

烟管头草的化学成分及其细胞毒活性

冯树慧^{1,2}, 张卫青², 孙 茂², 郭洪位², 孙贵萍^{1,2}, 朱成光^{1,2}, 王天元^{2*}, 晏 晨^{1,2*}

¹ 贵州中医药大学, 贵阳 550002; ² 安顺市人民医院, 安顺 561000

摘要: 为研究烟管头草 (*Carpesium cernuum*) 的化学成分及其细胞毒活性, 采用多种色谱分离技术从烟管头草的 95% 乙醇提取物的乙酸乙酯萃取物中分离得到 10 个化合物。通过现代波谱技术鉴定了它们的结构, 分别为 (5*Z*)-6-[(acetyloxy) methyl]-2-oxo-2, 10, 14-trimethylhexadeca-5, 13-diene-11 α -ol (**1**)、(2*E*, 10*E*)-1, 12-dihydroxy-18-acetoxy-3, 7, 15-trimethylhexadeca-2, 10, 14-triene (**2**)、(2*E*, 6*Z*, 10*E*, 12*R*)-7-[(acetyloxy) methyl]-3, 11, 15-trimethylhexadeca-2, 6, 10, 14-tetraene-1, 12-diol (**3**)、(2*E*, 6*Z*, 11*S*, 12*R*)-3, 7, 11, 15-tetramethylhexadeca-2, 6, 14-triene-7-[(acetyloxy) methyl]-1, 12, 19-triol (**4**)、plaunotol (**5**)、*S*-(+)-dehydrovomifoliol (**6**)、pubinernoid A (**7**)、甾甾醇 (**8**)、aurantiamide acetate (**9**)、反式对羟基肉桂酸 (**10**), 其中化合物 **1** 为新化合物。采用 MTT 法对人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 进行细胞毒活性, 结果表明, 化合物 **2** 有较强的细胞毒活性, 其 IC₅₀ 值为 6.80 μ mol/L, 化合物 **1**, **3** 和 **4** 有中等细胞毒活性。

关键词: 烟管头草; 化学成分; 结构鉴定; 细胞毒活性

中图分类号: R932

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2022)3-0383-07

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2022.3.004

Chemical constituents in *Carpesium cernuum* and their cytotoxic activity

FENG Shu-hui^{1,2}, ZHANG Wei-qing², SUN Mao², GUO Hong-wei²,
SUN Gui-ping^{1,2}, ZHU Cheng-guang^{1,2}, WANG Tian-yuan^{2*}, YAN Chen^{1,2*}

¹ Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China;

² Anshun City People's Hospital, Anshun 561000, China

Abstract: To study the chemical constituents of the medicinal plant *Carpesium cernuum* and their cytotoxic activity, ten compounds were obtained from the ethyl acetate fraction of 95% ethanol extract of *C. cernuum* by applying various chromatographic techniques. Their structures were elucidated and identified as (5*Z*)-6-[(acetyloxy) methyl]-2-oxo-2, 10, 14-trimethylhexadeca-5, 13-diene-11 α -ol (**1**), (2*E*, 10*E*)-1, 12-dihydroxy-18-acetoxy-3, 7, 15-trimethylhexadeca-2, 10, 14-triene (**2**), (2*E*, 6*Z*, 10*E*, 12*R*)-7-[(acetyloxy) methyl]-3, 11, 15-trimethylhexadeca-2, 6, 10, 14-tetraene-1, 12-diol (**3**), (2*E*, 6*Z*, 11*S*, 12*R*)-3, 7, 11, 15-tetramethylhexadeca-2, 6, 14-triene-7-[(acetyloxy) methyl]-1, 12, 19-triol (**4**), plaunotol (**5**), *S*-(+)-dehydrovomifoliol (**6**), pubinernoid A (**7**), stigmasterol (**8**), aurantiamide acetate (**9**), *E*-*p*-hydroxycinnamic acid (**10**) respectively, based on the spectral data. Compound **1** is a new compound. The cytotoxic effect of compounds **1-4** on Human breast cancer MDA-MB-231 cell were investigated by MTT. Compound **2** exhibited strong cytotoxic activity with IC₅₀ values of 6.80 μ mol/L, and compounds **1**, **3** and **4** had moderate cytotoxic activity.

Key words: *Carpesium cernuum*; chemical constituent; structural identification; cytotoxicity activity

烟管头草 (*Carpesium cernuum*) 为菊科 (Asteraceae) 天名精属 (*Carpesium* L.) 多年生草本, 主要分

布在东北、华北、华中、华东、华南、西南各省及西北陕西、甘肃等地, 特别是我国四川、贵州等山区资源丰富, 生于路边荒地及山坡、沟边等处。烟管头草在民间用于治疗带状疱疹、流行性腮腺炎、口腔糜烂、三叉神经痛、毛囊炎、扁平疣、流行性急性病毒性结膜炎、毒蛇咬伤等疾病^[1]。天名精属植物中主要含有倍半萜、单萜、二萜、三萜、酚类、黄酮类、香豆素、木脂素、甾体等类型的化合物^[2,3]。其中以倍半萜

收稿日期: 2021-06-29 接受日期: 2021-09-10

基金项目: 安顺市科学技术基金 (ASKS(2020)07); 安顺市科技創新平台建设计划 (安市科平(2019)03 号); 贵州省中医药管理局中医药、民族医药科学技术研究课题 (QZYY-2020-088); 贵州省卫生健康委员会科学技术基金 (gzwkj2021-446)

* 通信作者 Tel: 86-851-33350324; E-mail: anshunyaojike@163.com, nazi3647@sina.com

类化合物最具代表性,也是该属植物中报道最多且广泛存在的成分^[4-6]。现代药理学研究表明,该属植物具有抗肿瘤、抑菌、抗炎、杀虫和细胞毒活性等药理作用^[7]。前期本课题组对烟管头草进行了化学成分研究,发现了5个新的倍半萜类化合物^[8,9],并对分离得到的化合物进行抗白血病^[9]、抗前列腺癌^[10-12]等活性研究,结果表明它们可通过抑制相关信号通路进而抑制癌细胞增殖。为了获得生物活性更好的化合物,本课题对烟管头草95%乙醇提取物的乙酸乙酯萃取物继续进行化学成分研究,并对分离得到的化合物进行细胞毒活性测试,为天名精属植物的开发利用提供基础。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

INOVA-400 MHz 和 INOVA-500 MHz 超导核磁共振波谱仪(美国瓦里安公司),TMS 为内标;Waters 1525 EF 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),Waters 2998 检测器,Waters SunFire 色谱柱为 C₁₈(10 mm×250 mm,4.6 mm×150 mm);JASCO P-1020 旋光仪(日本 JASCO 公司);Shimadzu UV-2401A 紫外光谱仪(日本 Shimadzu 公司);Bruker Tensor-27 红外光谱仪(德国 Bruker 公司);Bruker HCT/Esquire 和 Waters Autospec Premier P776 质谱仪(德国 Bruker 公司,美国 Waters 公司);Sephadex LH-20(日本三菱化学公司);RP-18 反相硅胶(日本 YMC 公司);柱层析硅胶(200~300 目和 300~400 目,青岛海洋化工厂);硅胶 GF₂₅₄ 薄层板(50 mm×100 mm,0.20~0.25 mm,青岛海洋化工厂);分析纯三氯甲烷、丙酮(重庆川东化工集团有限公司);其余试剂均从工业级蒸馏中获得;5% 硫酸乙醇显色剂。

实验所用烟管头草药材于十月份采自贵州省安顺市镇宁县,经贵州中医药大学孙庆文教授鉴定为烟管头草(*Carpesium cernuum*),标本(Assrmyy201608)保存于贵州省安顺市人民医院药学实验室。

1.2 实验方法

1.2.1 提取与分离

取干燥烟管头草全草 20.0 kg,粉碎,用 95% 的工业乙醇加热回流提取 3 次(3 h/次),将提取液合并,浓缩回收乙醇。然后加水使浓缩液呈悬浮状态,乙酸乙酯萃取,得乙酸乙酯萃取液与水层,乙酸乙酯萃取物 960.0 g 进行硅胶柱层析(300~400 目),以石油醚-丙酮(60:1→1:1,V/V)梯度洗脱,得到 7 个馏分(Fr. 1~7)。

Fr. 1(133.0 g)经正相硅胶柱(300~400 目),以石油醚-乙酸乙酯(60:1→1:1,V/V)梯度洗脱,得到 4 个亚馏分(Fr. 1a~1d)。亚馏分 1b(15.2 g)用 Sephadex LH-20(CHCl₃:MeOH,V/V=1:1)纯化,并用正相硅胶柱(石油醚-乙酸乙酯,15:1)进一步纯化,得到化合物 2(325.6 mg)和 3(95.4 mg)。亚馏分 1d(2.8 g)经正相硅胶柱(300~400 目),以石油醚-乙酸乙酯(30:1→5:1,V/V)梯度洗脱,并用制备型高效液相色谱(乙腈:水,V/V=60:40)进一步纯化,分离得到化合物 1(11.6 mg)和 7(8.0 mg)。Fr. 2(82.4 g)经硅胶、Sephadex LH-20、反相 RP-18 柱层析反复分离,并经制备型高效液相色谱(乙腈:水,V/V=60:40)进一步纯化得到化合物 4(42.6 mg)、5(19.2 mg)和 6(8.5 mg)。Fr. 3(102.0 g)经反相 RP-18 柱层析,以甲醇-水系统(40%:60→100:0,V/V)梯度洗脱,再经制备型高效液相色谱(乙腈:水,V/V=60:40)分离纯化后得到化合物 8(5.0 mg)、9(6.3 mg)和 10(9.5 mg)。

1.2.2 细胞毒活性

采用 MTT 法对人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 进行细胞毒活性。化合物分别用 DMSO 溶解后配成 30 mmol/L 的储备液,使用之前稀释到适宜浓度。将 MDA-MB-231 细胞配制成细胞悬液接种于 96 孔板上(100 μL/孔),实验分为阳性对照组和四个给药组,接种好的细胞培养板放入培养箱中培养 24 h 后分别加入 1.25、2.5、5、10 μmol/L 的含药样品溶液各 10 μL,在 5% CO₂,37 °C 孵育 72 h 后,每孔加入 10 μL 配制好的 MTT 溶液(5 mg/mL,即 0.5% MTT)继续培养 4 h,孵育后使用酶标仪测量在波长为 490 nm 下的吸光度(A),并计算 IC₅₀ 值。紫杉醇为阳性对照。

2 结果

2.1 结构鉴定

化合物 1~10 的化学结构如图 1 所示。

化合物 1 白色粉末;[α]_D²⁰-13.9(c 0.03, MeOH);UV(MeOH) λ_{max}:195 nm;IR(KBr) ν_{max} 3411、1738、1688 cm⁻¹表明存在羟基(3411 cm⁻¹)、羰基(1738 cm⁻¹)和碳碳双键;根据 HR-ESI-MS;*m/z* 361.235 2 [M+Na]⁺(calcd for C₂₀H₃₄O₄Na, 361.234 9)确定化合物的分子式为 C₂₀H₃₄O₄,不饱和度为 4;其¹H NMR 谱中 5 个甲基氢信号位于 δ_H 2.14(3H,s,1-CH₃),2.06(3H,s,AcO-CH₃),1.74(3H,s,16-CH₃),1.64(3H,s,15-CH₃)和 0.89(3H,

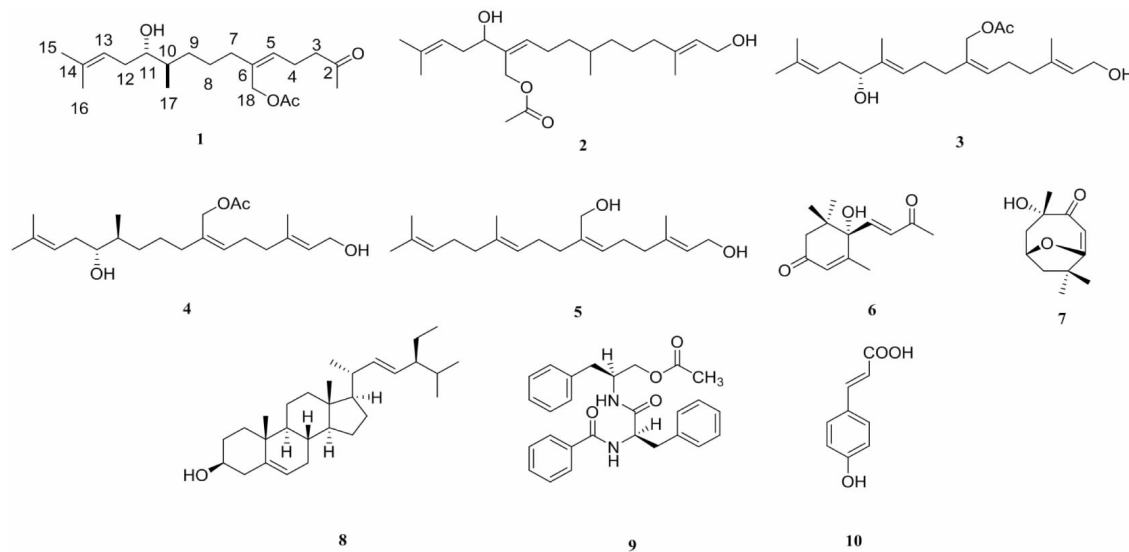


图1 化合物1~10的化学结构

Fig. 1 The chemical structures of compounds 1-10

d, $J = 6.5$ Hz, 17-CH₃); 化合物1的¹³C NMR谱显示20个碳信号, 结合DEPT谱可知 δ_c 135.3 (C-14)、134.9 (C-6)、128.9 (C-5)、120.5 (C-13)为2个双键碳信号; δ_c 171.0 (COO-)为乙酰氧基中酯羰基碳信号; δ_c 208.1 (C-2)为1个酮羰基碳信号, 2个双键及2个羰基信号的存在正好符合分子中存在的4个不饱和度, 结合其信号特征, 推测该化合物可能为二萜类化合物。

通过二维核磁¹H-¹H COSY、HSQC、HMBC谱对化合物的碳氢信号进行了全归属, 其详细数据见表1。化合物1的¹H-¹H COSY(见图2)表明结构中存在三个连续的片段H-3/H-4/H-5、H-7/H-8/H-9/H-10/H-17、H-17/H-10/H-11/H-12/H-13, 基于¹H-¹H COSY片段H-3/H-4/H-5, HMBC相关H-4到C-2、3、5、6说明C-5与C-6之间为双键, C-2为酮羰基; 同时, C-2与H-1、3、4存在相关性, 可知C-1为与C-2直接相连的甲基; 结合H-7/H-8/H-9/H-10/H-17片段, 由HMBC谱中H-7到C-5、6、8、9、18相关, 参考DEPT谱, 说明C-7/C-8/C-9为三个直接相连的亚甲基片段以及确定了C-5、6、7、18的连接方式; 此外, 在HMBC谱中, H-18与乙酰氧基中的酯羰基碳原子、甲基碳原子有相关, 乙酰氧基中的甲基质子与C-18有相关, 可判断乙酰氧基连接在C-18位上; 根据H-17/H-10/H-11/H-12/H-13片段, 由HMBC谱中H-10到C-9、11、17和H-12到C-10、11、13、14相关, 说明了C-9、10、11、12、13、14、17的连接方式; H-

15和H-16与C-13、C-14存在相关性, 说明两个甲基C-15、C-16与C-14直接相连。ROESY相关峰H-

表1 化合物1的¹H NMR和¹³C NMR数据Table 1 ¹H (400 MHz) and ¹³C (100 MHz) NMR data of compound 1 (in CDCl₃, δ , in ppm, J , in Hz)

Position	δ_H	δ_C
1	2.14, s	29.9
2	—	208.1
3	2.49, t(7.0)	43.4
4	2.35, q(7.0, 14.5)	22
5	5.36, t(7.0)	128.9
6	—	134.9
7	2.04, m	35.5
8	1.32, m; 1.51, m	25.5
9	1.10, m; 1.49, m	31.7
10	1.55, m	38
11	3.39, m	75.4
12	2.13, m	32.4
13	5.16, t(8.0)	120.5
14	—	135.3
15	1.64	17.9
16	1.74	25.9
17	0.89, d(6.5)	15.3
18	4.60, s	61.7
CH ₃ - AcO	2.06, s	21
COO - AcO	—	171

4/H-18 及 H-5/H-7 表明 C-5 与 C-6 之间的双键构型为 *Z*。化合物 **1** 的绝对构型还有待确认^[13]。化合物 **1** 与 (2*E*, 6*Z*, 10*E*, 12*R*)-7-[(acetyloxy)methyl]-3, 11, 15-trimethylhexadeca-2, 6, 10, 14-tetraene-1, 12-diol 的 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据^[14] 相似, 表明两个化合物具有相似的分子骨架, 两者的区别在于

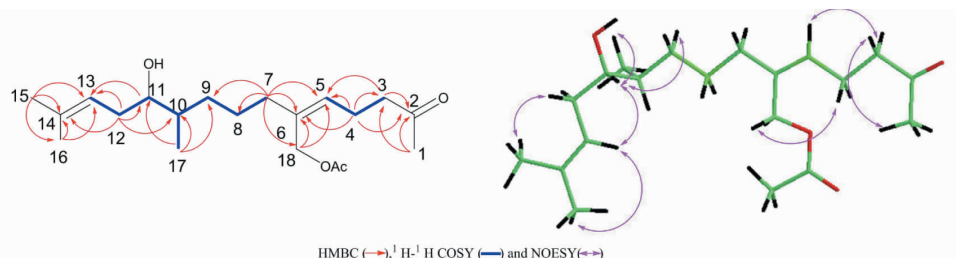


图2 化合物 **1** 的 ¹H-¹H COSY、HMBC 和 ROESY 主要相关信号

Fig. 2 Key ¹H-¹H COSY, HMBC and ROESY correlations signal of compound **1**

化合物 2 黄色油状物; C₂₂H₃₈O₄; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 5.41 (1H, m, H-2), 5.40 (1H, m, H-10), 5.17 (1H, m, H-14), 4.58 (2H, s, H-18), 4.13 (2H, d, *J* = 6.8 Hz, H-1), 3.40 (1H, m, H-12), 2.06 (3H, s, H-2'), 1.74 (3H, s, H-16), 1.66 (3H, s, H-20), 1.65 (3H, s, H-17), 0.90 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-19); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 59.2 (C-1), 124.1 (C-2), 138.4 (C-3), 39.4 (C-4), 25.8 (C-5), 32.5 (C-6), 38.0 (C-7), 31.5 (C-8), 25.8 (C-9), 130.3 (C-10), 135.2 (C-11), 75.5 (C-12), 35.4 (C-13), 120.5 (C-14), 134.1 (C-15), 25.9 (C-16), 17.9 (C-17), 61.8 (C-18), 15.4 (C-19), 16.2 (C-20), 171.2 (C-1'), 20.9 (C-2')。以上数据与文献^[15] 报道数据一致, 故鉴定化合物为 (2*E*, 10*E*)-1, 12-dihydroxy-18-acetoxy-3, 7, 15-trimethylhexadeca-2, 10, 14-triene。

化合物 3 黄色油状物; C₂₂H₃₆O₄; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 5.42 (1H, t, *J* = 7.2 Hz, H-2), 5.40 (1H, t, *J* = 6.8 Hz, H-6), 5.38 (1H, t, *J* = 7.2 Hz, H-10), 5.08 (1H, t, *J* = 7.2 Hz, H-14), 4.59 (2H, s, H-19), 4.14 (2H, d, *J* = 6.8 Hz, H-1), 3.97 (1H, t, *J* = 6.4 Hz, H-12), 2.07 (3H, s, H-AcO), 1.72 (3H, s, H-16), 1.64 (3H, s, H-17), 1.63 (3H, s, H-20), 1.62 (3H, s, H-18); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 59.3 (C-1), 124.0 (C-2), 137.2 (C-3), 39.3 (C-4), 26.1 (C-5), 130.4 (C-6), 133.6 (C-7), 34.7 (C-8), 25.9 (C-9), 125.3 (C-10), 137.3 (C-11), 77.0 (C-

化合物 **1** 比已知化合物少了 2 个双键、1 个羟基和 2 个亚甲基, 但化合物 **1** 多了 1 个羰基。因此确定化合物 **1** 为 (5*Z*)-6-[(acetyloxy)methyl]-2-oxo-2, 10, 14-trimethylhexadeca-5, 13-diene-11α-ol。化合物 **1** 的详细结构鉴定数据原始图谱可从本刊官网免费下载 (www.trew.ac.cn)。

12), 34.7 (C-13), 120.1 (C-14), 134.7 (C-15), 25.8 (C-16), 18.0 (C-17), 11.8 (C-18), 61.9 (C-19), 16.2 (C-20), 20.0 (CH₃-AcO), 171.2 (COO-AcO)。以上数据与文献^[14] 报道数据一致, 故鉴定化合物为 (2*E*, 6*Z*, 10*E*, 12*R*)-7-[(acetyloxy)methyl]-3, 11, 15-trimethylhexadeca-2, 6, 10, 14-tetraene-1, 12-diol。

化合物 4 无色油状物; C₂₂H₃₈O₄; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 5.40 (1H, br t, *J* = 7.1 Hz, H-2), 5.38 (1H, br t, *J* = 6.8 Hz, H-6), 5.17 (1H, d, *J* = 6.8 Hz, H-14), 4.13 (2H, d, *J* = 7.1 Hz, H-1), 3.40 (1H, m, H-12), 2.22 (2H, m, H-5), 2.12 (2H, m, H-13), 2.08 (2H, m, H-4), 1.99 (1H, m, H-9α), 1.76 (3H, brs, H-16), 1.67 (3H, br s, H-20), 1.65 (3H, brs, H-17), 1.55 (1H, m, H-11), 1.49 (1H, m, H-10α), 1.30 (1H, m, H-9β), 1.13 (1H, m, H-10β), 0.89 (1H, d, *J* = 6.8 Hz, H-18); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 59.2 (C-1), 124.1 (C-2), 137.5 (C-3), 39.3 (C-4), 25.8 (C-5), 130.2 (C-6), 133.9 (C-7), 35.4 (C-8), 25.4 (C-9), 31.5 (C-10), 38.0 (C-11), 75.4 (C-12), 32.4 (C-13), 120.5 (C-14), 135.3 (C-15), 25.9 (C-16), 17.9 (C-17), 15.4 (C-18), 61.8 (C-19), 16.1 (C-20), 20.9 (CH₃-AcO), 171.1 (COO-AcO)。以上数据与文献^[16] 报道数据一致, 故鉴定化合物为 (2*E*, 6*Z*, 11*S*, 12*R*)-3, 7, 11, 15-tetramethylhexadeca-2, 6, 14-triene-7-[(acetyloxy)methyl]-1, 12, 19-triol。

化合物 5 黄色油状物; C₂₀H₃₄O₂; ¹H NMR (400

MHz, DMSO- d_6) δ : 5.27 (1H, m, H-6), 5.14 (1H, m, H-14), 5.07 (1H, m, H-10), 3.93 (2H, d, J = 7.2 Hz, H-1), 3.90 (2H, s, H-18), 1.63 (6H, s, H-16, H-17), 1.57 (6H, s, H-19, H-20); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 57.9 (C-1), 125.2 (C-2), 135.3 (C-3), 39.4 (C-4), 25.5 (C-5), 125.4 (C-6), 139.2 (C-7), 34.5 (C-8), 26.2 (C-9), 124.2 (C-10), 130.6 (C-11), 39.4 (C-12), 26.2 (C-13), 124.1 (C-14), 134.2 (C-15), 25.3 (C-16), 16.0 (C-17), 57.5 (C-18), 17.6 (C-19), 15.8 (C-20)。以上数据与文献^[17]报道数据一致,故鉴定化合物为 plaunotol。

化合物 6 黄色油状物; $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_3$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 6.85 (1H, d, J = 15.7 Hz, H-7), 6.48 (1H, d, J = 15.7 Hz, H-8), 5.96 (1H, d, J = 1.1 Hz, H-4), 2.52 (1H, d, J = 17.2 Hz, H-2 β), 2.33 (1H, d, J = 18 Hz, H-2 α), 2.31 (3H, s, H-10), 1.88 (3H, d, J = 1.4 Hz, H-11), 1.11 (3H, s, H-13), 1.02 (3H, m, H-12); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 41.4 (C-1), 49.5 (C-2), 197.4 (C-3), 127.7 (C-4), 160.3 (C-5), 79.2 (C-6), 144.9 (C-7), 130.3 (C-8), 196.9 (C-9), 29.6 (C-10), 18.6 (C-11), 24.3 (C-12), 22.9 (C-13)。以上数据与文献^[18,19]报道数据一致,故鉴定化合物为 *S*-(+)-dehydrovomifoliol。

化合物 7 白色粉末; $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_3$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.68 (1H, s, H-6), 4.32 (1H, s, H-5), 2.45 (1H, dt, J = 14.2, 2.6 Hz, H-3 β), 1.98 (1H, dt, J = 14.5, 2.6 Hz, H-1 β), 1.73-1.81 (1H, m, H-3 α), 1.77 (3H, s, H-11), 1.51 (1H, dd, J = 14.6, 3.7 Hz, H-1 α), 1.46 (3H, s, H-9), 1.25 (3H, d, J = 8.8 Hz, H-10); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 47.2 (C-1), 66.6 (C-2), 45.5 (C-3), 86.8 (C-4), 182.7 (C-5), 112.7 (C-6), 172.0 (C-7), 35.9 (C-8), 26.4 (C-9), 30.61 (C-10), 26.9 (C-11)。以上数据与文献^[20,21]报道数据一致,故鉴定化合物为 pubinernoid A。

化合物 8 白色针晶(氯仿); mp. 151 ~ 152 °C; $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.35 (1H, m, H-6), 5.15 (1H, dd, J = 15.1, 8.5 Hz, H-22), 5.01 (1H, dd, J = 8.8 Hz, H-23), 3.52 (1H, m, H-3), 1.01 (3H, s, CH_3 -10), 0.82 (3H, s, CH_3 -29); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 37.2 (C-1), 29.1 (C-2), 71.8 (C-3), 42.2 (C-4), 140.7 (C-5), 121.7 (C-6),

31.8 (C-7), 31.9 (C-8), 50.1 (C-9), 36.5 (C-10), 21.1 (C-11), 39.7 (C-12), 42.2 (C-13), 56.8 (C-14), 24.2 (C-15), 28.9 (C-16), 55.9 (C-17), 12.0 (C-18), 19.4 (C-19), 40.5 (C-20), 21.1 (C-21), 138.3 (C-22), 129.2 (C-23), 51.2 (C-24), 31.6 (C-25), 18.9 (C-26), 21.0 (C-27), 25.4 (C-28), 12.0 (C-29)。以上数据与文献^[22,23]报道数据一致,故鉴定化合物为豆甾醇。

化合物 9 白色针晶(甲醇); mp. 187 ~ 188 °C; $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.71 (2H, d, J = 7.2 Hz, H-3', H-7'), 7.53 (1H, t, J = 7.2 Hz, H-5'), 7.44 (2H, t, J = 7.6 Hz, H-4', H-6'), 7.25 (5H, m, H-5, H-9), 7.15 (2H, m, H-5'', H-7''), 7.06 (2H, d, J = 7.2 Hz, H-4'', 8''), 6.80 (1H, d, J = 7.6 Hz, H- β NH), 6.05 (1H, d, J = 8.4 Hz, H- α NH), 4.78 (1H, dd, J = 8.0, 14.0 Hz, H-2), 4.34 (1H, m, H-1''), 3.92 (1H, dd, J = 4.8, 11.0 Hz, H-9'' β), 3.81 (1H, dd, J = 4.0, 11.2 Hz, H-9'' α), 3.21 (1H, dd, 13.6 Hz, J = 6.0, H-3 β), 3.06 (1H, dd, J = 8.4, 13.6 Hz, H-3 α), 2.75 (2H, m, H-2''), 2.02 (3H, s, -COCH₃); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 170.2 (C-1), 54.9 (C-2), 38.4 (C-3), 136.7 (C-4), 128.6 (C-5, C-9), 129.3 (C-6, C-8), 127.1 (C-7), 167.1 (C-1'), 133.6 (C-2'), 128.5 (C-3', 7'), 127.0 (C-4', C-6'), 131.9 (C-5'), 49.4 (C-1''), 37.4 (C-2''), 136.6 (C-3''), 128.7 (C-4'', C-8''), 129.1 (C-5'', C-7''), 126.7 (C-6''), 64.6 (C-9''), 20.8 (CH_3 -COCH₃), 170.8 (C = O-COCH₃)。以上数据与文献^[24,25]报道数据一致,故鉴定化合物为 aurantiamide acetate。

化合物 10 白色针晶(甲醇); mp. 210 ~ 212 °C; $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$; ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.52 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-3), 7.49 (2H, m, H-2', H-6'), 6.78 (2H, m, H-3', H-5'), 6.28 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-2); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 167.9 (C-1), 115.3 (C-2), 125.2 (C-3), 144.2 (C-1'), 130.1 (C-2', C-6'), 115.7 (C-3', C-5'), 159.6 (C-4')。以上数据与文献^[26,27]报道数据一致,故鉴定化合物为反式对羟基肉桂酸。

2.2 细胞毒活性

本实验对从烟管头草中分离得到的化合物 **1** ~ **4** 进行细胞毒活性测试,结果显示,与阳性对照紫杉醇(taxol, IC_{50} = 0.10 $\mu\text{mol/L}$)相比,化合物 **2** 对人

乳腺癌细胞 MDA-MB-231 表现出较强的细胞毒活性,其 IC_{50} 值为 $6.80 \mu\text{mol/L}$, 化合物 **1**、**3**、**4** 表现出中等细胞毒活性, IC_{50} 值分别为 34.89、46.13、30.38 $\mu\text{mol/L}$ 。

3 讨论与结论

本文从烟管头草全株 95% 乙醇提取物的乙酸乙酯萃取部位共分离和鉴定出 10 个化合物,包括单萜类、二萜类及其他类化合物,其中化合物 **1** 为新化合物。化合物 **5** 先前被日本学者研发为抗溃疡药普劳诺托,但其具体的有效部位尚未确定,提示在后期天名精属化学成分活性研究中对分离得到的二萜类化合物进行抗溃疡药理活性研究。

对化合物 **1~4** 进行细胞毒活性测试表明,化合物 **2** 对人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 表现出较强的细胞毒活性,其 IC_{50} 值为 $6.80 \mu\text{mol/L}$, 化合物 **1**、**3**、**4** 表现出中等细胞毒活性。烟管头草提取物对多种癌细胞的增殖均有抑制作用^[28],但在人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 中 IC_{50} 值最小,这为治疗乳腺癌疾病提供了一定的药理依据,提示烟管头草提取物可作为抗乳腺癌药物的潜在成分。综合本课题组前期对烟管头草中化学成分进行抗白血病^[9]、抗前列腺癌^[10-12] 研究发现,其单体化合物可通过抑制相关信号通路进而抑制癌细胞增殖。因此,烟管头草在抗肿瘤方面具有很大的研究前景,但目前药理活性的研究主要集中在单体化合物的体外活性筛选,而体内药效评价、作用机制及构效关系的研究甚少,可将量大的单体化合物进行体内药效评价,这为抗肿瘤新药的研发提供了重要的理论依据。

参考文献

- 1 Flora of China Editorial Committee, Chinese Academy of Sciences. Flora of China (中国植物志) [M]. Beijing: Science Press, 1979, 75: 293-296.
- 2 Yang YX. Studies on sesquiterpene lactones from *Carpesium faberi* [J]. J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2016, 41: 2105-2111.
- 3 Zhang JP, Wang GW, Tian XH, et al. The genus *Carpesium*: a review of its ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology [J]. J Ethnopharmacol, 2015, 163: 173-191.
- 4 Lee J, Min B, Lee S, et al. Cytotoxic sesquiterpene lactones from *Carpesium abrotanoides* [J]. Planta Med, 2002, 68: 745-747.
- 5 Lee JH, Wang KH, Kim GH. *In vitro* evaluation of anti-inflammatory activity for salad-food material *Carpesium abro-*

- tanoides* [J]. Food Biochem, 2013, 37: 18-25.
- 6 Liu XY, Guo GW, Wang H. Killing effect of *Carpesium abrotanoides* on *Taenia asiatica* cysticercus [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis (中国寄生虫学与寄生虫病杂志), 2015, 33: 237-238.
- 7 Wang L, Tian L, Cheng F, et al. Terpenes from *Carpesium abrotanoides* and their cytotoxic activities [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2018, 49: 530-535.
- 8 Yan C, Zhang WQ, Sun M, et al. Carpescernolides A and B, rare oxygen bridge-containing sesquiterpene lactones from *Carpesium cernuum* [J]. Tetrahedron Lett, 2018, 59: 4063-4066.
- 9 Yan C, Long Q, Zhang YD, et al. Germacranolide sesquiterpenes from *Carpesium cernuum* and their anti-leukemia activity [J]. Chin J Nat Med, 2021, 19: 1-8.
- 10 Huang YS, Mao JX, Zhang L, et al. Incaspitolide A isolated from *Carpesium cernuum* L inhibits the growth of prostate cancer cells and induces apoptosis via regulation of the PI3K/Akt/xIAP pathway [J]. Oncol Lett, 2021, 21: 477.
- 11 Huang YS, Mao JX, Zhang L, et al. Antiprostatacancer activity of ineupatolide isolated from *Carpesium cernuum* L. [J]. Biomed Res Int, 2021: 5515961.
- 12 Wang K, Wu Q, Geng R, et al. Study on anti-prostatic hyperplasia activity and mechanism of *Carpesium cernuum* [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2019, 31: 517-522.
- 13 Xu DD, Yan Y, Jiang CX, et al. Sesquiterpenes and diterpenes with cytotoxic activities from the aerial parts of *Carpesium humile* [J]. Fitoterapia, 2018, 128: 50-56.
- 14 Gao X, Zhang ZX, Jia ZJ. New acyclic 12-hydroxygeranylgeraniol-derived diterpenoids from the seeds of *Carpesium triste* [J]. Helv Chim Acta, 2008, 91: 1934-1939.
- 15 Zee OP, Kim DK, Choi SU, et al. A new cytotoxic acyclic diterpene from *Carpesium divaricatum* [J]. Arch Pharm Res, 1999, 22: 225-227.
- 16 Gao X, Lin CJ, Jia ZJ. Cytotoxic germacranolides and acyclic diterpenoids from the seeds of *Carpesium triste* [J]. J Nat Prod, 2007, 70: 830-834.
- 17 Ning DS, Fu SX, Li LC, et al. A new norclerodan diterpene from twigs and leaves of *Croton euryphyllus* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2018, 49: 5499-5502.
- 18 Yang NY, Duan JA, Li P, et al. Chemical constituents of *Glechoma longituba* [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2006, 41: 431-434.
- 19 Liu LL, Wang R, Yang JL, et al. Diversity of sesquiterpenoids from *Carpesium cernuum* [J]. Helv Chim Acta, 2010, 93: 595-601.
- 20 Huang SX, Yang J, Xiao WL, et al. Three novel terpenoids

- from *Schisandra pubescens* var. *pubinervis* [J]. *Helv Chim Acta*, 2006, 89: 1169-1175.
- 21 Xu YW, Zhou HL, Ren DM, et al. Chemical constituents from the aerial parts of *Lisea glutinosa* (Lour.) C. B. Rob. [J]. *J Shandong Univ: Health Sci* (山东大学学报医学版), 2016, 54: 45-49.
- 22 Ji S, Lu GR, Meng DL, et al. Chemical constituents from the *Folium Artemisiae Argyi* (Ⅱ) [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2010, 27: 548-550.
- 23 Wu X, Xia HL, Huang LH, et al. Study on the chemical constituents of *Rhizoma Cyperi* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2008, 31: 990-992.
- 24 Liang QL, Min ZD, Cheng L. Studies on the two dipeptides from *Elephantopus scaber* [J]. *J Chin Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2002, 33: 178-180.
- 25 Lin FD, Luo DW, Ye J, et al. Chemical constituents of *Artemisia lactiflora* (Ⅱ) [J]. *J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2014, 39: 2531-2535.
- 26 Zhang WK, Yang GE, Zhang XQ, et al. Studies on chemical constituents of *Euphorbia sororia* [J]. *J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2006, 31: 1694-1696.
- 27 Xu LF, Wang SX, Zhu YR. The chemical principles from the female inflorescences of *Typha angustata* [J]. *J Integr Plant Biol* (植物学报), 1986, 28: 523-527.
- 28 Dang HL, Li HL, Ma CM, et al. Identification of *Carpesium cernuum* extract as a tumor migration inhibitor based on its biological response profiling in breast cancer cells [J]. *Phyto-medicine*, 2019, 64: 153072.

从 *Streptomyces chromofuscus* ATCC 49982 中 鉴定出一种新型葡萄糖醛酸转移酶

糖基化是增加化合物极性的一种有效方法。UDP-葡萄糖醛酸转移酶(UGTs)在Ⅱ期药物代谢中被广泛研究。然而,微生物中的UGTs没有得到很好的研究,这阻碍了这种类型的酶在天然产品的微生物葡萄糖醛酸化中的利用。

来自犹他州立大学生物工程系的 Zhan Jixun 及其团队对五种放线菌菌株进行了研究,结果表明 *Streptomyces chromofuscus* ATCC 49982 链霉菌可以将不同的植物多酚转化为多种极性产物,根据其光谱数据,这些产物被定性为各种葡萄糖醛酸。对该菌株的基因组分析发现了一个葡萄糖醛酸化基因簇,其中包含一个 UGT 基因(*gcaC*)和两个 UDP-葡萄糖醛酸生物合成基因(*gcaB* 和 *gcaD*)。*gcaC* 基因被克隆并在大肠杆菌 BL21 (DE3) 中异源表达,得到 UGTs。将纯化的 UGTs 与白藜芦醇和 UDP-葡萄糖醛酸孵化,可产生白藜芦醇-4'-*O*- β -D-葡萄糖醛酸和白藜芦醇-3-*O*- β -D-葡萄糖醛酸。*GcaC* 的最佳体外反应 pH 值和温度分别为 7.5 ℃ 和 30 ℃,它的活性可以被 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 和 Mn^{2+} 刺激,而被 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 和 Fe^{2+} 抑制。此外,*GcaC* 具有广泛的底物特异性,除了白藜芦醇外,还可以葡萄糖醛酸化各种底物,包括槲皮素、阿魏酸、香草酸、姜黄素、香兰素、蛹虫草素、玉米赤霉烯酮和芹菜素。因此,这项作为生产白藜芦醇和其他有益于健康的天然产品的葡萄糖醛酸酯提供了一种有效的方法。相关研究发表在《Applied Microbiology and Biotechnology》杂志上。

胡乃华编译自: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-022-11789-2>

原文标题: Identification of a novel glucuronyltransferase from *Streptomyces chromofuscus* ATCC 49982 for natural product glucuronidation