

土当归醋酸乙酯部位化学成分研究及抗前列腺癌活性评价

吴 威^{1,2,3}, 洪 霖¹, 戴思思¹, 梁钰琦¹, 蒲位凌⁴, 李开龙², 张会永^{5*}, 冯淬灵^{2,3*}

1. 珠海科技学院生命科学学院, 广东 珠海 519041

2. 北京大学 医学部, 北京 100191

3. 北京大学人民医院 中医科, 北京 100044

4. 天津中医药大学中医药研究院, 天津 301617

5. 中国医科大学附属第四医院 中医科, 辽宁 沈阳 110084

摘要: 目的 研究土当归 *Angelica gigas* 的化学成分, 对分离得到的单体化合物进行抗前列腺癌活性评价。方法 利用硅胶柱色谱、半制备高效液相色谱等方法对土当归醋酸乙酯萃取物进行系统分离纯化, 综合运用核磁共振、高分辨质谱等多种波谱手段对得到的单体化合物进行结构鉴定。采用 CCK-8 法测定化合物抗前列腺癌活性, 利用网络药理学预测土当归中活性成分抗前列腺癌的靶点、功能及通路, 通过蛋白质印迹实验进行验证。结果 从土当归醋酸乙酯部位分离得到 33 个化合物, 依次鉴定为伞形花内酯 (1)、茵芋苷 (2)、东莨菪素 (3)、7-去甲基软木花椒素 (4)、6,7-二甲氧基香豆素 (5)、devenyol (6)、佛手柑内酯 (7)、异欧前胡素 (8)、蛇床素 (9)、欧前胡素 (10)、花椒毒酚 (11)、花椒毒素 (12)、紫花前胡苷元 (13)、异紫花前胡内酯 (14)、紫花前胡苷 (15)、异补骨脂素 (16)、噢洛内酯 (17)、(±)-vaginidiol (18)、二氢山芹醇当归酸酯 (19)、花椒内酯 (20)、紫花前胡醇 (21)、紫花前胡素 (22)、紫花前胡醇当归酯 (23)、(+)-lomatol (24)、(+)-顺式凯林内酯 (25)、儿茶素 (26)、槲皮素 (27)、杨梅素 (28)、烟酸 (29)、阿魏酸 (30)、绿原酸 (31)、5-羟甲基糠醛 (32)、5,5'-二丁氧基-2,2'-双环呋喃 (33)。化合物 1、4、6、8、12、13、19、21~24 表现出抑制前列腺癌细胞增殖作用, 进一步对抑癌作用最显著的 5 个化合物 (1、4、21~23) 进行抗前列腺癌活性评价, 其中化合物 22、23 抑制前列腺肿瘤作用最强。通过网络药理学预测获得的土当归中主要活性成分 (化合物 1、4、21~23) 抗前列腺癌核心靶点 11 个, 包括蛋白激酶 B (threonine kinase, AKT)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、细胞周期蛋白 D1 (cyclin D1, CCND1)、前列腺素内过氧化物合成酶 2 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2, PTGS2) 等; KEGG 通路富集筛选得到信号通路涉及癌症通路、磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K/AKT) 通路、EGFR 信号通路等。经 Western blotting 验证土当归中活性成分通过抑制 PI3K/AKT 通路中关键蛋白 AKT 的表达发挥抗前列腺癌的作用。结论 化合物 6、16、17、24、33 为首次从该属植物中发现, 化合物 18、25、32 为首次从该种植物中发现。化合物 1、4、21~23 表现出较好的抑制前列腺癌细胞增殖作用, 其中化合物 22 和 23 的抑制作用最强, 其通过抑制 PI3K/AKT 通路中关键蛋白 AKT 的表达从而发挥抗前列腺癌的作用。

关键词: 土当归; 香豆素; 前列腺癌; 异补骨脂素; 噢洛内酯; 紫花前胡素; 紫花前胡醇当归酯; 5-羟甲基糠醛

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)06-1903-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.06.004

Chemical constituents of EtOAc extracts of *Angelica gigas* and anti-prostate carcinoma activities

WU Wei^{1,2,3}, HONG Lin¹, DAI Sisi¹, LIANG Yuqi¹, PU Weiling⁴, LI Kailong², ZHANG Huiyong⁵, FENG Cuiling^{2,3}

收稿日期: 2024-11-28

基金项目: 广东省自然科学基金项目 (2021A1515011485); 辽宁省中医药多学科交叉创新团队项目 (LNZYCYXTD-JCCX-002)

作者简介: 吴 威 (1983—), 女, 教授, 研究方向为基于中医理论的传统中药和方剂的药理学研究, 中药及天然药物的活性化学成分研究。

E-mail: weiwu@zchst.edu.cn

*通信作者: 张会永 (1983—), 男, 主任医师, 教授, 研究方向为中医古典方剂的文献整理研究及经典方剂的临床应用与实验研究。

E-mail: hyzhang24@cmu.edu.cn

冯淬灵 (1969—), 女, 主任医师, 教授, 研究方向为中医药防治呼吸系统、肿瘤等慢病的临床应用和实验研究。

E-mail: fengcuiling@sina.com.

1. School of Life Sciences, Zhuhai College of Science and Technology, Zhuhai 519041, China
2. Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China
3. Department of Traditional Chinese Medicine, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China
4. Academy of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China
5. Department of Traditional Chinese Medicine, The Forth Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110084, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents of *Angelica gigas*, and evaluate the activity of the isolated monomer compounds against prostate cancer. **Methods** The ethyl acetate extract of *A. gigas* was systematically isolated and purified using silica gel column chromatography and semi-preparative HPLC. The structures of the isolated monomer compounds were characterized by a combination of spectroscopic methods, including nuclear magnetic resonance, high resolution mass spectrometry. The anti-prostate cancer activity of the compounds was evaluated using the CCK-8 assay, and network pharmacology was employed to predict the targets, functions, and pathways of the active ingredients of *A. gigas* against prostate cancer, which was further verified by Western blotting (WB) experiments. **Results** A total of 33 compounds were isolated from the ethyl acetate fraction of *A. gigas* and identified as umbelliferone (**1**), skimmion (**2**), scopoletin (**3**), 7-demethylsuberosine (**4**), 6,7-dimethoxycoumarin (**5**) devenyol (**6**), bergapten (**7**), isoimperatorin (**8**), cnidicin (**9**), imperatorin (**10**), xanthotoxol (**11**), xanthotoxin (**12**), nodakenetin (**13**), marmesin (**14**), nodakenin (**15**), isopsoralen (**16**), orosolol (**17**), (±)-vaginidiol (**18**), columbianadin (**19**), xanthyletin (**20**), decursinol (**21**), decursin (**22**), decursinol angelate (**23**), (+)-lomatol (**24**) (+)-*cis*-khellactone (**25**), catechin (**26**), quercetin (**27**), myricetin (**28**), nicotinic acid (**29**), ferulic acid (**30**), chlorogenic acid (**31**), 5-(hydroxymethyl)furfural (**32**), 5,5'-dibutoxy-2,2'-bifuran (**33**). Compounds **1**, **4**, **6**, **8**, **12**, **13**, **19**, and **21—24** exhibited inhibition of prostate cancer cell proliferation. The five compounds with the most significant cancer inhibition effects (**1**, **4**, **21—23**) were further evaluated for their anti-prostate cancer activities at multiple concentrations. Among them, compounds **22** and **23** showed the strongest inhibition of prostate tumors. A total of 11 core anti-prostate cancer targets of the chemical components in *A. gigas* were identified through network pharmacology prediction, including threonine kinase (AKT), epidermal growth factor receptor (EGFR), cyclin D1 (CCND1), prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (PTGS2), and others. KEGG pathway enrichment screening revealed signaling pathways involved in the cancer pathway, the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B (PI3K/AKT) pathway, and the EGFR signaling pathway. Western blotting analysis confirmed that the active ingredients in *A. gigas* exerted anti-prostate cancer effects by inhibiting the expression of AKT, a key protein in the PI3K/AKT pathway. **Conclusion** Compounds **6**, **16**, **17**, **24**, and **33** were identified for the first time from this genus, while compounds **18**, **25**, and **32** were found for the first time from this species. Compounds **1**, **4**, **21—23** showed better inhibition of prostate cancer cell proliferation, with compounds **22** and **23** having the strongest inhibitory effect, which demonstrated their anti-prostate cancer effects by inhibiting the expression of AKT, a key protein in the PI3K/AKT pathway.

Keywords: *Angelica gigas* Nakai; coumarins; prostate carcinoma; isopsoralen; orosolol; decursin; decursinol angelate; 5-hydroxymethyl furfural

土当归 (*Angelica gigas* Nakai, AGN) 又名朝鲜当归, 为伞形科 (Apiaceae) 当归属 *Angelica* L. 的多年生草本植物, 高 1~2 m, 花紫色, 药用部位为其干燥根, 主产于我国东北地区、日韩和朝鲜。土当归为朝鲜族的民族药, 具有祛风通络、活血止痛、清热解毒等作用, 是吉林朝鲜族自治州民间用于解毒和抗肿瘤的主药之一, 临床疗效显著^[1]。现代研究表明, 土当归具有很好的抗肿瘤、神经保护、免疫调节、抑菌、心脑血管保护等药理作用^[2], 且土当归提取物 (商品名 CognI.Q) 作为具有抗炎、止痛、营养神经等功能的保健品, 已在美国、韩国上市并成功应用 10 余年, 具有广泛的应用前景^[3]。

现有研究表明土当归中主要含有香豆素类、黄

酮类、酚酸类化合物, 其中香豆素类化合物为土当归中的主要成分, 含量占比达 40%~60%^[4], 前期研究表明香豆素类化合物为土当归抗肿瘤的活性成分, 且主要集中在土当归 95% 乙醇提取物的醋酸乙酯萃取物中, 因此本实验对土当归根醋酸乙酯部位化学成分进行系统研究。从土当归醋酸乙酯部位分离得到 33 个化合物, 其中 25 个香豆素类化合物、3 个黄酮类化合物、3 个酚酸类化合物、2 个其他类化合物。分别鉴定为伞形花内酯 (umbelliferone, **1**)、茵芋苷 (skimmion, **2**)、东莨菪素 (scopoletin, **3**)、7-去甲基软木花椒素 (7-demethylsuberosine, **4**)、6,7-二甲氧基香豆素 (6,7-dimethoxycoumarin, **5**)、devenyol (**6**)、佛手柑内酯 (bergapten, **7**)、异欧前

胡素 (isoimperatorin, **8**)、蛇床素 (cnidicin, **9**)、欧前胡素 (imperatorin, **10**)、花椒毒酚 (xanthotoxol, **11**)、花椒毒素 (xanthotoxin, **12**)、紫花前胡苷元 (nodakenetin, **13**)、异紫花前胡内酯 (marmesin, **14**)、紫花前胡苷 (nodakenin, **15**)、异补骨脂素 (isopsoralen, **16**)、噢洛内酯 (oroselol, **17**)、(±)-vaginidiol (**18**)、二氢山芹醇当归酸酯 (columbianadin, **19**)、花椒内酯 (xanthyletin, **20**)、紫花前胡醇 (decursinol, **21**)、紫花前胡素 (decursin, **22**)、紫花前胡醇当归酯 (decursinol angelate, **23**)、(+)-lomatol (**24**)、(+)-顺式凯林内酯 [(+)-*cis*-khellactone] (**25**)、儿茶素 (catechin, **26**)、槲皮素 (quercetin, **27**)、杨梅素 (myricetin, **28**)、烟酸 (nicotinic acid, **29**)、阿魏酸 (ferulic acid, **30**)、绿原酸 (chlorogenic acid, **31**)、5-羟甲基糠醛 [5-(hydroxymethyl)furfural, **32**]、5,5'-二丁氧基-2,2'-双环呋喃 (5,5'-dibutoxy-2,2'-bifuran, **33**)。化合物 **6**、**16**、**17**、**24**、**33** 为首次从该属植物中发现, 化合物 **18**、**25**、**32** 为首次从该种植物中发现。对分离得到的香豆素类化合物进行了抗前列腺癌活性评价, 其中化合物 **22**、**23** 的抑前列腺癌活性最强; 利用网络药理学对土当归中主要活性成分(化合物 **1**、**4**、**21**~**23**) 抗前列腺癌靶点进行预测和分析, 得到丝氨酸/蛋白激酶 B (serine/threonine kinase protein, ATK)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、G₁/S-特异性周期蛋白-D1 (cyclin D1, CCND1)、前列腺素-内过氧化物合酶 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2, PTGS2) 等 11 个核心靶点, 通过蛋白质印迹实验对京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集筛选得到的磷脂酰肌醇-3-激酶-蛋白激酶 B (phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K/AKT) 信号通路进行验证, 结果表明, 土当归中活性成分(伞形花内酯、紫花前胡素、紫花前胡醇、紫花前胡醇当归酯、7-去甲软木花椒素) 主要通过抑制 PI3K/AKT 信号通路发挥抑制前列腺肿瘤作用。

1 仪器与材料

Varian Inova 700 MHz 型核磁共振波谱仪 (美国瓦里安公司); JNM-ECA-400, 400 MHz 型核磁共振波谱仪 (日本电子株式会社); QE Focus 型高分辨质谱仪 (Thermo Fisher Scientific); Agilent 1260 Infinity 型高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司);

LC100 型半制备高效液相色谱仪 (上海伍丰科学仪器有限公司); 分析型色谱柱 (ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈, 250 mm×4.6 mm, 5 μm, 美国 Agilent 公司); 半制备型色谱柱 (XBridge BEH Phenyl OBD Prep 柱, 250 mm×10 mm, 5 μm, 美国 Waters 公司); RE-52AA 型旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂); SHB-IIIIT 型循环水式多用真空泵 (郑州长城科工贸有限公司); GZX-9240MBE 型电热鼓风干燥箱 (上海博迅实业有限公司医疗设备厂); 柱色谱硅胶 200~300 目 (青岛海洋化工厂); Silica gel 60 F254 高效薄层色谱板 (Merck KGaA); 多功能成像仪 (Jena UVP Chem studio) HPLC 使用的试剂为色谱纯 (广州市信洪贸易有限公司); 其他化学试剂均为分析纯 (西陇科学股份有限公司); 人前列腺癌 LNCaP 细胞 (目录号 TCHu173, 中国科学院研究所细胞库); 1640 培养基 (SH30027.01)、磷酸盐缓冲液 (SH30256.12) 及青霉-链霉素溶液 (SV30010) 购自思拓凡生物有限公司; 0.25% 胰蛋白酶消化液 (E607002, Genview Scientific Inc)、特级胎牛血清 (164210) 购自武汉普诺赛生命科技有限公司; CCK-8 试剂盒 (C0038) 购自碧云天生物科技有限公司; 二甲基亚砜 (D8372)、BCA 蛋白定量检测试剂盒 (PC0020) 及 RIPA 裂解液 (R0010) 均购自北京索莱宝科技有限公司; RIPA 增强型裂解液 (G2002)、PMSF (G2008, 100 mmol/L)、磷酸化蛋白酶抑制剂 (G2007)、5×蛋白上样缓冲液 (G2013, 还原型)、10%PAGE 彩色 (红色) 凝胶超快速配制试剂盒 (G2043-50T)、Prestained Protein Marker PVDF 膜 (G6044)、脱脂奶粉 (GC310001)、聚山梨酯-20 (GC204002)、ECL 发光液组合装 (G2161)、抗体洗脱液 (G2079 增强型)、丽春红染色液 (G2011)、SWE 快速高分辨电泳缓冲液 (G2081)、TBS 缓冲液 (G0001) 均购自武汉塞维爾生物科技有限公司。

土当归药材购于韩国, 经沈阳药科大学赵余庆教授鉴定为土当归 *A. gigas* Nakai 的干燥根。

2 方法

2.1 提取与分离

取土当归药材 5 kg, 用 25 L 的 95% 乙醇浸泡过夜, 回流提取 2 次, 每次 3 h, 合并提取液, 80 °C 减压浓缩成浸膏 (735.77 g)。取 500 g 浸膏, 用 2.5 L 水混悬分散, 滤出水不溶杂质, 依次用石油醚 (60~90)、醋酸乙酯、正丁醇等体积萃取, 每种溶剂萃取 3 次, 分别合并 3 种萃取剂的萃取液, 80 °C 减压回

收溶剂, 分别得到石油醚萃取物 (1.69 g)、醋酸乙酯萃取物 (24.36 g)、正丁醇萃取物 (34.88 g)。取 200~300 目硅胶 400 g, 用流动相石油醚-醋酸乙酯 (5:1) 浸泡完全, 搅拌排气泡, 湿法装柱, 沉降均匀后备用; 将醋酸乙酯萃取物 (24.36 g) 用 49 g 硅胶拌样 (200~300 目), 待溶剂挥干后上样。以石油醚-醋酸乙酯 (5:1、4:1、3:1、2:1、1:1) 进行梯度洗脱, 经薄层色谱 (thin layer chromatography, TLC) 检测后合并相同组分, 回收溶剂, 得到 10 个组分, 分别为 Fr. 1 (89.90 mg)、Fr. 2 (103.20 mg)、Fr. 3 (95.60 mg)、Fr. 4 (282.30 mg)、Fr. 5 (559.80 mg)、Fr. 6 (864.50 mg)、Fr. 7 (211.90 mg)、Fr. 8 (1 105.90 mg)、Fr. 9 (258.60 mg)、Fr. 10 (3 616.10 mg)。

将 Fr. 1 (89.90 mg) 进行半制备 HPLC 制备分离, 以流动相甲醇-水 (80:20)、体积流量 3 mL/min 进行洗脱, 得到化合物 **9** (4.89 mg, $t_R=12.77$ min)、**33** (4.61 mg, $t_R=8.54$ min)。

将 Fr. 2 (103.20 mg) 进行硅胶柱色谱分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (10:1、8:1、6:1、4:1、2:1) 梯度洗脱, 经 TLC 检测后合并相同组分, 回收溶剂, 得到 2 个组分 Fr. 2.1 (14.20 mg) 和 Fr. 2.2 (38.50 mg)。将 Fr. 2.2 进行半制备 HPLC 制备分离, 以流动相甲醇-水 (75:25) 进行洗脱, 得到化合物 **19** (17.85 mg, $t_R=11.52$ min)。

将 Fr. 3 (95.60 mg) 进行半制备 HPLC 制备分离, 以流动相甲醇-水 (65:35) 进行洗脱, 得到化合物 **22** (8.56 mg, $t_R=6.15$ min)、**23** (9.23 mg, $t_R=7.95$ min)、**7** (17.95 mg, $t_R=9.54$ min)、**16** (5.98 mg, $t_R=29.12$ min)、**4** (17.97 mg, $t_R=32.26$ min)。

将 Fr. 4 (282.30 mg) 进行硅胶柱色谱分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (5:1、4:1、3:1、2:1、1:1) 进行梯度洗脱, 经 TLC 检测后合并相同组分, 回收溶剂, 得到 4 个组分 Fr. 4.1~4.4。将 Fr. 4.1 (55.00 mg) 进行半制备 HPLC 制备分离, 以流动相甲醇-水 (55:45) 进行洗脱, 得到化合物 **30** (17.84 mg, $t_R=7.36$ min)、**20** (5.92 mg, $t_R=11.65$ min)。将 Fr. 4.2 (25.80 mg) 进行半制备 HPLC 制备分离, 以流动相甲醇-水 (55:45) 洗脱, 得到化合物 **10** (17.77 mg, $t_R=8.81$ min)。将 Fr. 4.3 (91.60 mg) 进行半制备 HPLC 制备分离, 以流动相甲醇-水 (55:45) 洗脱, 得到化合物 **15** (4.88 mg, $t_R=7.05$ min)、**8** (17.88 mg, $t_R=14.88$ min)。将 Fr. 4.4 (18.80

mg) 进行半制备 HPLC 制备分离, 以流动相甲醇-水 (50:50) 进行洗脱, 得到化合物 **5** (17.65 mg, $t_R=9.27$ min)。

将 Fr. 5 (559.80 mg) 进行硅胶柱色谱分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (5:1、4:1、3:1、2:1、1:1) 进行梯度洗脱, 经 TLC 检测后合并相同组分, 回收溶剂, 得到共 5 个组分 Fr. 5.1~5.5。将 Fr. 5.1 (129.40 mg) 进行半制备 HPLC 制备分离, 以流动相甲醇-水 (50:50) 进行洗脱, 得到化合物 **26** (17.90 mg, $t_R=4.50$ min)、**24** (6.29 mg, $t_R=18.59$ min)。将 Fr. 5.2 (160.50 mg) 进行半制备 HPLC 制备分离, 以流动相甲醇-水 (45:55) 进行洗脱, 得到化合物 **1** (23.13 mg, $t_R=11.16$ min)、**28** (17.98 mg, $t_R=27.56$ min)、**6** (6.19 mg, $t_R=29.84$ min)、**17** (5.35 mg, $t_R=39.31$ min)。

将 Fr. 6 (864.50 mg) 进行硅胶柱色谱分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (5:1、4:1、3:1、2:1、1:1、0:1) 进行梯度洗脱, 经 TLC 检测后合并相同组分, 回收溶剂, 得到 4 个组分 Fr. 6.1~6.4。将 Fr. 6.2 (540.20 mg) 进行半制备 HPLC 制备分离, 以流动相甲醇-水 (40:60) 洗脱, 得到化合物 **27** (17.86 mg, $t_R=13.90$ min)。将 Fr. 6.3 (103.00 mg) 进行半制备 HPLC 制备分离, 以流动相甲醇-水 (40:60) 洗脱, 得到化合物 **29** (17.79 mg, $t_R=4.57$ min)、**3** (21.60 mg, $t_R=12.55$ min)、**13** (18.80 mg, $t_R=14.45$ min)、**14** (18.91 mg, $t_R=15.51$ min)、**21** (5.90 mg, $t_R=23.95$ min)。将 Fr. 6.4 (21.56 mg) 进行半制备 HPLC 制备分离, 以流动相甲醇-水 (30:70) 进行洗脱, 得到化合物 **2** (17.55 mg, $t_R=4.40$ min)。

将 Fr. 7 (211.90 mg) 进行硅胶柱色谱分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (4:1、3:1、2:1、1:1、0:1) 梯度洗脱, 经 TLC 检测后合并相同组分, 回收溶剂, 得到共 5 个组分 Fr. 7.1~7.5。将 Fr. 7.2 (15.00 mg) 进行半制备 HPLC 制备分离, 以流动相甲醇-水 (35:65) 进行洗脱, 得到化合物 **32** (5.05 mg, $t_R=6.61$ min)、**25** (4.40 mg, $t_R=24.30$ min)。将 Fr. 7.4 (90.80 mg) 进行半制备 HPLC 制备分离, 以流动相甲醇-水 (30:70) 洗脱, 得到化合物 **31** (17.65 mg, $t_R=8.20$ min)。

将 Fr. 8 (1 105.90 mg) 进行硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇 (250:1、200:1、150:1、100:1、50:1、0:1) 进行梯度洗脱, 经 TLC 检测后合并相同组分, 回收溶剂, 得到共 9 个组分 Fr. 8.1~

8.9. 将 Fr. 8.4 (58.30 mg) 进行半制备 HPLC 制备分离, 以流动相甲醇-水 (30:70) 进行洗脱, 得到化合物 **12** (17.70 mg, $t_R=26.90$ min)。将 Fr. 8.5 (26.00 mg) 进行半制备 HPLC 制备分离, 以流动相甲醇-水 (50:50) 进行洗脱, 得到化合物 **11** (17.87 mg, $t_R=9.99$ min)。将 Fr. 8.7 (170.90 mg) 进行半制备 HPLC 制备分离, 以流动相甲醇-水 (40:60) 洗脱, 得到化合物 **18** (4.20 mg, $t_R=23.44$ min)。

2.2 CCK-8 法检测化合物抗前列腺癌活性

取对数生长期生长状态良好的前列腺癌 LNCaP 细胞, 用 2 mL 0.25% 胰蛋白酶消化液消化 3 min, 待细胞脱落完全后, 加入 4 mL 细胞完全培养液终止消化。用细胞培养液调整细胞密度至 1×10^4 个/孔, 每孔 100 μ L 细胞悬液, 接种于 96 孔板中, 在 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 的恒温培养箱内培养。待细胞培养 24 h 后, 将待测样品分别加入孔内, 每一浓度 (25、50、100 $\mu\text{mol/L}$) 设置 3 个复孔, 每孔给药 10 μL , 同时设置对照组, 对照组给予 0.1% DMSO。继续培养 24 h 后, 每孔加入 CCK-8 工作液 10 μL , 继续培养 1 h, 在 450 nm 波长下测量试验孔的吸光度 (A) 值并按公式计算细胞存活率。

$$\text{细胞存活率} = (A_{\text{实验}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

2.3 网络药理学预测

通过中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP, <https://tcmsp.w.com/tcmssp.Php>) 对土当归活性成分 (伞形花内酯、紫花前胡素、紫花前胡醇、紫花前胡醇当归酯、7-去甲软木花椒素) 进行检索, 以口服生物利用度 (oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 和类药性 (drug likeness, DL) ≥ 0.18 为条件进行筛选。在 TCMSP 平台对活性成分进行靶点预测, 并通过 UniProt (<https://www.uniprot.org/>) 数据库将靶点蛋白名称转化为对应的基因名称。在 GeneCards 数据库 (<http://www.genecards.org/>, relevance score ≥ 1)、OMIM 数据库 (<http://www.omim.org/>)、PharmGKB 数据库 (<https://www.pharmgkb.org/>)、TTD 数据库 (<http://db.idrblab.net/ttd/>) 和 DrugBank 数据库 (<https://go.drugbank.com/>) 中以“Prostatic carcinoma”为关键词进行检索, 将 5 个数据库的结果取并集并删除重复值, 即为前列腺癌相关靶点。交集靶点导入 Cytoscape 3.9.1 软件, 绘制中药-活性成分-靶点网络。利用 STRING 平台 (<https://string-db.org/cgi/input.pl>) 对交集靶点进行 PPI 网络构建设置物种为“Homo sapiens”, 蛋白相互作用阈值设定

为“Medium confidence” (0.400), 所得结果由 Cytoscape 进行可视化处理, 使用 Cytoscape-Centiscape 2.2 插件进行分析, 筛选出核心靶点。KEGG 富集分析: 通过 DAVID 数据库 (<http://david.ncifcrf.gov/>) 进行 KEGG 通路富集分析, 筛选与疾病相关的通路, 再使用生物信息分析平台 OmicShare 对排在前 15 的富集条目的潜在作用靶点及其所对应的与疾病通路进行可视化展示, 对所得到的通路图进行筛选获得土当归治疗前列腺癌的通路图。

2.4 Western blotting 实验验证

使用 RIPA 缓冲液从 LNCaP 细胞中提取蛋白质, 在 100 $^{\circ}$ C 的金属浴中煮沸 10 min 使蛋白质变性。使用 BCA 蛋白测定试剂盒测定总蛋白浓度, 并用 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 分离等量的蛋白质 (20 μg), 然后电泳转移到 PVDF 膜上。在室温下用含聚山梨酯 20 (TBST) 缓冲液配制的 5% 脱脂牛奶封闭 1~2 h, 在 4 $^{\circ}$ C 下与一抗孵育过夜: 抗 ACTIN (1:50 000)、抗 AKT (1:1 000)、抗 PI3K (1:1 000)。然后, 将膜与 HRP 缀合的抗山羊/兔孵育。在增强化学发光 (ECL) 系统下对印迹进行成像, 使用多功能成像仪分析目标条带相对分子质量和净光密度。

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 **1**: 黄绿色针状结晶 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 163.038 50 $[\text{M}+\text{H}]^+$, $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3$; $^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, Methanol- d_4) δ : 6.18 (1H, d, $J=9.4$ Hz, H-3), 7.84 (1H, d, $J=9.4$ Hz, H-4), 7.45 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-5), 6.78 (1H, dd, $J=8.5, 2.4$ Hz, H-6), 6.70 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-8); $^{13}\text{C-NMR}$ (175 MHz, Methanol- d_4) δ : 163.7 (C-2), 114.5 (C-3), 146.1 (C-4), 130.7 (C-5), 112.3 (C-6), 163.2 (C-7), 103.4 (C-8), 157.2 (C-9), 113.1 (C-10)。以上数据与文献报道数据一致^[5], 故鉴定化合物 **1** 为伞形花内酯。

化合物 **2**: 白色粉末 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 323.077 21 $[\text{M}-\text{H}]^-$, $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_8$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Methanol- d_4) δ : 6.28 (1H, d, $J=9.5$ Hz, H-3), 7.90 (1H, d, $J=9.5$ Hz, H-4), 7.56 (1H, d, $J=9.4$ Hz, H-5), 7.11 (1H, dd, $J=9.4, 1.5$ Hz, H-6), 7.07 (1H, d, $J=1.5$ Hz, H-8), 5.04 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-1'), 3.93~3.38 (6H, m, H-2'~6'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, Methanol- d_4) δ : 163.2 (C-2), 115.2 (C-3), 145.6 (C-4), 130.4 (C-5),

115.3 (C-6), 162.2 (C-7), 105.0 (C-8), 156.7 (C-9), 114.3 (C-10), 101.9 (C-1'), 74.8 (C-2'), 78.4 (C-3'), 71.3 (C-4'), 77.9 (C-5'), 62.4 (C-6')。以上数据与文献报道数据一致^[6], 故鉴定化合物 **2** 为茵芋苷。

化合物 **3**: 黄绿色粉末 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 191.034 07 $[M-H]^-$, $C_{10}H_8O_4$; 1H -NMR (700 MHz, Methanol- d_4) δ : 6.20 (1H, d, $J=9.4$ Hz, H-3), 7.86 (1H, d, $J=9.4$ Hz, H-4), 6.77 (1H, s, H-5), 7.11 (1H, s, H-8), 3.90 (3H, s, H-11); ^{13}C -NMR (175 MHz, Methanol- d_4) δ : 160.5 (C-2), 109.9 (C-3), 146.1 (C-4), 103.9 (C-5), 150.9 (C-6), 152.9 (C-7), 100.8 (C-8), 147.1 (C-9), 112.6 (C-10), 56.8 (C-11)。以上数据与文献报道数据一致^[7-8], 故鉴定化合物 **3** 为东莨菪素。

化合物 **4**: 淡黄色粉末 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 231.100 81 $[M+H]^+$, $C_{14}H_{14}O_3$; 1H -NMR (700 MHz, Methanol- d_4) δ : 6.15 (1H, d, $J=9.4$ Hz, H-3), 7.83 (1H, d, $J=9.4$ Hz, H-4), 7.27 (1H, s, H-5), 6.70 (1H, s, H-8), 3.30 (2H, d, $J=7.2$ Hz, H-1'), 5.33 (1H, m, H-2'), 1.76 (3H, s, H-4'), 1.72 (3H, s, H-5'); ^{13}C -NMR (175 MHz, Methanol- d_4) δ : 164.1 (C-2), 112.0 (C-3), 146.3 (C-4), 134.0 (C-5), 123.0 (C-6), 160.9 (C-7), 102.6 (C-8), 155.5 (C-9), 112.9 (C-10), 28.7 (C-1'), 128.0 (C-2'), 129.5 (C-3'), 26.0 (C-4'), 17.8 (C-5')。以上数据与文献报道数据一致^[9], 故鉴定化合物 **4** 为 7-去甲基软木花椒素。

化合物 **5**: 白色针状结晶 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 207.064 64 $[M+H]^+$, $C_{11}H_{10}O_4$; 1H -NMR (400 MHz, Methanol- d_4) δ : 6.29 (1H, d, $J=9.5$ Hz, H-3), 7.89 (1H, d, $J=9.5$ Hz, H-4), 7.13 (1H, s, H-5), 6.98 (1H, s, H-8), 3.95 (3H, s, H-1'), 3.91 (3H, s, H-2'); ^{13}C -NMR (100 MHz, Methanol- d_4) δ : 163.7 (C-2), 113.5 (C-3), 145.8 (C-4), 109.7 (C-5), 147.9 (C-6), 154.5 (C-7), 100.8 (C-8), 151.1 (C-9), 112.9 (C-10), 56.8 (C-1', 2')。以上数据与文献报道数据一致^[10], 故鉴定化合物 **5** 为 6,7-二甲氧基香豆素。

化合物 **6**: 白色针状结晶 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 263.090 85 $[M-H]^-$, $C_{14}H_{16}O_5$; 1H -NMR (700 MHz, Methanol- d_4) δ : 6.21 (1H, d, $J=9.4$ Hz, H-3), 7.86 (1H, d, $J=9.4$ Hz, H-4), 7.37 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-5), 6.77 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-6), 2.82 (1H, dd, $J=17.3, 6.2$ Hz, H-1'), 3.11 (1H, dd, $J=17.3, 4.5$ Hz, H-1'), 3.86 (1H, dd, $J=6.2, 4.5$ Hz, H-2'), 1.33 (3H, s, H-4'), 1.35 (3H, s, H-5'); ^{13}C -NMR (175 MHz, Methanol-

d_4) δ : 163.6 (C-2), 112.5 (C-3), 146.3 (C-4), 128.0 (C-5), 109.2 (C-6), 158.2 (C-7), 115.5 (C-8), 154.7 (C-9), 113.5 (C-10), 26.4 (C-1'), 79.4 (C-2'), 69.0 (C-3'), 21.7 (C-4'), 25.5 (C-5')。以上数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 **6** 为 devenyol。

化合物 **7**: 白色丝状物 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 217.048 83 $[M+H]^+$, $C_{12}H_8O_4$; 1H -NMR (700 MHz, Methanol- d_4) δ : 6.28 (1H, d, $J=9.7$ Hz, H-3), 8.29 (1H, d, $J=9.7$ Hz, H-4), 7.18 (1H, s, H-8), 7.79 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-2'), 7.28 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-3'), 4.32 (3H, s, H-1''); ^{13}C -NMR (175 MHz, Methanol- d_4) δ : 163.4 (C-2), 112.9 (C-3), 141.3 (C-4), 151.1 (C-5), 114.2 (C-6), 160.0 (C-7), 94.2 (C-8), 153.3 (C-9), 107.7 (C-10), 146.6 (C-2'), 106.4 (C-3'), 60.6 (C-1'')。以上数据与文献报道数据一致^[12], 故鉴定化合物 **7** 为佛手柑内酯。

化合物 **8**: 无色粉末 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 271.095 79 $[M+H]^+$, $C_{16}H_{14}O_4$; 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.22 (1H, d, $J=9.8$ Hz, H-3), 8.11 (1H, d, $J=9.8$ Hz, H-4), 7.10 (1H, s, H-8), 7.54 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-2'), 6.90 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-3'), 4.87 (2H, d, $J=7.0$ Hz, H-2''), 5.48 (1H, t, $J=7.0$ Hz, H-3''), 1.65 (3H, s, H-5''), 1.75 (3H, s, H-6''); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 161.4 (C-2), 112.6 (C-3), 140.0 (C-4), 149.1 (C-5), 114.3 (C-6), 158.2 (C-7), 94.3 (C-8), 152.8 (C-9), 107.6 (C-10), 145.0 (C-2'), 139.7 (C-3'), 69.8 (C-2''), 119.2 (C-3''), 105.2 (C-4''), 25.9 (C-5''), 18.3 (C-6'')。以上数据与文献报道数据一致^[13], 故鉴定化合物 **8** 为异欧前胡素。

化合物 **9**: 白色粉末 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 355.152 86 $[M+H]^+$, $C_{21}H_{22}O_5$; 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.28 (1H, d, $J=9.8$ Hz, H-3), 8.11 (1H, d, $J=9.8$ Hz, H-4), 7.62 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-2'), 6.93 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-3'), 4.79 (2H, d, $J=7.1$ Hz, H-2''), 5.52 (1H, m, H-3''), 1.64 (3H, s, H-5''), 1.70 (3H, s, H-6''), 4.86 (2H, d, $J=7.2$ Hz, H-2'''), 5.60 (1H, m, H-3'''), 1.73 (3H, s, H-5'''), 1.78 (3H, s, H-6'''); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 160.8 (C-2), 113.0 (C-3), 139.8 (C-4), 144.4 (C-5), 116.5 (C-6), 150.6 (C-7), 143.6 (C-8), 145.9 (C-9), 109.1 (C-10), 145.3 (C-2'), 105.2 (C-3'), 70.6 (C-2''), 120.0 (C-3''), 139.9 (C-4''), 18.3 (C-5''), 26.0 (C-6'', 6'''), 70.5 (C-2'''), 119.4 (C-3'''), 140.0 (C-4'''), 18.2 (C-5''')。以上数据与文献报道数据一致^[14], 故鉴定化合物 **9** 为蛇床素。

化合物 **10**: 白色结晶状粉末 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 271.095 79 $[M+H]^+$, $C_{16}H_{14}O_4$; 1H -NMR (700 MHz, Methanol- d_4) δ : 6.38 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-3), 8.03 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-4), 7.56 (1H, s, H-5), 7.89 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-2'), 6.95 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-3'), 4.97 (2H, d, J = 7.3 Hz, H-2''), 5.55 (1H, t, J = 7.3 Hz, H-3''), 1.66 (3H, s, H-5''), 1.70 (3H, s, H-6''); ^{13}C -NMR (175 MHz, Methanol- d_4) δ : 162.8 (C-2), 115.2 (C-3), 146.8 (C-4), 114.9 (C-5), 127.8 (C-6), 150.1 (C-7), 132.4 (C-8), 145.9 (C-9), 118.0 (C-10), 148.5 (C-2'), 107.9 (C-3'), 70.8 (C-2''), 120.9 (C-3''), 141.1 (C-4''), 18.0 (C-5''), 25.9 (C-6''). 以上数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 **10** 为欧前胡素。

化合物 **11**: 黄色粉末 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 203.033 36 $[M+H]^+$, $C_{11}H_6O_4$; 1H -NMR (700 MHz, Methanol- d_4) δ : 6.34 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-3), 8.00 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-4), 7.35 (1H, s, H-5), 7.84 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-2'), 6.90 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-3'); ^{13}C -NMR (175 MHz, Methanol- d_4) δ : 163.0 (C-2), 114.6 (C-3), 147.1 (C-4), 111.2 (C-5), 127.3 (C-6), 148.3 (C-7), 132.4 (C-8), 141.3 (C-9), 117.8 (C-10), 147.1 (C-2'), 107.9 (C-3'). 以上数据与文献报道数据一致^[13,16], 故鉴定化合物 **11** 为花椒毒酚。

化合物 **12**: 白色粉末 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 217.048 90 $[M+H]^+$, $C_{12}H_8O_4$; 1H -NMR (400 MHz, Methanol- d_4) δ : 6.37 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-3), 7.75 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-4), 7.52 (1H, s, H-5), 7.65 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.93 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-3'), 4.23 (3H, s, H-1''); ^{13}C -NMR (100 MHz, Methanol- d_4) δ : 162.7 (C-2), 114.8 (C-3), 144.6 (C-4), 115.0 (C-5), 128.0 (C-6), 148.5 (C-7), 133.9 (C-8), 142.6 (C-9), 118.0 (C-10), 146.6 (C-2'), 107.9 (C-3'), 61.8 (C-1''). 以上数据与文献报道数据一致^[17], 故鉴定化合物 **12** 为花椒毒素。

化合物 **13**: 无色结晶状粉末 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 247.095 63 $[M+H]^+$, $C_{14}H_{14}O_4$; 1H -NMR (400 MHz, Methanol- d_4) δ : 6.19 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-3), 7.84 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-4), 7.39 (1H, s, H-5), 6.71 (1H, s, H-8), 4.75 (1H, t, J = 8.7 Hz, H-2'), 3.25 (2H, m, H-3'), 1.29 (3H, s, H-5'), 1.23 (3H, s, H-6'); ^{13}C -NMR (100 MHz, Methanol- d_4) δ : 163.8 (C-2), 112.2 (C-3), 146.3 (C-4), 125.0 (C-5), 127.3 (C-6), 165.3 (C-7), 98.2 (C-8), 156.9 (C-9), 114.1 (C-10), 92.5 (C-2'),

30.3 (C-3'), 72.3 (C-4'), 25.4 (C-5'), 25.3 (C-6')。以上数据与文献报道数据一致^[18], 且与紫花前胡苷元对照品共薄层比对确认后, 鉴定化合物 **13** 为紫花前胡苷元。

化合物 **14**: 白色针状结晶 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 247.095 78 $[M+H]^+$, $C_{14}H_{14}O_4$; 1H -NMR (400 MHz, Methanol- d_4) δ : 6.18 (1H, d, J = 9.4 Hz, H-3), 7.84 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-4), 7.39 (1H, s, H-5), 6.71 (1H, s, H-8), 4.75 (1H, t, J = 8.7 Hz, H-2'), 3.24 (2H, m, H-3'), 1.29 (3H, s, H-5'), 1.23 (3H, s, H-6'); ^{13}C -NMR (100 MHz, Methanol- d_4) δ : 165.3 (C-2), 112.2 (C-3), 146.3 (C-4), 125.1 (C-5), 127.3 (C-6), 163.8 (C-7), 98.2 (C-8), 156.9 (C-9), 114.1 (C-10), 92.5 (C-2'), 30.3 (C-3'), 72.3 (C-4'), 25.4 (C-5'), 25.3 (C-6')。以上数据与文献报道的数据一致^[19], 且与异紫花前胡内酯对照品比对确认后, 鉴定化合物 **14** 为异紫花前胡内酯。

化合物 **15**: 白色粉末 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 409.148 22 $[M+H]^+$, $C_{20}H_{24}O_9$; 1H -NMR (400 MHz, Methanol- d_4) δ : 6.19 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-3), 7.85 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-4), 7.39 (1H, s, H-5), 6.70 (1H, s, H-8), 4.96 (1H, dd, J = 9.2, 7.2 Hz, H-2'), 3.36 (2H, dd, J = 12.3, 6.8 Hz, H-3'), 1.41 (3H, s, H-5'), 1.27 (3H, s, H-6'), 4.58 (1H, m, H-1''), 3.12 (1H, dd, J = 9.1, 7.7 Hz, H-2''), 3.85 (1H, m, H-3''), 3.64 (1H, m, H-4''), 3.52 (1H, m, H-5''), 3.27 (2H, m, H-6''); ^{13}C -NMR (100 MHz, Methanol- d_4) δ : 165.2 (C-2), 112.2 (C-3), 145.6 (C-4), 125.0 (C-5), 127.5 (C-6), 163.8 (C-7), 98.1 (C-8), 146.3 (C-9), 114.1 (C-10), 91.6 (C-2'), 30.7 (C-3'), 79.3 (C-4'), 21.5 (C-5'), 23.7 (C-6'), 98.8 (C-1''), 77.7 (C-2''), 78.2 (C-3''), 71.7 (C-4''), 75.1 (C-5''), 62.8 (C-6'')。以上数据与文献报道数据一致^[20], 故鉴定化合物 **15** 为紫花前胡苷。

化合物 **16**: 白色粉末 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 187.038 47 $[M+H]^+$, $C_{11}H_6O_3$; 1H -NMR (700 MHz, Methanol- d_4) δ : 6.41 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-3), 8.07 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-4), 7.56 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5), 7.53 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-6), 7.91 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 7.17 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-3'); ^{13}C -NMR (175 MHz, Methanol- d_4) δ : 161.6 (C-2), 114.6 (C-3), 145.9 (C-4), 125.5 (C-5), 109.9 (C-6), 156.9 (C-7), 115.1 (C-8), 147.9 (C-9), 113.1 (C-10), 146.8 (C-2'), 104.5 (C-3')。以上数据与文献报道数据一致^[21], 故鉴定化合物 **16**

为异补骨脂素。

化合物 **17**: 白色针状结晶 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 245.080 06 $[M+H]^+$, $C_{14}H_{12}O_4$; 1H -NMR (700 MHz, Methanol- d_4) δ : 6.39 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3), 8.04 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-4), 7.49 (2H, m, H-5, 6), 6.96 (1H, s, H-3'), 1.65 (6H, s, H-5', 6'); ^{13}C -NMR (175 MHz, Methanol- d_4) δ : 162.8 (C-2), 115.1 (C-3), 146.8 (C-4), 125.1 (C-5), 109.7 (C-6), 158.6 (C-7), 118.6 (C-8), 149.3 (C-9), 114.5 (C-10), 166.9 (C-2'), 98.2 (C-3'), 69.7 (C-4'), 29.0 (C-5', 6')。以上数据与文献报道数据一致^[22], 故鉴定化合物 **17** 为噢洛内酯。

化合物 **18**: 白色粉末 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 263.090 76 $[M+H]^+$, $C_{14}H_{14}O_5$; 1H -NMR (700 MHz, Methanol- d_4) δ : 6.23 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3), 7.90 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-4), 7.55 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 6.90 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6), 5.66 (1H, d, $J = 5.9$ Hz, H-2'), 4.39 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-3'), 1.51 (3H, s, H-5'), 1.45 (3H, s, H-6'); ^{13}C -NMR (175 MHz, Methanol- d_4) δ : 162.8 (C-2), 112.9 (C-3), 146.3 (C-4), 132.4 (C-5), 109.0 (C-6), 165.3 (C-7), 117.9 (C-8), 153.0 (C-9), 114.6 (C-10), 70.3 (C-2'), 93.1 (C-3'), 73.1 (C-4'), 27.1 (C-5'), 26.5 (C-6')。以上数据与文献报道数据一致^[23], 故鉴定化合物 **18** 为 (±)-vaginidiol。

化合物 **19**: 白色结晶状粉末 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 329.137 54 $[M+H]^+$, $C_{19}H_{20}O_5$; 1H -NMR (700 MHz, Methanol- d_4) δ : 6.20 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3), 7.87 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-4), 7.43 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5), 6.80 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-6), 5.10 (1H, dd, $J = 9.9, 7.3$ Hz, H-2'), 3.41 (2H, m, H-3'), 1.58 (3H, s, H-5'), 1.62 (3H, s, H-6'), 5.97 (1H, m, H-3''), 1.83 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-4''), 1.66 (3H, s, H-5''); ^{13}C -NMR (175 MHz, Methanol- d_4) δ : 163.1 (C-2), 114.5 (C-3), 146.3 (C-4), 130.0 (C-5), 107.8 (C-6), 165.6 (C-7), 112.5 (C-8), 152.5 (C-9), 114.7 (C-10), 91.1 (C-2'), 28.2 (C-3'), 83.7 (C-4'), 22.1 (C-5'), 22.0 (C-6'), 168.5 (C-1''), 130.5 (C-2''), 138.4 (C-3''), 15.8 (C-4''), 20.6 (C-5'')。以上数据与文献报道酯数据一致^[24], 故鉴定化合物 **19** 为二氢山芹醇当归酸酯。

化合物 **20**: 白色粉末 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 229.085 25 $[M+H]^+$, $C_{14}H_{12}O_3$; 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.22 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3), 7.58 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-4), 7.04 (1H, s, H-5), 6.72 (1H, s, H-8), 5.69 (1H, d, $J = 9.9$ Hz, H-2'), 6.34 (1H, d, $J = 10.0$ Hz,

H-3'), 1.47 (6H, s, H-5', 6'); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 161.3 (C-2), 113.1 (C-3), 143.4 (C-4), 118.6 (C-5), 120.9 (C-6), 155.5 (C-7), 104.5 (C-8), 156.9 (C-9), 112.8 (C-10), 124.8 (C-2'), 131.3 (C-3'), 77.8 (C-4'), 28.4 (C-5', 6')。以上数据与文献报道数据一致^[25], 故鉴定化合物 **20** 为花椒内酯。

化合物 **21**: 白色粉末 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 247.095 57 $[M+H]^+$, $C_{14}H_{14}O_4$; 1H -NMR (700 MHz, Methanol- d_4) δ : 6.21 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3), 7.84 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-4), 6.70 (1H, s, H-5), 7.36 (1H, s, H-8), 3.10 (1H, dd, $J = 16.5, 5.1$ Hz, H-2'), 2.80 (1H, dd, $J = 16.6, 7.0$ Hz, H-2'), 3.82 (1H, dd, $J = 7.0, 5.1$ Hz, H-3'), 1.36 (3H, s, H-5'), 1.32 (3H, s, H-6'); ^{13}C -NMR (175 MHz, Methanol- d_4) δ : 163.6 (C-2), 113.2 (C-3), 145.8 (C-4), 130.6 (C-5), 119.4 (C-6), 155.9 (C-7), 104.9 (C-8), 153.6 (C-9), 114.1 (C-10), 31.5 (C-2'), 79.0 (C-3'), 69.7 (C-4'), 25.8 (C-5'), 21.7 (C-6')。以上数据与文献报道数据一致^[26], 故鉴定化合物 **21** 为紫花前胡醇。

化合物 **22**: 棕黄色油状物 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 29.138 16 $[M+H]^+$, $C_{19}H_{20}O_5$; 1H -NMR (700 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.21 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3), 7.57 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-4), 7.14 (1H, s, H-5), 6.78 (1H, s, H-8), 3.21 (1H, dd, $J = 17.7, 4.8$ Hz, H-2'a), 2.88 (1H, dd, $J = 16.3, 5.1$ Hz, H-2'b), 5.07 (1H, t, $J = 4.9$ Hz, H-3'), 1.39 (3H, s, H-5'), 1.35 (3H, s, H-6'), 5.65 (1H, s, H-2''), 2.14 (3H, d, $J = 1.0$ Hz, H-4''), 1.87 (3H, d, $J = 1.0$ Hz, H-5''); ^{13}C -NMR (175 MHz, $CDCl_3$) δ : 161.7 (C-2), 113.6 (C-3), 143.5 (C-4), 129.0 (C-5), 115.9 (C-6), 156.9 (C-7), 105.1 (C-8), 154.6 (C-9), 113.2 (C-10), 27.9 (C-2'), 69.5 (C-3'), 76.6 (C-4'), 25.4 (C-5'), 23.5 (C-6'), 166.2 (C-1''), 116.4 (C-2''), 158.8 (C-3''), 27.9 (C-4''), 20.7 (C-5'')。以上数据与文献报道数据一致^[27-28], 故鉴定化合物 **22** 为紫花前胡素。

化合物 **23**: 棕黄色油状物 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 29.138 16 $[M+H]^+$, $C_{19}H_{20}O_5$; 1H -NMR (700 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.21 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3), 7.57 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-4), 7.14 (1H, s, H-5), 6.78 (1H, s, H-8), 3.16 (1H, d, $J = 4.9$ Hz, H-2'a), 2.83 (1H, d, $J = 4.9$ Hz, H-2'b), 5.11 (1H, t, $J = 5.1$ Hz, H-3'), 1.39 (3H, s, H-5'), 1.37 (3H, s, H-6'), 6.10 (1H, q, $J = 7.3$ Hz, H-3''), 1.90 (3H, d, $J = 7.3$ Hz, H-4''), 1.82 (3H, s, H-5''); ^{13}C -NMR (175 MHz, $CDCl_3$) δ : 161.7 (C-2), 113.6 (C-

3), 143.5 (C-4), 129.0 (C-5), 115.9 (C-6), 156.9 (C-7), 105.1 (C-8), 154.6 (C-9), 113.2 (C-10), 28.3 (C-2'), 70.4 (C-3'), 76.6 (C-4'), 25.5 (C-5'), 23.6 (C-6'), 167.4 (C-1''), 139.8 (C-2''), 127.7 (C-3''), 16.1 (C-4''), 20.9 (C-5'')。以上数据与文献报道数据一致^[27-28], 故鉴定化合物 **23** 为紫花前胡醇当归酯。

化合物 **24**: 白色针状结晶 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 247.095 73 $[M+H]^+$, $C_{14}H_{14}O_4$; 1H -NMR (700 MHz, Methanol- d_4) δ : 6.18 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-3), 7.83 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-4), 7.34 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5), 6.74 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-6), 3.82 (1H, t, $J = 5.7$ Hz, H-3'), 3.08 (1H, dd, $J = 17.3, 5.2$ Hz, H-4'), 2.79 (1H, dd, $J = 17.3, 5.3$ Hz, H-4'), 1.31 (3H, s, H-5'), 1.29 (3H, s, H-6'); ^{13}C -NMR (175 MHz, Methanol- d_4) δ : 161.8 (C-2), 115.6 (C-3), 146.4 (C-4), 128.1 (C-5), 113.5 (C-6), 158.2 (C-7), 112.5 (C-8), 152.7 (C-9), 109.2 (C-10), 75.3 (C-2'), 69.0 (C-3'), 21.74 (C-4'), 26.4 (C-5'), 25.5 (C-6')。以上数据与文献报道数据一致^[29-30], 故鉴定化合物 **24** 为 (+)-lomatol。

化合物 **25**: 淡绿色粉末 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 263.090 70 $[M+H]^+$, $C_{14}H_{14}O_5$; 1H -NMR (700 MHz, Methanol- d_4) δ : 6.21 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-3), 7.84 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-4), 7.42 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5), 6.74 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-6), 3.72 (1H, d, $J = 4.7$ Hz, H-3'), 5.06 (1H, d, $J = 4.7$ Hz, H-4'), 1.38 (3H, s, H-5'), 1.39 (3H, s, H-6'); ^{13}C -NMR (175 MHz, Methanol- d_4) δ : 163.4 (C-2), 112.8 (C-3), 146.3 (C-4), 130.1 (C-5), 113.7 (C-6), 155.7 (C-7), 115.8 (C-8), 157.9 (C-9), 112.7 (C-10), 80.2 (C-2'), 62.1 (C-3'), 73.1 (C-4'), 21.5 (C-5'), 26.9 (C-6')。以上数据与文献报道数据一致^[31], 故鉴定化合物 **25** 为 (+)-顺式凯林内酯。

化合物 **26**: 橙色粉末 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 289.071 44 $[M-H]^-$, $C_{15}H_{14}O_6$; 1H -NMR (400 MHz, Methanol- d_4) δ : 4.55 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-2), 3.97 (1H, dd, $J = 10.0, 4.5$ Hz, H-3), 2.50 (1H, m, H-4a), 2.84 (1H, m, H-4b), 5.84 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-6), 5.92 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 6.83 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2'), 6.74 (2H, m, H-5', 6'); ^{13}C -NMR (100 MHz, Methanol- d_4) δ : 82.9 (C-2), 68.8 (C-3), 28.5 (C-4), 157.6 (C-5), 96.3 (C-6), 157.9 (C-7), 95.5 (C-8), 156.9 (C-9), 100.8 (C-10), 132.2 (C-1'), 115.3 (C-2'), 146.3 (C-3', 4'), 116.1 (C-5'), 120.0 (C-6')。以上数据与文献报道数据一致^[32], 故鉴定化合物 **26** 为儿茶素。

化合物 **27**: 黄色粉末 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 301.034 85 $[M-H]^-$, $C_{15}H_{10}O_7$; 1H -NMR (400 MHz, Methanol- d_4) δ : 6.19 (1H, d, $J = 3.8$ Hz, H-6), 6.39 (1H, d, $J = 3.8$ Hz, H-8), 7.73 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H-2'), 6.89 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-5'), 7.63 (1H, dd, $J = 7.6, 4.4$ Hz, H-6'); ^{13}C -NMR (100 MHz, Methanol- d_4) δ : 148.1 (C-2), 137.2 (C-3), 177.4 (C-4), 158.3 (C-5), 99.3 (C-6), 165.6 (C-7), 94.5 (C-8), 162.5 (C-9), 104.6 (C-10), 124.2 (C-1'), 116.1 (C-2'), 146.2 (C-3'), 148.8 (C-4'), 116.3 (C-5'), 121.8 (C-6')。以上数据与文献报道数据一致^[33], 故鉴定化合物 **27** 为槲皮素。

化合物 **28**: 黄色粉末 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 317.029 75 $[M-H]^-$, $C_{15}H_{10}O_8$; 1H -NMR (400 MHz, Methanol- d_4) δ : 6.17 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6), 6.37 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 7.34 (1H, s, H-2'), 7.34 (1H, s, H-6'); ^{13}C -NMR (100 MHz, Methanol- d_4) δ : 148.0 (C-2), 137.4 (C-3), 177.3 (C-4), 162.5 (C-5), 99.2 (C-6), 165.6 (C-7), 94.3 (C-8), 158.2 (C-9), 104.5 (C-10), 123.1 (C-1'), 108.5 (C-2', 6'), 146.7 (C-3', 5'), 136.9 (C-4')。以上数据与文献报道数据一致^[34], 故鉴定化合物 **28** 为杨梅素。

化合物 **29**: 白色粉末 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 124.039 13 $[M+H]^+$, $C_6H_5NO_2$; 1H -NMR (400 MHz, Methanol- d_4) δ : 9.11 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2), 8.39 (1H, dt, $J = 8.1, 2.1$ Hz, H-4), 7.55 (1H, dd, $J = 8.0, 4.9$ Hz, H-5), 8.72 (1H, dd, $J = 5.0, 1.7$ Hz, H-6); ^{13}C -NMR (100 MHz, Methanol- d_4) δ : 151.3 (C-2), 128.7 (C-3), 139.3 (C-4), 125.3 (C-5), 153.7 (C-6), 167.8 (C-7)。以上数据与文献报道数据一致^[35], 故鉴定化合物 **29** 为烟酸。

化合物 **30**: 白色结晶状粉末 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 193.049 71 $[M-H]^-$, $C_{10}H_{10}O_4$; 1H -NMR (400 MHz, Methanol- d_4) δ : 7.17 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 6.80 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 7.06 (1H, dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, H-6), 7.59 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-7), 6.30 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8), 3.89 (3H, s, H-1'); ^{13}C -NMR (100 MHz, Methanol- d_4) δ : 126.5 (C-1), 110.3 (C-2), 149.2 (C-3), 148.0 (C-4), 115.1 (C-5), 122.7 (C-6), 145.6 (C-7), 114.6 (C-8), 169.7 (C-9), 55.1 (C-1')。以上数据与文献报道数据一致^[36], 故鉴定化合物 **30** 为阿魏酸。

化合物 **31**: 无色粉末 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 353.087 46 $[M-H]^-$, $C_{16}H_{18}O_9$; 1H -NMR (400 MHz, Methanol- d_4) δ : 2.20 (1H, m, H-2a), 2.08 (1H, dd, $J =$

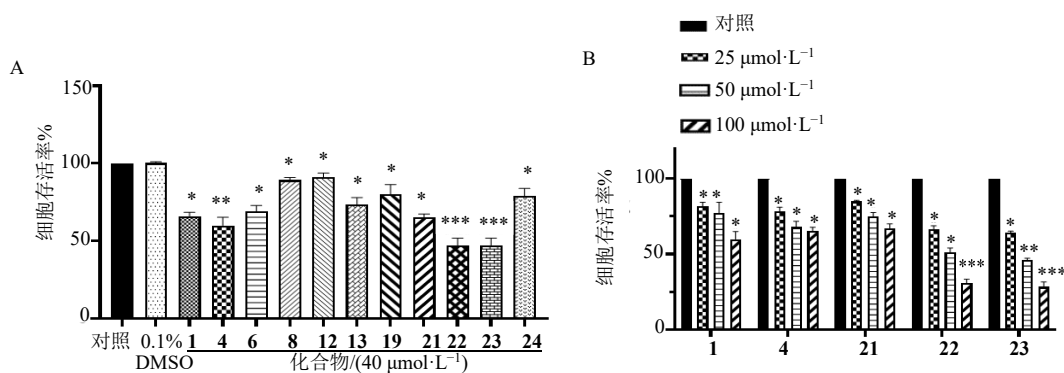
13.3, 8.3 Hz, H-2b), 4.16 (1H, m, H-3), 3.72 (1H, dd, $J = 8.5, 3.2$ Hz, H-4), 5.32 (1H, m, H-5), 2.20 (1H, m, H-6a), 2.03 (1H, dd, $J = 13.3, 8.4$ Hz, H-6b), 7.04 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.77 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5'), 6.95 (1H, dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz, H-6'), 7.55 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-7'), 6.25 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, Methanol- d_4) δ : 76.1 (C-1), 38.2 (C-2), 71.2 (C-3), 73.4 (C-4), 72.0 (C-5), 38.7 (C-6), 177.0 (C-7), 127.8 (C-1'), 115.2 (C-2', 8'), 146.8 (C-3'), 149.6 (C-4'), 116.5 (C-5'), 123.0 (C-6'), 147.1 (C-7'), 168.7 (C-9'). 以上数据与文献报道数据一致^[37], 故鉴定化合物 **31** 为绿原酸。

化合物 **32**: 黄色粉末 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 127.038 86 $[\text{M}+\text{H}]^+$, $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3$; $^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, Methanol- d_4) δ : 7.38 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-3), 6.58 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-4), 9.53 (1H, s, H-7), 4.60 (2H, s, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (175 MHz, Methanol- d_4) δ : 153.3 (C-2), 110.9 (C-3), 126.6 (C-4), 163.5 (C-5), 57.6 (C-6), 179.4 (C-7)。以上数据与文献报道数据一致^[38], 故鉴定化合物 **32** 为 5-羟甲基糠醛。

化合物 **33**: 白色油状物 (甲醇); HR-ESI-MS m/z : 279.158 36 $[\text{M}+\text{H}]^+$, $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_4$; $^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, Methanol- d_4) δ : 7.67 (1H, dd, $J = 5.7, 3.3$ Hz, H-3, 3'), 7.57 (1H, dd, $J = 5.8, 3.3$ Hz, H-4, 4'), 4.24 (2H, t, $J = 6.6$ Hz, H-6, 6'), 1.70 (2H, m, H-7, 7'), 1.44 (2H, m, H-8, 8'), 0.93 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, H-9, 9'); $^{13}\text{C-NMR}$ (175 MHz, Methanol- d_4) δ : 133.6 (C-2, 2'), 129.9 (C-3, 3'), 132.4 (C-4, 4'), 169.3 (C-5, 5'), 66.7 (C-6, 6'), 31.7 (C-7, 7'), 20.3 (C-8, 8'), 14.1 (C-9, 9')。以上数据与文献报道数据一致^[39], 故鉴定化合物 **33** 为 5,5'-dibutoxy-2,2'-bifuran。

3.2 化合物抗前列腺癌活性评价

选用 LNCaP 细胞用 CCK-8 法对本实验分得的 25 个香豆素类化合物进行抗前列腺癌活性评价。结果 (图 1) 显示, 化合物 **1**、**4**、**6**、**8**、**12**、**13**、**19**、**21**~**24** 均对 LNCaP 细胞的增殖有抑制作用。接着进一步评价抗前列腺癌活性前 5 的化合物 (**1**、**4**、**21**~**23**); 结果显示, 化合物 **1**、**4**、**21**~**23** 对 LNCaP 细胞的增殖有显著抑制作用, 且化合物 **22** 和 **23** (同分异构体) 对 LNCaP 细胞增殖的抑制作用最强 ($P < 0.001$)。



A-香豆素类化合物抗前列腺癌活性评价; B-5 种化合物对 LNCaP 细胞活力的影响; 与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。

A-evaluation of the anti-prostate cancer activity of coumarin analogues; B-effects of five compounds on the viability of LNCaP cells; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group.

图 1 香豆素类化合物抗前列腺癌活性评价

Fig. 1 Evaluation of anti-prostate cancer activities of coumarins

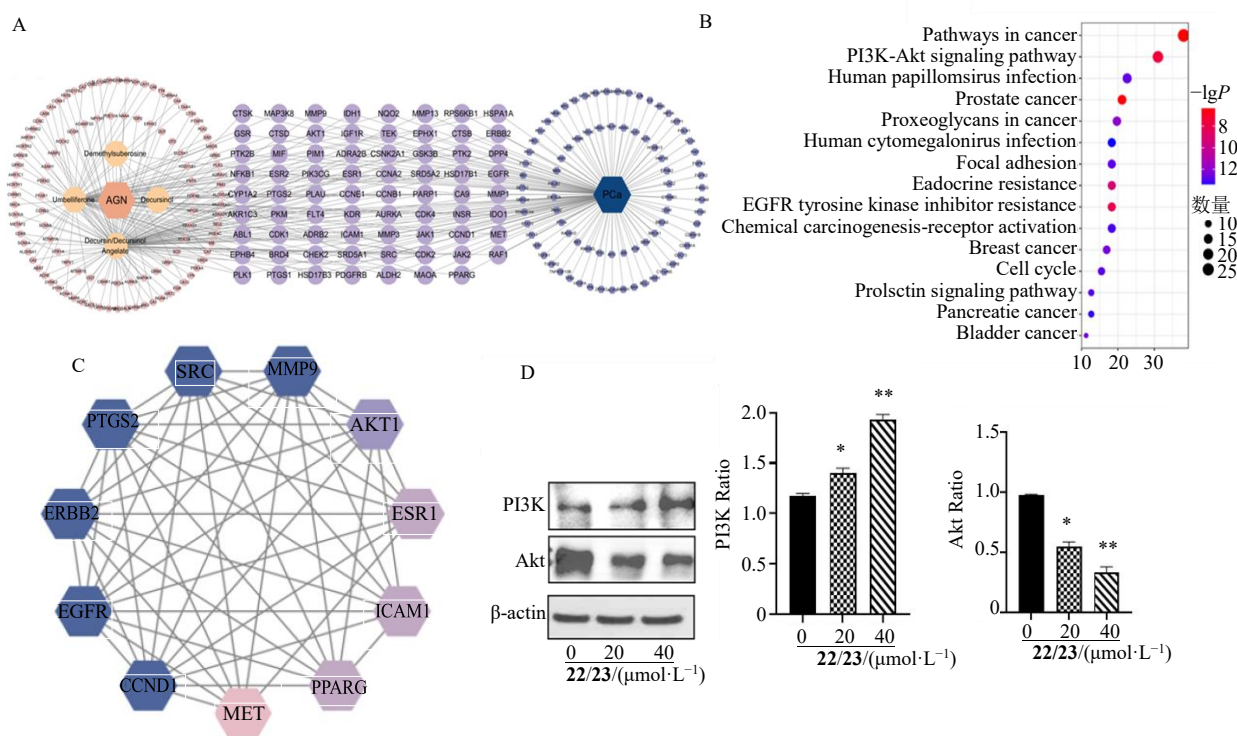
3.3 网络药理学预测及实验验证

利用网络药理学和生物信息学等手段, 对土当归中的活性成分 (伞形花内酯、紫花前胡素、紫花前胡醇、紫花前胡醇当归酯、7-去甲软木花椒素) 抗前列腺癌的靶点、功能及通路进行了预测并进行初步的实验验证。预测获得土当归活性成分抗前列腺癌核心靶点 11 个, 包括 AKT1、EGFR、CCND1、PTGS2 等 (图 2); KEGG 通路富集筛选得到信号通

路涉及癌症通路、PI3K/AKT 通路、EGFR 信号通路等。使用 Western blotting 法对相关通路蛋白进行验证, 结果显示主要活性成分化合物 **22** 和 **23** 显著抑制 PI3K/AKT 通路中关键蛋白 AKT 的表达。

4 讨论

土当归, 味微甘、辛、微苦, 因其具有活血止痛、清热解毒、祛风通络等多种功效, 长期以来被广泛应用于我国朝鲜族的民间医药中, 尤其作为解



22/23-1 对同分异构体；A-土当归活性成分-前列腺癌靶点网络图；B-土当归抗前列腺癌靶点富集的 KEGG 通路图；C-土当归抗前列腺癌核心靶点蛋白互作；D-Western blotting 验证 22/23 干预后主要富集通路（PI3K/AKT）关键蛋白表达变化；与对照组比较：* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。
22/23-a pair of isomers; A-active ingredients of AGN-prostate carcinoma target network diagram; B-KEGG pathway diagram of enriched anti-prostate carcinoma targets of AGN; C-interactions of core target proteins of AGN against prostate carcinoma; D-Western blot confirmed changes in key protein expression of main enriched pathway (PI3K/AKT) after 22/23 intervention; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group.

图 2 网络药理学预测土当归活性成分抗前列腺癌靶点、通路及实验验证

Fig. 2 Network pharmacology prediction of active ingredients of AGN against prostate carcinoma targets, pathways, and experimental validation

毒和抗肿瘤的主要药物之一，具有重要的地位^[1]。现代药理学研究进一步揭示了土当归的活性成分与药理作用之间的密切关系，研究表明，土当归中富含香豆素类、黄酮类、酚酸类及挥发油等多种化学成分，其中香豆素类化合物是其主要活性成分，且主要集中于醋酸乙酯层的萃取物中。因此本研究对土当归醋酸乙酯部位化学成分进行系统研究，从中分离并鉴定出 25 个香豆素类化合物（1~25），黄酮、酚酸等其他类化合物 8 个（26~33），其中 8 种化合物首次从该种植物中发现，5 种化合物首次从该属植物中发现。抗前列腺癌活性评价实验结果表明，香豆素类化合物 1、4、6、8、12、13、19、21~24 均对 LNCaP 细胞的增殖有抑制作用，进一步对活性较强的前 5 个化合物（1、4、21~23）进行多浓度抗前列腺癌活性评价，结果显示，化合物 22 和 23 对 LNCaP 细胞的抑制作用最强，二者为一对吡喃香豆素类同分异构体，研究表明其相似的侧链结

构 $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CH}-\text{COO}-$ 和 $\text{CH}_3-\text{CH}=\text{C}-\text{CH}_3-\text{COO}-$ 使二者具有相似的抗癌功效^[40-42]，本研究进一步利用网络药理学预测和实验验证了 22 和 23 主要通过抑制 PI3K/AKT 通路中关键蛋白 AKT 的表达发挥其抑制 LNCaP 细胞生长和诱导细胞凋亡作用。同时，也有相关研究表明化合物 22 和 23 特定并相似的侧链结构能够赋予其相似的抗雄激素受体（androgen receptor, AR）活性，并通过抑制 AR 和前列腺特异抗原（prostate-specific antigen, PSA）蛋白的表达来抑制前列腺癌细胞生长和诱导前列腺癌细胞死亡^[40]。以上实验结果提示，土当归中香豆素类成分可能为其发挥抗前列腺癌活性的主要功效物质，具有潜在的开发价值，值得后续进一步深入研究。通过对土当归醋酸乙酯部位化学成分研究及其抗前列腺癌活性评价，为土当归更深入的药效学机制研究和更广泛的临床应用奠定基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Zhang J H, Li L, Jiang C, *et al.* Anti-cancer and other bioactivities of Korean *Angelica gigas* Nakai (AGN) and its major pyranocoumarin compounds [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2012, 12(10): 1239-1254.
- [2] Yan J J, Kim D H, Moon Y S, *et al.* Protection against beta-amyloid peptide-induced memory impairment with long-term administration of extract of *Angelica gigas* or decursinol in mice [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2004, 28(1): 25-30.
- [3] 刘莲萱, 洪霖, 张会永, 等. “土当归”化学成分及药理作用研究进展 [J]. 沈阳药科大学学报, 2022, 39(6): 748-759.
- [4] He L J, Pan Y N, Yu J P, *et al.* Decursin alleviates the aggravation of osteoarthritis via inhibiting PI3K-Akt and NF- κ B signal pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 97: 107657.
- [5] 姜薇薇, 张晓琦, 李茜, 等. 竹叶榕根的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(4): 588-590.
- [6] 廖东波, 袁恩, 范淼崑, 等. 熏倒牛化学成分研究 [J]. 中药材, 2021, 44(6): 1405-1408.
- [7] 李云森, 王峥涛, 罗士德, 等. 干崖子橐吾的化学成分研究 [J]. 中国药科大学学报, 2001, 32(5): 24-27.
- [8] 李文, 封士兰, 胡芳弟, 等. 少毛北前胡的香豆素类化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(10): 1231-1234.
- [9] 康国娇, 杨树娟, 周海瑜, 等. 傣药三桠苦化学成分研究 [J]. 中药材, 2014, 37(1): 74-76.
- [10] 刘艳, 荣晓惠, 谭金燕, 等. 洋金花叶化学成分及其抗炎活性研究 [J]. 中成药, 2022, 44(6): 1829-1839.
- [11] Widelski J, Melliou E, Fokialakis N, *et al.* Coumarins from the fruits of *Seseli devenyense* [J]. *J Nat Prod*, 2005, 68(11): 1637-1641.
- [12] Ali I, Mu Y, Atif M, *et al.* Separation and anti-inflammatory evaluation of phytochemical constituents from *Pleurospermum candollei* (Apiaceae) by high-speed countercurrent chromatography with continuous sample load [J]. *J Sep Sci*, 2021, 44(13): 2663-2673.
- [13] 国伟杰. 作用于黄嘌呤氧化酶和瞬时受体电位通道靶点的香豆素类化学成分研究 [D]. 青岛: 青岛大学, 2018.
- [14] Ziegler H, Spiteller G. Coumarins and psoralens from Sicilian lemon oil (*Citrus limon* (L.) Burm. f. [J]. *Flavour Fragrance J*, 1992, 7(3): 129-139.
- [15] 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.
- [16] 杨万青. 白芷的化学成分及特征图谱研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2022.
- [17] Dong Q, Yuan Y, Zhou Y, *et al.* Biotransformation of total coumarins of *Radix Glehniae* by *Lecanicillium attenuatum* W-1-9 [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2018, 20(7): 675-685.
- [18] 薛靖怡, 吴莹莹, 马雪, 等. 毛大丁草的化学成分研究 [J]. 中药材, 2021, 44(8): 1870-1874.
- [19] Znati M, Zardi-Bergaoui A, Daami-Remadi M, *et al.* Semi-synthesis, antibacterial, anticholinesterase activities, and drug likeness properties of new analogues of coumarins isolated from *Ferula lutea* (Poir.) Maire [J]. *Chem Afr*, 2020, 3(3): 635-645.
- [20] 何芷芸, 石松云, 魏雪娇, 等. 地枇杷的化学成分及抗氧化活性研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(5): 810-817.
- [21] 杨秀伟, 吕倩, 许青霞, 等. 补骨脂环己烷溶性化学成分的研究 [J]. 中草药, 2022, 53(11): 3269-3279.
- [22] 汪康, 聂竹霞, 孙云鹏, 等. 白花前胡化学成分研究 [J]. 安徽中医药大学学报, 2018, 37(5): 83-85.
- [23] 田宇洁, 李金楠, 冯金磊, 等. 羌活化学成分研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2013, 15(6): 40-42.
- [24] 韦玮, 徐崑, 杨秀伟, 等. 杭白芷醋酸乙酯部位化学成分研究 [J]. 中草药, 2016, 47(15): 2606-2613.
- [25] 鄢贵, 乔泽华, 吴英菊, 等. 光滑黄皮茎中香豆素类和生物碱类化学成分研究 [J]. 中草药, 2020, 51(7): 1825-1830.
- [26] 马永芬. 朝鲜当归抗炎抗氧化成分和含量测定方法研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2009.
- [27] 廖志超. 白花前胡靶向核受体 RXR α 发挥抗肿瘤活性成分研究 [D]. 厦门: 厦门大学, 2019.
- [28] 赵博, 杨鑫宝, 杨秀伟, 等. 防风化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(12): 1569-1572.
- [29] 赵小芳, 徐博, 任杰, 等. 猴头菌-青蒿生物转化物化学成分的研究 [J]. 中成药, 2019, 41(8): 1875-1879.
- [30] Lemmich J, Shabana M. Coumarin sulphates of *Seseli libanotis* [J]. *Phytochemistry*, 1984, 23(4): 863-865.
- [31] 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.
- [32] Eltamany E E, Nafie M S, Hal D M, *et al.* A new saponin (zygo-albuside D) from *Zygophyllum album* roots triggers apoptosis in non-small cell lung carcinoma (A549 cells) through CDK-2 inhibition [J]. *ACS Omega*, 2023, 8(33): 30630-30639.
- [33] 娄京荣, 郑重飞, 李莹, 等. 花椒茎的化学成分 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(11): 161-166.
- [34] Abdel Bar F M, Salkini A A, Amen Y, *et al.* Acetylcholinesterase inhibitors from *Conocarpus lancifolius* Engl. (Combretaceae) [J]. *Nat Prod Res*, 2023, 37(10): 1668-1673.
- [35] 彭冰, 马维思, 金航, 等. 万丈深的化学成分研究 [J].

- 中草药, 2023, 54(2): 453-456.
- [36] 孙希彩, 张春梦, 李金楠, 等. 紫花前胡的化学成分研究 [J]. 中草药, 2013, 44(15): 2044-2047.
- [37] 李思雯. 瓦山锥叶中化学成分及其抗氧化活性研究 [D]. 桂林: 桂林医学院, 2020.
- [38] 胡小燕, 窦德强, 裴玉萍, 等. 猫爪草中化学成分的研究 [J]. 2006, 15(2): 127-129.
- [39] 陈丹丹, 杨毅生, 张昆艳, 等. 细梗香草化学成分的研究 [J]. 中成药, 2021, 43(12): 3360-3366.
- [40] Guo J M, Jiang C, Wang Z, *et al.* A novel class of pyranocoumarin anti-androgen receptor signaling compounds [J]. *Mol Cancer Ther*, 2007, 6(3): 907-917.
- [41] Ahn K S, Sim W S, Lee I K, *et al.* Decursinol angelate: A cytotoxic and protein kinase C activating agent from the root of *Angelica gigas* [J]. *Planta Med*, 1997, 63(4): 360-361.
- [42] Yim D, Singh R P, Agarwal C, *et al.* A novel anticancer agent, decursin, induces G1 arrest and apoptosis in human prostate carcinoma cells [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(3): 1035-1044.

[责任编辑 王文倩]