

北柴胡根部的化学成分研究

贾云鹏¹, 杨晓军^{1*}, 王超¹, 任火冰², 杨海珍³

1. 延安大学化学与化工学院, 陕西 延安 716000

2. 陕西援康中药产业发展有限公司, 陕西 绥德 718000

3. 陕西华西牧业有限责任公司, 陕西 榆林 719000

摘要: **目的** 对北柴胡 *Bupleurum chinense* 根中的化学成分进行研究。**方法** 采用溶剂提取法、硅胶柱色谱及 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱等方法进行分离纯化, 运用现代波谱技术对化合物进行结构鉴定; 采用 MTT 法对分离得到的单体成分进行活性筛选, 初步评价了其对人肝癌 HepG2 细胞的增殖抑制作用。**结果** 从北柴胡根部共分离得到 19 个化合物, 分别鉴定为蛇床子素 (1)、欧前胡素 (2)、异补骨脂素 (3)、对甲氧基桂皮酸乙酯 (4)、反式-对羟基桂皮酸 (5)、反式-3',4'-亚甲二氧基桂皮酸 (6)、反式-阿魏酸 (7)、伞形花内酯 (8)、七叶内酯 (9)、迷迭香酸 (10)、紫花前胡苷 (11)、紫丁香苷 (12)、5,7,3',4'-四甲氧基黄酮 (13)、5,7,4'-三羟基-6-异戊烯基异黄酮 (14)、芹菜素 (15)、木犀草素 (16)、槲皮素 (17)、牡荆素 (18) 和金丝桃苷 (19)。**结论** 化合物 3~6、8、10~14、18 和 19 首次从该植物中分离得到。化合物 2、8~11、16 和 18 对 HepG2 细胞具有明显的细胞毒活性, 其半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 值分别为 38.07、6.91、29.41、22.86、48.99、15.91 和 30.82 μmol/L。

关键词: 北柴胡; 苯丙素类; 黄酮类; 抗肝癌活性; 异补骨脂素; 伞形花内酯; 迷迭香酸; 金丝桃苷; 木犀草素; 牡荆素
中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2024)02-0402-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.02.006

Chemical constituents from roots of *Bupleurum chinense*

JIA Yunpeng¹, YANG Xiaojun¹, WANG Chao¹, REN Huobing², YANG Haizhen³

1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Yan'an University, Yan'an 716000, China

2. Shaanxi Yuankang Traditional Chinese Medicine Industry Development Co., Ltd., Suide 718000, China

3. Shaanxi Hwaseo Animal Husbandry Co., Ltd., Yulin 719000, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from the roots of *Bupleurum chinense*. **Methods** The compounds were isolated by comprehensive column chromatography, and the structures were elucidated by spectral methods. The inhibitory proliferation effect of compounds on HepG2 were evaluated by MTT assay. **Results** Nineteen compounds were isolated from the roots of *B. chinense*. Their structures were elucidated as osthole (1), imperatorin (2), isopsoralen (3), 4-methoxycinnamic acid ethyl ester (4), *trans*-4-hydroxycinnamic acid (5), *trans*-3',4'-methylenedioxy cinnamic acid (6), *trans*-ferulic acid (7), umbelliferone (8), esculetin (9), labiatenic acid (10), marmesinin (11), syringoside (12), 5,7,3',4'-tetramethoxyflavone (13), 5,7,4'-trihydroxy-6-isopentenyl isoflavone (14), apigenin (15), luteolin (16), quercetin (17), vitexin (18), hyperin (19). **Conclusion** Compounds 3—6, 8, 10—14 and 18—19 were isolated from this plant for the first time. Compounds 2, 8—11, 16 and 18 showed significant cytotoxicity against HepG2, with the IC₅₀ values of 38.07, 6.91, 29.41, 22.86, 48.99, 15.91 and 30.82 μmol/L, respectively.

Key words: *Bupleurum chinense* DC.; phenylpropanols; flavonoids; anti-hepatocarcinoma activity; isopsoralen; umbelliferone; labiatenic acid; hyperin; luteolin; vitexin

收稿日期: 2023-11-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31860089); 陕西省科技厅项目 (2019JM-516); 榆林市科学技术资助项目 (CXY-2020-069); 延安大学大学生创新项目 (2022090)

作者简介: 贾云鹏, 硕士研究生, 研究方向为中药系统药效物质基础。E-mail: 1312911869@qq.com

*通信作者: 杨晓军, 教授, 从事天然产物化学研究。E-mail: yangxiaojun2002@126.com

柴胡为伞形科柴胡属植物, 其中北柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 被列为药用上品之一^[1]。现代药理研究证明柴胡具有清热解毒、保肝利胆及其抗肿瘤等作用^[2-3]。为进一步明确北柴胡中的保肝有效成分, 本研究主要报道对其化学成分进行分离与结构鉴定, 从北柴胡醇提取物中共分离得到 19 个成分, 分别鉴定为蛇床子素 (isthole, 1)、欧前胡素 (imperatorin, 2)、异补骨脂素 (isopsoralen, 3)、对甲氧基桂皮酸乙酯 (4-methoxycinnamic acid ethyl ester, 4)、反式-对羟基桂皮酸 (*trans*-4-hydroxycinnamic acid, 5)、反式-3',4'-亚甲二氧基桂皮酸 (*trans*-3',4'-methylenedioxy cinnamic acid, 6)、反式-阿魏酸 (*trans*-ferulic acid, 7)、伞形花内酯 (umbelliferone, 8)、七叶内酯 (esculetin, 9)、迷迭香酸 (labiatenic acid, 10)、紫花前胡苷 (marmesinin, 11)、紫丁香苷 (syringoside, 12)、5,7,3',4'-四甲氧基黄酮 (5,7,3',4'-tetramethoxyflavone, 13)、5,7,4'-三羟基-6-异戊烯基异黄酮 (5,7,4'-trihydroxy-6-isopentenyl isoflavone, 14)、芹菜素 (apigenin, 15)、木犀草素 (luteolin, 16)、槲皮素 (quercetin, 17)、牡荆素 (vitexin, 18) 和金丝桃苷 (hyperin, 19)。其中化合物 3~6、8、10~14 和 18~19 首次从该植物中分离得到。初步评价了单体化合物对人肝癌 HepG2 细胞的增殖抑制作用。

1 仪器与材料

X-4 型显微熔点仪 (上海科学仪器有限公司); Bruker Micro TOF QII 质谱仪 (瑞士 Bruker 公司), JNM-ECZ400S 型核磁共振仪 (日本 JEOL 株式会社), TMS 为内标; RE-6000E 型旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂); SHZ-D (III) 型水循环真空泵 (巩义市英峪高科仪器厂); Sephadex LH-20 (Pharmacia 产品); 柱色谱硅胶 (200~300、300~400 目, 青岛海洋化工厂); 硅胶 GF₂₅₄ 薄层板 (50 mm×100 mm, 0.20~0.25 mm, 青岛海洋化工厂); 硅胶 GF₂₅₄ 薄层板 (100 mm×50 mm, 0.20~0.25 mm, 青岛海洋化工厂); 四甲基偶氮唑盐溶液 (MTT) 试剂 (Sigma 公司); 阳性对照品 10-羟基喜树碱 (批号 H42022734, 黄石飞云制药有限公司); 人肝癌细胞株 HepG2 (上海美轩生物科技有限公司)。

北柴胡根于 2020 年 5 月采集自陕西省绥德县, 经延安大学生命科学院白重炎研究员鉴定为伞形科柴胡属植物北柴胡 *B. chinense* DC. 的根, 标本 (编号 CH20200517) 存放于延安大学天然产物化学实

验室。石油醚、二氯甲烷、三氯甲烷、醋酸乙酯、丙酮、乙醇、甲醇等普通试剂均为分析纯 (探索试剂平台官网)。

2 方法

2.1 提取与分离

将所采集的北柴胡根洗净晒干后粉碎, 称取 2.0 kg 装入渗滤筒中, 室温下用 3 倍量 95% 乙醇提取 3 次, 提取液减压浓缩后得浸膏 300 g。将浸膏用水分散后, 依次用石油醚和醋酸乙酯各萃取 5 次, 每次所用溶剂的体积为 800 mL, 萃取液经减压浓缩后得石油醚部位浸膏 55 g、醋酸乙酯部位浸膏 107 g。

石油醚部位浸膏经硅胶柱色谱 (200~300 目) 分离, 用石油醚-二氯甲烷 (20:1~0:20) 梯度洗脱, TLC 检测, 主成分相同的合并后得到 18 个馏分 (Fr 1B~18B)。Fr 10B (1 050 mg), 继续硅胶柱色谱 (200~300 目) 分离, 用二氯甲烷-醋酸乙酯 (15:1~0:8) 梯度洗脱, TLC 检测, 合并后得到 4 个馏份 (Fr 10B1~10B4)。Fr 10B1 (102.1 mg) 和 Fr 10B2 (87.4 mg) 用石油醚反复重结晶分别得到化合物 1 (20.3 mg) 和 2 (19.0 mg); Fr 10B3 (75.5 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱分离, 洗脱剂为石油醚-二氯甲烷 (1:1), 洗脱得到化合物 3 (10.5 mg); Fr 10B4 (51.1 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱分离, 二氯甲烷洗脱得到化合物 4 (15.3 mg)。

醋酸乙酯部位浸膏经硅胶柱色谱分离 (200~300 目), 用石油醚-醋酸乙酯 (15:1~0:15) 梯度洗脱, TLC 检测, 主成分相同的合并后得到 20 个馏份 (Fr 1A~20A), 然后继续用醋酸乙酯-乙醇 (15:1~0:15) 梯度洗脱, 又得到 7 个馏份 (Fr 21A~27A)。Fr 1A (120.1 mg) 经硅胶 (300~400 目) 柱色谱分离, 用石油醚-醋酸乙酯 (15:1~0:15) 梯度洗脱, TLC 检测, 合并后得到 4 个馏分 (Fr 1A1~1A4)。Fr 1A1 经醋酸乙酯重结晶得到化合物 5 (19.6 mg), Fr 1A2 (60.7 mg) 经硅胶 (300~400 目) 柱色谱分离, 用石油醚-醋酸乙酯-丙酮 (150:10:5~50:10:5) 梯度洗脱, 得到化合物 6 (15.2 mg)。Fr 2A 经石油醚-丙酮中反复重结晶得到化合物 7 (35.0 mg)。Fr 4A (270.3 mg) 经硅胶 (300~400 目) 柱色谱分离, 用石油醚-醋酸乙酯-丙酮 (200:10:5~40:10:5) 梯度洗脱得到化合物 8 (26.5 mg) 和 9 (13.3 mg)。Fr 7A (502.1 mg) 经硅胶 (300~400 目) 柱色谱分离, 用二氯甲烷-醋酸乙酯 (14:1~1:14) 梯度洗脱, TLC 检测, 合并后

得到 3 个馏份 (Fr 7A1~7A3)。Fr 7A2 (96.8 mg) 经硅胶 (300~400 目) 柱色谱分离, 用石油醚-醋酸乙酯-丙酮 (110:10:5~30:10:5) 梯度洗脱, 得到化合物 **10** (18.5 mg); Fr 7A3 (87.5 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱分离, 甲醇作为洗脱剂, 得到化合物 **11** (10.5 mg) 和 **12** (14.3 mg)。Fr 16A (423.2 mg) 经硅胶 (300~400 目) 柱色谱分离, 用石油醚-丙酮 (10:1~0:10) 梯度洗脱, TLC 检测, 合并后得到 4 个馏分 (Fr 16A1~16A4)。Fr 16A1 (31.2 mg) 经硅胶 (300~400 目) 柱色谱分离, 用二氯甲烷-甲醇 (14:1) 进行洗脱纯化, 得到化合物 **13** (15.1 mg) 和 **14** (13.8 mg); Fr 16A2 (79.1 mg) 经硅胶 (300~400 目) 柱色谱分离, 用氯仿-丙酮 (10:1~0:10) 梯度洗脱得到化合物 **15** (32.3 mg) 和 **16** (31.2 mg); Fr 16A3 (46.7 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱分离, 甲醇作为洗脱剂, 分离纯化得到化合物 **17** (11.4 mg) 和 **18** (10.9 mg); Fr 16A4 (33.6 mg) 经硅胶 (300~400 目) 柱色谱分离, 用醋酸乙酯-甲醇 (15:1) 洗脱, 得到化合物 **19** (18.2 mg)。

2.2 细胞毒活性^[4]

取对数生长期的 HepG2 细胞, 配成细胞密度为 1×10^4 个/mL 的单细胞悬液, 按 1 000 个/孔接种于 96 孔板中, 每组设 3 个复孔。待细胞贴壁后, 每孔加入 10 μ L 不同浓度 (600、300、150、75、37.5、18.75 μ mol/L) 的含药样品溶液, 同时设对照组和阳性对照组 (10-羟基喜树碱)。置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中孵育 48 h 后, 每孔加入 10 μ L MTT 溶液 (5 mg/mL), 继续孵育 4 h。除去上清液, 加入 100 μ L DMSO 振荡混匀, 490 nm 波长下测吸光度 (*A*) 值, 按以下公式计算细胞生长抑制率。

$$\text{细胞生长抑制率} = (A_{\text{对照}} - A_{\text{给药}}) / A_{\text{对照}}$$

以样品浓度为横坐标 (*X*), 抑制率为纵坐标 (*Y*), 利用 Origin 7.0 软件绘制出浓度-抑制率曲线图。根据回归曲线方程计算出抑制率为 50% 时对应样品的浓度即为半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 值。

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 **1**: 白色棒晶 (石油醚), mp 79.8~82.4 $^{\circ}$ C。ESI-MS *m/z*: 245.31 [M+H]⁺, 分子式 C₁₅H₁₆O₃。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.96 (1H, d, *J* = 10.8 Hz, H-4), 7.55 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-5), 7.04 (1H, d, *J* = 10.0 Hz, H-6), 6.26 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-

3), 5.11 (1H, dd, *J* = 14.4, 7.2 Hz, H-2'), 3.88 (3H, s, 7-OCH₃), 3.38 (2H, dd, *J* = 14.4, 7.2 Hz, H-1'), 1.76 (3H, s, H-5'), 1.60 (1H, s, H-4'); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 160.8 (C-2), 160.2 (C-7), 152.6 (C-9), 145.3 (C-4), 132.4 (C-3'), 127.7 (C-5), 121.7 (C-2'), 116.6 (C-8), 113.2 (C-10), 112.8 (C-3), 108.5 (C-6), 56.8 (7-OCH₃), 26.0 (C-4'), 22.0 (C-1'), 18.2 (C-5')。以上数据与文献报道基本一致^[5-6], 故鉴定化合物 **1** 为蛇床子素。

化合物 **2**: 白色针晶 (石油醚), mp 100.3~102.1 $^{\circ}$ C。ESI-MS *m/z*: 299.39 [M+H]⁺, 分子式 C₁₉H₂₂O₃。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.12 (1H, d, *J* = 13.2 Hz, H-2'), 7.67 (1H, d, *J* = 13.2 Hz, H-4), 7.08 (1H, s, H-5), 6.42 (1H, d, *J* = 9.2 Hz, H-3'), 5.49 (1H, dd, *J* = 14.8, 8.0 Hz, H-2''), 4.90 (2H, d, *J* = 6.0 Hz, H-1''), 1.68 (3H, s, H-4''), 1.63 (3H, s, H-5''); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 160.3 (C-2), 152.2 (C-7), 148.4 (C-2'), 148.2 (C-7), 145.9 (C-4), 143.7 (C-9), 139.6 (C-8), 131.0 (C-3''), 126.2 (C-6), 120.2 (C-2''), 116.9 (C-10), 114.7 (C-3), 114.6 (C-5), 107.6 (C-3'), 69.8 (C-1''), 26.0 (C-4''), 18.3 (C-5'')。以上数据与文献报道基本一致^[7], 故鉴定化合物 **2** 为欧前胡素。

化合物 **3**: 白色针晶 (二氯甲烷), mp 129.6~130.9 $^{\circ}$ C。ESI-MS *m/z*: 209.15 [M+Na]⁺, 分子式 C₁₁H₆O₃。¹H-NMR (400 MHz, CD₃Cl) δ : 7.81 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-4), 7.68 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-2'), 7.42 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-6), 7.39 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-8), 7.14 (1H, d, *J* = 2.8 Hz, H-3'), 6.38 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-3); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃Cl) δ : 161.0 (C-2), 157.4 (C-7), 148.6 (C-9), 146.0 (C-2'), 144.6 (C-4), 123.9 (C-8), 117.0 (C-5), 114.2 (C-3), 113.6 (C-10), 109.0 (C-6), 104.2 (C-3')。以上数据与文献报道基本一致^[8], 故鉴定化合物 **3** 为异补骨脂素。

化合物 **4**: 无色晶体 (二氯甲烷), mp 47.1~48.4 $^{\circ}$ C。ESI-MS *m/z*: 229.23 [M+Na]⁺, 分子式 C₁₂H₁₄O₃。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.66 (2H, dd, *J* = 6.8, 3.2 Hz, H-2', 6'), 7.59 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-3), 6.96 (2H, dd, *J* = 6.8, 3.2 Hz, H-3', 5'), 6.47 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, H-2), 4.16 (2H, q, *J* = 21.2 Hz, H-1'), 1.22 (3H, t, *J* = 14.4 Hz, H-2''), 3.78 (3H, s, 4'-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 167.0 (C-1), 161.6 (C-4'), 144.7 (C-3), 130.7 (C-1'), 127.2 (C-2', 6'), 115.9 (C-2), 114.9 (C-3', 5'), 60.3 (C-1''), 55.8 (4'-OCH₃),

14.8 (C-2'')。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **4** 为对甲氧基桂皮酸乙酯。

化合物 **5**: 白色粉末, mp 213.5~214.9 °C。ESI-MS m/z : 165.16 $[M+H]^+$, 分子式 $C_9H_8O_3$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.58 (1H, brs, H-1), 9.98, (1H, brs, 4'-OH), 7.55 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-2', 6'), 7.49 (1H, d, J = 14.4 Hz, H-3), 6.77 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.28 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-2); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 168.5 (C-1), 161.5 (C-4'), 147.7 (C-3), 130.6 (C-2', 6'), 125.8 (C-1'), 116.3 (C-3', 5'), 115.8 (C-2)。以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **5** 为反式-4-羟基桂皮酸。

化合物 **6**: 白色粉末, mp 240.1~242.5 °C。ESI-MS m/z : 193.18 $[M+H]^+$, 分子式 $C_{10}H_8O_4$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.49 (1H, brs, H-1), 7.49 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-3), 7.36 (1H, s, H-2'), 7.14 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-6'), 6.93 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-5'), 6.38 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-2), 6.05 (2H, s, $O-CH_2-O$); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 168.4 (C-1), 149.6 (C-3'), 148.5 (C-4'), 144.4 (C-3), 129.2 (C-1'), 125.2 (C-6'), 117.6 (C-2), 109.0 (C-5'), 107.2 (C-6'), 102.1 ($O-CH_2-O$)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **6** 为反式-3',4'-亚甲二氧基桂皮酸。

化合物 **7**: 白色粉末, mp 170.2~172.8 °C。ESI-MS m/z : 217.18 $[M+H]^+$, 分子式 $C_{10}H_{10}O_4$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.16 (1H, brs, H-1), 9.56 (1H, brs, 4'-OH), 7.47 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-3), 7.26 (1H, s, H-2'), 7.07 (1H, dd, J = 6.4, 2.0 Hz, H-6'), 6.77 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-5'), 6.35 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-2), 3.81 (3H, s, $-OCH_3$); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 168.6 (C-1), 149.6 (C-3'), 148.4 (C-4'), 145.1 (C-3), 126.3 (C-1'), 123.4 (C-6'), 116.1 (C-2), 116.0 (C-5'), 111.6 (C-6'), 56.2 ($-OCH_3$)。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **7** 为反式-阿魏酸。

化合物 **8**: 淡黄色片晶 (丙酮), mp 224.6~225.8 °C。ESI-MS m/z : 185.13 $[M+Na]^+$, 分子式 $C_9H_6O_3$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 10.58 (1H, brs, 7-OH), 7.92 (1H, d, J = 9.2 Hz, H-4), 7.51 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5), 6.73 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-6), 6.67 (1H, s, H-8), 6.19 (1H, d, J = 9.2 Hz, H-3); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 161.8 (C-2), 161.0 (C-7), 156.0 (C-9), 145.1 (C-4), 130.3 (C-5), 113.7 (C-6), 111.9 (C-3), 111.8 (C-10), 102.7 (C-8)。以上数据与文献报道

基本一致^[13], 故鉴定化合物 **8** 为伞形花内酯。

化合物 **9**: 淡黄色针晶 (丙酮), mp 271.8~273.9 °C。ESI-MS m/z : 179.15 $[M+H]^+$, 分子式 $C_9H_6O_4$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.83 (1H, d, J = 9.2 Hz, H-4), 6.93 (1H, s, H-5), 6.69 (1H, s, H-8), 6.13 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-3); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 161.3 (C-2), 150.9 (C-7), 149.0 (C-9), 145.0 (C-4), 143.4 (C-4), 112.8 (C-5), 112.0 (C-3), 111.2 (C-10), 103.1 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 **9** 为七叶内酯。

化合物 **10**: 淡黄色晶体 (丙酮), mp 170.1~173.4 °C。ESI-MS m/z : 383.29 $[M+Na]^+$, 分子式 $C_{18}H_{16}O_8$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.91 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-3), 7.43 (1H, s, H-2'), 7.32 (1H, s, H-2''), 7.16 (2H, dd, J = 8.4, 2.8 Hz, H-6', 6''), 7.04 (2H, dd, J = 8.0, 2.4 Hz, H-5', 5''), 6.65 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-2), 5.48 (1H, dd, J = 13.2, 3.4 Hz, H-2''), 3.71 (1H, d, J = 6.0 Hz, H-3a''), 3.71 (1H, d, J = 17.2 Hz, H-3b''); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 177.0 (C-1''), 168.4 (C-1), 148.7 (C-3), 146.1 (C-4', 4''), 145.9 (C-3', 3''), 145.3 (C-3), 144.1 (C-4''), 130.5 (C-1''), 127.3 (C-1'), 122.2 (C-6''), 121.0 (C-6'), 116.8 (C-5'), 115.7 (C-5''), 115.5 (C-2), 114.9 (C-2''), 114.4 (C-2'), 77.0 (C-2''), 38.1 (C-3'')。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 **10** 为迷迭香酸。

化合物 **11**: 白色晶体 (甲醇), mp 216.8~218.3 °C。ESI-MS m/z : 409.41 $[M+H]^+$, 分子式 $C_{20}H_{24}O_9$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.93 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-4), 7.48 (1H, s, H-5), 6.82 (1H, s, H-8), 6.21 (1H, d, J = 9.2 Hz, H-3), 4.87 (1H, dd, J = 8.4, 4.4 Hz, H-2'), 4.36 (1H, d, J = 7.2 Hz, β -D-Glu-H-1), 3.64, 3.33 (2H, d, J = 12.8 Hz, β -D-Glu-H-6), 3.25 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-3'), 3.11 (1H, dt, J = 7.6 Hz, β -D-Glu-H-5), 3.08 (1H, dt, J = 7.6 Hz, β -D-Glu-H-2), 2.99 (1H, dd, J = 9.2 Hz, β -D-Glu-H-4), 2.87 (1H, dt, J = 7.6 Hz, β -D-Glu-H-3), 1.23 (3H, s, H-5'), 1.08 (3H, s, H-6'); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 163.6 (C-7), 161.0 (C-2), 155.5 (C-9), 145.2 (C-4), 126.0 (C-6), 124.5 (C-5), 112.8 (C-3), 111.9 (C-10), 97.7 (β -D-Glu-C-1), 97.4 (C-8), 90.6 (C-2'), 77.6 (C-4'), 77.4 (β -D-Glu-C-5), 77.2 (β -D-Glu-C-2), 74.0 (β -D-Glu-C-3), 70.8 (β -D-Glu-C-4), 61.7 (β -D-Glu-C-6), 29.7 (C-3'), 23.7 (C-5'), 21.2 (C-6')。以上数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定

定化合物 **11** 为紫花前胡苷。

化合物 **12**: 白色粉末, mp 191.2~192.5 °C。ESI-MS m/z : 373.37 $[M+H]^+$, 分子式 $C_{17}H_{24}O_9$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.72 (2H, s, H-3, 5), 6.46 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-1'), 6.35 (1H, dt, J = 10.0, 5.0 Hz, H-2'), 4.91 (1H, d, J = 7.6 Hz, β -D-Glu-H-1), 4.17 (2H, d, J = 5.0 Hz, H-3'), 3.76 (6H, s, 2, 6-OCH₃), 3.42 (2H, d, J = 9.6 Hz, β -D-Glu-H-6), 3.35 (1H, dt, J = 7.6 Hz, β -D-Glu-H-5), 3.16~3.20 (3H, m, β -D-Glu-H-2~4); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 152.8 (C-2, 6), 133.9 (C-1), 132.7 (C-4), 130.3 (C-1'), 128.5 (C-2'), 104.5 (C-3, 5), 102.6 (β -D-Glu-C-1), 77.3 (β -D-Glu-C-5), 76.6 (β -D-Glu-C-3), 74.3 (β -D-Glu-C-2), 70.0 (β -D-Glu-C-4), 61.0 (β -D-Glu-C-6), 61.6 (C-3'), 56.4 (2, 6-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[17-18], 故鉴定化合物 **12** 为紫丁香苷。

化合物 **13**: 棕色针晶 (甲醇), mp 191.3~192.6 °C。ESI-MS m/z : 343.35 $[M+H]^+$, 分子式 $C_{19}H_{18}O_6$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.63 (1H, dd, J = 8.8, 3.0 Hz, H-6'), 7.52 (1H, d, J = 3.0 Hz, H-2'), 7.10 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-5'), 6.87 (1H, d, J = 3.0 Hz, H-6), 6.77 (1H, s, H-3), 6.49 (1H, d, J = 3.0 Hz, H-8), 3.89 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.87 (3H, s, 5-OCH₃), 3.83 (3H, s, 4'-OCH₃), 3.82 (3H, s, 7-OCH₃); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 176.3 (C-4), 164.2 (C-7), 160.7 (C-2), 160.2 (C-5), 159.7 (C-9), 152.1 (C-3'), 149.5 (C-4'), 123.6 (C-1'), 119.8 (C-6'), 112.1 (C-5'), 109.5 (C-2'), 108.8 (C-10), 107.6 (C-3), 96.7 (C-8), 93.9 (C-6), 56.6 (3'-OCH₃), 56.5 (5-OCH₃), 56.4 (4'-OCH₃), 56.2 (7-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[19], 故鉴定化合物 **13** 为 5,7,3',4'-四甲氧基黄酮。

化合物 **14**: 淡黄色粉末, mp 220.6~222.3 °C。ESI-MS m/z : 339.37 $[M+H]^+$, 分子式 $C_{20}H_{18}O_5$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 13.19 (1H, brs, 5-OH), 9.73 (1H, brs, 7-OH), 8.71 (1H, brs, 4'-OH), 8.12 (1H, s, H-2), 7.45 (2H, d, J = 8.2 Hz, H-2', 6'), 6.88 (2H, d, J = 8.2 Hz, H-3', 5'), 6.47 (1H, s, H-8), 5.19 (1H, t, J = 6.8 Hz, H-2''), 3.41 (2H, d, J = 6.8 Hz, H-1''), 1.69 (3H, s, H-5''), 1.62 (3H, s, H-4''); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 180.3 (C-4), 160.1 (C-7), 158.4 (C-5), 157.8 (C-4'), 157.2 (C-9), 153.4 (C-2), 131.4 (C-3''), 130.3 (C-2', 6'), 125.1 (C-1'), 123.4 (C-3), 122.8 (C-2''), 114.9 (C-3', 5'), 111.3 (C-6), 105.6 (C-10), 94.7 (C-8),

25.7 (C-4''), 22.0 (C-1''), 17.6 (C-5'')。以上数据与文献报道基本一致^[20-21], 故鉴定化合物 **14** 为 5,7,4'-三羟基-6-异戊烯基异黄酮。

化合物 **15**: 淡黄色粉末, mp 346.8~348.1 °C。ESI-MS m/z : 271.25 $[M+H]^+$, 分子式 $C_{15}H_{10}O_5$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.96 (1H, brs, 5-OH), 10.84 (1H, brs, 4'-OH), 10.37 (1H, brs, 7-OH), 7.92 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-2', 6'), 6.90 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.78 (1H, s, H-3), 6.48 (1H, s, H-8), 6.18 (1H, s, H-6); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 182.3 (C-4), 164.7 (C-2), 164.3 (C-7), 162.0 (C-9), 161.7 (C-5), 157.8 (C-4'), 129.0 (C-2', 6'), 121.7 (C-1'), 116.5 (C-3', 5'), 104.2 (C-3), 103.3 (C-10), 99.3 (C-6), 94.5 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[22], 故鉴定化合物 **15** 为芹菜素。

化合物 **16**: 棕色粉末, mp 322.6~323.7 °C。ESI-MS m/z : 287.26 $[M+H]^+$, 分子式 $C_{15}H_{10}O_6$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.94 (1H, brs, 5-OH), 10.82 (1H, brs, 7-OH), 9.91 (1H, brs, 4'-OH), 9.38 (1H, brs, 3'-OH), 7.39 (1H, dd, J = 8.0, 2.4 Hz, H-6'), 7.35 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-2'), 6.85 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 6.64 (1H, s, H-3), 6.40 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 6.15 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 182.2 (C-4), 164.6 (C-2), 164.4 (C-7), 162.0 (C-5), 157.8 (C-9), 150.2 (C-4'), 146.2 (C-3'), 122.0 (C-1'), 119.5 (C-6'), 116.5 (C-5'), 113.9 (C-2'), 104.2 (C-10), 103.4 (C-3), 99.3 (C-6), 94.4 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[23], 故鉴定化合物 **16** 为木犀草素。

化合物 **17**: 黄色粉末, mp 312.4~313.7 °C。ESI-MS m/z : 303.27 $[M+H]^+$, 分子式 $C_{15}H_{10}O_7$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.51 (1H, brs, 5-OH), 10.73 (1H, brs, 7-OH), 9.65 (1H, brs, 3'-OH), 9.39 (1H, brs, 3-OH), 9.34 (1H, brs, 4'-OH), 7.74 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-2'), 7.63 (1H, dd, J = 8.0, 2.0 Hz, H-6'), 6.84 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 6.36 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 6.14 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 176.3 (C-4), 165.5 (C-7), 161.2 (C-9), 156.6 (C-5), 148.2 (C-4'), 147.3 (C-2), 145.6 (C-3'), 136.3 (C-3), 122.5 (C-1'), 120.5 (C-6'), 116.1 (C-5'), 115.5 (C-2'), 103.5 (C-10), 98.7 (C-6), 93.9 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[24-25], 故鉴定化合物 **17** 为槲皮素。

化合物 **18**: 黄色粉末, mp 134.3~135.7 °C。

ESI-MS m/z : 462.38 $[M+Na]^+$, 分子式 $C_{21}H_{20}O_{10}$ 。
 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 13.17 (1H, brs, 5-OH), 10.91 (1H, brs, 7-OH), 10.36 (1H, brs, 4'-OH), 8.01 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-2', 6'), 6.87 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.78 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-3), 6.26 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 4.69 (1H, d, J = 11.6 Hz, H-1''), 3.82 (1H, d, J = 10.5 Hz, H-6''a), 3.76 (1H, d, J = 3.6 Hz, H-6''b), 3.15~3.50 (4H, m, H-2''~5''); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 182.6 (C-4), 164.4 (C-2), 162.7 (C-7), 161.1 (C-4'), 160.9 (C-5), 156.5 (C-9), 129.5 (C-2', 6'), 122.1 (C-1'), 116.3 (C-3', 5'), 105.1 (C-8), 104.5 (C-10), 102.9 (C-3), 98.7 (C-6), 82.4 (C-5''), 79.1 (C-1''), 73.9 (C-2''), 71.3 (C-3''), 71.0 (C-4''), 61.8 (C-6'')。以上数据与文献报道基本一致^[26], 故鉴定化合物 **18** 为牡荆素。

化合物 **19**: 黄色粉末, mp 333.1~334.5 °C。
 ESI-MS m/z : 487.37 $[M+Na]^+$, 分子式 $C_{21}H_{20}O_{12}$ 。
 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.63 (1H, brs, 5-OH), 10.81 (1H, brs, 7-OH), 9.72 (1H, brs, 3'-OH), 9.14 (1H, brs, 4'-OH), 7.67 (1H, dd, J = 8.8, 2.2 Hz, H-6'), 7.51 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-2'), 6.79 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-5'), 6.39 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 6.19 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 5.36 (1H, d, J = 7.6 Hz, β -D-Gal-H-1), 5.15 (1H, d, J = 4.8 Hz, β -D-Gal-H-1a), 4.88 (1H, d, J = 5.0 Hz, β -D-Gal-H-1b), 3.29~3.65 (4H, m, β -D-Gal-H-2''~5''); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.0 (C-4), 164.7 (C-7), 161.7 (C-5), 156.8 (C-9), 156.7 (C-2), 149.0 (C-4'), 145.4 (C-3'), 133.9 (C-3), 122.5 (C-6'), 121.6 (C-1'), 116.4 (C-2'), 115.7 (C-5'), 104.4 (C-10), 102.2 (β -D-Gal-C-1), 98.7 (C-6), 94.0 (C-8), 76.4 (β -D-Gal-C-5), 73.7 (β -D-Gal-C-3), 71.7 (β -D-Gal-C-2), 68.4 (β -D-Gal-C-4), 60.6 (β -D-Gal-C-6)。以上数据与文献报道基本一致^[27], 故鉴定化合物 **19** 为金丝桃苷。

3.2 活性测试结果

通过对柴胡中所分离得到的 19 个化合物进行细胞毒活性测试, 测试结果见表 1, 结果表明 19 个化合物均有抑制人肝癌 HepG2 细胞的增殖作用, 其中化合物 **2**、**8**~**11**、**16** 和 **18** 对 HepG2 细胞具有显著的细胞毒活性, $IC_{50} < 50 \mu\text{mol/L}$, 特别值得一提的是化合物 **8** 对 HepG2 的细胞毒活性与临床用药 10-羟基喜树碱注射液相当, 因此, 就该化合物的生物活性及其作用机制有待于进一步深入研究, 为其

表 1 化合物 1~19 对人肝癌细胞 HepG2 的细胞毒活性

化合物	$IC_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	化合物	$IC_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$
1	81.15 ± 3.08	11	48.99 ± 3.62
2	38.07 ± 1.03	12	107.78 ± 6.49
3	252.69 ± 11.14	13	287.62 ± 7.35
4	61.52 ± 4.28	14	229.08 ± 11.58
5	126.59 ± 20.18	15	133.07 ± 16.04
6	74.02 ± 23.19	16	15.91 ± 3.11
7	306.71 ± 31.05	17	67.26 ± 4.37
8	6.91 ± 1.78	18	30.82 ± 1.94
9	29.41 ± 2.06	19	198.02 ± 14.16
10	22.86 ± 8.73	10-羟基喜树碱	6.86 ± 0.76

在保肝方面的应用提供科学依据。

4 讨论

本研究主要报道了从北柴胡根部中分离得到的两类化合物, 其中 **1**~**12** 为苯丙素类化合物, **13**~**19** 为黄酮类化合物; 化合物 **3**~**6**、**8**、**10**~**14** 和 **18**~**19** 为首次从该植物中分离得到。据文献报道, 香豆素和黄酮类化合物均具有对多种肿瘤细胞的增殖有抑制作用^[28-29]。本研究活性测试结果也证明了这一结论。

另外, 本实验活性筛选结果还发现, 香豆素类化合物的 C-6、C-7、C-8 位取代基的变化对抑制人肝癌细胞 HepG2 的增殖有着密切的关系, 其中 C-7 位上有羟基取代基时活性最强 (化合物 **8** 的 IC_{50} 为 $6.91 \mu\text{mol/L}$), 其次是 C-6、C-7 位上有取代基, 当取代基的位置在 C-7、C-8 位上时活性进一步减弱。这一发现也与已有对香豆素构效分析结果基本一致^[30-31]。综上研究结果不仅丰富了北柴胡的植物化学信息及化合物的结构类型, 同时通过初步分析了香豆素的构效关系, 在一定程度上可为该类成分的结构修饰和抗肿瘤药物的研究提供参考, 为北柴胡的进一步开发利用奠定基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 293.
- [2] 李苑实, 延光海, 李镐, 等. 北柴胡乙醇提取物对急性肝损伤小鼠肝脏的保护作用及成分分析 [J]. 延边大学医学学报, 2010, 33(2): 105-107.
- [3] 宋景贵, 肖正明, 李师鹏, 等. 柴胡提取物对人肝癌细胞和小鼠 S-180 肉瘤的抑制作用 [J]. 山东中医药大学学报, 2001, 25(4): 299-301.
- [4] 杨晓军, 王超, 贾云鹏, 等. 旱芹菜根乙酸乙酯部位化

- 学成分及其细胞毒活性 [J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(7): 1164-1168.
- [5] 于生洋, 夏桂阳, 孙佳文, 等. 毛酸浆果实化学成分的分离与鉴定 [J]. 中草药, 2018, 49(19): 4500-4506.
- [6] Basile A, Sorbo S, Spadaro V, *et al.* Antimicrobial and antioxidant activities of coumarins from the roots of *Ferulago campestris* (Apiaceae) [J]. *Molecules*, 2009, 14(3): 939-952.
- [7] 孙彪, 敖运林, 王德智, 等. 葎草茎叶石油醚部位化学成分 [J]. 中国药科大学学报, 2022, 53(2): 178-184.
- [8] 罗鑫, 王雪晶, 赵祎武, 等. 羌活化学成分研究 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1492-1495.
- [9] 张天柱, 曾勇, 朱福伟, 等. 山萘杀线虫活性成分的分离及鉴定 [J]. 西北植物学报, 2010, 30(12): 2524-2529.
- [10] 于金倩, 王召平, 朱姮, 等. 忍冬根的化学成分及其抗炎作用 [J]. 药学报, 2016, 51(7): 1110-1116.
- [11] Thiemann T, Elshorbagy M W, Salem M H F A, *et al.* Facile, direct reaction of benzaldehydes to 3-arylprop-2-enoic acids and 3-arylprop-2-ynoic acids in aqueous medium [J]. *Int J Org Chem*, 2016, 6(2): 126-141.
- [12] 佟雪琦, 赵明, 李军, 等. 汉麻根化学成分研究 [J]. 中草药, 2022, 53(24): 7649-7655.
- [13] 杜冬生, 秦艳, 程志红, 等. 紫花地丁的化学成分研究 [J]. 中草药, 2018, 49(9): 2007-2012.
- [14] 王鸣, 刘培, 冯煦, 等. 北柴胡茎叶化学成分研究 (II) [J]. 中药材, 2009, 32(3): 367-369.
- [15] 段营辉, 戴毅, 高昊, 等. 草珊瑚的化学成分研究 [J]. 中草药, 2010, 41(1): 29-32.
- [16] 李春丽, 孟宪华, 尚贤毅, 等. 花椒化学成分及其抗氧化活性 [J]. 中草药, 2021, 52(10): 2869-2875.
- [17] 张忠立, 左月明, 李于益, 等. 杜仲叶苯丙素类化学成分研究 [J]. 中药材, 2014, 37(3): 421-423.
- [18] 南泽东, 赵明波, 姜勇, 等. 塔中栽培荒漠肉苁蓉化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(16): 2665-2670.
- [19] Yenjai C, Prasanphen K, Daodee S, *et al.* Bioactive flavonoids from *Kaempferia parviflora* [J]. *Fitoterapia*, 2004, 75(1): 89-92.
- [20] Kinoshita T, Ichinose K, Takahashi C, *et al.* Chemical studies on *Sophora tomentosa*: The isolation of a new class of isoflavonoid [J]. *Chem Pharm Bull*, 1990, 38(10): 2756-2759.
- [21] 李宝强, 宋启示. 大叶千斤拔根的化学成分 [J]. 中草药, 2009, 40(2): 179-182.
- [22] 颜承, 陈晓怡, 隋宏, 等. 地椒抗氧化活性部位化学成分的研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2016, 39(5): 383-389.
- [23] 肖宗雨, 刘艳, 孙延平, 等. 柴胡地上部分黄酮类化学成分研究 [J]. 中药材, 2020, 43(11): 2679-2683.
- [24] 李广志, 李晓瑾, 曹丽, 等. 新疆阿魏种子化学成分的研究 [J]. 中草药, 2015, 46(12): 1730-1736.
- [25] 杨瑶琨, 阎玉凝, 杨洋. 阿尔泰柴胡中黄酮类成分的研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2010, 33(3): 207-209.
- [26] 方振峰, 凌志群, 施璐, 等. 大八角枝叶化学成分研究 [J]. 中草药, 2018, 49(5): 1019-1024.
- [27] 周娟, 胡英杰, 肖敏勋, 等. 贯叶金丝桃的黄酮类成分研究 [J]. 广州中医药大学学报, 2006, 23(5): 416-418.
- [28] 夏令先, 王玉斌, 黄文龙, 等. 香豆素类化合物的抗肿瘤作用研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2013, 22(20): 2392-2404.
- [29] 路梦, 苏刚, 程菊, 等. 黄酮类化合物抗肿瘤活性及机制的研究进展 [J]. 华西药学杂志, 2023, 38(2): 236-240.
- [30] 张爱平, 杨锦艳, 郑茂东, 等. 7-羟基香豆素及 6, 7-二羟基香豆素与 DNA 的作用机理及构效关系研究 [J]. 中国新药杂志, 2011, 20(1): 68-74.
- [31] 刘雪锋, 夏咏梅, 曹玉华, 等. 香豆素类中药有效成分与牛血清白蛋白结合的构效关系 [J]. 高等学校化学学报, 2006, 27(1): 150-152.

[责任编辑 王文倩]