蓬莪术正丁醇部位中一个新的紫罗兰酮成分

黄宇希[1], 严禹瑶[1], 李小翠[1], 刘 菲[1*], 熊 亮[1,2*], 戴 鸥[1,3*]

(1. 成都中医药大学药学院, 西南特色中药资源国家重点实验室, 四川 成都 611137; 2. 成都中医药大学医学技术学院, 四川 成都 611137; 3. 成都中医药大学附属医院, 四川 成都 611137)

摘要: 采用反相中压液相色谱、凝胶柱色谱、硅胶柱色谱、制备薄层色谱及反相半制备高液相色谱等分离技术, 对蓬莪术正丁醇部位进行了分离纯化。随后, 运用高分辨质谱、红外、核磁共振等波谱技术对化合物进行了结构鉴定。最终, 从蓬莪术正丁醇部位中分离鉴定了3个紫罗兰酮苷类化合物, 分别为 (6*Z*,9*S*)-4,6-megastigmadien-3-one-9-*O*-*β*-*D*-glucopyranoside (**1**)、(3*R*,9*S*)-megastigman-5-en-3,9-diol 3-*O*-*β*-*D*-glucopyranoside (**2**) 和 blumenol C glucoside (**3**), 其中化合物 **1** 为新的紫罗兰酮苷, 化合物 **2** 和 **3** 为首次从蓬莪术中分离得到。对分得的化合物进行细胞毒和抗炎活性研究, 结果表明, 3个化合物均具有一定的细胞毒及抗炎活性。

关键词: 蓬莪术; 分离鉴定; 紫罗兰酮; 细胞毒; 抗炎

中图分类号: R284 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2025)10-3139-07

A new ionone from *n*-butanol fraction of *Curcuma phaeocaulis*

HUANG Yu-xi[1], YAN Yu-yao[1], LI Xiao-cui[1], LIU Fei[1*], XIONG Liang[1,2*], DAI Ou[1,3*]

(*1. State Key Laboratory of Southwestern Chinese Medicine Resources, College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 2. College of Medical Technology, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 3. Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China*)

Abstract: The *n*-butanol fraction of *Curcuma phaeocaulis* was separated and purified using a combination of chromatographic techniques, including reversed-phase medium-pressure liquid chromatography, gel column chromatography, silica gel column chromatography, preparative thin-layer chromatography and reversed-phase semi-preparative high-performance liquid chromatography. The structures of the isolated compounds were elucidated through comprehensive spectroscopic analyses, including high-resolution mass spectrometry, infrared spectroscopy, and nuclear magnetic resonance spectroscopy. Finally, three ionone glycosides were isolated from *C. phaeocaulis* and identified as (6*Z*, 9*S*) -4, 6-megastigmadien-3-one-9-*O*- *β* -*D*-glucopyranoside (**1**), (3*R*, 9*S*) -megastigman-5-en-3,9-diol 3-*O*-*β*-*D*-glucopyranoside (**2**), and blumenol C glucoside (**3**). Notably, compound **1** was a new ionone, while compounds **2** and **3** were isolated from *C. phaeocaulis* for the first time. Subsequent evaluation of cytotoxic and anti-inflammatory activities revealed that all three compounds exhibited cytotoxic and anti-inflammatory effects.

Key words: *Curcuma phaeocaulis*; isolation and identification; ionone; cytotoxicity; anti-inflammatory

收稿日期: 2025-05-09; 修回日期: 2025-08-02.

基金项目: 国家自然科学基金优秀青年基金资助项目 (82022072); 四川省中央引导地方科技发展专项 (2024ZYD0168); 国家中医药多学科交叉创新团队项目 (ZYYCXTD-D-202209); 成都中医药大学杏林学者计划学科创新团队项目 (XKTD2022006).

*通讯作者 Tel: 86-28-61800231, E-mail: feifeifly555@126.com; xiling@cdutcd.edu.cn; daiou@cdutcm.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-0528

莪术为姜科植物蓬莪术 *Curcuma phaeocaulis* Val.、广西莪术 *Curcuma kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang 或温郁金 *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling 的干燥根茎[1]。莪术作为传统的活血化瘀类中药, 药用历史悠久, 始载于《药性论》谓其“治女子血气心痛, 破痃癖冷气”;《本草经疏》曰“莪术主积聚诸气, 为最要之药”; 张锡纯《医学衷中参西录》云:“元气既旺, 愈能鼓舞三棱、莪术之力以消癥瘕”。可见历代医家皆认为莪术消癥瘕、散血积的功效卓著, 故素有“破血消癥”要药的美称。现代中医理论认为肿瘤属于特殊的癥瘕积聚, 且活血化瘀为中医治疗肿瘤的常用方法[2,3], 临床上莪术作为活血化瘀药常用于宫颈癌、卵巢癌等妇科肿瘤类疾病的辅助治疗[4-6]。综上可见, 古今医家皆以莪术作为抗肿瘤良药。现代研究表明莪术主要活性成分为姜黄素类与倍半萜类[7]。倍半萜类化合物具有广泛的药理活性, 包括抗炎、抗肿瘤[8]、抗菌[9]、保肝[10,11]等, 其中对莪术抗肿瘤药效物质基础的研究主要集中于 *β*-榄香烯[12]、莪术醇[13,14]及姜黄素[15]等中低极性成分, 而关于莪术中大极性抗肿瘤成分的研究仍明显不足。莪术临床常以水煎剂入药, 故本研究选取川产道地药材蓬莪术的正丁醇部位开展研究, 共从中分离鉴定3个紫罗兰酮苷类化合物。如图1所示, 其中化合物**1**为新化合物。随后对分离所得成分进行了抗肿瘤密切相关的细胞毒及抗炎活性评价。

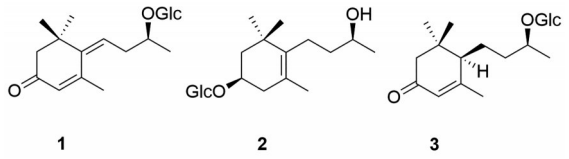


Figure 1 The chemical structures of compounds **1**−**3**

结果与讨论

1 结构鉴定

化合物**1**为白色无定形粉末。$[\alpha]_D^{20}$ −19.6 (*c* 0.04, MeOH); (+) -HR-ESI-MS 给出准分子离子峰 *m/z* 393.188 4 $[M+Na]^+$ (计算值 $C_{19}H_{30}O_7Na$, 393.188 9), 提示其分子式为 $C_{19}H_{30}O_7$, 不饱和度为5。

化合物**1**的 ^{1}H NMR 数据 (表1) δ_H 3.18 (1H, dd, *J* = 9.2, 7.8 Hz, H-2′), 3.28 (1H, m, H-4′), 3.31 (1H, m, H-5′), 3.35 (1H, m, H-3′), 3.67 (1H, m, H-6b′), 3.87 (1H, m, H-6a′), 4.39 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-1′); ^{13}C NMR 数据 (表1) δ_C 103.9 (C-1′), 75.2 (C-2′), 78.2 (C-3′), 71.7 (C-4′), 78.0 (C-5′), 62.8 (C-6′) 显示有 *β*-葡萄糖单元的存在。剩下的氢谱数据显示3个单峰甲基信号 [δ_H 1.19 (3H, s, H-11), 1.20 (3H, s, H-12), 2.28 (3H, brs, H-13)] 和1个双峰甲基信号 [δ_H 1.29 (3H, d, *J* = 6.2 Hz, H-10)]、2个亚甲基信号 [δ_H 2.30 (2H, d, *J* = 5.8 Hz, H-2), 2.56 (1H, m, H-8a), 2.65 (1H, m, H-8b)]、3个次甲基信号 [δ_H 4.00 (1H, q, *J* = 6.2 Hz, H-9), 5.91 (1H, brs, H-4), 5.95 (1H, t, *J* = 7.0 Hz, H-7)]。剩下的碳谱数据显示13个碳信号, 其中包含4个甲基碳 (δ_C 28.2, 28.3, 25.1, 22.0)、2个亚甲基碳 (δ_C 53.7, 38.0)、3个次甲基碳 [包含2个烯碳 (δ_C 129.2, 129.5)和1个连氧碳 (δ_C 77.2)]、4个季碳 [包含1个羰基碳 (δ_C 201.8) 和2个烯碳 (δ_C 159.6, 144.8)]。以上苷元的核磁数据与已知化合物 (6*Z*,9*S*)-9-hydroxy-4,6-megastigmadien-3-one[16]非常相似, 推测其为该化合物的葡萄糖苷衍生物。

进一步采用2D NMR对化合物**1**的结构进行了鉴定。根据 ^{1}H-^{1}H COSY 谱中显示 H-7/H-8/H-9/H-10 相关信号以及 HMBC 谱中 H_3-13 和 C-4、C-5、C-6 相关, H_3-11 和 C-2、C-1、C-6、C-12 相关, H_2-2 和 C-3、C-1 相关, H-7 和 C-1、C-5、C-9 相关, H_3-10 和 C-8、C-9 相关, H-1′和 C-9 位相关, 证明了化合物**1**具有与 (*Z*)-4-[3′-(*β*-*D*-glucopyranosyloxy)butylidene] -3, 5, 5-trimethyl-2-cyclohexen-l-one 相同的平面结构, 但文献[17,18]中并未确定其C-9位的绝对构型。

为确定化合物**1**的绝对构型, 用蜗牛酶对其进行糖苷水解反应得到了苷元**1a**,其核磁谱数据 (表1) 与文献[16]报道基本一致, 且旋光方向一致, 故鉴定苷元**1a**为 (6*Z*,9*S*)-9-hydroxy-4,6-megastigmadien-3-one。因此, 化合物**1**最终被鉴定为 (6*Z*,9*S*)-4,6-megastigmadien-3-one-9-*O*-*β*-*D*-glucopyranoside, 如图2所示。

2 体外细胞毒活性评价

采用噻唑蓝 (MTT) 法对化合物**1**～**3**及阳性药多柔比星 (doxorubicin) 对HeLa细胞、A2780细胞两种妇科肿瘤细胞株的细胞毒活性进行评价, 实验结果表明, 3个化合物均对HeLa细胞的增殖具有一定的抑制作用, 其中化合物**1**的活性相对最好, 如表2所示。

3 体外抗炎活性评价

将分得的各化合物及其苷元配制成50 μmol·L^{-1}, 并分别作用RAW264.7细胞 (小鼠单核巨噬细胞白血病细胞) 48 h后发现, 细胞存活率在90%以上, 结果表明, 化合物在该浓度对RAW264.7细胞无明显细胞毒性, 为后续相应化合物及其苷元活性研究提供合理依据。随后, 本实验考察了0.1% DMSO对LPS (脂多糖) 造模后的RAW264.7细胞活力及炎症因子NO含量的影响, 应用一氧化氮试剂盒检测了蓬莪术正丁醇部位分离的3个化合物和化合物**1**的苷元以及阳性药姜黄素 (curcumin) 对LPS诱导的RAW264.7细胞炎症模型中炎症因子NO释放的影响。实验结果发现苷元**1a**在

Table 1 ^{1}H NMR (600 MHz) and ^{13}C NMR data (150 MHz) of **1** and **1a**. [a]Data were measured in CD_3OD; [b]Data were measured in $CDCl_3$

No.	**1**[a]		**1a**[b]	
	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C
1		41.9		41.1
2	2.30 d (5.7)	53.7	2.30 brs	53.0
3		201.8		199.3
4	5.91 brs	129.2	5.91 brs	129.2
5		159.6		144.9
6		144.8		156.1
7	5.95 t (7.0)	129.5	5.74 t (7.0)	126.8
8a	2.56 m	38.0	2.48 m	39.7
8b	2.65 m			
9	4.00 q (6.2)	77.2	3.94 q (6.2)	68.3
10	1.29 d (6.2)	22.0	1.25 d (6.2)	23.5
11	1.19 s	28.2	1.18 s	28.1
12	1.20 s	28.3	1.18 s	28.2
13	2.28 brs	25.1	2.22 brs	24.9
1′	4.39 d (7.8)	103.9		
2′	3.18 dd (9.2, 7.8)	75.2		
3′	3.35 m	78.2		
4′	3.28 m	71.7		
5′	3.31 m	78.0		
6′a	3.67 m	62.8		
6′b	3.87 m			

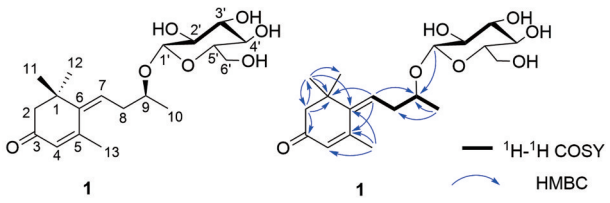


Figure 2 Structure of compound **1** and its key HMBC and ^{1}H-^{1}H COSY correlations

Table 2 Inhibition of HeLa and A2780 cells by compounds **1**–**3** at 50 μmol·L^{-1} and doxorubicin at 1 μmol·L^{-1}; HeLa: Henrietta Lacks cells; A2780: A2780 human ovarian cancer cells

Compund	Inhibition rate / %	
	HeLa	A2780
1	30.96 ± 1.16	< 20
2	29.93 ± 11.57	< 20
3	23.07 ± 0.79	< 20
Doxorubicin	81.7 ± 2.71	92.0 ± 0.58

50 μmol·L^{-1}时对NO的释放具有一定抑制作用, 优于其苷类, 抗炎活性最佳, 如表3所示。表明紫罗兰酮类在蓬莪术抗炎效应中可能具有一定作用。

4 讨论

蓬莪术 (*C. phaeocaulis*) 为著名的川产道地药材, 历代医家多认为其具有破血行瘀、消癥散结之功效, 素有“破血消瘕”要药的美称。中医临床常用于宫颈癌、卵巢癌等妇科肿瘤类疾病的辅助治疗, 疗效确切。近年来, 关于蓬莪术中倍半萜类成分结构鉴定及药理活性研究已经取得了较为系统的进展。现有研究表明, 其抗肿瘤活性成分主要集中*β*-榄香烯、莪术醇及姜黄素等中低极性成分[12,13,19,20]。而莪术临床应用常以水煎剂形式使用, 已有研究表明中药大极性成分具有良好的生物活性[21,22], 但蓬莪术大极性部位的化学成分及其抗肿瘤活性研究相对滞后, 相关物质基础尚不明确。因此本研究对蓬莪术的正丁醇部位展开化学成分分离与鉴定工作, 首次从中分离得到3个紫罗兰酮苷类化合物, 其中包括1个新化合物。近年来, 越来越多研究关注于植物化学成分在癌症预防中的作用[23,24], 而紫罗兰酮类则是颇具潜力的一类成分, 其具有环化异戊二烯结构单元, 属于单环单萜化合物, 广泛存在于含有*β*-胡萝卜素的水果、蔬菜及植物精油中, 具有多种药理活性[25-27]。现代研究表明, 紫罗兰酮类成分能够通过抑制肿瘤细胞增殖、转移和诱导凋亡等多重机制发挥抗癌作用[28-32]。因此, 本实验进一步对分离得到3个紫罗兰酮类化合物进行了与抗肿瘤活性密切相关的细胞毒性和抗炎活性评价, 结果表明, 这些化合物在上述两个方面均表现出一定的活性。

Table 3 Inhibition of NO release from RAW264.7 cells by compounds **1**–**3**, **1a**, and curcumin at 50 μmol·L^{-1}. RAW264.7: Mouse monocyte-macrophage leukemia cells

Compound	Inhibition rate of NO / %
1	18.33 ± 1.38
1a	36.24 ± 4.77
2	27.90 ± 0.55
3	9.39 ± 2.88
Curcumin	77.3 ± 7.98

综上所述, 本实验基于“蓬莪术‘消癥’功效—紫罗兰酮抗肿瘤药效”这一理论框架为基石, 进一步开展莪术正丁醇部位紫罗兰酮苷类化合物与抗肿瘤密切相关的细胞毒及抗炎活性物质基础研究, 发现分离所得化合物虽有一定的相关活性, 但效果并不显著。这一发现提示, 蓬莪术中可能蕴含着其他尚未被揭示的“消癥”功效物质基础, 亟待进一步深入探究。

实验部分

蓬莪术药材采于四川省崇州市三江镇宋桥村, 经成都中医药大学高继海副教授鉴定为蓬莪术 (*C. phaeocaulis*) 的干燥根茎, 植物标本 (CP-20180303) 保存于成都中医药大学西南特色药材创新药物成分研究所。

核磁共振仪 (Bruker Avance-*NEO*-600 NMR, Bruker Avance-*NEO*-700 NMR, 美国 Bruker 公司); 集热式恒温磁力搅拌浴 (郑州长城科工贸有限公司); D101 大孔

吸附树脂 (成都科隆化学品有限公司); 蜗牛酶 (北京拜尔迪生物技术有限公司); Rudolph 高精度旋光仪 (Autopol I, 美国鲁道夫公司); 红外光谱仪 (Agilent cary 600 FT-IR microscope instrument, 美国 Agilent 公司); 圆二色谱仪 (Applied Photophysics Chirascan CD 光谱仪, 英国应用光物理公司); 高分辨质谱仪 (Synapt G2 HDMS instrument, 美国 Waters 公司); 旋转蒸发仪 (RE-2000A, 贤德实验仪器); 中压液相色谱仪 (Búchi Grandient Former B-687); HPLC 仪 (Agilent 1100); 薄层析及柱层析硅胶 (青岛海洋硅胶干燥剂厂); 薄层板 (GF254 硅胶制备薄层板, 烟台江友); 葡聚糖凝胶 (Sephadex LH-20, Amersham Pharmacia; HW-40F, Toyopearl); 试剂 (色谱纯, Sigma; 分析纯, 成都科龙化工试剂厂); MILLI-Q 纯水仪 (美国 Millipore 公司); SANYOMLS-3780 型实验用高压灭菌锅 (日本 SANYO 公司); SW-CJ-2F 型双人双面净化工作台 (苏州净化设备有限公司); Forma Series II Water Jacket CO_2 孵箱、Varioskan Flash Multiskan MK3 酶标仪 (美国 Thermo 公司); DMEM 培养基 (批号: 8120501, Gibco 公司); 新生牛血清 (FBS, 批号: 20090301, 浙江天杭生物); 磷酸盐缓冲液 (PBS, 批号: 00005197-240232, 北京中杉金桥生物); DMSO (细胞培养级, 批号: 710N033)、Hoechst33258 染色液、胰蛋白酶 (YM, 批号: 910O041) (Solarbio 公司); 噻唑蓝 (MTT, 批号: EZ6789A155, BioFroxx 公司); Annexin V-FITC/PI 双染色细胞凋亡检测试剂盒 (批号: 20201009, 南京凯基生物); HeLa (人宫颈癌细胞)、A2780 (人卵巢癌细胞) 均购自美国 ATCC; 脂多糖 (lipopolysaccharides, LPS, 批号: 039M4004V, Sigma 公司); 一氧化氮检测试剂盒 (批号: 011020200920, 南京碧云天)。

1 提取与分离

50 kg 蓬莪术药材粉碎后用 95% 乙醇回流提取 3 次, 每次 3 h, 浓缩后将浸膏混悬于水中, 依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取。分别浓缩后得石油醚浸膏 (1 kg)、乙酸乙酯浸膏 (300 g) 和正丁醇浸膏 (500 g)。正丁醇萃取物经大孔吸附树脂, 以乙醇−水系统 (0%、20%、50%、70%、95%) 梯度洗脱, 浓缩得 5 个流分 (A～E)。C 流分经反相中压液相色谱, 以甲醇−水系统 (30%～80%) 梯度洗脱得到 17 个流分 (Fr.1～Fr.17)。Fr.3 经凝胶柱色谱 (CH_2Cl_2−MeOH = 1∶1) 洗脱得到 7 个流分 (Fr.3-1～Fr.3-7), Fr.3-4 组分经硅胶柱色谱 (CH_2Cl_2−MeOH = 200∶1～0∶1) 梯度洗脱得到 15 个流分 (Fr.3-4-1～Fr.3-4-15)。Fr.3-4-12 经凝胶柱色谱 (90% MeOH−H_2O) 洗脱得到 3 个流分 (Fr.3-4-12a～Fr.3-4-12c), 其中 Fr.3-4-12b 经反相半制备 HPLC (1 mL·min^{-1}, 37% MeOH-H_2O) 得到化合物 **1** (2.0 mg, t_R = 140 min)。Fr.3-4-13 经反向中压液相色谱 (20%～60% MeOH-H_2O) 分离得到 4 个流分 (Fr.3-4-13a～Fr.3-4-13d), 其中 Fr.3-4-13b 经制备 TLC (CH_2Cl_2−MeOH = 6∶1) 分离后, 再经反相半制备 HPLC (1 mL·min^{-1}, 40% MeOH-H_2O) 得到化合物 **3** (2.0 mg, t_R = 140 min)。Fr.3-4-14 依次经凝胶及硅胶柱色谱、制备 TLC 分离后, 再经反相半制备 HPLC (1 mL·min^{-1}, 45% MeOH-H_2O) 纯化得化合物 **2** (3.0 mg, t_R = 80 min)。

2 糖苷化合物的水解反应

对从蓬莪术中分离得到糖苷化合物用蜗牛酶进行水解反应, 分别称取相应化合物和蜗牛酶, 质量比约为 1∶6, 然后加入至提前洗净烘干且无有机试剂的试管中, 接着加入搅拌子和适量超纯水, 置于 37 ℃的恒温磁力搅拌器中反应 48 h 后, 终止反应。进行 TLC 检识, 确认反应完全后, 用色谱级乙酸乙酯萃取 3～5 遍, 得到水部位 (糖) 和乙酸乙酯部位 (苷元), 分别浓缩得到相应反应产物。对于水部位的反应产物, 结合相应葡萄糖对照品进行薄层鉴别, 最终确定葡萄糖类型。而对于乙酸乙酯部位的反应产物则通过 HPLC 进行分离纯化, 最后通过 1D NMR 和 2D NMR 验证苷元的结构。

3 结构鉴定

化合物 1 白色无定形粉末。$[\alpha]_D^{20}$ −19.6 (*c* 0.04, MeOH); UV (MeCN) λ_{max} 295 nm; IR (ATR) ν_{max}: 3 354, 2 924, 1 648, 1 514, 1 457, 1 376, 1 261, 1 159, 900, 789, 681 cm^{-1}; (+)-HR-ESI-MS *m*/*z* 393.188 4 $[M+Na]^+$ (计算值: 393.188 9), 分子式: $C_{19}H_{30}O_7$; ^{1}H NMR (CD_3OD, 600 MHz) 和 ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz) 数据如表 1 所示, 化合物结构如图 1 所示。

化合物 2 白色无定形粉末。(+)-HR-ESI-MS *m*/*z* 397.214 9 $[M+Na]^+$, 提示其分子组成为 $C_{19}H_{34}O_7$ (计算值: 397.219 6)。^{1}H NMR (600 MHz, acetone-d_6) δ_H: 4.47 (1H, d, *J* = 7.7 Hz, H-1′), 4.05 (1H, m, H-3), 3.85 (1H, m, H-6′a), 3.74 (1H, m, H-9), 3.68 (1H, m, H-6′b), 3.41 (1H, m, H-3′), 3.36 (1H, m, H-4′), 3.32 (1H, m, H-5′), 3.16 (1H, m, H-2′), 2.32 (1H, m, H-4a), 2.20 (1H, m, H-7a), 1.99 (2H, m, H-4b, H-7b), 1.83 (1H, m, H-2a), 1.65 (3H, s, H_3-13), 1.52 (1H, m, H-8a), 1.50 (1H, m, H-2b), 1.43 (1H, m, H-8b), 1.16 (3H, d, *J* = 6.2 Hz, H_3-10), 1.07 (3H, s, H_3-12), 1.05 (3H, s, H_3-11); ^{13}C NMR (150 MHz, acetone-d_6) δ_C: 138.4 (C-6), 124.6 (C-5), 102.2 (C-1′), 78.2 (C-3′), 77.4 (C-5′), 75.1 (C-2′), 72.2 (C-3), 72.0 (C-4′), 68.2 (C-9), 63.2 (C-6′), 47.5 (C-2), 40.8 (C-8), 39.7 (C-4), 38.4 (C-1), 29.8 (C-12), 28.8 (C-11), 25.3 (C-7), 24.0 (C-10), 20.1 (C-13)。以上数据和文献[33]对照一致,

鉴定为 (3*R*, 9*S*) -megastigman-5-en-3, 9-diol 3-*O*-*β*-*D*-glucopyranoside。

化合物3 白色无定形粉末。(+)-HR-ESI-MS *m*/*z* 395.204 9 $[M+Na]^+$, 提示其分子组成为$C_{19}H_{32}O_7$ (计算值: 395.204 6)。^{1}H NMR (600 MHz, acetone-d_6) δ_H: 5.70 (1H, s, H-4), 4.36 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-1′), 4.11 (1H, m, H-6′a), 3.81 (1H, m, H-9), 3.64 (1H, m, H-6′b), 3.43 (1H, m, H-3′), 3.36 (1H, m, H-4′), 3.28 (1H, m, H-5′), 3.14 (1H, m, H-2′), 2.01 (3H, s, H_3-13), 1.20 (3H, d, *J* = 6.3 Hz, H_3-10), 1.07 (3H, s, H_3-12), 0.99 (3H, s, H_3-11); ^{13}C NMR (150 MHz, acetone-d_6) δ_C: 198.3 (C-3), 165.6 (C-5), 125.5 (C-4), 103.9 (C-1′), 78.2 (C-3′), 77.3 (C-5′), 76.7 (C-9), 75.2 (C-2′), 71.9 (C-4′), 63.2 (C-6′), 51.9 (C-6), 47.9 (C-2), 37.2 (C-8), 36.9 (C-1), 29.0 (C-11), 27.5 (C-12), 26.2 (C-7), 24.6 (C-13), 22.2 (C-10)。以上数据和文献[34]对照一致, 鉴定为blumenol C glucoside。

4 体外细胞毒活性评价

将分离纯化的化合物 (纯度 > 99.0%) 溶于DMSO, 配成浓度为50 mmol·L^{-1}的化合物母液备用。在恒温细胞培养箱 (37 ℃, 5% CO_2) 中, 用DMEM培养基 (10% FBS、1%双抗) 分别培养A2780细胞和HeLa细胞。当细胞长至约80%～90%时, PBS清洗一、两次, 加入2 mL 0.25%胰酶消化, A2780和HeLa细胞分别消化2、4 min, 加入2 mL DMEM培养基 (10% FBS) 终止消化, 吹打脱落后, 将所得细胞悬液置离心管中, 以800 r·min^{-1}离心3 min。吸去上清液, 将部分细胞转移至含6～8 mL新培养基 (10% FBS、1%双抗) 的培养皿中, 于培养箱继续培养。待细胞密度长至约80%～90%, 消化离心计数, A2780和HeLa细胞分别以每孔3 500个接种至96孔板, 每孔100 μL培养基 (10% FBS、1%双抗)。置细胞培养箱中培养24 h, 实验分为空白对照组 (1% FBS DMEM) 和给药组 (含1% FBS与浓度分别为100、50、25、12.5、6.25、3.13 μg·mL^{-1}待测药物的DMEM), 每组各浓度设6个复孔, 每孔100 μL, 给药后继续培养48 h。各孔分别避光加入20 μL浓度为5 mg·mL^{-1}的MTT (现配现用), 继续培养4 h, 吸去上清液, 每孔加入细胞培养级DMSO 150 μL, 于酶标仪570 nm下测其吸光度 (OD) 值。按下列公式计算药物的细胞抑制率: 细胞增殖抑制率% = [1 − (给药组平均OD值/空白对照组平均OD值)] × 100%。

5 体外抗炎活性评价

将蓬莪术正丁醇部位分离纯化的化合物 (纯度 > 99.0%) 溶于DMSO, 配成浓度为50 mmol·L^{-1}的化合物母液备用。细胞复苏后, 于培养箱 (37 ℃、5% CO_2) 中, 以DMEM培养基 (10% FBS、1%双抗) 培养RAW264.7巨噬细胞, 待细胞长至80%～90%时, 用2 mL PBS清洗, 加入2 mL 0.25%胰酶消化4 min后, 加入2 mL培养基 (10% FBS、1%双抗) 终止消化, 轻轻吹打数次, 转移至15 mL离心管中, 以800 r·min^{-1}离心3 min, 吸去上清液, 加入2 mL培养基混匀, 吸取1 mL至新加入6～8 mL的培养基 (10% FBS、1%双抗) 中混匀, 转移至新的培养皿中培养。

取第5～8代且长至80%的目标细胞, 以每孔5×10^{4}个细胞均匀接种于96孔板, 各孔100 μL培养基 (含10% FBS), 置培养箱中培养24 h。实验分为空白对照组 (仅含1% FBS的培养基)、给药组 (含药物浓度分别为3.13、6.25、12.5、25、50 μmol·L^{-1} × 待测化合物的1% FBS培养基), 各浓度3个复孔。给药后继续孵育48 h, 避光加入5 mg·mL^{-1}现配的MTT每孔20 μL, 继续培养4 h后, 吸去上清液, 每孔分别加入150 μL细胞培养级DMSO, 于酶标仪570 nm下测其OD值, 计算细胞存活率。细胞存活率% = (给药组平均OD值/空白对照组平均OD值) × 100%。

取对数生长期且长至80%的RAW264.7细胞, 以每孔5×10^{4}个细胞和每孔100 μL DMEM (10% FBS) 接种至96孔板, 贴壁后, 试验随机分为空白对照组、LPS模型组 (1 μg·mL^{-1}) 和给药组。首先, 空白对照组及模型组均换成每孔100 μL无血清DMEM, 给药 (含浓度分别为3.13、6.25、12.5、25、50 μmol·L^{-1}药物的无血清DMEM), 每孔给药100 μL, 预处理24 h。用DMEM将LPS配成1 μg·mL^{-1}的造模药溶液, 将空白对照组换成每孔100 μL无血清DMEM, 模型组、给药组分别每孔加入1 μg·mL^{-1}的造模药溶液100 μL, 继续培养处理24 h。按NO试剂盒说明书进行操作, 先用标准品溶液制作标准曲线, 接着拿出试验后的96孔板, 每孔取出50 μL的细胞培养上清液于新的96孔板, 然后每孔分别先后加入50 μL的Griess Reagent I和Griess Reagent II, 摇匀后于酶标仪540 nm下测定其OD值, 记录结果。按标准曲线计算NO含量, 并计算NO释放抑制率。NO释放抑制率% = [(模型组NO平均含量 − 给药组NO平均含量)/(模型组NO平均含量−空白对照组NO平均含量)] × 100%。

6 数据统计

数据采用SPSS 19.0分析。细胞增殖抑制率、细胞存活率及NO浓度以平均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 数据符合正态分布且方差齐组间数据数采用One-Way ANOVA检验, 不符合正态分布或方差不齐采用非参数检验。$P < 0.05$或$P < 0.01$表示差异有统计学意义。

作者贡献: 黄宇希为本文第一作者, 负责成分分离、结构

鉴定、细胞活性筛选和论文撰写; 严禹瑶和李小翠协助样品粗分离; 刘菲、熊亮和戴鸥负责实验指导和稿件修改。

利益冲突: 所有作者均声明无利益冲突。

References

[1] National Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People′s Republic of China (中华人民共和国药典) [S]. Part I. Beijing: China Medicine Science and Technology Press, 2015: 274-275.

[2] Feng XY, Luo FK, Hu LL, et al. The innovative development of TCM tumor pathogenesis and the guiding significance of "disease identification machine" [J]. Shaanxi J Tradit Chin Med (陕西中医), 2025, 46: 237-240.

[3] He W. Traditional Chinese medicine for promoting blood circulation and removing blood stasis in reshaping tumor microenvironment [J]. Acta Chin Med (中医学报), 2024, 39: 1188-1194.

[4] Cheng GZ. A combined therapy in cervical cancer mainly treated with *Curcuma aromatica* Salisb [J]. J Dalian Med Univ (大连医科大学学报), 1988, 10: 8-12.

[5] Tang X, Han FJ, Li W, et al. Research on the effect of curcumol in JAK2/STAT3 signalling pathway in human ovarian cancer cell line SKOV3 [J]. Chin J Obstet Gynecol (中华妇产科杂志), 2013, 14: 43-46.

[6] Zhu L, Jiang X. Research progress in the treatment of cancer with *β*-elemene [J]. J Changchun Univ Chin Med (长春中医药大学学报), 2024, 40: 923-927.

[7] Li XC, Chen JF, Xiong L, et al. Study on germacrane-type sesquiterpenoids from *Curcuma phaeocaulis* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2021, 52: 28-34.

[8] Lin YS, Lv QY, Chen SB. Isolation and structural elucidation of sesquiterpene lactones from *Centipeda minima* (L.) A. Br. et Aschers. and bioassay on their anticancer activities [J]. Cent South Pharm (中南药学), 2019, 17: 356-360.

[9] Ma Q, Wang ZG, Yang X, et al. Study on chemical composition and antibacterial activity of the leaves of *Mikania micrantha* H. B. K. [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2020, 32: 2061-2065.

[10] Zheng Y, Xu CL, Lu NY, et al. Study on mechanism of curcumol against liver fibrosis based on autophagy and apoptosis of hepatic stellate cells [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2022, 47: 730-736.

[11] Cui T, Li BY, Liu F, et al. Research progress on sesquiterpenoids of Curcumae Rhizoma and their pharmacological effects [J]. Biomolecules, 2024, 14: 387.

[12] Li QQ, Lee RX, Liang H, et al. Anticancer activity of *β*-elemene and its synthetic analogs in human malignant brain tumor cells [J]. Anticancer Res, 2013, 33: 65-76.

[13] Wei W, Rasul A, Sadiqa A, et al. Curcumol: from plant roots to cancer roots [J]. Int J Biol Sci, 2019, 15: 1600-1609.

[14] Chen X, Zong C, Gao Y, et al. Curcumol exhibits anti-inflammatory properties by interfering with the JNK-mediated AP-1 pathway in lipopolysaccharide-activated RAW264.7 cells [J]. Eur J Pharmacol, 2014, 723: 339-345.

[15] Sribalan R, Kirubavathi M, Banuppriya G, et al. Synthesis and biological evaluation of new symmetric curcumin derivatives [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2015, 25: 4282-4286.

[16] D'Abrosca B, DellaGreca M, Fiorentino A, et al. Structure elucidation and phytotoxicity of C_{13} *nor*-isoprenoids from *Cestrum parqui* [J]. Phytochemistry, 2004, 65: 497-505.

[17] Khan SH, Mosihuzzaman M, Nahar N, et al. Three megastigmane glycosides from the leaves of *Pterospermum semisagittatum* [J]. Pharm Biol, 2003, 41: 512-515.

[18] Lee HJ, Dhodary B, Lee JY, et al. Dereplication of components coupled with HPLC-qTOF-MS in the active fraction of *Humulus japonicus* and it′s protective effects against Parkinson's disease mouse model [J]. Molecules, 2019, 24: 1435.

[19] Giordano A, Tommonaro G. Curcumin and cancer [J]. Nutrients, 2019, 11: 2376.

[20] Wang W, Li M, Wang L, et al. Curcumin in cancer therapy: exploring molecular mechanisms and overcoming clinical challenges [J]. Cancer Lett, 2023, 570: 216332.

[21] Kou RB, Mi FX, Qiu JY, et al. Integrated tandem ultrafiltration membrane technology for separating polysaccharides from *Curcuma longa*: structure characterization, separation mechanisms, and protective effects on HUVECs [J]. Food Chem, 2025, 488: 144918.

[22] Zhang K, Meng C, Liu J, et al. Recognition and comprehensive quantitation of stachydrine analogues in *Leonurus japonicus* based on HILIC-QTOF MS and qHNMR [J]. Anal Chem, 2025, 97:535-542.

[23] Guo S, Liu J. Effects of phytochemicals in cancer chemoprevention [J]. J Pract Oncol (实用肿瘤学杂志), 2020, 34: 460-465.

[24] Zhang H, Liu J, Li G, et al. Fresh red raspberry phytochemicals suppress the growth of hepatocellular carcinoma cells by PTEN/AKT pathway [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2018, 104: 55-65.

[25] Suryawanshi SN, Bhat BA, Pandey S, et al. Chemotherapy of leishmaniasis. Part VII: Synthesis and bioevaluation of substituted terpenyl pyrimidines [J]. Eur J Med Chem, 2007, 42: 1211-1217.

[26] Balbi A, Anzaldi M, Mazzei M, et al. Synthesis and biological evaluation of novel heterocyclic ionone-like derivatives as anti-inflammatory agents [J]. Bioorg Med Chem, 2006, 14: 5152-5160.

[27] Sharma V, Singh G, Kaur H, et al. Synthesis of *β*-ionone derived chalcones as potent antimicrobial agents [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2012, 22: 6343-6346.

[28] Ansari M, Emami S. *β*-Ionone and its analogs as promising anticancer agents [J]. Eur J Med Chem, 2016, 123: 141-154.

[29] Duncan RE, Lau D, El-Sohemy A, et al. Geraniol and *β*-ionone

inhibit proliferation, cell cycle progression, and cyclin-dependent kinase 2 activity in MCF-7 breast cancer cells independent of effects on HMG-CoA reductase activity [J]. Biochem Pharmacol, 2004, 68: 1739-1747.

[30] Liu Q, Dong HW, Sun WG, et al. Apoptosis initiation of *β*-ionone in SGC-7901 gastric carcinoma cancer cells *via* a PI3K-AKT pathway [J]. Arch Toxicol, 2013, 87: 481-490.

[31] Jones S, Fernandes NV, Yeganehjoo H, et al. *β*-Ionone induces cell cycle arrest and apoptosis in human prostate tumor cells [J]. Nutr Cancer, 2013, 65: 600-610.

[32] Huang CS, Lyu SC, Chen JY, et al. The anti-metastatic efficacy of *β*-ionone and the possible mechanisms of action in human hepatocarcinoma SK-Hep-1 cells [J]. Br J Nutr, 2012, 107: 631-638.

[33] Nakanishi T, Iida N, Inatomi Y, et al. A monoterpene glucoside and three megastigmane glycosides from *Juniperus communis* var. *depressa* [J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 2005, 53: 783-787.

[34] Matsunami K, Otsuka H, Takeda Y. Structural revisions of blumenol C glucoside and byzantionoside B [J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 2010, 58: 438-441.