

本文引用: 梁会娟, 刘伟, 周楠茜, 等. 蓝萼香茶菜化学成分与生物活性研究[J]. 新乡医学院学报, 2014, 31 (3): 161-165.

【基础研究】

## 蓝萼香茶菜化学成分与生物活性研究

梁会娟<sup>1</sup>, 刘伟<sup>1</sup>, 周楠茜<sup>2</sup>, 白素平<sup>3</sup>

(1. 新乡医学院第三附属医院药剂科, 河南 新乡 453003; 2. 新乡医学院第三附属医院超声诊断科, 河南 新乡 453003; 3. 新乡医学院药学院, 河南 新乡 453003)

**摘要:** 目的 研究蓝萼香茶菜叶的化学成分, 为进一步研究其生物活性提供依据。方法 利用硅胶柱层析对蓝萼香茶菜叶进行分离和纯化其化合物, 用波谱分析方法鉴定其结构, 并运用四甲基偶氮唑盐比色法对从该植物中分离得到的部分化合物进行了细胞毒性筛选。结果 从蓝萼香茶菜叶中分离鉴定了 10 个化合物, 分别是蓝萼香茶菜庚素(1)、蓝萼香茶菜辛素(2)、蓝萼香茶菜壬素(3)、蓝萼香茶菜甲素(4)、蓝萼香茶菜乙素(5)、毛叶醇(6)、*ent*-kaurane-3 $\beta$ , 16 $\beta$ -diol (7)、木犀草素-7-甲醚(8)、胡麻素(9)、水杨酸(10)。其中化合物 1、4、5 具有较强的细胞毒性。结论 化合物 1、2、3、6、7、9、10 首次从蓝萼香茶菜中分离得到, 且化合物 1、4、5 对肿瘤细胞的增殖具有明显的抑制作用。

**关键词:** 蓝萼香茶菜; 化学成分; 细胞毒性

**中图分类号:** R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239 (2014) 03-0161-05

### Chemical constituents and bioactivity of *Isodon japonica* var. *glaucoalyx*

LIANG Hui-juan<sup>1</sup>, LIU Wei<sup>1</sup>, ZHOU Nan-qian<sup>2</sup>, BAI Su-ping<sup>3</sup>

(1. Department of Pharmacy, the Third Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, China; 2. Department of Diagnostic Ultrasound, the Third Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, China; 3. School of Pharmacy, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, China)

**Abstract:** **Objective** To study the chemical constituents of *Isodon japonica* var. *glaucoalyx* and provide guidance for further investigation of its bioactivity. **Methods** *Isodon japonica* var. *glaucoalyx* were separated and purified by silica gel column chromatography and their structures were determined by spectroscopic methods. The cytotoxic activity of some of the compounds which isolated from the *Isodon japonica* var. *glaucoalyx* was screened by methyl thiazolyl tetrazolium assay. **Results** Ten compounds were separated and purified from *Isodon japonica* var. *glaucoalyx*. All these compounds were identified as follows: glaucocalyxin C (1), 7 $\alpha$ , 14 $\beta$ -dihydroxy-16-methoxy-methyl-*ent*-kaur-3, 15-dione (2), (16R)-methyl-3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ , 14 $\beta$ -trihydroxy-*ent*-kaur-15-one (3), glaucocalyxin A (4), glaucocalyxin B (5), rabsdosinanol (6), *ent*-kaurane-3 $\beta$ , 16 $\beta$ -diol (7), 7-methyl-luteolin (8), pedalin (9), o-Hydroxy-benzoic acid (10). Compounds 1, 4 and 5 had strong cytotoxic activity. **Conclusion** Compounds 1, 2, 3, 6, 7, 9 and 10 were separated from the genus of *Isodon japonica* var. *glaucoalyx* for the first time. Compounds 1, 4 and 5 have apparente depressant effect on tumor cell.

**Key words:** *Isodon japonica* var. *glaucoalyx*; chemical constituents; biological activity

蓝萼香茶菜 [*Isodon japonica* (Burm. f.) Hara Var. *glaucoalyx* (maxin) Hara], 系唇形科 (Labiatae) 香茶菜属 (*Isodon*) 植物, 分布在我国东北和华北地区、朝鲜、日本和原苏联远东地区, 我国吉林省资源尤其丰富。蓝萼香茶菜具有健胃、清热解毒、活血、抗菌消炎和抗癌活性, 用于胃炎、肝炎初期、感冒

发热、乳腺炎、关节痛等疾病<sup>[1]</sup>。为从蓝萼香茶菜中寻找新的生物活性成分, 本研究对采自河南省云梦山的蓝萼香茶菜叶进行了化学成分研究。

### 1 材料与方法

**1.1 材料与仪器** 熔点用 Kofler 显微熔点仪测定 (温度计未校正, 上海精密仪器有限公司); 氢核磁共振波谱 (<sup>1</sup>H nuclear magnetic resonance spectrum, <sup>1</sup>H-NMR) 与碳核磁共振波谱 (<sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance spectrum, <sup>13</sup>C-NMR) 由德国 Bruker 公司 Bruker AM-400 型超导核磁共振波谱仪测定, 四甲基

DOI: 10.7683/xyxyxb.2014.03.001

收稿日期: 2013-10-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (编号: 81072552)

作者简介: 梁会娟 (1983-), 女, 河南卫辉人, 硕士, 初级药师, 主要从事临床药学及天然药物活性成分研究。

通信作者: 白素平 (1965-), 女, 河南辉县人, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事天然药物活性成分及其构效关系研究。

硅烷(tetramethylsilane, TMS)为内标;红外光谱(infrared spectrum, IR)由美国 Nicolet 公司生产的 Bio-Rad FTS-135 型红外光谱仪测定,溴化钾压片;比旋光 $[\alpha]_D^{20}$ 由美国 Perkin-Elmer 公司生产的 Perkin-Elmer 341 自动记录旋光仪测定;质谱(electron ionization mass spectrum, EI-MS)数据由美国 HP 公司生产的 HP-5988A GC/MS 质谱仪测定,高分辨电喷雾飞行时间质谱(HR-ESI-TOF-MS)和电喷雾飞行时间串联质谱(ESI-TOF-MS/MS)数据由英国 Micromass 公司生产的 Micomass Q-TOF Micro™ 质谱仪测定;柱层析用硅胶(200~300目)及薄层层析(thin layer chromatography, TLC)用硅胶 GF254 均由青岛海洋化工厂生产;TLC 在 254 nm 紫外灯下检测;薄层显色剂:体积分数 5% 浓硫酸-乙醇溶液加热显色;所用丙酮、甲醇、氯仿等试剂均为分析纯。

蓝萼香茶菜于 2008 年 8 月采自河南省云梦山,植物标本由河南农业大学植物分类教研室朱长山教授鉴定,植物标本(编号:200809)现存放于新乡医学院中药标本馆。

阳性对照药物氟尿嘧啶(fluroracil, FU)由上海旭东药业有限公司提供,批号:091102;人食管癌细胞(esophageal cancer-1 cells, EC-1)、人脑星形胶质母细胞瘤细胞(human glioblastoma cells, U87MG)、人肺癌细胞(human lung cancer cells, A549)、人乳腺癌细胞(human breast cancer cells, MCF-7)、人宫颈癌细胞(human cervica cancer cells, Hela)、人慢性髓原白血细胞(K562)、人肝癌细胞(human hepatoma cell lines, Hep G<sub>2</sub>)均购自中国科学院上海生命科学研究院细胞库。

**1.2 提取与分离** 将阴干粉碎的蓝萼香茶菜叶 10 kg 用丙酮:水( $v/v$  7:3)混合溶剂室温浸泡提取 3 次,每次提取 7 d,过滤,滤液减压浓缩至无丙酮味,水液放置 2 d 沉淀,过滤,滤液用乙酸乙酯萃取,萃取液减压浓缩得浸膏 310 g。浸膏用甲醇:水( $v/v$  8:2)完全溶解后,加入到 D101 大孔吸附树脂柱中,待完全吸附后,用甲醇:水( $v/v$  8:2, 9:1)及甲醇进行梯度洗脱(除去部分色素),甲醇:水( $v/v$  8:2)部分洗脱液浓缩,浸膏拌 200~300 目硅胶 400 g,经硅胶柱(12 cm × 150 cm, 3 500 g, 200~300 目,干法上柱)层析,以氯仿:甲醇(1:0, 50:1, 20:1, 10:1, 7:1, 5:1, 2:1, 0:1)为洗脱剂进行梯度洗脱,收集各个馏分,经 TLC 检测、合并得

Fr. 1~Fr. 6 6 个部分。Fr. 2 氯仿:甲醇(50:1)部分经过硅胶柱层析,氯仿:丙酮(1:0, 30:1, 20:1, 10:1, 5:1)梯度洗脱得到大量白色沉淀物,用丙酮反复重结晶得化合物 4 (28.5 g),母液浓缩通过氯仿/甲醇梯度洗脱得到化合物 5 (8.2 g)。Fr. 3 氯仿:甲醇(30:1)洗脱部分经过硅胶柱层析,氯仿:丙酮(30:1, 20:1, 10:1, 5:1)梯度洗脱得到化合物 2 (210 mg)和化合物 10 (15 mg)。Fr. 4 氯仿:甲醇(20:1)洗脱部分经过硅胶柱层析,氯仿:丙酮(30:1, 20:1, 10:1, 5:1)梯度洗脱后,分为 4 个部分: $C_1 \sim C_4$ ;从  $C_1$  和  $C_2$  部分通过丙酮反复重结晶分别得到化合物 6 (17 mg)和化合物 3 (30 mg), $C_3$  部分经过反复硅胶柱层析得到化合物 1 (15 mg), $C_4$  部分通过硅胶柱层析,石油醚(60~90℃)/乙酸乙酯梯度洗脱,得到化合物 7 (28 mg)。Fr. 5 氯仿:甲醇(10:1)洗脱部分经过硅胶柱层析,氯仿:丙酮(20:1, 10:1, 5:1, 3:1)梯度洗脱后,得到化合物 8 (48 mg)和化合物 9 (35 mg)。应用色谱分离技术及重结晶等方法对化合物进行分离,并运用现代波谱技术( $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$  和 EI-MS)鉴定化合物的化学结构。根据其波谱数据与文献[3-10]比较,确定了化合物 1~10 的结构。

**1.3 细胞毒活性测试** EC-1、U87MG、A549、MCF-7、Hela、K562、Hep G<sub>2</sub> 细胞株用含体积分数 10% 小牛血清 RPMI 1640/MEM 培养基在 37℃、体积分数 5% CO<sub>2</sub> 条件下培养,培养到对数生长期。细胞存活率用四甲基偶氮唑盐比色法(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)<sup>[2]</sup>测定,MTT 在活细胞线粒体脱氢酶作用下,发生还原反应,生成紫色 formazane 结晶,溶于二甲亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)中显紫蓝色,在 570 nm 处有较大光吸收。细胞存活率按下式计算:细胞存活率(%) = (实验组  $A_{570}$  - 阴性对照组  $A_{570}$ ) / (阳性组  $A_{570}$  - 阴性对照组  $A_{570}$ ) × 100%。计算出半抑制率(half maximal inhibitory concentration of a substance, IC<sub>50</sub>)值。

**1.4 统计学处理** 细胞毒活性测试数据统计应用 SPSS 16.0 统计软件进行分析,数据以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用单因素方差分析和  $t$  检验,检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

**2.1 化合物结构鉴定结果** 化合物 1~10 的结构见图 1。

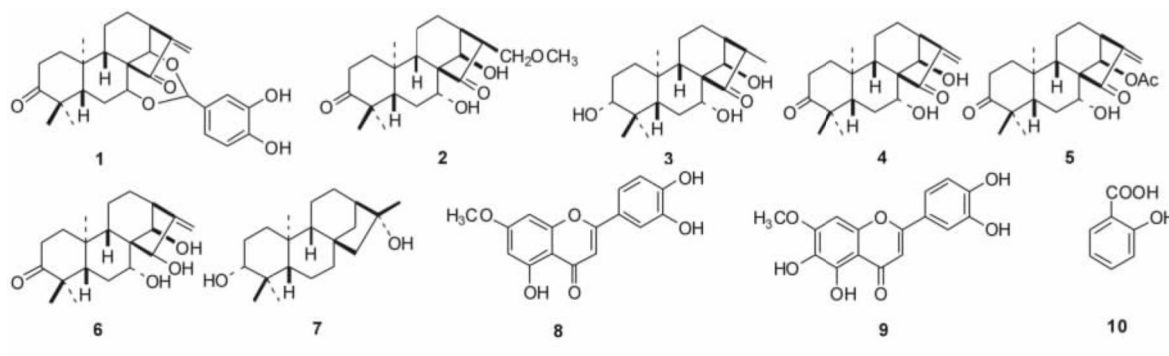


图1 化合物1~10的结构

Fig.1 Structure of compounds 1–10

**2.1.1 化合物1** 无色棱柱状晶体(甲醇), mp. 272.0~274.0 °C;  $[\alpha]_D^{20}$ : 141.0° (c 0.50, 吡啶)。根据 HR-ESI-TOF-MS  $[M + Na]^+$   $m/z$  475.209 4 ( $M + Na$  计算值 475.209 7) 可推出分子式为  $C_{27}H_{32}O_6$ 。 $^1H$ -NMR ( $C_5D_5N$ , 400 MHz)  $\delta$ : 7.65 (br s, 1H, H-7'), 7.23 (br s, 1H, H-3'), 7.23 (br s, 1H, H-6'), 6.27 (s, 1H, H-1'), 6.24 (s, 1H, H-17a); 5.33 (s, 1H, H-17b), 4.79 (br s, 1H, H-14, ax), 4.68 (dd, 1H,  $J = 12.4, 4.8$ , H-7, ax), 3.19 (br s, 1H, H-13, eq), 1.10 (s, 3H, Me-18), 1.08 (s, 3H, Me-20), 1.03 (s, 3H, Me-19);  $^{13}C$ -NMR ( $C_5D_5N$ , 100 MHz)  $\delta$ : 214.9 (s, C-3), 205.8 (s, C-15), 148.1 (s, C-5'), 147.8 (s, C-16), 147.0 (s, C-4'), 131.3 (s, C-2'), 118.5 (d, C-3'), 116.4 (d, C-17), 115.9 (d, C-6'), 115.1 (d, C-7'), 94.2 (d, C-1'), 77.6 (d, C-14), 72.8 (d, C-7), 55.6 (s, C-8), 51.8 (d, C-9), 51.0 (d, C-5), 47.2 (s, C-4), 43.7 (d, C-13), 38.3 (s, C-10), 37.8 (t, C-1), 34.2 (t, C-2), 31.0 (t, C-12), 26.2 (q, C-18), 23.5 (t, C-6), 21.3 (q, C-19), 18.2 (t, C-11), 16.7 (t, C-20)。确定化合物1为蓝萼香茶菜庚素。

**2.1.2 化合物2** 无色块状晶体(甲醇), mp. 181.0~183.0 °C;  $[\alpha]_D^{20}$ : -165.0° (c 0.53,  $CHCl_3$ )。根据 HRESI-TOF-MS  $[M + Na]^+$   $m/z$  387.214 3 ( $M + Na$  计算值 387.214 7) 可推出分子式为  $C_{21}H_{32}O_5$ 。 $^1H$ -NMR ( $DMSO-d_6$ , 400 MHz)  $\delta$ : 6.03 (s, 1H, OH-14), 5.81 (d, 1H,  $J = 5.9$ , OH-7), 4.80 (s, 1H, H-14, ax), 3.89 (ddd, 1H,  $J = 11.1, 5.9, 5.7$ , H-7, ax), 3.46 (dd, 1H,  $J = 9.6, 9.6$ , H-17a), 3.70 (dd, 1H,  $J = 9.6, 4.5$ , H-17b), 3.28 (s, 3H), 3.00 (ddd, 1H,  $J = 9.6, 6.5, 4.5$ , H-16), 1.04 (s, 3H, Me-18), 0.99 (s, 3H, Me-20), 0.98 (s, 3H, Me-19);  $^{13}C$ -NMR ( $DMSO-d_6$ , 100 MHz)  $\delta$ : 218.0 (s, C-15), 216.3 (s, C-3), 74.3 (d, C-14), 73.1 (d, C-7), 68.2 (t, C-17),

60.2 (s, C-8), 58.4 (q, -OCH<sub>3</sub>), 55.5 (d, C-9), 53.0 (d, C-9), 51.0 (d, C-5), 48.9 (d, C-16), 46.2 (s, C-4), 40.1 (d, C-13), 38.0 (s, C-10), 37.4 (t, C-1), 33.5 (t, C-2), 30.1 (t, C-6), 27.2 (q, C-18), 20.8 (q, C-19), 17.9 (t, C-11), 17.8 (q, C-20)。确定化合物2为蓝萼香茶菜辛素。

**2.1.3 化合物3** 无色针状结晶(甲醇), mp. 153.0~155.0 °C,  $[\alpha]_D^{20}$ : -104.8° (c 0.52,  $CH_3OH$ )。HR-ESI-TOF-MS:  $m/z$  359.219 6  $[M + Na]^+$  ( $C_{20}H_{32}O_4Na$ , 计算值 359.219 8), 结合  $^{13}C$ -NMR 和 DEPT 谱推出分子式为  $C_{20}H_{32}O_4$ 。 $^1H$ -NMR ( $C_5D_5N$ , 400 MHz)  $\delta$ : 5.20 (br s, 1H, H-14), 4.6 (dd, 1H,  $J = 12.0, 3.8$ , H-7, ax), 3.35 (dd, 1H,  $J = 9.6, 6.8$ , H-3, ax), 3.21 (dq, 1H,  $J = 7.2, 7.2$ , H-16), 2.56 (m, 1H, H-13), 1.25 (br d, 1H,  $J = 16.8$ , H-9, ax), 1.17 (d, 3H,  $J = 7.2$ , Me-17), 0.96 (dd, 1H,  $J = 12.0$ , H-5, ax), 1.04 (s, 3H, Me-18), 1.03 (s, 3H, Me-20), 0.98 (s, 3H, Me-19);  $^{13}C$ -NMR ( $C_5D_5N$ , 100 MHz)  $\delta$ : 222.0 (s, C-15), 75.5 (d, C-14), 75.0 (d, C-7), 77.6 (d, C-3), 61.0 (s, C-8), 55.0 (d, C-9), 52.8 (d, C-5), 43.4 (d, C-16), 42.9 (d, C-13), 39.4 (s, C-10), 39.2 (s, C-4), 38.0 (t, C-1), 29.8 (t, C-6), 28.7 (q, C-18), 28.1 (t, C-2), 25.0 (t, C-12), 18.1 (q, C-20), 17.7 (t, C-11), 16.5 (qt, C-19), 9.6 (q, C-7)。确定化合物3为蓝萼香茶菜壬素。

**2.1.4 化合物4** 无色棱柱状晶体(丙酮), 分子式:  $C_{20}H_{28}O_4$ , mp. 218.0~220.0 °C; EI-MS  $[M]^+$   $m/z$  332;  $^1H$ -NMR ( $C_5D_5N$ , 400 MHz)  $\delta$ : 6.23, 5.43 (1H, br s, H2-17), 4.96 (1H, s, OH-14 $\alpha$ ), 4.54 (1H, d,  $J = 12.0$  Hz, H-7 $\beta$ ), 3.18 (1H, br s, H-13 $\alpha$ ), 1.08, 1.05 和 1.00 (3  $\times$  3H, s, 3  $\times$  Me);  $^{13}C$ -NMR ( $C_5D_5N$ , 100 MHz)  $\delta$ : 216.3 (s, C-3), 207.5 (s, C-15), 149.4 (s, C-16), 116.7 (t, C-17), 75.2 (d, C-14), 73.6 (s,

C-7), 61.4 (s, C-8), 53.3 (d, C-9), 51.2 (d, C-5), 46.8 (s, C-4), 46.7 (d, C-13), 38.9 (s, C-10), 38.2 (t, C-1), 34.1 (t, C-2), 31.1 (t, C-12), 30.8 (t, C-6), 27.5 (q, C-18), 21.2 (q, C-19), 18.4 (q, C-20), 18.2 (t, C-11)。确定化合物4为蓝萼香茶菜甲素。

**2.1.5 化合物5** 无色棱柱状晶体(丙酮), 分子式:  $C_{22}H_{30}O_5$ ; mp. 190.0 ~ 192.0 °C; EI-MS  $[M]^+$   $m/z$  374;  $^1H$ -NMR ( $C_5D_5N$ , 400 MHz)  $\delta$ : 6.14, 5.49 (1H, s, H-17a/b), 5.59 (1H, s, H-14 $\alpha$ ), 4.42 (1H, dd,  $J$  = 11.0, 3.0 Hz, H-7 $\beta$ ), 3.13 (1H, br s, H-13 $\alpha$ ), 2.01 (1H, s, OAc), 1.23, 1.09, 1.08 (3  $\times$  3H, s, 3  $\times$  Me);  $^{13}C$ -NMR ( $C_5D_5N$ , 100 MHz)  $\delta$ : 216.6 (s, C-3), 206.4 (s, C-15), 171.2 (s, C-2'), 147.9 (s, C-16), 116.6 (t, C-17), 75.2 (d, C-14), 72.0 (d, C-7), 62.4 (s, C-8), 54.7 (d, C-9), 51.7 (d, C-5), 46.8 (s, C-4), 44.6 (d, C-13), 39.1 (s, C-10), 38.1 (t, C-1), 34.1 (t, C-2), 32.6 (t, C-12), 29.8 (t, C-6), 27.5 (q, C-18), 22.0 (q, C-19), 21.2 (q, C-1'), 18.4 (q, C-20), 18.1 (t, C-11)。确定化合物5为蓝萼香茶菜乙素。

**2.1.6 化合物6** 无色块状结晶(丙酮), 分子式:  $C_{20}H_{30}O_4$ ; mp. 271.0 ~ 272.5 °C;  $[\alpha]_D^{20}$ : -108.0° ( $c$  0.001, MeOH);  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $C_5D_5N$ , ppm, TMS)  $\delta$ : 7.20 (2H, br s, 2  $\times$  OH), 4.88 (1H, br s, OH), 5.96 (1H, br s, H-15 $\alpha$ ), 5.68 和 5.30 (2  $\times$  1H, br s, H<sub>2</sub>-17), 5.01 (1H, s, H-14 $\alpha$ ), 4.35 (1H, dd,  $J$  = 13.5, 6.0 Hz, H-7 $\beta$ ), 3.02 (1H, br s, H-13 $\alpha$ ), 1.08, 1.05 和 1.02 (3  $\times$  3H, s, 3  $\times$  CH<sub>3</sub>);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $C_5H_5N$ , ppm, TMS)  $\delta$ : 216.6 (s, C-3), 159.3 (s, C-16), 106.7 (t, C-17), 77.0 (d, C-15), 74.9 (d, C-14), 72.9 (s, C-7), 54.3 (s, C-8), 51.7 (d, C-9), 50.2 (d, C-5), 47.4 (d, C-13), 46.7 (s, C-4), 39.3 (t, C-1), 38.4 (s, C-10), 34.2 (t, C-2), 33.1 (t, C-12), 31.8 (t, C-6), 27.5 (q, C-18), 21.2 (q, C-19), 18.4 (q, C-20), 11.4 (t, C-11)。确定化合物6为毛叶醇。

**2.1.7 化合物7** 白色粉末(甲醇), 分子式:  $C_{20}H_{34}O_2$ ; mp. 202.0 ~ 203.0 °C;  $[\alpha]_D^{20}$ : -36.8° ( $c$  0.19, CHCl<sub>3</sub>); EI-MS  $m/z$ : 306  $[M]^+$ ;  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $C_5D_5N$ , ppm, TMS)  $\delta$ : 1.11, 1.00 和 0.92 (3  $\times$  3H, s, CH<sub>3</sub>-18, 19, 20), 1.48 (1H, s, CH<sub>3</sub>-17), 2.06 (1H, br s, H-13), 3.12 (1H, m, H-3 $\alpha$ );  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $C_5H_5N$ , ppm, TMS)  $\delta$ : 78.1 (t, C-3), 77.8 (s, C-16), 58.5 (t, C-15), 57.1 (d, C-5), 55.5 (d, C-13), 49.1 (d, C-9), 45.3 (s, C-8), 42.6 (t, C-14),

39.3 (s, C-4, 10), 39.1 (t, C-1), 37.9 (t, C-7), 29.0 (q, C-18), 28.1 (t, C-2), 27.3 (d, C-12), 25.1 (q, C-17), 20.6 (t, C-6), 18.5 (t, C-11), 18.2 (q, C-19), 16.4 (q, C-20)。确定化合物7为 *ent*-kaurane-3 $\beta$ , 16 $\beta$ -diol。

**2.1.8 化合物8** 黄色针晶(甲醇), 分子式:  $C_{16}H_{12}O_6$ ; mp. 270.0 ~ 271.0 °C;  $^1H$ -NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ , ppm, TMS)  $\delta$ : 13.0 (s, 1H, -OH),  $\delta_H$  6.89 (1H, d,  $J$  = 7.6 Hz, H-5'), 7.43 (1H, d,  $J$  = 8.0 Hz, H-6'), 7.44 (1H, s, H-2'), 6.36 (s, 1H, H-3), 3.85 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ , ppm, TMS)  $\delta$ : 182.5 (s, C-4), 165.8 (s, C-2), 164.9 (s, C-7), 157.9 (s, C-9), 150.5 (s, C-4'), 146.4 (s, C-3'), 122.1 (s, C-1'), 119.7 (d, C-6'), 114.2 (d, C-2'), 105.3 (s, C-10), 103.7 (d, C-3), 98.6 (d, C-6), 93.2 (d, C-8), 56.7 (s, -OCH<sub>3</sub>)。确定化合物8为木犀草素-7-甲醚。

**2.1.9 化合物9** 黄色粉末(甲醇), 分子式:  $C_{16}H_{12}O_7$ ; mp. 300.0 ~ 302.0 °C, 1R (KBr): 3 400, 1 670, 1 600, 1 500, 1 350, 1 280, 1 200, 1 120, 1 030  $cm^{-1}$ ; UV (MeOH) max (nm): 284, 345;  $^1H$ -NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ , ppm, TMS)  $\delta$ : 3.91 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 6.69 (1H, s, H-3), 6.69 (1H, s, H-8), 6.89 (1H, d,  $J$  = 8.4 Hz, H-5'), 7.42 (1H, s, H-2'), 7.44 (1H, d,  $J$  = 8.4 Hz, H-6'), 8.72, 9.32, 9.95, 12.66 (4  $\times$  1H, s, OH-4, 3, 6, 5);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 164.6 (s, C-2), 103.2 (d, C-3), 182.7 (s, C-4), 150.3 (s, C-5), 130.5 (s, C-6), 155.0 (s, C-7), 91.6 (d, C-8), 146.9 (s, C-9), 105.6 (s, C-10), 122.4 (s, C-1), 114.1 (C-2'), 146.4 (s, C-3'), 150.3 (s, C-4'), 116.6 (d, C-5'), 119.5 (d, C-6), 56.9 (s, -OCH<sub>3</sub>)。确定化合物9为胡麻素。

**2.1.10 化合物10** 无色针状晶体(甲醇), 分子式:  $C_7H_6O_3$ ; mp. 211.0 °C; EI-MS  $m/z$  (%): 138 (55,  $M^+$ ), 120 (100), 92 (100), 64 (60);  $^1H$ -NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ , ppm, TMS)  $\delta$ : 7.79 (1H, dd,  $J$  = 7.6, 1.2 Hz, H-3), 7.52 (1H, dt,  $J$  = 7.6, 1.7 Hz, H-5), 6.95 (1H, d,  $J$  = 7.6 Hz, H-6), 6.89 (1H, d,  $J$  = 7.6 Hz, H-4);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 172.6 (s, C-1'), 113.6 (s, C-1), 161.8 (s, C-2), 117.8 (d, H-3), 130.3 (d, C-4), 119.9 (d, C-5), 130.9 (d, C-6)。确定化合物10为水杨酸。

**2.2 细胞毒活性测试结果** 由蓝萼香茶菜分离出的化合物1、4、5的细胞毒活性测试结果见表1。根据3种受试化合物对各种肿瘤细胞的 IC<sub>50</sub>值分析可

知:化合物 1 对 EC-1、U87MG、MCF-7、Hela、K562 和 Hep G<sub>2</sub> 细胞 IC<sub>50</sub> 均小于 20 μmol · L<sup>-1</sup>, 有较强的细胞毒活性; 与阳性对照组相比, 化合物 1 对 EC-1 细胞作用 IC<sub>50</sub> 与 FU 作用 IC<sub>50</sub> 相当, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 对 A549 细胞作用其 IC<sub>50</sub> 大于 FU, 对 U87MG、Hela、K562、MCF-7 和 Hep G<sub>2</sub> 细胞 IC<sub>50</sub> 均小于 FU, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

化合物 1 对 EC-1、U87MG、MCF-7、Hela、K562 及 Hep G<sub>2</sub> 细胞均具有较强的细胞毒性, 与阳性对照组相比, 化合物 1 对 EC-1 细胞作用与 5-FU 作用相当, 对 A549 细胞作用不及 FU 强, 对 U87MG、Hela、K562 及 Hep G<sub>2</sub> 细胞增殖抑制作用均较 FU 强, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

化合物 4 对 EC-1、U87MG、Hela、K562 和 Hep G<sub>2</sub> 细胞的 IC<sub>50</sub> 均小于 10 μmol · L<sup>-1</sup>, 与阳性对照组

相比, 化合物 4 对上述肿瘤细胞株 IC<sub>50</sub> 值均小于 FU 的 IC<sub>50</sub> 值, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 对 A549 细胞 IC<sub>50</sub> 为 (31.29 ± 2.99) μmol · L<sup>-1</sup>, 小于 FU 处理组, 差异也有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 对 MCF-7 细胞其 IC<sub>50</sub> 大于 100 μmol · L<sup>-1</sup>。

化合物 5 结构与化合物 4 相似, 对 MCF-7 细胞其 IC<sub>50</sub> 为 (148.06 ± 7.12) μmol · L<sup>-1</sup>, 大于 100 μmol · L<sup>-1</sup>, 且大于阳性对照组 FU 对 MCF-7 细胞的 IC<sub>50</sub>; 而化合物 5 对 EC-1、U87MG、Hela 和 K562 细胞的 IC<sub>50</sub> 均小于 20 μmol · L<sup>-1</sup>, 对 A549 细胞的 IC<sub>50</sub> 为 (21.13 ± 1.57) μmol · L<sup>-1</sup>。与阳性对照组比较, 化合物 5 对 U87MG、A549、Hela 和 K562 肿瘤细胞株 IC<sub>50</sub> 均小于 FU, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

表 1 二萜化合物 1、4 和 5 对人肿瘤细胞株的细胞毒活性

化合物	IC <sub>50</sub> / (μmol · L <sup>-1</sup> )						
	EC-1	U87MG	A549	MCF-7	Hela	K562	Hep G <sub>2</sub>
FU	5.90 ± 0.49	28.41 ± 4.55	120.36 ± 3.79	21.08 ± 1.07	300.70 ± 11.28	108.66 ± 5.76	10.35 ± 0.64
1	3.17 ± 0.16	3.65 ± 0.21 <sup>a</sup>	238.76 ± 10.66	10.95 ± 1.04	3.65 ± 0.31 <sup>a</sup>	1.86 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.97 ± 0.05 <sup>a</sup>
4	0.29 ± 0.02 <sup>a</sup>	5.89 ± 0.94 <sup>a</sup>	31.29 ± 2.99 <sup>a</sup>	274.47 ± 19.36	8.19 ± 1.96 <sup>a</sup>	9.47 ± 1.33 <sup>a</sup>	2.69 ± 0.17 <sup>a</sup>
5	16.68 ± 1.67	8.97 ± 1.25 <sup>a</sup>	21.13 ± 1.57 <sup>a</sup>	148.06 ± 7.12	6.37 ± 0.05 <sup>a</sup>	12.81 ± 2.44 <sup>a</sup>	7.43 ± 1.15 <sup>a</sup>

注: FU 为阳性对照物 (纯度为 99%); 化合物 1、4 和 5 为测试物 (纯度大于 98%)。与 FU 组比较<sup>a</sup>  $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

从蓝萼香茶菜分离得到的 10 个化合物中, 其中 7 个化合物 1、2、3、6、7、9、10 首次从蓝萼香茶菜中分离得到。用 MTT 法测试了化合物 1、4 和 5 对 7 种癌细胞株 EC-1、U87MG、A549、MCF-7、Hela、K562 和 Hep G<sub>2</sub> 细胞的增殖抑制活性。实验表明, 化合物 4、5 对体外培养的 EC-1、U87MG、A549、Hela 和 K562 细胞有较强的细胞毒活性, 表现出显著的抗肿瘤活性; 而化合物 1 对 EC-1、U87MG、Hela、K562、MCF-7 和 Hep G<sub>2</sub> 细胞具有明显的细胞毒作用, 同样表现出显著的抗肿瘤活性, 并且化合物 1、4 和 5 均为含有一个 α-亚甲基环戊酮结构单元的对映-贝壳杉烷类二萜, 由此推断该类二萜的抗癌活性中心可能是 α-亚甲基环戊酮结构单元。因此, 本研究认为具有 α-亚甲基环戊酮结构单元的对映-贝壳杉烷类二萜化合物 1、4、5 可以作为抗肿瘤药物的先导化合物, 具有一定的应用前景, 为开发中草药资源, 寻找抗癌活性物质的研究提供了新的思路。

#### 参考文献:

[1] 严仲铠, 李万林. 中国长白山药物植物彩色图志 [M]. 北京: 人

民卫生出版社, 1997: 367.

- [2] Price P, Mcmillan T J. Use of the tetrazolium assay in measuring the response of human tumor cells to ionizing radiation [J]. *Cancer Res*, 1990, 50 (5): 1392-1397.
- [3] Liang H J, Zhang Y X, Hai G F, et al. Isolation, structural elucidation, and cytotoxicity of three new ent-kaurane diterpenoids from *Isodon japonica* var. *Glaucocalyx* [J]. *Planta Medica*, 2012, 78 (6): 589-596.
- [4] Kim D, Chang R, Shen X, et al. Diterpenoids from *rabdosia japonica* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31 (2): 677-699.
- [5] 刘晨江, 赵志鸿, 王庆端, 等. 蓝萼丙素的结构 [J]. 云南植物研究, 1988, 10 (4): 471-474.
- [6] 汪茂田, 赵天增, 李继成, 等. 毛叶酯和毛叶醇的化学结构 [J]. 化学学报, 1987, 45 (9): 871-874.
- [7] Mootoo T, Hernita A, Yoshinori A. Terpenoids of the liverwort *frullanoides densifolia* and *trocholejeunea sandvicensis* [J]. *Phytochemistry*, 1993, 32 (2): 335-348.
- [8] 沈晓丹, 王冰, 刘春宇, 等. 蓝萼香茶菜的化学成分研究 (I) [J]. 中草药, 2009, 40 (12): 1883-1885.
- [9] 张晓峰, 胡伯林, 王新生. 唐古特青兰的化学成分 [J]. 植物学报, 1994, 36 (8): 645-648.
- [10] Marianna H, Jean F B, Mourad K, et al. Monohydroxy and 2,5-dihydroxy terephthalic acids [J]. *J Natural Products*, 1988, 51 (5): 977-980.

(本文编辑: 徐刚珍 英文编辑: 孟 月)