

[成分分析]

地锦草化学成分及其体外抗肝癌活性研究

姚思凡, 孙伍慧, 张 艺, 艾 雯, 李雪晶, 赵碧清*, 周小江*
(湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208)

摘要: **目的** 研究地锦草化学成分及其体外抗肝癌活性。**方法** 采用硅胶、D101 大孔吸附树脂、半制备 RP-HPLC 进行分离纯化, 根据理化性质及波谱数据鉴定所得化合物的结构。采用 MTT 法评价体外抗肝癌活性。**结果** 从中分离得到 18 个化合物, 分别鉴定为 22-*O*-angeloyl-R1-barrigenol (**1**)、dimethyl 3, 3'-[oxybis (4, 1-phenylene)] (2*E*, 2'*E*)-diacrylate (**2**)、*N*-(3-methoxy-1, 3-dioxopropyl)-*D*-tryptophan methyl ester (**3**)、*N*-acetyltryptophan methyl ester (**4**)、*N*-(methoxycarbonyl)-tryptophan methyl ester (**5**)、(3 β , 5 α , 17 β)-4, 4, 8, 14-tetramethyl-18-norandrostane-3, 17-diol (**6**)、3 β , 18, 19 β -trihydroxylupane (**7**)、孕烯醇酮 (**8**)、3-hydroxy-5, 6-epoxy-7-megastigmen-9-one (**9**)、dehydrovomifoliol (**10**)、黑麦草内酯 (**11**)、2, 2'-氧代双 (1, 4-二叔丁苯) (**12**)、邻苯二甲酸二丁酯 (**13**)、4-甲氧基肉桂酸 (**14**)、3, 4-二甲氧基肉桂酸 (**15**)、对羟基苯甲酸甲酯 (**16**)、山柰酚 (**17**)、槲皮素 (**18**)。化合物 **1**、**7**、**8** 对 HepG2 细胞的 IC₅₀ 值分别为 (17.27 $\pm$ 0.92)、(19.11 $\pm$ 2.14)、(7.53 $\pm$ 1.09) μ mol/L。**结论** 化合物 **1~16** 为首次从地锦草中分离得到。化合物 **1**、**7**、**8** 具有体外抗肝癌活性。

关键词: 地锦草; 化学成分; 分离鉴定; 抗肝癌活性

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2025)07-2243-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.07.017

Chemical constituents from *Euphorbia humifusa* and their *in vitro* anti-hepatoma activity

YAO Si-fan, SUN Wu-hui, ZHANG Yi, AI Wen, LI Xue-jing, ZHAO Bi-qing*, ZHOU Xiao-jiang*

(Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

ABSTRACT: **AIM** To study the chemical constituents from *Euphorbia humifusa* Willd. and their *in vitro* anti-hepatoma activity. **METHODS** Silica gel, D101 macroporous adsorption resin and semi-preparative RP-HPLC were used for isolated and purified, then the structures of obtained compounds were identified by physicochemical properties and spectral data. The anti-hepatocellular carcinoma activity was determined by MTT method. **RESULTS** Eighteen compounds were isolated and identified as 22-*O*-angeloyl-R1-barrigenol (**1**), dimethyl 3, 3'-[oxybis (4, 1-phenylene)] (2*E*, 2'*E*)-diacrylate (**2**), *N*-(3-methoxy-1, 3-dioxopropyl)-*D*-tryptophan methyl ester (**3**), *N*-acetyltryptophan methyl ester (**4**), *N*-(methoxycarbonyl)-tryptophan methyl ester (**5**), (3 β , 5 α , 17 β)-4, 4, 8, 14-tetramethyl-18-norandrostane-3, 17-diol (**6**), 3 β , 18, 19 β -trihydroxylupane (**7**), pregnenolone (**8**), 3-hydroxy-5, 6-epoxy-7-megastigmen-9-one (**9**), dehydrovomifoliol (**10**), loliolide (**11**), 2, 2'-oxybis (1, 4-di-tert-butylbenzene) (**12**), dibutyl phthalate (**13**), 4-methoxycinnamic acid (**14**), 3, 4-dimethoxycinnamic acid (**15**), methyl 4-hydroxybenzoate (**16**), kaempferol (**17**), quercetin (**18**). The IC₅₀ values of compounds **1**, **7** and **8** on HepG2 cells were (17.27 $\pm$ 0.92), (19.11 $\pm$

收稿日期: 2024-11-19

基金项目: 湖南省自然科学基金联合基金项目 (2024JJ8160); 湖南省教育厅科学研究项目 (19A368, 19K067); 2023 年度湖南省大学生创新创业训练计划项目 (S202310541071); 湖南中医药大学中药学一流学科建设项目 (2018)

作者简介: 姚思凡 (1996—), 女, 硕士, 研究方向为中药有效成分与质量分析。E-mail: 748642889@qq.com

* **通信作者:** 赵碧清 (1972—), 女, 硕士, 副教授, 研究方向为中药有效成分与质量分析。E-mail: qingerhn@126.com

周小江 (1968—), 男, 博士, 教授, 研究方向为中药有效成分与品质评价。E-mail: gale9888@163.com

2. 14) and (7. 53±1. 09) $\mu\text{mol/L}$, respectively. **CONCLUSION** Compounds **1–16** are first isolated from this plant. Compounds **1**, **7** and **8** have anti-hepatoma activity.

KEY WORDS: *Euphorbia humifusa* Willd.; chemical constituents; isolation and identification; anti-hepatoma activity

地锦草为大戟科植物地锦 *Euphorbia humifusa* Willd. 或斑地锦 *Euphorbia maculata* L. 的干燥全草, 其性辛, 味平, 归肝、大肠经, 具有清热解毒、凉血止血、利湿退黄等功效, 临床上用于治疗痢疾、咯血、疮疖肿痛、湿热黄疸等^[1]。化学成分研究表明, 地锦草中主要含有黄酮类、三萜类和生物碱类等化合物; 药理活性研究表明, 该植物具有抗肿瘤、抗菌、抗氧化、保肝作用等作用^[2-3]。本实验对地锦草化学成分进行分离鉴定, 并对其体外抗肝癌活性进行评价, 以期进一步挖掘该植物抗肿瘤有效成分, 为相关药物开发及资源利用提供科学依据。

1 材料

Agilent 1200 高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); RE-2000B 旋转蒸发仪 (巩义市予华仪器有限责任公司); CP214 电子天平 [奥豪斯仪器 (上海) 有限公司]; CHP-20P MCI (日本三菱化学株式会社); Sephadex LH-20 (美国 GE Amersham 公司); TGL18W 高速冷冻离心机 (长沙英泰仪器有限公司); Avance III 核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); Xevo G2-XS QToF 高分辨质谱仪 (美国 Waters 公司)。HepG2 细胞、0. 25% 胰蛋白酶溶液、DMEM 高糖培养基、磷酸盐缓冲液、胎牛血清 (武汉普诺赛生命科技有限公司); 顺铂 (美国 MedChemExpress 公司); 乙腈、甲醇 (色谱纯, 美国天地公司); DMSO (美国 Cambridge Isotope Laboratories 公司); 乙酸乙酯、石油醚、甲醇 (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 纯净水 [华润怡宝饮料 (中国) 有限公司]。地锦草采自湖南中医药大学周边, 经湖南中医药大学周小江教授鉴定为大戟科植物地锦 *Euphorbia humifusa* Willd. 的干燥全草。

2 提取与分离

取地锦草 30 kg, 粉碎, 70% 乙醇回流提取 2 次, 每次 2 h, 过滤, 合并提取液, 减压浓缩至无醇味, 石油醚脱脂, 乙酸乙酯萃取, 得到提取物 (约 3. 5 kg), 先用硅胶柱初步分离, 以石油醚-乙酸乙酯-丙酮 (3 : 1 : 1~3 : 1 : 4) 梯度洗脱, 得到 Fr. 1~Fr. 6, 经 TLC 检视后, 对斑点明显的流分

Fr. 2~Fr. 5 进一步分离纯化。Fr. 2 (268. 12 g) 经 D101 大孔吸附树脂分离, 以 10%~100% 甲醇梯度洗脱, 得到 8 个流分 (Fr. 2-1~Fr. 2-8), Fr. 2-4 经 Sephadex LH-20 凝胶柱分离, 以甲醇洗脱, 得到化合物 **7** (9. 1 mg)。Fr. 3 (51. 44 g) 经硅胶柱分离, 以石油醚-乙酸乙酯 (7 : 1~1 : 1) 梯度洗脱, 得到 Fr. 3-1~Fr. 3-5, Fr. 3-2 依次用 D101 大孔吸附树脂、Sephadex LH-20 凝胶柱分离, 再用半制备 HPLC (体积流量 2. 4 mL/min, 检测波长 240 nm) 纯化, 以 32% 甲醇洗脱, 得到化合物 **10** (4. 2 mg, t_R = 25. 9 min); Fr. 3-3 经半制备 HPLC (体积流量 2. 4 mL/min, 检测波长 232 nm) 纯化, 以 28% 甲醇洗脱, 得到化合物 **9** (2. 4 mg, t_R = 50. 6 min) 和 4 个流分 (Fr. 3-3-1~Fr. 3-3-4), Fr. 3-3-4 经 Sephadex LH-20 凝胶柱分离, 以甲醇洗脱, 得到化合物 **6** (14. 6 mg)、**8** (1. 7 mg); Fr. 3-4 通过 D101 大孔吸附树脂分离, 以 30%~100% 甲醇梯度洗脱, 得到 2 个流分 (Fr. 3-4-1~Fr. 3-4-2), 采用半制备 HPLC (体积流量 2. 4 mL/min, 检测波长 210 nm) 纯化, 分别以 84%、68% 甲醇洗脱, 得到化合物 **12** (3. 4 mg, t_R = 57. 4 min)、**13** (4. 4 mg, t_R = 68. 0 min)。Fr. 4 (226. 01 g) 通过 D101 大孔吸附树脂分离, 以 10%~100% 甲醇梯度洗脱, 得到 8 个流分 (Fr. 4-1~Fr. 4-8), Fr. 4-3 经半制备 HPLC 纯化, 以 23% 甲醇洗脱 (体积流量 3. 0 mL/min, 检测波长 254 nm), 得到化合物 **16** (1. 9 mg, t_R = 86. 5 min); 以 40% 甲醇洗脱 (体积流量 3. 0 mL/min, 检测波长 312 nm), 得到化合物 **2** (1. 2 mg, t_R = 42. 3 min); 以 22% 乙腈洗脱 (体积流量 3. 0 mL/min, 检测波长 312、225 nm), 得到化合物 **14** (2. 6 mg, t_R = 65. 2 min)、**15** (3. 7 mg, t_R = 73. 0 min); Fr. 4-4 通过 Sephadex LH-20 凝胶柱分离, 以甲醇洗脱, 得到化合物 **11** (12. 4 mg); Fr. 4-5 经半制备 HPLC (体积流量 3. 0 mL/min, 检测波长 270、230 nm) 纯化, 以 24% 甲醇洗脱, 得到化合物 **1** (3. 2 mg, t_R = 64. 1 min)。Fr. 5 (120. 40 g) 通过硅胶柱分离, 以石油醚-乙酸乙酯-异丙醇 (4. 5 : 1 : 0. 5) 洗脱, 得到 2 个流分 (Fr. 5-1~Fr. 5-2), Fr. 5-1 通过硅胶柱, 以石油醚

-乙酸乙酯-异丙醇 (4 : 1 : 0.2、3 : 1 : 0.2、2 : 1 : 0.2、1 : 1 : 0.2) 梯度洗脱, 再经半制备 HPLC 纯化, 以甲醇-水 (含 0.1% 甲酸) (50 : 50) 洗脱 (体积流量 2.4 mL/min, 检测波长 360 nm), 得到化合物 **17** (1.4 mg, t_R = 25.6 min); 以 40% 甲醇洗脱 (体积流量 2.4 mL/min, 检测波长 216 nm), 得到化合物 **5** (3.2 mg, t_R = 40.2 min); 经甲醇重结晶, 得到化合物 **18** (2.0 mg); Fr. 5-2 经半制备 HPLC 纯化, 以 36% 甲醇洗脱 (体积流量 2.4 mL/min, 检测波长 217 nm), 得到化合物 **3** (8.9 mg, t_R = 60.9 min); 以 38% 甲醇洗脱 (体积流量 2.4 mL/min, 检测波长 215 nm), 得到化合物 **4** (1.4 mg, t_R = 34.4 min)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 611.394 2 $[M + Na]^+$ 。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 1.73 (1H, m, H-1 α), 1.03 (1H, m, H-1 β), 1.70 (1H, m, H-2 α), 1.59 (1H, m, H-2 β), 3.17 (1H, dd, J = 11.6, 4.5 Hz, H-3), 0.76 (1H, m, H-5), 1.57 (1H, m, H-6 α), 1.42 (1H, m, H-6 β), 1.77 (1H, m, H-7 α), 1.66 (1H, m, H-7 β), 1.62 (1H, m, H-9), 1.93 (2H, m, H-11), 5.46 (1H, t, J = 3.8 Hz, H-12), 3.75 (1H, d, J = 4.1 Hz, H-15), 3.78 (1H, d, J = 4.1 Hz, H-16), 2.58 (1H, m, H-18), 2.54 (1H, m, H-19 α), 1.13 (1H, dd, J = 11.7, 3.2 Hz, H-19 β), 4.28 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-21), 5.33 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-22), 0.98 (3H, brs, H-23), 0.78 (3H, s, H-24), 0.97 (3H, brs, H-25), 1.02 (3H, s, H-26), 1.39 (3H, s, H-27), 3.29 (1H, d, J = 11.2 Hz, H-28 α), 3.02 (1H, d, J = 11.2 Hz, H-28 β), 0.99 (6H, brs, H-29, 30), 6.10 (1H, m, H-3'), 2.01 (3H, brd, J = 7.2 Hz, H-4'), 1.96 (3H, brs, H-5'); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 40.2 (C-1), 27.9 (C-2), 79.7 (C-3), 39.8 (C-4), 56.4 (C-5), 19.7 (C-6), 37.2 (C-7), 42.1 (C-8), 48.2 (C-9), 38.2 (C-10), 24.7 (C-11), 126.6 (C-12), 144.0 (C-13), 48.3 (C-14), 68.5 (C-15), 74.8 (C-16), 48.3 (C-17), 41.8 (C-18), 47.8 (C-19), 37.2 (C-20), 76.5 (C-21), 77.7 (C-22), 28.7 (C-23), 16.4 (C-24), 16.2 (C-25), 17.8 (C-26), 20.9 (C-27), 64.1 (C-28), 30.0 (C-29), 19.0 (C-30), 170.8 (C-1'), 129.8 (C-2'), 138.5 (C-3'), 16.0 (C-4'), 21.0

(C-5')。以上数据与文献 [4] 报道基本一致, 故鉴定为 22-*O*-angeloyl-R1-barrigenol。

化合物 **2**: 无色粉末 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 337.203 4 $[M-H]^-$ 。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 6.80 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-2, 6), 7.45 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-3, 5), 7.61 (1H, d, J = 15.8 Hz, H-7), 6.32 (1H, d, J = 15.8 Hz, H-8), 3.76 (3H, s, H-11), 6.75 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-2', 6'), 7.63 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-3', 5'), 6.86 (1H, d, J = 12.8 Hz, H-7'), 5.76 (1H, d, J = 12.8 Hz, H-8'), 3.70 (3H, s, H-11'); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 161.7 (C-1), 116.9 (C-2, 6), 131.2 (C-3, 5), 126.9 (C-4), 146.6 (C-7), 114.7 (C-8), 169.8 (C-9), 52.0 (C-11), 160.3 (C-1'), 115.9 (C-2', 6'), 133.7 (C-3', 5'), 127.5 (C-4'), 145.1 (C-7'), 116.1 (C-8'), 168.8 (C-9'), 51.7 (C-11')。以上数据与文献 [5] 报道基本一致, 故鉴定为 dimethyl 3, 3'-[oxybis (4, 1-phenylene)] (2*E*, 2'*E*) -diacrylate。

化合物 **3**: 无色透明油状 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 317.113 1 $[M-H]^-$ 。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.10 (1H, s, H-2), 7.50 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-4), 7.01 (1H, m, H-5), 7.09 (1H, m, H-6), 7.33 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-7), 3.22 (1H, dd, J = 14.7, 7.2 Hz, H-8 α), 3.29 (1H, dd, J = 14.5, 8.8 Hz, H-8 β), 4.76 (1H, t, J = 7.1 Hz, H-9), 3.66 (3H, s, 10-OCH₃), 3.65 (3H, s, 14-OCH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 124.6 (C-2), 110.3 (C-3), 128.7 (C-3a), 119.1 (C-4), 119.8 (C-5), 122.4 (C-6), 112.3 (C-7), 138.0 (C-7a), 28.4 (C-8), 55.0 (C-9), 173.6 (C-10), 52.7 (10-OCH₃), 168.2 (C-12), 42.0 (C-13), 169.9 (C-14), 52.7 (14-OCH₃)。以上数据与文献 [6] 报道基本一致, 故鉴定为 *N*-(3-methoxy-1, 3-dioxopropyl) -*D*-tryptophan methyl ester。

化合物 **4**: 白色固体 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 261.124 8 $[M + H]^+$ 。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.07 (1H, s, H-2), 7.51 (1H, d, J = 7.9 Hz, H-4), 7.01 (1H, m, H-5), 7.09 (1H, m, H-6), 7.32 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-7), 3.16 (1H, dd, J = 14.7, 7.9 Hz, H-8 α), 3.28 (1H, dd, J = 14.7, 5.9 Hz, H-8 β), 4.72 (1H, dd, J = 7.7, 5.9 Hz, H-9), 3.66 (3H, s, 10-OCH₃), 1.92 (3H, s, H-13); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 124.3 (C-

2), 110.7 (C-3), 128.7 (C-3a), 119.1 (C-4), 119.8 (C-5), 122.4 (C-6), 112.3 (C-7), 138.0 (C-7a), 28.5 (C-8), 55.0 (C-9), 174.0 (C-10), 52.6 (10-OCH₃), 173.2 (C-12), 22.3 (C-13)。以上数据与文献 [7] 报道基本一致, 故鉴定为 *N*-acetyltryptophan methyl ester。

化合物 5: 白色粉末 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 275.276 4 [M-H]⁻。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.10 (1H, s, H-2), 7.51 (1H, dt, J =8.0, 1.0 Hz, H-4), 7.01 (1H, m, H-5), 7.09 (1H, m, H-6), 7.33 (1H, dt, J =8.2, 0.9 Hz, H-7), 3.21 (1H, dd, J =14.6, 7.2 Hz, H-8 α), 3.29 (1H, dd, J =14.6, 5.8 Hz, H-8 β), 4.76 (1H, dd, J =7.2, 5.8 Hz, H-9), 3.65 (3H, s, 10-OCH₃), 3.66 (3H, s, 12-OCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 124.6 (C-2), 110.4 (C-3), 128.7 (C-3a), 119.1 (C-4), 119.8 (C-5), 122.4 (C-6), 112.3 (C-7), 138.0 (C-7a), 28.4 (C-8), 55.0 (C-9), 173.6 (C-10), 52.7 (10-OCH₃), 168.2 (C-12), 52.7 (12-OCH₃)。以上数据与文献 [6] 报道基本一致, 故鉴定为 *N*-(methoxycarbonyl)-tryptophan methyl ester。

化合物 6: 白色针状结晶 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 334.296 2 [M]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 1.73 (1H, dt, J =13.0, 3.5 Hz, H-1 α), 0.99 (1H, m, H-1 β), 1.65 (1H, m, H-2 α), 1.60 (3H, m, H-2 β , 11 α , 13), 3.13 (1H, dd, J =11.7, 4.7 Hz, H-3), 0.74 (1H, m, H-5), 1.56 (1H, m, H-6 α), 1.49 (1H, m, H-6 β), 1.52 (1H, m, H-7 α), 1.29 (1H, m, H-7 β), 1.34 (1H, m, H-9), 1.23 (1H, m, H-11 β), 1.80 (2H, m, H-12 α , 15 α), 1.26 (1H, m, H-12 β), 1.08 (1H, m, H-15 β), 2.16 (1H, m, H-16 α), 1.41 (1H, m, H-16 β), 3.82 (1H, m, H-17), 1.03 (3H, s, H-18), 0.89 (3H, s, H-19), 0.96 (3H, s, H-20), 0.77 (3H, s, H-21), 0.86 (3H, brs, H-22); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 40.4 (C-1), 28.1 (C-2), 79.6 (C-3), 40.1 (C-4), 57.4 (C-5), 19.4 (C-6), 35.8 (C-7), 41.4 (C-8), 52.4 (C-9), 38.4 (C-10), 22.3 (C-11), 25.2 (C-12), 50.9 (C-13), 49.9 (C-14), 31.0 (C-15), 32.8 (C-16), 76.8 (C-17), 16.2 (C-18), 16.8 (C-19), 28.6 (C-20), 16.1 (C-21), 16.8 (C-22)。以上数据与文献 [8] 报道基本一致, 故鉴定为

(3 β , 5 α , 17 β)-4, 4, 8, 14-tetramethyl-18-norandrostane-3, 17-diol。

化合物 7: 白色固体 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 443.351 9 [M-H₂O+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 1.71 (4H, m, H-1 α , 12 α , 15 α , 20), 0.87 (1H, m, H-1 β), 1.63 (2H, m, H-2 α , 21 α), 1.57 (3H, m, H-2 β , 6 α , 11 α), 3.21 (1H, dd, J =11.6, 4.7 Hz, H-3), 0.68 (1H, m, H-5), 1.53 (3H, m, H-6 β , 7 α , 12 β), 1.42 (4H, m, H-7 β , 11 β , 16 β , 21 β), 1.27 (2H, m, H-9, 15 β), 1.80 (1H, m, H-13), 2.03 (1H, m, H-16 α), 1.22 (1H, m, H-22 α), 1.14 (1H, m, H-22 β), 0.97 (3H, s, H-23), 0.76 (3H, s, H-24), 0.82 (6H, s, H-25, 28), 1.02 (3H, s, H-26), 1.04 (3H, s, H-27), 0.95 (3H, d, J =7.1 Hz, H-29), 1.06 (3H, d, J =6.8 Hz, H-30); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 38.7 (C-1), 27.3 (C-2), 79.0 (C-3), 38.8 (C-4), 55.0 (C-5), 18.3 (C-6), 33.2 (C-7), 41.7 (C-8), 50.4 (C-9), 37.0 (C-10), 20.9 (C-11), 23.1 (C-12), 43.2 (C-13), 42.0 (C-14), 29.1 (C-15), 20.1 (C-16), 43.3 (C-17), 76.4 (C-18), 75.7 (C-19), 28.4 (C-20), 23.2 (C-21), 34.5 (C-22), 28.0 (C-23), 15.3 (C-24), 15.8 (C-25), 16.5 (C-26), 15.9 (C-27), 17.9 (C-28), 19.1 (C-29), 18.4 (C-30)。以上数据与文献 [9] 报道基本一致, 故鉴定为 3 β , 18, 19 β -trihydroxylupane。

化合物 8: 白色片状晶体 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 315.190 3 [M-H]⁻。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 3.40 (1H, m, H-3), 5.35 (1H, m, H-6), 2.64 (1H, t, J =9.1 Hz, H-17), 0.63 (3H, s, H-18), 1.03 (3H, s, H-19), 2.13 (3H, s, H-21); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 38.5 (C-1), 31.7 (C-2), 72.4 (C-3), 43.0 (C-4), 142.3 (C-5), 122.2 (C-6), 33.2 (C-7), 32.9 (C-8), 51.6 (C-9), 37.7 (C-10), 22.2 (C-11), 39.9 (C-12), 45.1 (C-13), 58.1 (C-14), 25.5 (C-15), 23.8 (C-16), 64.7 (C-17), 13.6 (C-18), 19.8 (C-19), 212.3 (C-20), 32.3 (C-21)。以上数据与文献 [10] 报道基本一致, 故鉴定为孕烯醇酮。

化合物 9: 无色油状物 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 247.246 1 [M+Na]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 1.65 (1H, dd, J =14.3, 9.1 Hz, H-2 α), 1.27 (1H, dd, J =12.9, 10.9 Hz, H-2 β),

3.76 (1H, m, H-3), 2.31 (1H, m, H-4 α), 1.57 (1H, m, H-4 β), 7.17 (1H, d, $J=15.8$ Hz, H-7), 6.18 (1H, d, $J=15.8$ Hz, H-8), 2.29 (3H, s, H-10), 0.96 (3H, s, H-11), 1.19 (3H, s, H-12), 1.18 (3H, s, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 36.1 (C-1), 47.7 (C-2), 64.4 (C-3), 41.3 (C-4), 68.8 (C-5), 70.9 (C-6), 145.4 (C-7), 133.8 (C-8), 200.0 (C-9), 27.4 (C-10), 25.1 (C-11), 29.8 (C-12), 20.0 (C-13)。以上数据与文献 [11] 报道基本一致, 故鉴定为 3-hydroxy-5, 6-epoxy-7-megastigmen-9-one。

化合物 **10**: 淡黄色油状物 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 223.092 7 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 2.60 (1H, d, $J=17.1$ Hz, H-2 α), 2.29 (1H, d, $J=17.1$ Hz, H-2 β), 5.94 (1H, s, H-4), 6.99 (1H, d, $J=15.8$ Hz, H-7), 6.44 (1H, d, $J=15.8$ Hz, H-8), 2.31 (3H, s, H-10), 1.02 (3H, s, H-11), 1.06 (3H, s, H-12), 1.90 (3H, s, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 42.6 (C-1), 50.4 (C-2), 200.2 (C-3), 127.9 (C-4), 164.5 (C-5), 79.8 (C-6), 148.2 (C-7), 131.6 (C-8), 200.6 (C-9), 27.1 (C-10), 19.0 (C-11), 24.6 (C-12), 23.4 (C-13)。以上数据与文献 [12] 报道基本一致, 故鉴定为 dehydromifoliol。

化合物 **11**: 白色粉末 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 197.117 3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 5.75 (1H, s, H-3), 2.00 (1H, dt, $J=14.4, 2.5$ Hz, H-5 α), 1.53 (1H, dd, $J=14.4, 3.7$ Hz, H-5 β), 4.22 (1H, m, H-6), 2.42 (1H, dt, $J=13.6, 2.5$ Hz, H-7 α), 1.73 (1H, dd, $J=13.0, 4.0$ Hz, H-7 β), 1.76 (3H, s, H-9), 1.47 (3H, s, H-10), 1.28 (3H, s, H-11); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 174.4 (C-2), 113.3 (C-3), 185.7 (C-3a), 37.2 (C-4), 48.0 (C-5), 67.2 (C-6), 46.4 (C-7), 89.0 (C-7a), 31.0 (C-9), 27.4 (C-10), 26.9 (C-11)。以上数据与文献 [13] 报道基本一致, 故鉴定为黑麦草内酯。

化合物 **12**: 黄色油状物 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 395.238 4 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.44 (2H, d, $J=2.2$ Hz, H-3, 3'), 7.23 (2H, dd, $J=8.6, 2.5$ Hz, H-5, 5'), 7.46 (2H, d, $J=8.6$ Hz, H-6, 6'), 1.30 (18H, s, H-8~10, 8'~10'), 1.34 (18H, s, H-12~14, 12'~14'); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 148.8 (C-

1), 148.7 (C-1'), 149.1 (C-2, 2'), 125.9 (C-3, 3'), 139.9 (C-4), 139.8 (C-4'), 125.2 (C-5, 5'), 120.0 (C-6, 6'), 35.9 (C-7, 7'), 31.8 (C-8~10, 8'~10'), 35.5 (C-11, 11'), 30.8 (C-12~14, 12'~14')。以上数据与文献 [14] 报道基本一致, 故鉴定为 2, 2'-氧代双 (1, 4-二叔丁苯)。

化合物 **13**: 无色油状物 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 301.149 7 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.72 (2H, dd, $J=5.7, 3.3$ Hz, H-3, 6), 7.61 (2H, dd, $J=5.7, 3.3$ Hz, H-4, 5), 4.29 (4H, t, $J=6.5$ Hz, H-1', 1''), 1.72 (4H, m, H-2', 2''), 1.45 (4H, m, H-3', 3''), 0.98 (6H, t, $J=7.4$ Hz, H-4', 4''); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 133.6 (C-1, 2), 129.9 (C-3, 6), 132.3 (C-4, 5), 169.3 ($2\times\text{C}=\text{O}$), 66.7 (C-1', 1''), 31.7 (C-2', 2''), 20.3 (C-3', 3''), 14.0 (C-4', 4'')。以上数据与文献 [15] 报道基本一致, 故鉴定为邻苯二甲酸二丁酯。

化合物 **14**: 白色粉末 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 177.063 4 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.48 (2H, d, $J=8.6$ Hz, H-2, 6), 6.83 (2H, d, $J=8.6$ Hz, H-3, 5), 7.65 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-7), 6.36 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-8), 3.78 (3H, s, 4-OCH $_3$); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 127.0 (C-1), 131.2 (C-2, 6), 116.9 (C-3, 5), 161.5 (C-4), 52.0 (4-OCH $_3$), 146.6 (C-7), 114.8 (C-8), 169.8 (C-9)。以上数据与文献 [16] 报道基本一致, 故鉴定为 4-甲氧基肉桂酸。

化合物 **15**: 淡黄色油状物 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 207.074 1 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.17 (1H, s, H-2), 3.76 (3H, s, 3-OCH $_3$), 3.88 (3H, s, 4-OCH $_3$), 6.79 (1H, d, $J=8.1$ Hz, H-5), 7.06 (1H, dd, $J=8.2, 1.7$ Hz, H-6), 7.60 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-7), 6.35 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-8); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 127.1 (C-1), 111.5 (C-2), 149.6 (C-3), 56.4 (3-OCH $_3$), 151.7 (C-4), 52.0 (4-OCH $_3$), 114.7 (C-5), 124.3 (C-6), 147.0 (C-7), 116.6 (C-8), 169.8 (C-9)。以上数据与文献 [17] 报道基本一致, 故鉴定为 3, 4-二甲氧基肉桂酸。

化合物 **16**: 白色粉末 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 151.046 5 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz,

CD₃OD) δ: 7.86 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-2, 6), 6.81 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-3, 5), 3.84 (3H, s, 7-OCH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ: 121.9 (C-1), 132.8 (C-2, 6), 116.3 (C-3, 5), 164.0 (C-4), 168.8 (C-7), 52.2 (7-OCH₃)。以上数据与文献 [18] 报道基本一致, 故鉴定为对羟基苯甲酸甲酯。

化合物 **17**: 黄色粉末 (甲醇), HR-ESI-MS *m/z*: 285.045 8 [M-H]⁻。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ: 8.10 (2H, d, *J* = 8.9 Hz, H-2', 6'), 6.91 (2H, d, *J* = 8.9 Hz, H-3', 5'), 6.18 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6), 6.40 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ: 148.0 (C-2), 137.2 (C-3), 177.4 (C-4), 162.6 (C-5), 99.3 (C-6), 165.6 (C-7), 94.4 (C-8), 160.6 (C-9), 104.5 (C-10), 123.7 (C-1'), 130.7 (C-2', 6'), 116.3 (C-3', 5'), 158.3 (C-4')。以上数据与文献 [19] 报道基本一致, 故鉴定为山柰酚。

化合物 **18**: 黄色针状结晶 (甲醇), HR-ESI-MS *m/z*: 301.040 2 [M-H]⁻。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ: 6.18 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-6), 6.39 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 7.74 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-2'), 6.88 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-5'), 7.63 (1H, dd, *J* = 8.5, 2.2 Hz, H-6'); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ: 124.1 (C-1), 148.8 (C-2), 137.3 (C-3), 177.3 (C-4), 162.5 (C-5), 99.2 (C-6), 165.6 (C-7), 94.4 (C-8), 158.2 (C-9), 104.5 (C-10), 116.0 (C-2'), 146.2 (C-3'), 148.0 (C-4'), 116.2 (C-5'), 121.6 (C-6')。以上数据与文献 [20] 报道基本一致, 故鉴定为槲皮素。

4 体外抗肝癌活性研究

参考文献 [21] 报道, 将 HepG2 细胞置于完全培养基中, 于 37 ℃、5% CO₂ 细胞培养箱中培养, 当细胞生长至面积约占 80%~90% 时, 将其制成密度为 5×10⁴/孔的悬液, 接种于 96 孔板, 培养 24 h, 弃上清, 分为空白组 (1% FBS 培养液+相同浓度的药物溶解介质 DMSO)、对照组 (1% FBS 培养液+相同浓度的药物溶解介质 DMSO+细胞)、阳性药组 (顺铂+1% FBS 培养液+细胞)、样品组 (化合物+1% FBS 培养液+细胞), 除空白组和对照组外, 将浓度分别为 2.5、5、10、20、40 μmol/L 的化合物置于孔板中, 每个浓度设置 3 个复孔, 继续培养 24 h, 吸弃上清液, 每孔加入 100 μL 10% MTT 溶液, 再培养 4 h, 吸弃上清液, 加入 150 μL

DMSO, 置于摇床上避光振荡 10 min 以使孔内结晶充分溶解, 在 490 nm 波长处测定 OD 值, 计算细胞存活率, 公式为细胞存活率 = [(OD_{样品组} - OD_{空白组}) / (OD_{对照组} - OD_{空白组})] ×100%。

结果, 经化合物 **1**、**7**、**8** 处理后的 HepG2 细胞活性明显降低, 并呈剂量依赖性; 在 40 μmol/L 浓度下, 化合物 **1**、**7**、**8** 存活率分别为 13.88%、22.38%、8.54%; 与顺铂 [IC₅₀ = (37.86±0.87) μmol/L] 相比, 化合物 **1**、**7**、**8** 对 HepG2 细胞也具有细胞毒性, IC₅₀ 值分别为 (17.27±0.92)、(19.11±2.14)、(7.53±1.09) μmol/L。

5 讨论

本研究以地锦草为对象, 从其乙酸乙酯部位中分离鉴定出 18 个化合物, 其中化合物 **1**~**16** 为首次从该植物中分离得到。体外抗肿瘤实验表明, 化合物 **1**、**7**、**8** 对 HepG2 细胞有一定的抑制活性, 其中 **1**、**7** 为三萜类, 推测该类成分可能具有抗肝癌作用。以上结果进一步阐明了地锦草化学成分, 提示它们存在结构多样性, 可为相关质量标准制定和药物开发提供研究基础。

参考文献:

[1] 林祖武. HPLC 同时测定不同来源地锦草中 5 个成分的含量[J]. 中药材, 2021, 44(7): 1701-1704.

[2] 侯 静, 黎 理, 蔡 毅. 地锦草组药用植物的研究进展[J]. 华西药学杂志, 2020, 35(2): 218-224.

[3] 刘明靓, 陈叶梓, 张 磊, 等. 地锦草提取物通过 miR-106-5p/TLR4 信号通路改善非酒精性脂肪性肝炎[J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(12): 2026-2033.

[4] Ren Y L, Vanschojack A, Chai H B, *et al.* Cytotoxic barrigenol-like triterpenoids from an extract of *Cyrilla racemiflora* housed in a repository[J]. *J Nat prod*, 2015, 78(10): 2440-2446.

[5] 朱 鸿, 张 再, 黄文忠, 等. 光叶决明中 1 个新的二聚苯丙素类化合物[J]. 中草药, 2020, 51(11): 2871-2877.

[6] Shang Z, Li X M, Li M, *et al.* Chemical profile of the secondary metabolites produced by a deep-sea sediment-derived fungus *Penicillium commune* SD-118 [J]. *Chin J Oceanol Limnol*, 2012, 30(2): 305-314.

[7] King R R, Calhoun L A. Synthesis and NMR characteristics of *N*-acetyl-4-nitro-, *N*-acetyl-5-nitro-, *N*-acetyl-6-nitro and *N*-acetyl-7-nitrotryptophan methyl esters[J]. *Magn Reson Chem*, 2009, 47(3): 273-276.

[8] Chen P, Yan H J, Mei Q X, *et al.* Triterpenoids from the roots and stems of *Rubus alceaefolius*[J]. *Chem Nat Compd*, 2016, 52(2): 248-251.

[9] Guo Y E, Wang L L, Li Z L, *et al.* Triterpenes and xanthenes from the stem bark of *Garcinia tetralata*[J]. *J Asian Nat Prod*

Res, 2011, 13(5): 440-443.

[10] 刘 佳, 苏锦松, 仁真旺甲, 等. 藏药黄葵子的化学成分研究[J]. 中药材, 2022, 45(7): 1623-1626.

[11] 肖 露. 假臭草的活性成分研究[D]. 广州: 广东药科大学, 2020.

[12] Yuan Z G, Zheng X W, Zhao Y, *et al.* Phytotoxic compounds isolated from leaves of the invasive weed *Xanthium spinosum*[J]. *Molecules*, 2018, 23(11): 2840.

[13] 韦 微, 谭锦妮, 黎民靖, 等. 棒柄花化学成分及其抗炎活性研究[J]. 中成药, 2024, 46(5): 1533-1539.

[14] 张妍妍, 甘金月, 卢澄生, 等. 壮药狗蚁草化学成分研究[J]. 中药材, 2021, 44(5): 1138-1141.

[15] 常冠华, 张 鲁, 崔 洁, 等. 甘草地上部分化学成分的分离与鉴定[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(16): 4413-4420.

[16] 孙文博, 杨 洲, 梁 妍, 等. 飞龙掌血根皮的正丁醇部位化学成分研究[J]. 中国药学杂志, 2018, 53(13): 1052-1056.

[17] 何 婷, 赵怡程, 李鹏跃, 等. 滇白珠抗炎镇痛活性部位的化学成分研究[J]. 中草药, 2017, 48(17): 3469-3474.

[18] 李可心, 吕建华, 董 婧, 等. 槐耳发酵液乙酸乙酯部位化学成分的研究[J]. 中成药, 2022, 44(2): 445-450.

[19] 王国军, 杨 莉. 团状雪灵芝化学成分及其抗炎活性的研究[J]. 华西药学杂志, 2019, 34(3): 127-131.

[20] 张珊珊, 韩 月, 侯亚迪, 等. 湖南产山柃乙酸乙酯部位化学成分及抗肿瘤活性研究[J]. 药学报, 2024, 59(6): 1741-1750.

[21] 黎敏航, 马晓聪, 唐 燕, 等. 基于 JAK2/STAT3 信号通路探讨荔枝核总黄酮对 HepG2 增殖、迁移与侵袭的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(22): 85-92.

银叶巴豆枝叶化学成分及其生物活性研究

吕侯颖^{1,2}, 陈惠琴², 王 昊², 袁靖喆², 梅文莉², 刘寿柏^{1*}, 戴好富^{2*}
(1. 海南大学热带农林学院, 热带特色林木花卉遗传与种质创新教育部重点实验室, 海南 海口 570228;
2. 中国热带农业科学院热带生物技术研究所, 海南省黎药资源天然产物研究与利用重点实验室, 海南 海口 571101)

摘要: **目的** 研究银叶巴豆 *Croton cascarilloides* Raeusch. 枝叶化学成分及其生物活性。**方法** 银叶巴豆枝叶 95% 乙醇提取物采用 MCI、硅胶、Sephadex LH-20、半制备 HPLC 进行分离纯化, 根据理化性质及波谱数据鉴定所得化合物的结构。采用 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞模型评价其体外抗炎活性, 牛磺胆酸诱导的 GES-1 损伤模型筛选其胃黏膜保护活性。**结果** 从中分离得到 14 个化合物, 分别鉴定为 bullatantriol (**1**)、(-) -boscialin (**2**)、(+) -dehydrovomifoliol (**3**)、3- (hydroxylacetyl) -indole (**4**)、松脂素 (**5**)、3, 7-dimethyl-octa-1, 7-diene-3, 6-ol (**6**)、(+) -syringaresinol (**7**)、curcasinlignan B (**8**)、臭氏素 C (**9**)、臭氏素 D (**10**)、2, 6-dimethyl-octa-1, 7-dien-3, 6-diol (**11**)、香草醛 (**12**)、香草酸 (**13**)、香草酸甲酯 (**14**)。化合物 **4** 对 LPS 诱导 RAW 264.7 产生 NO 具有一定的抑制作用, 其 IC₅₀ 值为 73.62 μmol/L。25 μmol/L 化合物 **1~4**、**6**、**9~12**、**14** 对胃黏膜上皮细胞的保护率分别为 30.07%、34.18%、23.91%、30.92%、17.51%、19.69%、31.76%、22.46%、30.56%、14.49%。**结论** 化合物 **1~14** 为首次从该植物中分离得到。化合物 **4** 表现出抗炎活性, **1~4**、**6**、**9~12**、**14** 具有不同程度的胃黏膜上皮细胞保护活性。

关键词: 银叶巴豆; 枝叶; 化学成分; 分离鉴定; 抗炎活性; 胃黏膜保护活性

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2025)07-2249-06
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.07.018

收稿日期: 2024-09-10
基金项目: 国家中药材产业技术体系专项项目 (CARS-21); 2023 年度海南省研究生创新科研课题 (Qhys2023-210)
作者简介: 吕侯颖 (2000—), 男, 硕士生, 从事天然产物化学研究。E-mail: 18314810609@163.com
* **通信作者:** 刘寿柏 (1983—), 男, 博士, 讲师, 从事天然产物化学研究。E-mail: liushoubai@hainanu.edu.cn
戴好富 (1974—), 男, 博士, 研究员, 从事天然产物化学研究。E-mail: daihaofu@itbb.org.cn
网络出版日期: 2024-11-20
网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20241120.1001.002.html>.