

维药骆驼刺水溶性化学成分研究

鲍爽¹, 宋海龙³, 热依兰木·买赛地², 凯撒·苏来曼³, 马国需^{3,4}, 张晶¹, 石磊岭^{3*}, 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, 新疆 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 对维药骆驼刺 *Alhagi sparsifolia* 水溶性化学成分进行研究。方法 采用多种色谱技术进行分离纯化, 通过理化性质、波谱数据和 X 单晶衍射鉴定化合物结构, 测试各化合物对人宫颈癌 HeLa 细胞的细胞毒性。结果 从骆驼刺地上部分分离得到 21 个水溶性化合物, 分别鉴定为毒豆甲酮 (1)、毒豆乙酮 (2)、callyspongidiptideA (3)、环(脯氨酸-亮氨酸) (4)、对羟基苯甲醇 (5)、D-脯氨酸-D-缬氨酸 (6)、环(脯氨酸-亮氨酸)二肽 (7)、布卢姆醇 A (8)、(3*S*,4*R*)-3,4-二羟基-3-甲基二氢呋喃-2(3*H*)-酮 (9)、isololiolide (10)、dehydrovomifoliol (11)、*N*-苯乙基甲酰胺 (12)、3-hydroxy- β -damascone (13)、3,4-二羟基-3-甲基二氢呋喃-2(3*H*)-酮 (14)、环(丙氨酸-脯氨酸) (15)、脯氨酸 (16)、布卢姆醇 B (17)、蚱蜢酮 (18)、*N*-(对羟基苯乙基)甲酰胺 (19)、*N*-乙酰基酪胺 (20)、(+)-丁香脂素-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 (21); 并对化合物 1~21 进行了抗宫颈癌活性筛选。结论 化合物 1~7、9~20 为首次从骆驼刺属植物中分离得到, 且化合物 4、7、15 表现出潜在的抗肿瘤活性, 半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 分别为 (29.09±0.99)、(31.51±1.89)、(28.25±0.65) μ mol/L。

关键词: 骆驼刺; 水溶性成分; 生物碱; 抗肿瘤活性; 环(脯氨酸-亮氨酸)二肽; 环(丙氨酸-脯氨酸)

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)17-5777-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.17.004

Water-soluble chemical constituents of *Alhagi sparsifolia*

BAO Shuang¹, SONG Hailong³, Reyilanmu·Maisaidi², Kaisa·Sulaiman³, MA Guoxu^{3,4}, ZHANG Jing¹, SHI Leiling³, HAN Lili²

1. College of Chinese Medicine Material, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China
2. Department of Gynecology, The 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 water soluble chemical constituents of *Alhagi sparsifolia*. **Methods** A variety of chromatographic techniques were used to separate and purify, and the structure of the compounds was identified by physicochemical properties, spectral data and X-single crystal diffraction, and the cytotoxicity of each compound to HeLa cells was tested. **Results** Twenty-one water-soluble compounds were isolated from the above-ground parts of *A. sparsifolia* after the process of extraction and were identified as drummondone A (1), drummondone B (2), callyspongidiptideA (3), cyclo(Pro-Leu) (4), 4-(hydroxymethyl)phenol (5), cyclo(*D*)-Pro-(*D*)-Val (6), cyclo(*L*-pro-*L*-Leu) (7), blumenol A (8), (3*S*,4*R*)-3,4-dihydroxy-3-methylidihydrofuran-2(3*H*)-one (9), Isololiolide (10), dehydrovomifoliol (11), *N*-phenethylformamide (12), 3-hydroxy- β -damascone (13), 3,4-dihydroxy-3-methylidihydrofuran-2(3*H*)-one (14), cyclo(*L*-Pro-*L*-Ala) (15), proline (16), blumenol B (17), grasshopper ketone (18), *N*-(*p*-hydroxyphenethyl) (19), *N*-acetyltyramine (20), (+)-syringaresinol *O*- β -*D*-glucopyranoside (21), and compounds 1–21 were screened for anti-cervical cancer activity.

收稿日期: 2024-01-25

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: 石磊岭 (1977—), 男, 硕士生导师, 研究员, 从事天然产物化学研究。E-mail: shileiling@sina.com

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

Conclusion Compounds **1**—**7**, **9**—**20** were the first known compounds within the genus, and compounds **4**, **7** and **15** showed potential antitumor activity with median inhibition concentration (IC₅₀) of (29.09 ± 0.99), (31.51 ± 1.89) and (28.25 ± 0.65) μmol/L, respectively.

Key words: *Alhagi sparsifolia* Shap; water-soluble constituent; alkaloids; antitumor activity; cyclo(Pro-Leu); cyclo(*L*-Pro-*L*-Ala)

骆驼刺 *Alhagi sparsifolia* Shap 为豆科骆驼刺属的半灌木, 主要分布在新疆, 常用于治疗腹痛腹胀、痢疾腹泻, 是维吾尔医用传统药材^[1-2]。骆驼刺化学成分丰富, 具有抗肿瘤、治疗腹泻、心血管疾病及止痛等生物活性^[1,3]。现代药理研究表明, 骆驼刺乙醇提取物有抑制人宫颈癌 HeLa 细胞增殖与迁移的作用, 有较强的细胞毒活性^[4]。目前, 对骆驼刺化学成分的研究主要集中在脂溶性成分上, 对骆驼刺的质量评价多以脂溶性成分黄酮类化合物的含量为指标, 而对水溶性成分研究较少。为了进一步阐明骆驼刺的物质基础, 本实验对骆驼刺中水溶性活性成分进行了研究, 采用 95%乙醇回流提取骆驼刺地上部分的水溶性化合物。用水悬浮后用有机试剂萃取, 再利用 ODS、硅胶等柱色谱方法进行分离纯化, 得到了 21 个化合物, 分别鉴定为毒豆甲酮 (drummondone A, **1**)、毒豆乙酮 (drummondone B, **2**)、callyspongidiptideA (**3**)、环(脯氨酸-亮氨酸) [cyclo(Pro-Leu), **4**]、对羟基苯甲醇 [4-(hydroxymethyl)phenol, **5**]、*D*-脯氨酸-*D*-缬氨酸 [cyclo(*D*)-Pro-(*D*)-Val, **6**]、环(脯氨酸-亮氨酸)二肽 [cyclo(*L*-pro-*L*-Leu), **7**]、布卢姆醇 A (blumenol A, **8**)、(3*S*,4*R*)-3,4-二羟基-3-甲基二氢呋喃-2(3*H*)-酮

[(3*S*,4*R*)-3,4-dihydroxy-3-methyldihydrofuran-2(3*H*)-one, **9**]、isololiolide (**10**)、dehydrovomifoliol (**11**)、*N*-苯乙基甲酰胺 (*N*-phenethylformamide, **12**)、3-hydroxy-β-damascone (**13**)、3,4-二羟基-3-甲基二氢呋喃-2(3*H*)-酮 [3,4-dihydroxy-3-methyldihydrofuran-2(3*H*)-one, **14**]、环(丙氨酸-脯氨酸) [cyclo(*L*-Pro-*L*-Ala), **15**]、脯氨酸 (proline, **16**)、布卢姆醇 B (blumenol B, **17**)、蚱蜢酮 (grasshopper ketone, **18**)、*N*-(对羟基苯乙基)甲酰胺 [*N*-(*p*-hydroxyphenethyl), **19**]、*N*-乙酰基酪胺 (*N*-acetyltyramine, **20**)、(+)-丁香脂素-*O*-β-*D*-葡萄糖苷 [(+)-syringaresinol *O*-β-*D*-glucopyranoside, **21**]。化合物 **1**~**7**, **9**~**20** 为首次从骆驼刺属植物中分离得到。为进一步探究骆驼刺的有效成分, 本实验对化合物 **1**~**21** 进行了抗肿瘤活性筛选, 结果显示, 化合物 **4**、**7**、**15** 对 HeLa 细胞表现出抑制作用, 半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 分别为 (29.09 ± 0.99)、(31.51 ± 1.89)、(28.25 ± 0.65) μmol/L。化合物 **1**~**21** 的结构见图 1。

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

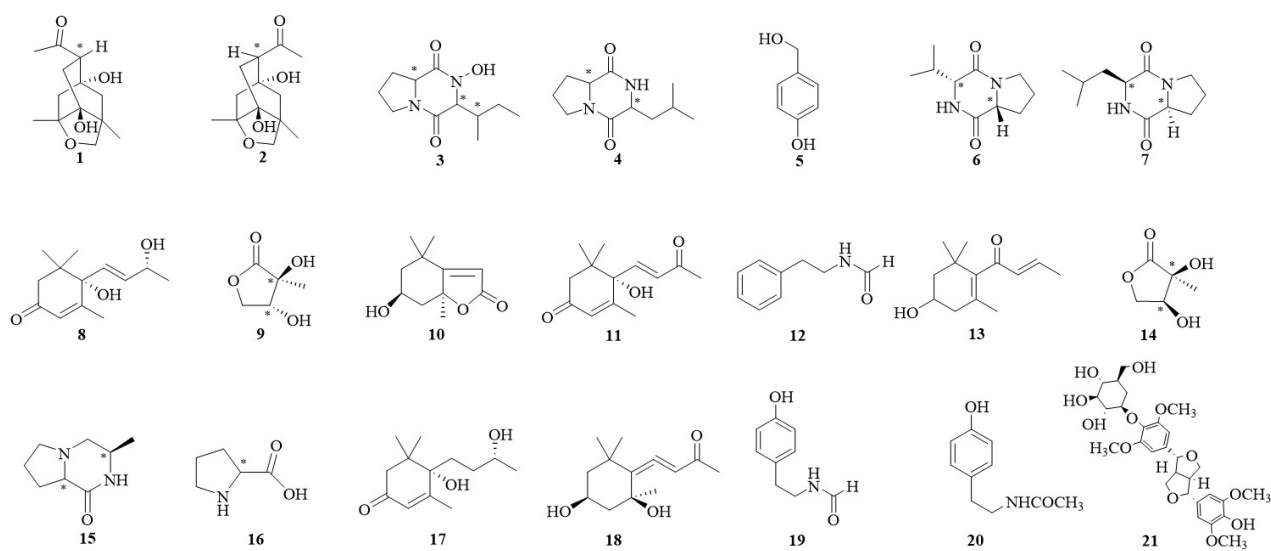


图 1 化合物 **1**~**21** 的结构 (手性碳用*标注)

Fig. 1 Chemical structures of compounds **1**—**21** (chiral carbon is * labeled)

克公司);赛默飞世(Thermo Fisher) LTQ-Orbitrap X液质联用仪(美国 Thermo Fisher 公司); KH-700DB 型台式数控超声波清洗器(苏州安源仪器有限公司); DLSB-5/10 型低温冷却液循环泵(郑州长城科工贸有限公司); BYLABUVIII 型紫外灯(诺雷信达科技有限公司); 半制备型液相色谱仪(硅仪生化科技有限公司); 乙醇、甲醇、石油醚、二氯甲烷(琳盛化工有限公司); 氘代二甲基亚砜(安徽泽升科技有限公司); 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); 娃哈哈水; HeLa 细胞(中国科学院上海细胞研究所); 顺铂(Sigma-aldrich 公司)。

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 1~2, 再用等体积的醋酸乙酯进行萃取, 得到醋酸乙酯部位 39 L 和水层。再将水层用 NaOH 调至 pH 值 9~10, 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, 合并相似洗脱液后得到 7 个组分 Fr. 1-1~1-7。Fr. 1-5 (169.5 mg) 经半制备液相色谱(甲醇-水 30:70)分离纯化得化合物 **3** (4.8 mg, $t_R=19.7$ min)、**4** (5.1 mg, $t_R=21.8$ min) 和 **5** (3.7 mg, $t_R=43.2$ min); Fr. 1-6 (823.0 mg) 经半制备液相色谱(0.1%甲酸甲醇-水 20:80)分离纯化得化合物 **6** (1.0 mg, $t_R=20.9$ min)、**7** (1.6 mg, $t_R=56.9$ min) 和 **8** (1.0 mg, $t_R=61.9$ min); 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 **9** (7.0 mg, $t_R=7.1$ min); 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 **10** (2.3 mg, $t_R=57.2$ min)、**11** (3.8 mg, $t_R=60.4$ min) 和 **12** (10.0 mg, $t_R=68.9$ min); 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 **13** (2.7 mg, $t_R=26.7$ min); Fr. 2-2 经鉴定得到化合物 **14** (4.8 mg); Fr. 4 (2.1 g) 经 ODS 柱色谱分离, 甲醇-水(10:90~100:0)梯度洗脱, 得到 8 个组分 Fr. 4-1~4-8。Fr. 4-1 (483.9 mg) 经半制备液相色谱(甲醇-水 10:90)分离纯化得化合物 **15** (4.1 mg, $t_R=26.7$ min); Fr. 4-1-5 (15.0 mg) 经半制备液相色谱(甲醇-水 9:91)分离纯化得化合物 **16** (3.9 mg, $t_R=30.6$ min); Fr. 4-2 (264.8 mg) 经凝胶柱色谱分离, 得到 9 个组分 Fr. 4-2-1~4-2-9。Fr. 4-2-3 (38.8 mg) 经半制备液相色谱(甲醇-水 30:70)分离纯化得化合物 **17** (1.0 mg, $t_R=21.7$ min) 和 **18** (1.0 mg, $t_R=25.6$ min)。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** (10.0 mg, $t_R=11.4$ min)、**2** (10.0 mg, $t_R=11.4$ min)、**19** (7.0 mg, $t_R=19.6$ min) 和 **20** (7.0 mg, $t_R=22.8$ min); Fr. 6 (12.5 g) 经半制备液相色谱(甲醇-水 30:70)分离纯化得化合物 **21** (5.6 mg, $t_R=59.3$ min)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色针状结晶(氯仿-丙酮 1:1)。ESI-MS m/z : 241.14 $[M+H]^+$, 分子式为 C₁₃H₂₀O₄。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.49 (1H, d, $J=12.6$ Hz, H-7), 3.22 (1H, d, $J=12.6$ Hz, H-7), 2.94 (1H, ddd, $J=10.9, 6.5, 1.9$ Hz, H-2'), 2.14 (3H, s, 3'-Me), 2.09 (1H, d, $J=4.9$ Hz, H-4), 1.91 (1H, dd, $J=14.0, 6.5$ Hz, H-2), 1.75 (2H, m, H-1'), 1.55 (1H, d, $J=2.5$ Hz, H-2), 1.38 (1H, m, H-4), 1.07 (3H, s, 5-Me), 0.91 (3H, s, 1-Me); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 210.7 (C-3'), 83.6 (C-8), 78.3 (C-7), 76.0 (C-5), 67.8 (C-3), 55.0 (C-2'), 53.4 (C-2), 46.3 (C-4), 43.8 (C-1), 33.4 (3'-Me), 25.6 (C-1'), 20.2 (5-Me), 17.4 (1-Me)。以上数据与文献报道波谱数据基本一致^[5], 故鉴定化合物 **1** 为毒豆甲酮。尽管早在 1986 年就有分离得到该化合物, 但它的绝对构型至今未得到 X-射线单晶衍射法的

确认,本研究通过 X-射线晶体衍射法确认了该化合物的绝对构型(图2)。单晶数据如下:单斜晶系,空间群是 P 21,晶胞参数: $a=1.189\ 33\ (2)\ \text{nm}$, $\alpha=90^\circ$; $b=0.708\ 55\ (1)\ \text{nm}$, $\beta=90.738\ (1)^\circ$; $c=1.448\ 72\ (2)\ \text{nm}$, $\gamma=90^\circ$, 体积= $1.220\ 74\ (3)\ \text{nm}^3$, $Z=4$, 计算密度= $1.308\ \text{g}/\text{m}^3$ 。

化合物 **2**: 白色针状结晶(氯仿-丙酮 1:1)。ESI-MS m/z : 241.14 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_4$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 3.50 (1H, d, $J=12.6$ Hz, H-7), 3.25 (1H, d, $J=12.6$ Hz, H-7), 2.87 (1H, ddd, $J=11.2, 4.9, 2.0$ Hz, H-2'), 2.15 (3H, s, 3'-Me), 2.07 (1H, d, $J=4.9$ Hz, H-1'), 1.77 (1H, d, $J=2.7$ Hz, H-2), 1.70 (2H, m, H-4), 1.58 (1H, m, H-1'), 1.46 (1H, dd,

$J=14.0, 11.1$ Hz, H-2), 1.06 (3H, s, 5-Me), 0.93 (3H, s, 1-Me); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 210.7 (C-3'), 83.3 (C-8), 78.8 (C-7), 75.9 (C-5), 67.7 (C-3), 55.7 (C-2'), 54.8 (C-2), 45.2 (C-4), 43.3 (C-1), 33.2 (2-Me), 25.2 (C-1'), 21.0 (5-Me), 16.2 (1-Me)。以上数据与文献报道波谱数据基本一致^[5], 故鉴定化合物 **2** 为毒豆乙酮。尽管早在 1986 年就有分离得到该化合物, 但它的绝对构型至今未得到 X-射线单晶衍射法的确认, 本研究通过 X-射线晶体衍射法确认了该化合物的绝对构型(图2)。单晶数据如下:单斜晶系,空间群是 P 21,晶胞参数: $a=1.189\ 53\ (2)\ \text{nm}$, $\alpha=90^\circ$; $b=0.708\ 71\ (2)\ \text{nm}$, $\beta=90.749\ (2)^\circ$; $c=1.448\ 45\ (2)\ \text{nm}$, $\gamma=90^\circ$, 体积= $1.220\ 99\ (3)\ \text{nm}^3$, $Z=4$, 计算密度= $1.307\ \text{g}/\text{m}^3$ 。

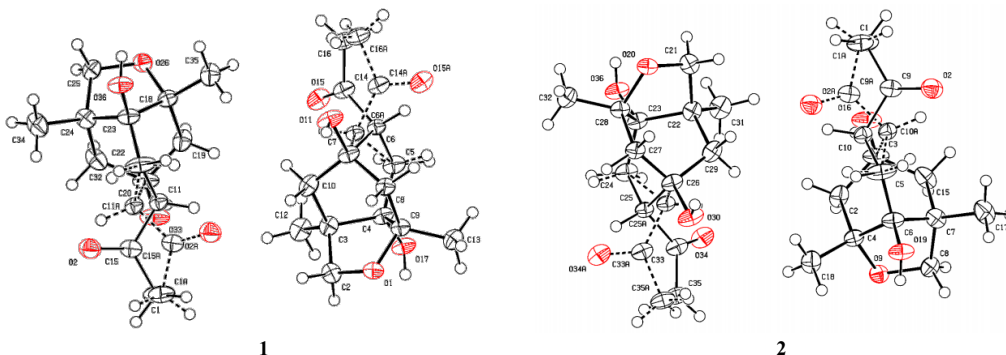


图2 化合物 1 和 2 的 X-射线晶体结构

Fig.2 X-ray crystal structures of compounds 1 and compound 2

化合物 **3**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 227.14 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 4.11 (1H, ddd, $J=8.7, 6.5, 1.7$ Hz, H-9), 3.95 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-6), 3.77 (1H, m, H-3), 3.70 (1H, m, H-3), 2.11 (1H, m, H-5), 2.01 (1H, m, H-10), 1.82 (3H, m, H-4, 5), 1.32 (2H, m, H-11), 0.97 (3H, d, $J=7.1$ Hz, H-13), 0.82 (3H, t, $J=7.5$ Hz, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 170.2 (C-1), 165.3 (C-7), 59.2 (C-6), 58.2 (C-9), 44.7 (C-3), 34.9 (C-10), 28.0 (C-11), 23.9 (C-5), 22.1 (C-4), 15.0 (C-13), 12.3 (C-12)。以上数据与文献报道波谱数据基本一致^[6], 故鉴定化合物 **3** 为 callyspongidi peptide A。

化合物 **4**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 211.14 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 8.03 (1H, s, N-H), 4.19 (1H, dd, $J=8.9, 7.3$ Hz, H-6), 4.00 (1H, m, H-9), 3.37 (2H, m, H-3), 2.11 (1H, m, H-5), 1.83 (4H, m, H-4, 5, 10), 1.34 (1H,

ddd, $J=13.7, 7.6, 5.9$ Hz, H-11), 1.23 (1H, m, H-10), 0.86 (3H, d, $J=6.0$ Hz, H-13), 0.85 (3H, d, $J=6.0$ Hz, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 170.4 (C-1), 166.6 (C-7), 58.5 (C-6), 52.6 (C-9), 44.9 (C-3), 37.8 (C-10), 27.5 (C-5), 24.1 (C-11), 22.9 (C-12), 22.5 (C-4), 21.9 (C-13)。以上数据与文献报道波谱数据基本一致^[7], 故鉴定化合物 **4** 为环(脯氨酸-亮氨酸)。

化合物 **5**: 白色晶体(甲醇)。ESI-MS m/z : 125.06 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_2$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 7.87 (1H, s, 4-OH), 7.00 (2H, m, H-2, H-6), 6.66 (2H, dd, $J=8.4, 1.6$ Hz, H-3, 5), 4.11 (2H, s, H-7), 4.03 (1H, s, 7-OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 155.9 (C-1), 134.2 (C-4), 129.9 (C-3, C-5), 115.2 (C-2, 6), 60.7 (C-7)。以上数据与文献报道波谱数据基本一致^[8], 故鉴定化合物 **5** 为对羟基苯甲醇。

化合物 **6**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 197.13 $[\text{M}+\text{H}]^+$,

分子式为 $C_{10}H_{16}N_2O_2$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.99 (1H, s, *N*-H), 4.11 (1H, m, H-6), 3.92 (1H, t, J = 2.1 Hz, H-9), 3.37 (2H, s, H-3), 2.63 (1H, m, H-10), 2.34 (1H, m, H-5), 2.12 (2H, m, H-4a, 5), 1.84 (1H, m, H-4b), 1.01 (3H, d, J = 7.2 Hz, H-11), 0.84 (3H, d, J = 6.9 Hz, H-12); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 170.4 (C-1), 165.3 (C-7), 59.5 (C-9), 58.3 (C-6), 44.7 (C-3), 27.9 (C-5), 27.7 (C-10), 22.1 (C-4), 18.4 (C-11), 16.4 (C-12)。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** 为环 *D*-脯氨酸-*D*-缬氨酸。

化合物 **7**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 211.14 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{11}H_{18}N_2O_2$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.03 (1H, s, *N*-H), 4.19 (1H, dd, J = 8.9, 7.2 Hz, H-6), 4.00 (1H, m, H-9), 3.36 (2H, s, H-3), 2.11 (1H, m, H-5), 1.89 (2H, m, H-4a, 5), 1.83 (1H, m, H-4b), 1.77 (2H, m, H-10), 1.34 (1H, ddd, J = 13.7, 7.6, 5.9 Hz, H-11), 0.86 (3H, d, J = 6.0 Hz, H-12), 0.85 (3H, d, J = 6.0 Hz, H-13); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 170.4 (C-1), 166.6 (C-7), 58.5 (C-6), 52.6 (C-9), 44.9 (C-3), 37.8 (C-5), 27.4 (C-4), 24.1 (C-11), 22.9 (C-12), 22.5 (C-10), 21.9 (C-13)。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** 为环(脯氨酸-亮氨酸)二肽。

化合物 **8**: 无色油状物。ESI-MS m/z : 225.15 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{13}H_{20}O_3$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 5.78 (1H, t, J = 1.3 Hz, H-4), 5.69 (1H, d, J = 15.6 Hz, H-8), 5.65 (1H, d, J = 15.6 Hz, H-7), 4.18 (1H, m, H-9), 2.40 (1H, d, J = 16.8 Hz, H-2), 2.05 (1H, d, J = 16.8 Hz, H-2), 1.81 (3H, d, J = 1.4 Hz, H-13), 1.11 (3H, d, J = 6.4 Hz, H-10), 0.93 (3H, s, H-12), 0.90 (3H, s, H-11); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 197.4 (C-3), 164.5 (C-5), 135.8 (C-7), 128.0 (C-8), 125.5 (C-4), 77.8 (C-6), 66.2 (C-9), 49.4 (C-2), 41.0 (C-1), 24.1 (C-10), 24.0 (C-12), 23.1 (C-11), 19.0 (C-13)。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** 为布卢姆醇 A。

化合物 **9**: 棕黄色油状物。ESI-MS m/z : 133.05 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_5H_8O_4$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 5.50 (1H, s, 4-OH), 4.60 (1H, m, H-4), 4.37 (1H, dd, J = 9.8, 4.2 Hz, H-5), 4.00 (1H, dd, J = 9.8, 2.2 Hz, H-5), 3.92 (1H, d, J = 3.3 Hz, 3-OH), 1.26 (3H, s, 3-Me); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ :

176.7 (C-2), 80.3 (C-4), 72.6 (C-3), 71.4 (C-5), 21.1 (3-Me)。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 (3*S*,4*R*)-3,4-二羟基-3-甲基二氢呋喃-2(3*H*)-酮。

化合物 **10**: 无色针状物。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 : 5.81 (1H, s, H-3), 3.98 (1H, t, J = 11.5 Hz, H-6), 2.34 (1H, ddd, J = 11.6, 4.1, 2.2 Hz, H-7), 1.88 (1H, ddd, J = 12.8, 4.2, 2.2 Hz, H-5), 1.50 (3H, d, J = 0.8 Hz, H-8), 1.27 (1H, t, J = 11.8 Hz, H-7), 1.22 (3H, s, H-9), 1.19 (3H, s, H-10), 1.15 (1H, t, J = 12.1 Hz, H-5); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 181.8 (C-3a), 171.0 (C-2), 112.3 (C-3), 86.4 (C-7a), 63.0 (C-6), 49.7 (C-5), 47.9 (C-7), 34.8 (C-4), 29.8 (C-10), 25.3 (C-8), 24.6 (C-9)。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 isololiolide。

化合物 **11**: 无色油状物。ESI-MS m/z : 223.13 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{13}H_{18}O_3$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.98 (1H, d, J = 15.8 Hz, H-4), 6.27 (1H, d, J = 15.8 Hz, H-3), 5.86 (1H, t, J = 1.3 Hz, H-3'), 2.65 (1H, d, J = 16.9 Hz, H-5'), 2.26 (3H, s, H-1), 2.16 (1H, d, J = 16.9 Hz, H-5'), 1.80 (3H, d, J = 1.4 Hz, H-9), 0.96 (3H, s, H-7), 0.91 (3H, s, H-8); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 198.3 (C-2), 197.1 (C-4'), 161.7 (C-2'), 147.2 (C-4), 130.5 (C-3), 126.6 (C-3'), 78.2 (C-1'), 49.3 (C-5'), 41.2 (C-6'), 27.2 (C-7), 24.2 (C-1), 23.2 (C-8), 18.6 (C-9)。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 dehydrovomifoliol。

化合物 **12**: 白色无定型粉末。ESI-MS m/z : 150.09 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_9H_{11}NO$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.08 (1H, s, H-1), 7.98 (1H, d, J = 1.7 Hz, *N*-H), 7.29 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2', 6'), 7.21 (3H, t, J = 8.4 Hz, H-3'~5'), 3.31 (2H, m, H-2), 2.72 (2H, t, J = 7.4 Hz, H-3); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 161.1 (C-1), 139.3 (C-1'), 128.7 (C-3', 5'), 128.4 (C-2', 6'), 126.2 (C-4'), 38.7 (C-2), 35.0 (C-3)。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 *N*-苯乙基甲酰胺。

化合物 **13**: 无色油状物。ESI-MS m/z : 209.15 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{13}H_{20}O_2$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.70 (1H, dq, J = 15.7, 6.6 Hz, H-9), 6.09 (1H, d, J = 15.7 Hz, H-8), 3.85 (1H, m, H-3), 2.24 (1H, m, H-4), 2.03 (1H, m, H-4), 1.88 (3H, dd, J = 6.9, 1.7

Hz, H-10), 1.59 (1H, ddd, $J = 12.2, 3.7, 1.6$ Hz, H-2), 1.43 (3H, d, $J = 1.0$ Hz, H-13), 1.34 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-2), 1.04 (3H, s, H-12), 0.87 (3H, s, H-11); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 201.2 (C-7), 147.1 (C-9), 139.4 (C-5), 134.4 (C-8), 128.6 (C-6), 63.1 (C-3), 48.1 (C-2), 41.2 (C-4), 36.2 (C-1), 30.0 (C-11), 29.4 (C-12), 21.3 (C-13), 18.6 (C-10)。以上数据与文献报道波谱数据基本一致^[16], 故鉴定化合物 **13** 为 3-hydroxy- β -damascone。

化合物 **14**: 棕黄色油状物。ESI-MS m/z : 133.05 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 5.49 (1H, d, $J = 4.2$ Hz, 4-OH), 4.37 (1H, dd, $J = 9.8, 4.2$ Hz, H-5), 4.00 (1H, dd, $J = 9.8, 2.2$ Hz, H-5), 3.92 (1H, m, 3-OH), 3.74 (1H, m, H-4), 1.26 (3H, s, 3-Me); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.2 (C-2), 72.8 (C-3), 72.7 (C-4), 71.6 (C-5), 21.3 (3-Me)。以上数据与文献报道波谱数据基本一致^[12], 故鉴定化合物 **14** 为 3,4-二羟基-3-甲基二氢呋喃-2(3H)-酮。

化合物 **15**: 白色针状结晶 (甲醇)。ESI-MS m/z : 169.10 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.16 (1H, s, N-H), 4.16 (1H, m, H-6), 4.08 (1H, m, H-9), 3.35 (2H, s, H-3), 2.12 (1H, m, H-5), 2.04 (1H, m, H-5), 1.88 (1H, m, H-4), 1.79 (1H, m, H-4), 1.21 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, 9-Me); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 170.0 (C-1), 166.6 (C-7), 58.7 (C-6), 50.1 (C-9), 44.9 (C-3), 27.7 (C-5), 22.4 (C-4), 15.3 (9-Me)。以上数据与文献报道波谱数据基本一致^[17], 故鉴定化合物 **15** 为环(丙氨酸-脯氨酸)。

化合物 **16**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 116.07 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_2$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 4.28 (1H, dd, $J = 8.8, 7.3$ Hz, H-2), 3.35 (2H, d, $J = 3.2$ Hz, H-5), 2.12 (1H, m, H-3), 1.87 (3H, m, H-3, H-4); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 166.0 (C-1), 59.8 (C-2), 44.6 (C-5), 27.3 (C-3), 22.9 (C-4)。以上数据与文献报道波谱数据基本一致^[18], 故鉴定化合物 **16** 为脯氨酸。

化合物 **17**: 无色油状物。ESI-MS m/z : 227.16 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}_3$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 5.73 (1H, t, $J = 1.3$ Hz, H-4), 4.37 (1H, m, H-9), 2.46 (1H, d, $J = 17.9$ Hz, H-2), 2.05 (1H, dd, $J = 17.9, 1.3$ Hz, H-2), 1.92 (3H, d, $J = 1.4$ Hz, H-13), 1.83 (2H, m, H-7), 1.62 (2H, m, H-8), 1.03 (3H, d, $J =$

6.2 Hz, H-10), 0.99 (3H, s, H-11), 0.91 (3H, s, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 197.1 (C-3), 168.9 (C-5), 125.0 (C-4), 77.0 (C-6), 66.8 (C-9), 49.8 (C-2), 41.5 (C-1), 34.4 (C-7), 34.3 (C-8), 24.2 (C-11), 23.9 (C-10), 23.5 (C-12), 21.3 (C-13)。以上数据与文献报道波谱数据基本一致^[19], 故鉴定化合物 **17** 为布卢姆醇 B。

化合物 **18**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 225.15 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_3$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 5.75 (1H, s, H-8), 4.99 (1H, m, H-3), 2.11 (3H, s, H-10), 2.06 (1H, m, H-2), 1.93 (1H, m, H-4), 1.81 (2H, m, H-2, H-4), 1.30 (3H, s, H-13), 1.26 (3H, s, H-12), 1.05 (3H, s, H-11); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 209.2 (C-9), 198.0 (C-7), 118.7 (C-6), 99.6 (C-8), 70.6 (C-5), 62.0 (C-3), 49.6 (C-2), 49.3 (C-4), 35.6 (C-1), 31.6 (C-12), 30.4 (C-13), 28.7 (C-11), 26.2 (C-10)。以上数据与文献报道波谱数据基本一致^[20], 故鉴定化合物 **18** 为蚱蜢酮。

化合物 **19**: 棕色油状物。ESI-MS m/z : 166.09 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_2$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.24 (1H, s, 9-CHO), 7.97 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, N-H), 6.98 (2H, dd, $J = 8.3, 6.5$ Hz, H-2, 6), 6.67 (2H, dd, $J = 8.6, 2.7$ Hz, H-3, 5), 3.24 (2H, td, $J = 8.5, 4.3$ Hz, H-8), 2.59 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, H-7); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 161.0 (C-9), 155.7 (C-4), 129.5 (C-2, 6), 129.3 (C-1), 115.1 (C-3, 5), 42.9 (C-8), 34.3 (C-7)。以上数据与文献报道波谱数据基本一致^[21], 故鉴定化合物 **19** 为 *N*-(对羟基苯乙基)甲酰胺。

化合物 **20**: 棕色油状物。ESI-MS m/z : 180.10 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{NO}_2$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.89 (1H, t, $J = 5.6$ Hz, N-H), 6.97 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2, 6), 6.67 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3, 5), 3.16 (2H, dt, $J = 7.9, 5.8$ Hz, H-8), 2.56 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-7), 1.77 (3H, s, H-10); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 169.1 (C-9), 155.7 (C-4), 129.6 (C-1), 129.5 (C-2, 6), 115.1 (C-3, 5), 40.6 (C-8), 34.5 (C-7), 22.7 (C-10)。以上数据与文献报道波谱数据基本一致^[22], 故鉴定化合物 **20** 为 *N*-乙酰基酪胺。

化合物 **21**: 无定型粉末。ESI-MS m/z : 582.23 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{28}\text{H}_{37}\text{O}_{13}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.65 (2H, s, H-2', 6'), 6.60 (2H, s, H-2, 6), 5.11 (1H, s, H-1''), 5.04 (2H, d, $J = 20.4$ Hz, H-7, 7'), 4.63 (2H, dd, $J = 32.2, 4.6$ Hz, H-9a, 9a'), 4.18 (2H,

m, H-9b, 9b'), 3.79 (2H, dt, $J = 9.0, 2.6$ Hz, H-6'), 3.76 (6H, s, 3, 5-OMe), 3.75 (6H, s, 3', 5'-OMe), 3.58 (1H, d, $J = 11.6$ Hz, H-2'), 3.15 (3H, m, H-3''~5''), 3.06 (2H, m, H-8, 8'); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 152.6 (C-3', 5'), 147.9 (C-3, 5), 137.2 (C-1), 134.8 (C-4), 133.6 (C-4'), 131.3 (C-1), 104.2 (C-1''), 103.6 (C-2', 6'), 102.6 (C-2, 6), 85.4 (C-7'), 85.1 (C-7), 77.3 (C-3''), 76.5 (C-5''), 74.2 (C-2''), 71.3 (C-9'), 71.2 (C-9), 69.9 (C-4''), 60.9 (C-6''), 56.4 (3', 5'-OMe), 56.0 (3, 5-OMe), 53.7 (C-8), 53.6 (C-8'). 以上数据与文献报道波谱数据基本一致^[23], 故鉴定化合物 **21** 为 (+)-丁香脂素-*O*- β -*D*-葡萄糖苷。

4 体外抗肿瘤活性

采用 MTT 法测试化合物 **1**~**21** 的体外抗 HeLa 细胞的活性, 选用顺铂为阳性对照药。将对数生长期的 HeLa 培养基稀释为密度为 6×10^4 个/mL, 每个浓度设置 3 个复孔, 置于 96 孔板中, 在 37 °C 条件下培养 24 h, 分别加入配制好的化合物 **1**~**21** 和顺铂。孵育 48 h, 加入 20 μL MTT PBS 溶液染色, 孵育 3.0~4.0 h, 去除培养液, 加入 DMSO, 混合均匀, 于波长 570 nm 处测定吸光度 (A) 值, 根据公式计算细胞抑制率。

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

采用 SPSS 22.0 统计软件处理数据, 计算各化合物的 IC_{50} 值。结果表明, 化合物 **4**、**7**、**15** 对 HeLa 细胞具有抑制作用, IC_{50} 值为 (29.09 ± 0.99)、(31.51 ± 1.89)、(28.25 ± 0.65) $\mu\text{mol/L}$, 其余化合物未表现出明显的抑制活性。

5 讨论

本研究利用硅胶柱色谱、凝胶柱色谱、半制备高效液相和 X 单晶衍射等技术从骆驼刺地上部分分离鉴定了 21 个化合物, 其中包括 9 个含有氮元素的化合物、6 个倍半萜类化合物和 6 个其他类化合物, 且化合物 **1**~**7**、**9**~**20** 为属内首分化合物。化合物 **4**、**7**、**15** 对 HeLa 细胞具有抑制作用, 表明骆驼刺中生物碱类化合物具有潜在的抗肿瘤活性。目前, 对骆驼刺化学成分的报道多为黄酮类脂溶性成分, 而对骆驼刺水溶性成分研究报道较少。本研究所分离的化合物含有多个羟基、氨基等水溶性极性基团, 进一步完善了骆驼刺水溶性活性成分的物质基础, 为骆驼刺植物资源分类与开发提供了科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 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.
- [2] 宗时宇, 穆珺, 王春柳, 等. 骆驼刺三氯甲烷提取物固体分散体的制备工艺优化与质量评价 [J]. 中药材, 2020, 43(11): 2759-2762.
- [3] 张贵杰, 李宁, 倪慧, 等. 骆驼刺属植物的化学成分与生物活性 [J]. 国外医药: 植物药分册, 2008, 23(4): 157-160.
- [4] 刘雪松, 马晓玲, 石磊岭, 等. 骆驼刺正丁醇萃取部位中单体化合物的分离纯化及其对人宫颈癌 HeLa 细胞的影响研究 [J]. 中国药房, 2019, 30(4): 506-512.
- [5] Powell R G, Weisleder D, Smith C R, et al. Drummondones A and B: Unique abscisic acid catabolites incorporating a bicyclo[2.2.2]octane ring system [J]. *J Org Chem*, 1986, 51(7): 1074-1076.
- [6] 曹钰镁, 金梦莹, 谭璐, 等. 川芎内生菌 *Fusarium tricinctum* 的化学成分 [J]. 应用与环境生物学报, 2020, 26(2): 294-298.
- [7] 冯丹, 秦玲玲, 郑东滨, 等. 冬虫夏草内生菌皮壳青霉菌化学成分的研究 [J]. 中成药, 2019, 41(8): 1863-1867.
- [8] 孙兆林. 湖北栝楼根的化学成分研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2016.
- [9] 刘超, 王洪庆, 李保明, 等. 紫芝的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(3): 235-237.
- [10] 陆雨, 江石平, 孙冬雪, 等. 诺丽酵素化学成分及其抗肿瘤活性研究 [J]. 中国药学杂志, 2018, 53(18): 1552-1556.
- [11] 何江波, 康大伟, 牛燕芬, 等. 红毛悬钩子化学成分及其抗肿瘤活性 [J]. 中成药, 2023, 45(1): 106-112.
- [12] Hotchkiss D J, Soengas R, Booth K V, et al. Green aldose isomerisation: 2-C-methyl-1, 4-lactones from the reaction of Amadori ketoses with calcium hydroxide [J]. *Tetrahedron Lett*, 2007, 48(4): 517-520.
- [13] 张旋, 俞桂新. 黄花败酱化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(5): 783-791.
- [14] 孙冬雪, 郭雄飞, 阿拉腾图雅, 等. 青龙衣中化学成分及其体外抗肿瘤活性研究 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(11): 2278-2282.
- [15] 关灼斌. 海藻刺枝鱼栖苔的次生代谢产物研究 [D]. 广州: 暨南大学, 2020.
- [16] 黄火强, 闫美娜, 朴香兰. 三角叶凤毛菊中类异戊二烯和苯丙素类化学成分 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(16): 2211-2214.
- [17] 刘培培, 陶洪文, 吴芬, 等. 裸体方格星虫甲醇提取物的化学成分研究 [J]. 中国海洋药物, 2008, 27(5): 28-30.

- [18] 杨鹏飞, 王振中, 王洪庆, 等. 桂枝茯苓胶囊化学成分研究 (III) [J]. 中草药, 2012, 43(3): 463-466.
- [19] 刘志华, 王金兰, 赵明, 等. 工业大麻地上部分化学成分研究 [J]. 中草药, 2021, 52(15): 4463-4472.
- [20] DellaGreca M, Di Marino C, Zarrelli A, *et al.* Isolation and phytotoxicity of apocarotenoids from *Chenopodium album* [J]. *J Nat Prod*, 2004, 67(9): 1492-1495.
- [21] Odutayo O E, Adegboye B E, Omonigbehin E A, *et al.* Structural transformation and creativity induced by biological agents during fermentation of edible nuts from *Terminalia catappa* [J]. *Molecules*, 2021, 26(19): 5874.
- [22] 蒋文贤, 罗世林, 王英, 等. 美洲大蠊的化学成分 [J]. 暨南大学学报: 自然科学与医学版, 2015, 36(4): 294-301.
- [23] 胡瑞航, 殷鑫, 周永强, 等. 百两金根的化学成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2022, 57(8): 605-612.

[责任编辑 王文倩]