98 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-2, 6), 6.65 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-3, 5), 3.50 (2H, td, $J=7.3, 4.9$ Hz, H-8), 2.59 (2H, t, $J=7.3$ Hz, H-7); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 155.5 (C-4), 129.7 (C-2, C-6), 129.5 (C-1), 115.0 (C-3, 5), 62.7 (C-8), 40.1 (C-7)。以上数据与文献报道波谱数据基本一致^[13], 故鉴定化合物 **10** 为 4-羟基苯乙醇。

化合物 **11**: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 285.08 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{16}H_{12}O_5$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.24 (1H, s, H-2), 7.90 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-5), 7.04 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2'), 6.95 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-6), 6.93 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-8), 6.87 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-6'), 6.78 (1H, s, H-5'), 3.78 (3H, s, 3'-OMe); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 174.5 (C-4), 157.6 (C-7), 154.8 (C-9), 152.9 (C-2), 147.5 (C-3'), 146.0 (C-4'), 127.1 (C-5), 124.9 (C-3), 123.2 (C-1'), 120.9 (C-6'), 120.4 (C-10), 119.7 (C-5'), 116.5 (C-6), 111.9 (C-2'), 102.1 (C-8), 55.7 (3'-OMe)。以上数据与文献报道波谱数据基本一致^[14], 故鉴定化合物 **11** 为 3'-甲氧基大豆昔元。

化合物 **12**: 白色固体, ESI-MS m/z : 359.15 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{20}H_{22}O_6$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.88 (2H, d, J = 1.9 Hz, H-2, 2'), 6.75 (2H, dd, J = 8.1, 1.9 Hz, H-6, 6'), 6.72 (2H, d, J = 8.1 Hz, H-5, 5'), 4.60 (2H, d, J = 4.1 Hz, H-7, 7'), 4.11 (1H, dd, J = 8.9, 6.8 Hz, H-9a), 3.79 (1H, m, H-9'a), 3.76 (6H, s, 3, 3'-OCH₃), 3.71 (2H, dd, J = 9.2, 3.3 Hz, H-9b, 9'b), 3.03 (2H, d, J = 5.8 Hz, H-8, 8'); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 147.5 (C-3, 3'), 145.9 (C-4, 4'), 132.2 (C-1, 1'), 118.7 (C-6, 6'), 115.1 (C-5, 5'), 110.4 (C-2, 2'), 85.2 (C-7, 7'), 70.9 (C-9, 9'), 55.6 (3, 3'-OCH₃), 53.6 (C-8, 8')。以上数据与文献报道波谱数据基本一致^[15], 故鉴定化合物 **12** 为松脂素。

4 活性筛选

采用 MTT 法测试化合物 **1~12** 对宫颈癌细胞株 HeLa 的体外抑制作用, 以 5-FU 为阳性对照药。取对数生长期的 HeLa 细胞株, 胰酶消化, 稀释成浓度 6×10^4 个/mL 的单细胞悬液, 各浓度均设置 3 个复孔, 以每孔 100 μ L 置于 96 孔板中, 在 37.0 $^{\circ}C$ 培养箱内培养 24 h, 分别加入配制好的化合物 **1~12** 和 5-FU, 培养 24 h, 每孔加入 10 μ L MTT 试剂染色, 孵育 5.0 h, 弃去上层培养液, 每孔加入 100 μ L DMSO, 轻轻摇动均匀, 用酶标仪检测 570 nm 波长下的吸光度 (A) 值, 根据公式 $[\text{抑制率} = (A_{\text{对照}} - A_{\text{实验}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})]$ 计算细胞抑制率, 采用 SPSS 22.0 软件对所得数据进行分析, 计算各化合物的半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC_{50}) 值。结果表明, 化合物 **1**、**3**、**9**、**11** 对 HeLa 细胞株具有较强的体外抑制作用, 其 IC_{50} 值分别为 20.20、35.25、49.11、48.73 μ mol/L, 见表 2。

表 2 化合物 **1~12** 对 HeLa 细胞的抑制作用

Table 2 Inhibitory effects of compounds **1~12** on HeLa cells

化合物	$IC_{50}/(\mu\text{mol} \cdot L^{-1})$
1	20.20
2	>50
3	35.25
4	>50
5	>50
6	>50
7	>50
8	>50
9	49.11
10	>50
11	48.73
12	>50
5-FU	11.50

5 结论

本实验对骆驼刺地上部分进行化学成分研究, 从乙醇提取物二氯甲烷部位中分离得到 12 个化合物, 包括 2 个生物碱类化合物、4 个黄酮类化合物、2 个苯丙素类化合物、1 个降碳倍半萜类化合物、3 个酚酸类化合物。其中, 化合物 **1** 为新化合物, 且化合物 **1~11** 为首次从该植物中分离得到。采用 MTT 法对所分得化合物进行抗宫颈癌细胞活性筛选, 结果表明, 化合物 **1**、**3**、**9**、**11** 对 HeLa 细胞具有抑制作用。通过分析发现化合物 **3**、**9**、**11** 具有较强的抗肿瘤活性, 且骨架均由 C_6 - C_3 - C_6 构成, 可以推测骆驼刺化学成分中黄酮类化合物具有较强的抗肿瘤活性。因为化合物 **2** 也由 C_6 - C_3 - C_6 构成, 且抗肿瘤活性不显著, 因此可以推测甲氧基和羟基基团的连接位置是影响抗肿瘤活性强弱的原因。本研究丰富了骆驼刺化学成分与抗宫颈癌细胞活性之间的关系, 为其活性筛选和资源的开发利用奠定了物质基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Muhammad G, Hussain M A, Anwar F, et al. *Alhagi*: A plant genus rich in bioactives for pharmaceuticals [J]. *Phytother Res*, 2015, 29(1): 1-13.
- [2] 徐晓琴, 魏鸿雁, 石磊岭, 等. 维药骆驼刺质量标准研究 [J]. *现代中药研究与实践*, 2012, 26(6): 68-71.
- [3] 贾月梅, 石明辉, 夏提古丽·阿不利孜, 等. 骆驼刺化学成分及药理活性研究进展 [J]. *中国野生植物资源*,

- 2022, 41(1): 47-51.
- [4] 刘勇民. 维吾尔药志 (上册) [M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1999: 300-302.
- [5] 金晓颖, 安蓉, 李毅, 等. 骆驼刺生境适应性研究现状 [J]. 天津农业科学, 2014, 20(10): 14-18.
- [6] 郭立民, 邵长伦, 刘新, 等. 海藻海蒿子化学成分及其体外抗肿瘤活性 [J]. 中草药, 2009, 40(12): 1879-1882.
- [7] 白丽明, 高鸿悦, 马玉坤, 等. 鼠曲草化学成分及其抗氧化活性研究 [J]. 中草药, 2016, 47(4): 549-553.
- [8] 杨婷, 阎光宇, 张怡评, 等. 蜈蚣藻化学成分研究 [J]. 中国海洋药物, 2019, 38(1): 37-41.
- [9] Jones L, Bartholomew B, Latif Z, *et al.* Constituents of *Cassia laevigata* [J]. *Fitoterapia*, 2000, 71(5): 580-583.
- [10] 冯艺璇, 刘春月, 郭春林, 等. 粗梗胡椒化学成分分离与鉴定 [J]. 中国药物化学杂志, 2023, 33(1): 42-48.
- [11] 伍慧玲, 李岩, 么焕开. 七指蕨的化学成分研究 [J]. 广东化工, 2020, 47(2): 11.
- [12] 鄢庆伟, 钟瑞建, 周国平, 等. 油茶茎化学成分研究 [J]. 中药材, 2015, 38(10): 2102-2104.
- [13] 张璐, 向伦理, 杨琳垚, 等. 苗药大黄药的化学成分研究 [J]. 中药材, 2019, 42(4): 785-789.
- [14] 李国辉, 张庆文, 王一涛. 葛根的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(23): 3156-3160.
- [15] In S J, Seo K H, Song N Y, *et al.* Lignans and neolignans from the stems of *Viburnum erosum* and their neuroprotective and anti-inflammatory activity [J]. *Arch Pharm Res* 2015, 38(1): 26-34.

[责任编辑 王文倩]