

## • 化学成分 •

## 刺茶美登木中 2 个新的倍半萜生物碱类化合物

周 兰<sup>1</sup>, 邹 坤<sup>1,2,3</sup>, 李 彪<sup>4</sup>, 汪 蕾<sup>2,3\*</sup>, 程 凡<sup>2\*</sup>

1. 三峡大学水利与环境学院, 湖北 宜昌 443002

2. 三峡大学生物与制药学院 天然产物研究与利用湖北省重点实验室, 湖北 宜昌 443002

3. 三峡大学健康医学院 现代药物制剂宜昌市重点实验室, 湖北 宜昌 443002

4. 宜昌市夷陵区公共检验检测中心, 湖北 宜昌 443002

**摘要:** **目的** 研究刺茶美登木 *Maytenus variabilis* 的倍半萜生物碱类化学成分及其细胞毒活性。**方法** 运用正相硅胶柱色谱、制备薄层色谱及制备型 HPLC 等方法进行化合物分离纯化, 并用 1D NMR、2D NMR、HRMS 等现代波谱技术进行化合物的结构鉴定。采用 MTT 法研究化合物的抗肿瘤活性。**结果** 从刺茶美登木中分离鉴定 2 个倍半萜生物碱类化合物, 分别鉴定为: (1*R*,2*S*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,10*R*)-1,2-dinicotinoyloxy-4-hydroxy-6,15-diacetoxy-9-benzoyloxy-dihydro- $\beta$ -agarofuran (1) 和 (1*R*,2*S*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,10*R*)-1,6,15-triacetoxy-2,9-dinicotinoyloxy-4-hydroxy-dihydro- $\beta$ -agarofuran (2)。**结论** 化合物 1 和 2 为新的倍半萜生物碱类化合物, 分别命名为美登木宁碱 A 及美登木宁碱 B。细胞毒活性研究显示, 化合物 1 和 2 对人胃癌 HGC-27 细胞有一定的体外增殖抑制活性, 其半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC<sub>50</sub>) 分别为 69.44、65.74  $\mu$ mol/L。**关键词:** 刺茶美登木; 倍半萜生物碱; 美登木宁碱 A; 美登木宁碱 B; 细胞毒活性

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)15-5347-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.15.002

Two novel sesquiterpene alkaloids from *Maytenus variabilis*

ZHOU Lan<sup>1</sup>, ZOU Kun<sup>1,2,3</sup>, LI Biao<sup>4</sup>, WANG Lei<sup>2,3</sup>, CHENG Fan<sup>2</sup>

1. College of Hydraulic & Environmental Engineering, China Three Gorges University, Yichang 443002, China

2. Hubei Key Laboratory of Natural Products Research and Utilization, College of Biological and Pharmaceutical Sciences, China Three Gorges University, Yichang 443002, China

3. Yichang Key Laboratory of Modern Pharmaceutical Preparations, College of Medicine and Health Sciences, China Three Gorges University, Yichang 443002, China

4. Public Inspection and Testing Center of Yiling District, Yichang 443002, China

**Abstract: Objective** To study the sesquiterpene alkaloids from *Maytenus variabilis* and their cytotoxic activities. **Methods** The compounds were isolated and purified by column chromatography over normal phase silica gel, preparative thin-layer chromatography and preparative HPLC. Their structures were elucidated by means of various spectroscopic techniques including one-dimensional nuclear magnetic resonance (1D NMR), two-dimensional nuclear magnetic resonance (2D NMR) and high resolution mass spectrometry (HRMS). The anti-tumor activity of the compound was investigated by MTT assay. **Results** Two sesquiterpene alkaloids were isolated from *M. variabilis*, their structures were elucidated as (1*R*,2*S*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,10*R*)-1,2-dinicotinoyloxy-4-hydroxy-6,15-diacetoxy-9-benzoyloxy-dihydro- $\beta$ -agarofuran (1) and (1*R*,2*S*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,10*R*)-1,6,15-triacetoxy-2,9-dinicotinoyloxy-4-hydroxy-dihydro- $\beta$ -agarofuran (2), respectively. **Conclusion** The cytotoxic activity study revealed that compounds 1 and 2 exhibited certain *in vitro* proliferation inhibitory activity against human gastric cancer HGC-27 cell with IC<sub>50</sub> values of 69.44, 65.74  $\mu$ mol/L.

收稿日期: 2025-05-05

基金项目: 湖北省中央引导地方科技发展资金项目 (2024BSB016); 三峡大学人才科研启动基金项目 (8253302)

作者简介: 周 兰 (1993—), 女, 博士, 研究方向为微生物的功能开发与资源利用。E-mail: zhoulan@ctgu.edu.cn

\*通信作者: 程 凡 (1973—), 男, 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要从事天然产物活性成分研究。E-mail: chengf@ctgu.edu.cn

汪 蕾 (1989—), 男, 博士, 讲师, 主要从事天然产物合成生物学研究。E-mail: wang.lei@ctgu.edu.cn

**Key words:** *Maytenus variabilis* (Hemsl.) C. Y. Cheng; sesquiterpene alkaloids; maytevariabinine A; maytevariabinine B; cytotoxic activity

刺茶美登木 *Maytenus variabilis* (Hemsl.) C. Y. Cheng 为卫矛科美登木属灌木植物，主要分布于湖北西部、四川东部、贵州及云南南部，生长于岩边、草地和多石斜坡环境<sup>[1]</sup>。其根、茎、叶均可入药，有解毒、燥湿、抗肿瘤等功效，主要用于治疗下肢溃疡、头癣、牛皮癣、肿瘤等<sup>[2]</sup>。现代植物化学和药理学研究表明刺茶美登木富含木脂素类、三萜类以及生物碱类成分，具有抗肿瘤、抗菌等药理活性<sup>[3-7]</sup>。为了寻找更多结构新颖的生物活性成分，本实验对刺茶美登木的化学成分进行研究，从其茎枝 95%乙醇提取物的醋酸乙酯萃取部位中分离鉴定了 2 个化合物 (1*R*,2*S*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,10*R*)-1,2-dinicotinoyloxy-4-hydroxy-6,15-diacetoxy-9-benzoyloxy-dihydro- $\beta$ -agarofuran (1) 和 (1*R*,2*S*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,10*R*)-1,6,15-triacetoxy-2,9-dinicotinoyloxy-4-hydroxy-dihydro- $\beta$ -agarofuran (2)，为新倍半萜生物碱，结构见图 1，分别命名为美登木宁碱 A (1) 和美登木宁碱 B (2)。本实验采用 MTT 法对新化合物的细胞毒活性进行了测试，结果显示化合物 1 和 2 对人胃癌细胞 HGC-27 有中等增殖抑制活性。

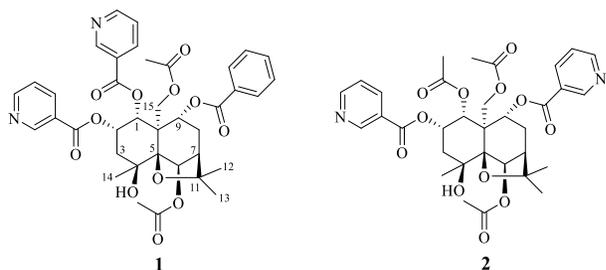


图 1 化合物 1 和 2 的结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1 and 2

## 1 仪器与材料

Bruker AV 400 核磁共振波谱仪 (瑞士布鲁克公司); Bruker microToF-QII 电喷雾-四级杆-飞行时间 LC/MS/MS 串联质谱仪 (德国布鲁克公司); Anton paar MCP 5100 高精度智能旋光仪 (奥地利 Anton paar 公司); LC-2030C 3D Plus 型高效液相色谱仪 (日本岛津公司); Dionex Ultimate 3000 型高效液相色谱仪 (美国戴安公司); P2050 半制备型液相色谱仪 (广州睿柏仪器科技有限公司); Cosmosil MS-II RP-C<sub>18</sub> 色谱柱 (半制备型: 250 mm×10 mm, 10  $\mu$ m; 分析型: 250 mm×4.6 mm, 5  $\mu$ m) (日本 Cosmosil

公司); 低温冷冻干燥机 (美国 Labconco 公司); 正相色谱硅胶 (烟台化学工业研究所); 反相色谱硅胶 (日本 YMC 公司)。二氧化碳培养箱 (日本三洋公司); Stat Fax-2100 型酶联免疫检测仪 (美国 Awareness 公司); XDS-1B 倒置显微镜 (日本 Nikon 公司); 低温离心机 (德国 Eppendorf 公司); 电子天平 (上海民桥精密仪器有限公司); 超净工作台 (北京东联哈尔仪器制造有限公司); Sephadex LH-20 (美国 Pharmacia 公司); 高效液相用甲醇、乙腈均为色谱纯 (美国 TEDIA 公司), 水为三蒸水, 其他试剂均为分析纯 (天津科密欧化学试剂有限公司); 薄层硅胶板 GF<sub>254</sub> (青岛海洋化工厂); MTT (美国 Sigma 公司); 1640 培养基 (美国 Gibco 公司); 新生牛血清 (浙江天杭生物科技股份有限公司); 胰蛋白酶 (美国 Amresco 公司); HGC-27 细胞购自中国科学院上海生物科学研究所细胞库, 按细胞库推荐的培养基和方法培养。

刺茶美登木采自湖北省宜昌市长阳土家族自治县, 经三峡大学生物与制药学院王玉兵教授鉴定为卫矛科美登木属植物刺茶美登木 *M. variabilis* (Hemsl.) C. Y. Cheng。植物标本 (2022042101) 保存于三峡大学天然产物研究与利用湖北省重点实验室。

## 2 提取与分离

干燥粉碎的刺茶美登木茎枝部分 11.6 kg, 用 5 倍量的 95%乙醇 (60 L) 冷浸提取 3 次, 回收溶剂, 得总浸膏 695.5 g。将浸膏加水至 3 L 溶解, 依次用石油醚、醋酸乙酯和正丁醇萃取 3 次。萃取液减压回收, 充分干燥后分别得石油醚浸膏 (66.4 g)、醋酸乙酯浸膏 (46.7 g)、正丁醇浸膏 (128.0 g)、水部位浸膏 (68.2 g)。取醋酸乙酯部位浸膏 40.0 g, 经正相硅胶 (200~300 目) 柱色谱, 以二氯甲烷、二氯甲烷-甲醇 (100:1、90:1、80:1、70:1、60:1、50:1、40:1、30:1、20:1、10:1、8:1、6:1、4:1、2:1、1:1)、甲醇梯度洗脱, TLC 检测分析, 合并相似流分后, 得到 18 个流分 (Fr. 1~18)。Fr. 9 (360.0 mg) 经正相硅胶 (200~300 目) 柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇 (45:1) 等度洗脱, 经 TLC 分析合并相同极性得到 6 个流分 Fr. 9.1~9.6。流分 Fr. 9.4 经制备型 HPLC 纯化, 以乙腈-水 (50:50) 等度洗脱 (体积流量 3 mL/min, 检测波

长 203 nm), 得到化合物 **1** (6.2 mg,  $t_R=21.1$  min)、**2** (3.2 mg,  $t_R=21.9$  min)。

### 3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色无定型粉末。 $[\alpha]_D^{20}-4.7$  ( $c$  0.5,  $CHCl_3$ ); HR-ESI-MS 准分子离子峰  $m/z$  717.267 4

$[M+H]^+$  (计算值 717.267 4), 结合  $^{13}C$ -NMR 数据与  $^1H$ -NMR 数据, 确定其分子式为  $C_{38}H_{40}N_2O_{12}$ , 不饱和度 20。  $^1H$ -NMR (400 MHz, acetone- $d_6$ )数据 (表 1) 显示有 5 个甲基信号 [ $\delta_H$  1.61 (6H, s, H-12 及 H-14), 1.65 (3H, s, H-13), 2.12 (3H, s, 6-OAc), 2.29

表 1 化合物 **1** 和 **2** 的  $^1H$ -NMR (400 MHz, acetone- $d_6$ ) 和  $^{13}C$ -NMR (100 MHz, acetone- $d_6$ ) 数据  
Table 1  $^1H$ -NMR (400 MHz, acetone- $d_6$ ) and  $^{13}C$ -NMR (100 MHz, acetone- $d_6$ ) data of compounds **1** and **2**

碳位	<b>1</b>		碳位	<b>2</b>			
	$\delta_H$	$\delta_C$		$\delta_H$	$\delta_C$		
1	6.02 (d, $J = 3.6$ Hz)	72.8	1	5.72 (d, $J = 3.6$ Hz)	71.2		
2	5.99 (m)	70.7	2	5.75 (m)	70.6		
3	2.44 (dd, $J = 15.7, 3.7$ Hz)	42.6	3	2.35 (m)	42.5		
	2.24 (dd, $J = 15.3, 2.9$ Hz)			2.15 (dd, $J = 15.3, 2.9$ Hz)			
4		70.1	4		70.2		
5		92.0	5		91.9		
6	6.31 (s)	78.8	6	6.23 (s)	78.8		
7	2.33 (m)	49.9	7	2.32 (m)	49.9		
8	2.65 (ddd, $J = 16.7, 7.4, 4.5$ Hz)	35.5	8	2.63 (m), 2.35 (m)	35.4		
	2.30 (m)						
9	5.61 (d, $J = 6.8$ Hz)	70.3	9	5.55 (d, $J = 7.1$ Hz)	70.6		
10		56.2	10		56.0		
11		85.5	11		85.6		
12	1.61 (s)	26.1	12	1.57 (s)	26.1		
13	1.65 (s)	29.5	13	1.62 (s)	29.5		
14	1.61 (s)	26.3	14	1.56 (s)	26.3		
15	5.50 (d, $J = 12.6$ Hz)	66.4	15	5.31 (d, $J = 12.6$ Hz)	66.4		
	4.71 (d, $J = 12.7$ Hz)			4.42 (d, $J = 12.7$ Hz)			
OH	3.30 (s)		OH	3.34 (s)			
1-ONic	2	8.54 (d, $J = 1.6$ Hz)	150.9	1-OAc	CH <sub>3</sub>	1.56 (s)	20.6
	3		126.0		CO		169.9
	4	7.71 (dt, $J = 8.0, 2.0$ Hz)	137.1	2-ONic	2	9.20 (d, $J = 1.7$ Hz)	151.6
	5	7.25 (ddd, $J = 8.0, 4.8, 0.6$ Hz)	124.0		3		126.5
	6	8.61 (dd, $J = 4.8, 1.7$ Hz)	154.4		4	8.43 (dt, $J = 8.0, 2.0$ Hz)	137.9
	CO		164.7		5	7.57 (m)	124.5/124.7
2-ONic	2	9.14 (d, $J = 1.8$ Hz)	151.5		6	8.82 (m)	154.8/154.9
	3		126.3		CO		165.4
	4	8.39 (dt, $J = 8.0, 1.9$ Hz)	137.7	6-OAc	CH <sub>3</sub>	2.10 (s)	21.6
	5	7.53 (ddd, $J = 8.0, 4.8, 0.6$ Hz)	124.6		CO		170.9
	6	8.81 (dd, $J = 4.8, 1.6$ Hz)	154.8	9-ONic	1		
	CO		165.3		2	9.15 (d, $J = 1.7$ Hz)	151.9
6-OAc	CH <sub>3</sub>	2.12 (s)	21.5		3		126.3
	CO		170.7		4	8.32 (dt, $J = 8.0, 2.0$ Hz)	138.2
9-OBz	1		130.0		5	7.57 (m)	124.5/124.7
	2	7.74 (dd, $J = 8.5, 1.4$ Hz)	130.5		6	8.82 (m)	154.8/154.9
	3	7.40 (t, $J = 7.8$ Hz)	129.1		CO		164.7
	4	7.60 (t, $J = 7.5$ Hz)	134.1	15-OAc	CH <sub>3</sub>	2.26 (s)	21.2
	5	7.40 (t, $J = 7.8$ Hz)	129.1		CO		171.2
	6	7.74 (dd, $J = 8.5, 1.4$ Hz)	130.5				
	CO		165.2				
15-OAc	CH <sub>3</sub>	2.29 (s)	21.2				
	CO		171.0				

(3H, s, 15-OAc)], 4个连氧次甲基信号 [ $\delta_{\text{H}}$  6.02 (1H, d,  $J = 3.6$  Hz, H-1), 5.99 (1H, m, H-2), 6.31 (1H, s, H-6), 5.61 (1H, d,  $J = 6.8$  Hz, H-9)], 1组连氧亚甲基信号 [ $\delta_{\text{H}}$  5.50 (1H, d,  $J = 12.6$  Hz, H-15a), 4.71 (1H, d,  $J = 12.7$  Hz, H-15b)], 1个脂肪族次甲基信号  $\delta_{\text{H}}$  2.33 (1H, m, H-7), 2组脂肪族亚甲基信号 [ $\delta_{\text{H}}$  2.44 (1H, dd,  $J = 15.7, 3.7$  Hz, H-2a), 2.24 (1H, dd,  $J = 15.3, 2.9$  Hz, H-2b) 和 2.65 (1H, ddd,  $J = 16.7, 7.4, 4.5$  Hz, H-8a), 2.30 (1H, m, H-3b)], 2组3-取代的吡啶环质子信号 [ $\delta_{\text{H}}$  8.54 (1H, d,  $J = 1.6$  Hz, 1-ONic-2), 7.71 (1H, dt,  $J = 8.0, 2.0$  Hz, 1-ONic-4), 7.25 (1H, ddd,  $J = 8.0, 4.8, 0.6$  Hz, 1-ONic-5), 8.61 (1H, dd,  $J = 4.8, 1.7$  Hz, 1-ONic-6) 和  $\delta_{\text{H}}$  9.14 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, 2-ONic-2), 8.39 (1H, dt,  $J = 8.0, 1.9$  Hz, 2-ONic-4), 7.53 (1H, ddd,  $J = 8.0, 4.8, 0.6$  Hz, 2-ONic-5), 8.81 (1H, dd,  $J = 4.8, 1.6$  Hz, 2-ONic-6)]. 以及1组单取代苯环质子信号 [ $\delta_{\text{H}}$  7.74 (2H, dd,  $J = 8.5, 1.4$  Hz, 9-OBz-2 及 9-OBz-6), 7.40 (2H, t,  $J = 7.8$  Hz, 9-OBz-3 及 9-OBz-5), 7.60 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz, 9-OBz-4)].  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, acetone- $d_6$ ) 数据 (表 1) 中, 除上述基团对应的碳信号外, 还显示3个连氧季碳信号  $\delta_{\text{C}}$  70.1 (C-4), 92.0 (C-5) 和 85.5 (C-11), 1个脂肪族季碳信号  $\delta_{\text{C}}$  56.2 (C-10), 以及5个羰基信号  $\delta_{\text{C}}$  164.7 (1-ONic-CO), 165.3 (2-ONic-CO), 170.7 (6-OAc-CO), 165.2 (9-OBz-CO) 和 171.0 (15-OAc-CO)。上述数据贡献了17个不饱和度, 剩余3个不饱和度, 推测化合物 1 结

构中还存在3个环。上述数据结合文献报道表明化合物 1 具有多氧取代的二氢呋喃倍半萜骨架<sup>[8-10]</sup>, 从  $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$  谱观察到 H-2/H-3 和 H-6/H-7/H-8a/H-9 两个自旋偶合系统, 从 HMBC 谱观察到了 H-1/C-2, C-10; H-2/C-3, C-10; H-3/C-1, C-2, C-4, C-5; H-6/C-5, C-7, C-8, C-10, C-11; H-7/C-5, C-6, C-9, C-10; H-8/C-7, C-11 以及 H-9/C-5, C-8, C-10 的远程相关信号 (图 2), 上述数据进一步确定化合物 1 的多氧取代二氢呋喃倍半萜骨架。图 2 所示的其他  $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$  以及 HMBC 数据表明分子中存在2个乙酰基、2个烟酰基以及1个苯甲酰基。HMBC 谱中 H-1/C-(1-ONic-CO); H-2/C-(2-ONic-CO) 以及 H-9/C-(9-OBz-CO) 的远程相关信号表明2个烟酰基以及1个苯甲酰基分别在分子的1、2、9位成酯, H-6/C-(6-OAc-CO) 的 HMBC 远程相关信号表明, 1个乙酰基在分子的6位成酯 (图 2)。而 H-15/C-(15-OAc-CO); H-1/C-15; H-9/C-15 以及 H-15/C-10 的 HMBC 远程相关信号则表明另一个乙酰基在分子的15位成酯并连接到10位。HMBC 远程相关信号 H-12/C-11; H-13/C-11; H-14/C-3; H-14/C-4 及 H-14/C-5 表明3个甲基分别连接到11位及4位。此外,  $\delta_{\text{H}}$  3.30/C-4 及  $\delta_{\text{H}}$  3.30/C-14 的 HMBC 远程相关信号表明1个羟基连接到4位上, 由此确定了化合物 1 的平面结构。

NOESY 谱中 (图 2), 存在 H-1/H-3a, H-1/H-9, H-1/H-12, H-3a/OH-4, H-3b/H-14, H-6/H-8a, H-6/H-

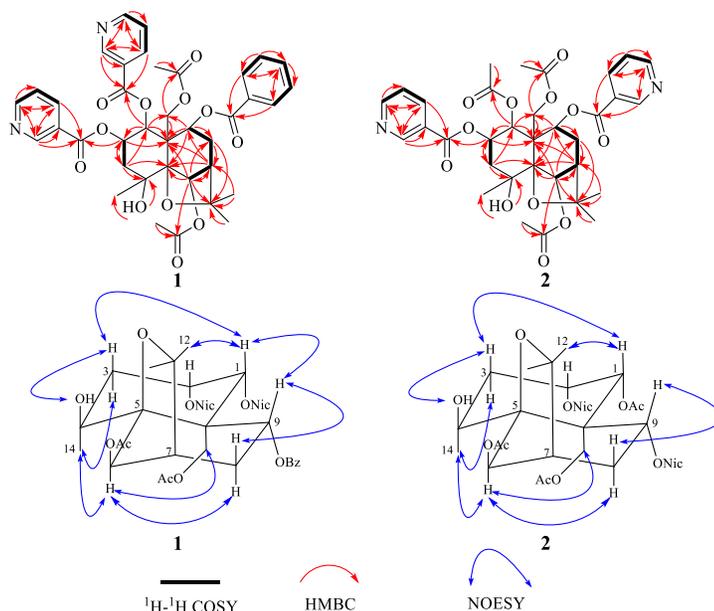


图 2 化合物 1 和 2 的主要  $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$ 、HMBC 和 NOESY 相关

Fig. 2 Key  $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$ , HMBC and NOESY correlations of compounds 1 and 2

14, H-6/H-15a 以及 H-9/H-8b 的相关性, 表明 H-1, OH-4, H-9 及 OAc-6 位于分子的另一侧, 而 ONic-1, H-6, H-14, OBz-9 及 H-15 则位于分子的另一侧, 进一步分析 H-1 与 H-2 的偶合常数 ( $J_{1,2} = 3.6 \text{ Hz}$ ) 表明 H-1 与 H-2 位于分子的另一侧, 上述数据确定了化合物的相对构型。目前已报道的所有 4 位羟基二氢呋喃倍半萜化合物 1, 4, 5, 6, 7, 10 位手性中心的绝对构型均相同<sup>[8-13]</sup>, 故确定化合物 1 的绝对构型为 1*R*, 2*S*, 4*S*, 5*S*, 6*R*, 7*R*, 9*R*, 10*R*。综上, 化合物 1 的结构鉴定为 (1*R*, 2*S*, 4*S*, 5*S*, 6*R*, 7*R*, 9*R*, 10*R*)-1, 2-dinicotinoyloxy-4-hydroxy-6, 15-diacetoxy-9-benzoyloxydihydro- $\beta$ -agarofuran。经数据库 (SciFinder) 检索, 化合物 1 为新的倍半萜生物碱类化合物, 命名为美登木宁碱 A。

化合物 2: 白色无定型粉末。 $[\alpha]_D^{20} -3.8$  ( $c$  0.5,  $\text{CHCl}_3$ ); HR-ESI-MS 准分子离子峰  $m/z$  655.250 6  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (计算值 655.249 8), 结合  $^{13}\text{C}$ -NMR 数据与  $^1\text{H}$ -NMR 数据, 确定其分子式为  $\text{C}_{33}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_{12}$ , 不饱和度 15。  $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz, acetone- $d_6$ ) 数据 (表 1) 显示有 6 个甲基信号 [ $\delta_{\text{H}}$  1.56 (6H, s, H-14 及 1-OAc), 1.57 (3H, s, H-12), 1.62 (3H, s, H-13), 2.10 (3H, s, 6-OAc), 2.26 (3H, s, 15-OAc)], 4 个连氧次甲基信号 [ $\delta_{\text{H}}$  5.72 (1H, d,  $J = 3.6 \text{ Hz}$ , H-1), 5.75 (1H, m, H-2), 6.23 (1H, s, H-6), 5.55 (1H, d,  $J = 7.1 \text{ Hz}$ , H-9)], 1 组连氧亚甲基信号 [ $\delta_{\text{H}}$  5.31 (1H, d,  $J = 12.6 \text{ Hz}$ , H-15a), 4.42 (1H, d,  $J = 12.7 \text{ Hz}$ , H-15b)], 1 个脂肪族次甲基信号  $\delta_{\text{H}}$  2.32 (1H, m, H-7), 2 组脂肪族亚甲基信号 [ $\delta_{\text{H}}$  2.35 (1H, m, H-2a), 2.15 (1H, dd,  $J = 15.3, 2.9 \text{ Hz}$ , H-2b) 和 2.63 (1H, m, H-8a), 2.35 (1H, m, H-3b)], 2 组 3-取代的吡啶环质子信号 [ $\delta_{\text{H}}$  9.20 (1H, d,  $J = 1.7 \text{ Hz}$ , 2-ONic-2), 8.43 (1H, dt,  $J = 8.0, 2.0 \text{ Hz}$ , 2-ONic-4), 7.57 (1H, m, 2-ONic-5), 8.82 (1H, m, 2-ONic-6) 和  $\delta_{\text{H}}$  9.15 (1H, d,  $J = 1.7 \text{ Hz}$ , 9-ONic-2), 8.32 (1H, dt,  $J = 8.0, 2.0 \text{ Hz}$ , 9-ONic-4), 7.57 (1H, m, 9-ONic-5), 8.82 (1H, m, 9-ONic-6)]。  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz, acetone- $d_6$ ) 数据 (表 1) 中, 除上述基团对应的碳信号外, 还显示 3 个连氧季碳信号  $\delta_{\text{C}}$  70.2 (C-4), 91.9 (C-5) 和 85.6 (C-11), 1 个脂肪族季碳信号  $\delta_{\text{C}}$  56.0 (C-10), 以及 5 个羰基信号  $\delta_{\text{C}}$  169.9 (1-OAc-CO), 165.4 (2-ONic-CO), 170.9 (6-OAc-CO), 164.7 (9-ONic-CO) 和 171.2 (15-OAc-CO)。上述数据与化合物 1 的  $^1\text{H}$ -NMR 及  $^{13}\text{C}$ -NMR 数据高度相似 (表 1), 提示化合物 2 与 1 具有相同的二氢呋喃倍半萜骨架, 图 2 所示  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY 自旋偶合系统以及 HMBC 远程相关进一步确认了化合物 2 的多氧取代二氢呋喃倍半萜骨架。与化合物 1 相比, 化合物 2 的主要区别是其 1 号碳位连接了 1 个乙酰基 (1-OAc) 而非烟酰基, 9 号碳位连接了 1 个烟酰基 (9-ONic) 而非苯甲酰基, 上述结论可由 HMBC 谱中 H-1/C-(1-OAc-CO) 及 H-9/C-(9-ONic-CO) 的远程相关信号证实 (图 2)。由此确定了化合物 2 的平面结构。其相对构型由 NOESY 谱确定 (图 2), NOESY 谱 H-1/H-3a, H-1/H-12, H-3a/OH-4, H-3b/H-14, H-6/H-8a, H-6/H-14, H-6/H-15a 以及 H-9/H-8b 的相关性表明 H-1, OH-4, H-9 及 OAc-6 位于分子的另一侧, 而 OAc-1, H-6, H-14, ONic-9 及 H-15 则位于分子的另一侧, H-1 与 H-2 的偶合常数 ( $J_{1,2} = 3.6 \text{ Hz}$ ) 表明 H-1 与 H-2 位于分子的另一侧。基于所有 4 位羟基二氢呋喃倍半萜化合物 1, 4, 5, 6, 7, 10 位手性中心的绝对构型均相同<sup>[8-13]</sup>, 同时根据相似的生源合成方式, 化合物 2 的绝对构型与 1 相同, 即 1*R*, 2*S*, 4*S*, 5*S*, 6*R*, 7*R*, 9*R*, 10*R*。综上所述, 化合物 2 的结构鉴定为 (1*R*, 2*S*, 4*S*, 5*S*, 6*R*, 7*R*, 9*R*, 10*R*)-1, 6, 15-triacetoxy-2, 9-dinicotinoyloxy-4-hydroxy-dihydro- $\beta$ -agarofuran。经数据库 (SciFinder) 检索, 化合物 2 是新的倍半萜生物碱类化合物, 命名为美登木宁碱 B。

4 细胞毒活性实验

将 HGC-27 细胞在 37 °C、5%  $\text{CO}_2$  及饱和湿度环境下培养于 RPMI 1640 培养液中 (另加 2.0 g/L HEPES、2.0 g/L  $\text{NaHCO}_3$ 、100 U/mL 青霉素、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  链霉素和 10% 胎牛血清), 待细胞呈对数增长时铺板, 培养细胞按  $1 \times 10^5$  个/mL 的密度接种于 96 孔板中, 37 °C、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养 12 h, 将样品配制成 4 个质量浓度梯度 (50、25、12.5、6.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), 加入到 96 孔板中, 每个浓度梯度设 4 个复孔, 并设置对照组 (含细胞的培养液 + DMSO) 及空白组 (培养液 + DMSO)。继续培养 24 h 后, 于每孔中加入 20  $\mu\text{L}$  的 MTT 试剂 (5  $\text{mg}/\text{mL}$ ), 继续培养 4 h, 吸出孔内的培养液, 于每孔中加入 150  $\mu\text{L}$  的 DMSO, 振荡摇匀 10 min, 使结晶物充分溶解。酶标仪 492 nm 波长下测其吸光度 ( $A$ ) 值, 并按公式计算抑制率 ( $I$ )。

#### 4 细胞毒活性实验

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

采用 MTT 法测定化合物 1 和 2 对 HGC-27 细胞的细胞毒活性。以丝裂霉素 C 作为阳性对照。结果显示, 化合物 1 和 2 对 HGC-27 细胞显示出一定

的体外增殖的抑制作用。化合物 **1** 和 **2** 的半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC<sub>50</sub>) 值分别为 (69.44±3.41)、(65.74±3.64) μmol/L。

## 5 讨论

本实验从刺茶美登木茎枝部分分离得到 2 个新的多氧取代二氢呋喃倍半萜类化合物美登木宁碱 A 及 B, 细胞毒活性实验结果表明美登木宁碱 A 及 B 对 HGC-27 细胞表现出中等体外增殖抑制作用。多氧取代二氢呋喃倍半萜类化合物主要分离自卫矛科植物, 是卫矛科植物的特征性代谢产物, 被当做该科植物的化学分类标记或指标<sup>[14]</sup>。其结构多氧取代以及复杂的立体构型赋予了该类化合物多样的药理活性, 包括免疫抑制、抗艾滋病、逆转多药耐药性表型和抗肿瘤等活性<sup>[14-15]</sup>。本研究丰富了刺茶美登木的化学内涵, 为刺茶美登木及美登木属的进一步研究及开发提供物质基础理论依据。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第六卷, 第一分册-蕨类植物门) [M]. 北京: 科学出版社, 1999: 136.
- [2] 国家中药学管理局《中华本草》编委会. 中华本草 (精选本) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998: 199-200.
- [3] 何婷, 刘冰倩, 陈剑锋, 等. 刺茶美登木茎枝化学成分研究 [J]. 中成药, 2025, 47(5): 1539-1547.
- [4] 张秀云. 扁序重寄生、刺茶美登木和短序醉鱼草的活性成分研究 [D]. 成都: 中国科学院研究生院 (成都生物研究所), 2005.
- [5] 张秀云, 李伯刚, 周敏, 等. 刺茶美登木的化学成分研究 [J]. 应用与环境生物学报, 2006, 12(2): 163-169.
- [6] 李炳钧, 许秀坤, 周韵丽, 等. 刺茶美登木抗癌成分美登新、美登普林和美登布丁的分离与鉴定 [J]. 植物生态学报, 1983, 25(2): 142-144.
- [7] 刘彦超, 黑育荣, 田进. 刺茶美登木抑菌活性成分研究 [J]. 山西农业科学, 2018, 46(10): 1626-1630.
- [8] García M E, Motrich R D, Caputto B L, et al. Agarofuran sesquiterpenes from *Schaefferia argentinensis* [J]. *Phytochemistry*, 2013, 94: 260-267.
- [9] Fan D S, Zhu G Y, Chen M, et al. Dihydro-β-agarofuran sesquiterpene polyesters isolated from the stems of *Tripterygium regelii* [J]. *Fitoterapia*, 2016, 112: 1-8.
- [10] 闫建功, 王一竹, 吴先富, 等. 雷公藤中倍半萜生物碱类化学成分的研究 [J]. 中草药, 2022, 53(7): 1933-1938.
- [11] Wibowo M, Wang Q, Holst J, et al. Dihydro-β-agarofurans from the roots of the Australian endemic rainforest tree *Maytenus bilocularis* act as leucine transport inhibitors [J]. *Phytochemistry*, 2018, 148: 71-77.
- [12] Zhou L, He Q J, Hou Z L, et al. Discovery of dihydro-β-agarofurans from *Tripterygium wilfordii* with their H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced SH-SY5Y cell protective effects [J]. *Bioorg Chem*, 2020, 104: 104247.
- [13] Fu Y F, Wang W, Gong Q, et al. Neuroprotective dihydro-β-agarofuran-type sesquiterpenes from the seeds of *Euonymus maackii* [J]. *J Nat Prod*, 2019, 82(11): 3096-3103.
- [14] Gao J M, Wu W J, Zhang J W, et al. The dihydro-β-agarofuran sesquiterpenoids [J]. *Nat Prod Rep*, 2007, 24(5): 1153-1189.
- [15] Núñez M J, Jiménez I A, Mendoza C R, et al. Dihydro-β-agarofuran sesquiterpenes from Celastraceae species as anti-tumour-promoting agents: Structure-activity relationship [J]. *Eur J Med Chem*, 2016, 111: 95-102.

[责任编辑 王文倩]