

长果雪胆块茎中的葫芦烷三萜类化学成分研究

魏 华^{1,2*}, 刘一涵¹, 田云刚¹, 向芳芳¹

(吉首大学 1. 湖南省土家医药研究中心, 2. 植物资源保护与利用湖南省高校重点实验室, 湖南 吉首 416000)

摘要: 采用硅胶、Sephadex LH-20、ODS 中压色谱、半制备高效液相等色谱技术对长果雪胆块茎的乙醇提取物进行分离纯化, 从中分离得到了 7 个葫芦烷三萜类化合物, 根据理化性质和波谱数据鉴定为 $3\beta,11\alpha,26,27$ -tetrahydrocucurbita-5,24(*E*)-diene-3,26-glucosides (**1**)、scandenogenin D (**2**)、jinfushanencin F (**3**)、scandenoside R3 (**4**)、scandenoside R₁ (**5**)、scandenogenin A (**6**) 和 scandenoside R₂ (**7**)。其中化合物 **1** 为一新化合物, 体外抗肿瘤活性筛选发现化合物 **2** 对人宫颈癌细胞 HeLa 具有较强的抑制作用, IC₅₀ 为 6.78 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

关键词: 葫芦科; 雪胆属; 长果雪胆; 葫芦烷三萜; 抗肿瘤活性

中图分类号: R284

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2018) 09-1526-06

Cucurbitane-type triterpenoids from the tubers of *Hemsleya dolichocarpa*

WEI Hua^{1,2*}, LIU Yi-han¹, TIAN Yun-gang¹, XIANG Fang-fang¹

(1. Tujia Medicine Research Center in Hunan, 2. Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Utilization, College of Hunan Province, Jishou University, Jishou 416000, China)

Abstract: Seven cucurbitane-type triterpenoids were isolated from the ethanol extract of the tubers of *Hemsleya dolichocarpa*, with a combination of various chromatographic approaches, including silica gel, Sephadex LH-20, Semi-HPLC and so on. On the basis of spectroscopic data analysis, they were identified as $3\beta,11\alpha,26,27$ -tetrahydrocucurbita-5,24(*E*)-diene-3,26-glucosides (**1**), scandenogenin D (**2**), jinfushanencin F (**3**), scandenoside R3 (**4**), scandenoside R₁ (**5**), scandenogenin A (**6**), scandenoside R₂ (**7**). Among them, compound **1** is a new triterpenoid, compound **2** showed remarkable activity against human cancer cell line HeLa with IC₅₀ value of 6.78 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

Key words: Cucurbitaceae; *Hemsleya* genus; *H. dolichocarpa*; cucurbitane-type triterpenoids; anti-tumor activity

雪胆为雪胆属多种植物如长果雪胆 (*H. dolichocarpa*)、峨眉雪胆 (*H. omeiensis*)、巨花雪胆 (*H. gigantea*)、蛇莲 (*H. sphaerocarpa*) 和雪胆 (*H.*

chinensis) 等的干燥块茎, 具有清热解毒、消炎杀菌、健胃止痛等功效, 常用于胃痛、溃疡病、上呼吸道感染、支气管炎、肺炎、肠炎、泌尿系感染等常见感染性疾病的治疗, 为我国西南地区各民族常用的中草药^[1-3]。现代研究表明, 雪胆的主要活性成分为葫芦烷型四环三萜及其皂苷和齐墩果烷型五环三萜及其皂苷, 其中尤以葫芦烷三萜的含量最高, 药理实验表明该类成分具有显著的药理活性, 包括抗肿瘤、抗菌、抗炎、抗 HIV 等^[4-6]。

收稿日期: 2018-06-06; 修回日期: 2018-07-06.

基金项目: 湖南省土家医药研究中心开放项目 (20172001); 植物资源保护与利用湖南省高校重点实验室开放项目 (JSK2017YX008); 湖南省重点学科建设项目 (JSU0713); 湘西州 2016 年科技计划一般项目.

*通讯作者 Tel: 18974392218, E-mail: weihua20@126.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-0526

长果雪胆 (*H. dolichocarpa*) 为葫芦科 (Cucurbitaceae) 雪胆属 (*Hemsleya*) 植物, 生于海拔 2 000 米左右的山谷灌丛中, 主要分布于四川中部, 其块茎为雪胆来源之一。因此, 为了筛选活性显著的葫芦烷三萜类化合物, 课题组以研究较少的长果雪胆块茎为研究对象, 对其进行了化学成分的研究, 从其乙醇提取物中分离得到 7 个葫芦烷三萜类化合物, 包括一个新化合物和 6 个已知化合物, 分别鉴定为 3 β , 11 α , 26, 27-tetrahydroxycucurbita-5, 24(*E*)-diene-3, 26-glucosides (**1**)、scandenogenin D (**2**)、jinfushanencin F (**3**)、scandenoside R3 (**4**)、scandenoside R₁ (**5**)、scandenogenin A (**6**) 和 scandenoside R₂ (**7**)。其中化合物 **1** 为一新化合物, 结构见图 1。

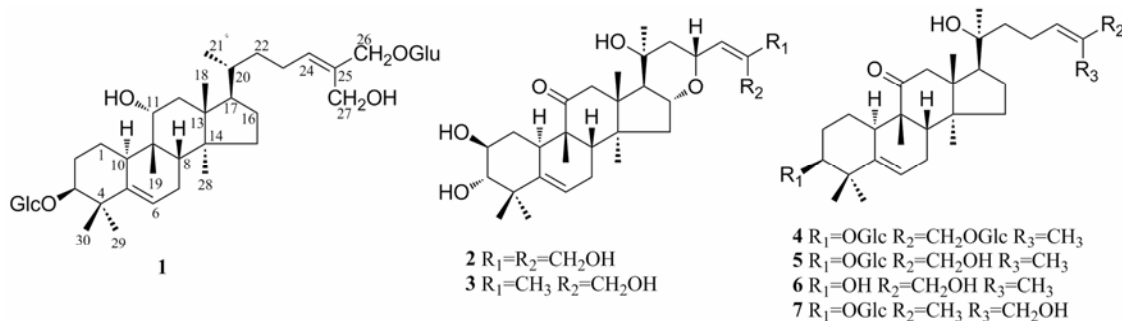


Figure 1 Structures of compounds 1-7

Table 1 NMR data (600 MHz, in pyridine-*d*₅) for compound 1

| Position | δ_C , type | δ_H (<i>J</i> in Hz) | Position | δ_C , type | δ_H (<i>J</i> in Hz) |
|----------|-----------------------|------------------------------|----------|-----------------------|------------------------------|
| 1 | 27.2, CH ₂ | 2.92, m; 1.98, m | 23 | 25.1, CH ₂ | 1.80, m; 1.25, m |
| 2 | 30.0, CH ₂ | 2.42, m; 2.02, m | 24 | 132.1, CH | 5.80, t (7.2) |
| 3 | 88.3, CH | 3.67, m | 25 | 137.4, C | |
| 4 | 42.8, C | | 26 | 73.3, CH ₂ | 4.89, d (6.6) |
| 5 | 144.7, C | | 27 | 58.6, CH ₂ | 4.65, s |
| 6 | 118.9, CH | 5.48, t (6.0) | 28 | 19.7, CH ₃ | 0.88, s |
| 7 | 25.0, CH ₂ | 2.66, m; 1.70, m | 29 | 28.1, CH ₃ | 1.15, s |
| 8 | 43.9, CH | 1.62, m | 30 | 26.8, CH ₃ | 1.56, s |
| 9 | 40.5, C | | 3-Glu | | |
| 10 | 37.3, CH | 2.78, dd (10.4, 1.2) | 1 | 107.8, CH | 4.90, d (7.8) |
| 11 | 78.2, CH | 4.16, m | 2 | 75.9, CH | 3.98, m |
| 12 | 41.5, CH ₂ | 2.08, m; 2.06, m | 3 | 79.1, CH | 4.24, m |
| 13 | 47.7, C | | 4 | 72.2, CH | 4.01, m |
| 14 | 50.1, C | | 5 | 78.6, CH | 3.97, m |
| 15 | 34.9, CH ₂ | 1.19, m; 1.05, m | 6 | 63.4, CH ₂ | 4.57, d (12.0); 4.38, m |
| 16 | 28.7, CH ₂ | 2.29, m; 2.12, m | 26-Glu | | |
| 17 | 51.0, CH | 1.50, m | 1 | 103.9, CH | 4.92, d (7.8) |
| 18 | 17.4, CH ₃ | 0.87, s | 2 | 75.7, CH | 4.10, m |
| 19 | 26.7, CH ₃ | 1.30, s | 3 | 79.0, CH | 4.26, m |
| 20 | 36.5, CH | 1.40, m | 4 | 72.2, CH | 4.20, m |
| 21 | 19.2, CH ₃ | 0.91, d (6.6) | 5 | 78.5, CH | 4.22, m |
| 22 | 37.1, CH ₂ | 1.42, m; 1.11, m | 6 | 63.2, CH ₂ | 4.52, d (12.0); 4.38, (m) |

结果与讨论

1 结构鉴定

化合物 **1** 白色粉末(甲醇)。[α]_D²⁰ +2.8 (*c* 0.06, MeOH); HR-ESI-MS *m/z*: 821.467 3 [M+Na]⁺ (计算值: 821.466 3), 确定分子式为 C₄₂H₇₀O₁₄, 不饱和度为 8。UV 末端吸收峰 λ_{\max} (log ϵ): 204 (3.78) nm。红外光谱显示结构中存在羟基 (3458~3347 cm⁻¹)、甲基 (2948、2867 cm⁻¹)、双键 (1 625 cm⁻¹) 等特征信号峰。

¹H NMR 谱 (表 1) 显示结构中存在 6 个甲基信号 δ_H 0.87 (s)、0.88 (s)、0.91 (d, *J* = 6.6 Hz)、1.15 (s)、1.30 (s)、1.56 (s); 两个烯氢质子信号 δ_H 5.48 (t, *J* = 6.0 Hz) 和 δ_H 5.80 (t, *J* = 7.2 Hz)。两个端基质子信号 δ_H 4.90 (1H, d, *J* = 7.80 Hz)、 δ_H 4.92 (1H, d, *J* = 7.80 Hz),

提示结构中存在两分子的糖结构单元。除去两分子的六碳糖信号, ^{13}C NMR APT 谱 (表 1) 共给出 30 个碳信号, 包括 6 个甲基碳、10 个亚甲基碳 (2 个羟甲基碳 δ_{C} 73.3、58.6)、8 个次甲基碳 (2 个连氧碳 δ_{C} 88.3、78.2; 2 个烯碳 δ_{C} 118.9、132.1) 和 6 个季碳 (2 个烯碳 δ_{C} 144.7、137.4), 说明化合物 **1** 为典型的三萜结构类型, 结合关键碳信号包括 6 个甲基碳信号 δ_{C} 17.4、19.2、19.7、26.7、26.8、28.1 和 4 个烯碳信号 δ_{C} 118.9、132.1、144.7、137.4, 推断该三萜的基本骨架为葫芦烷型三萜皂苷^[7–9]。该结论进一步被 ^1H - ^1H COSY (图 2) 和 HMBC 谱证实。

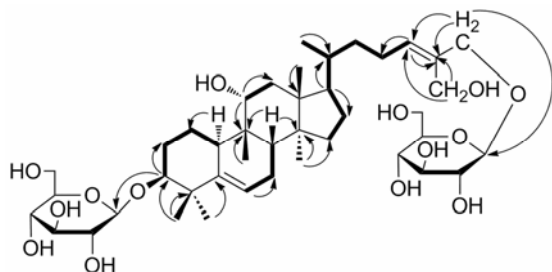


Figure 2 Key ^1H - ^1H COSY (bold bonds) and HMBC (arrows) correlations of compound **1**

化合物 **1** 的官能团和取代基位置由 HSQC 和 HMBC 谱确定 (图 2)。在 HMBC 谱中, δ_{H} 5.80 (1H, t, $J = 7.2$ Hz) 与 C-22 (δ_{C} 37.1) 和 C-23 (δ_{C} 25.1) 存在相关, 提示 C-24/25 位被氧化形成双键; 另外, H_3 -29 (δ_{H} 1.15, s) 与 C-5 (δ_{C} 144.7), H-6 (δ_{H} 5.48, t, $J = 6.0$ Hz) 与 C-4 (δ_{C} 42.8) 均存在相关, 显示 C-5/6 位存在双键。在 HSQC 谱中, δ_{H} 4.89 (2H, d, $J = 6.6$ Hz) 与 δ_{C} 73.3, δ_{H} 4.65 (2H, s) 与 δ_{C} 58.6 存在直接相关, 提示结构中存在两个羟甲基官能团, 进一步分析 HMBC 谱发现, 4 个质子信号均与 C-24 (δ_{C} : 132.1) 和 C-25 (δ_{C} : 137.4) 存在相关, 提示葫芦烷三萜 C-26 和 C-27 位甲基在化合物 **1** 中均被氧化形成羟甲基; 连氧质子 δ_{H} 4.16 (1H, m) 在 HSQC 谱中与 δ_{C} 78.2 存在直接相关, 在 HMBC 谱中与 C-9 (δ_{C} : 40.5) 和 C-12 (δ_{C} : 41.5) 存在相关, 结合分子式提示 C-11 位存在羟基取代。另外, 在 HMBC 谱中, δ_{H} 3.67 (1H, m, H-3) 与 δ_{C} 107.8 (Glu-1) 存在相关, 提示一分子的糖单元与 C-3 位相连; δ_{H} 4.89 (2H, d, $J = 6.6$ Hz) 与 δ_{C} 103.9 (Glu-1) 存在相关, 说明另一分子的糖单元与 C-26 位相连。化合物 **1** 水解后水层部位经薄层色谱检视, 在相同薄层色谱条件下, 水解液与 *D*-葡萄糖对照品在相同位置显示相同颜色的斑点, 进一步采用蒸发光

检测器对水解液分析发现其与 *D*-葡萄糖对照品的保留时间基本一致 ($t_{\text{R}} = 12.3$ min), 因此, 将结构中的糖单元鉴定为 *D*-葡萄糖, 端基质子偶合常数 ($J = 7.8$ Hz) 提示两分子的葡萄糖单元均为 β 型。化合物 **1** 的相对构型是由 NOESY 谱和偶合常数来确定。在 NOE 谱中, H-3 (δ_{H} 3.67) 与 H-10 (δ_{H} 2.78) 存在相关, H-11 (δ_{H} 4.16) 与 H-8 (δ_{H} 1.62) 存在相关, 提示 C-3 位的葡萄糖单元处于 β 位, C-11 位的羟基处于 α 位。目前所得的葫芦烷三萜中 A/B、C/D 环均处于反式, B/C 环处于顺式^[8–10], 基于同源生物合成途径的考虑, 化合物 **1** 应具有同样的母核立体构型, 因此, 化合物 **1** 取代基的立体构型如图所示。综上所述, 将化合物 **1** 的结构确定为 *3\beta, 11\alpha, 26, 27*-tetrahydroxycucurbita-5, 24(*E*)-diene-3, 26-glucosides, 该化合物为一新葫芦烷三萜类化合物。

2 活性评价

活性评价结果表明, 该类化合物对人宫颈癌细胞 HeLa 的抑制作用较强, 其中化合物 **2** 的 IC_{50} 达到了 $6.78 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 对人结肠癌细胞 HCT-8 的抑制作用较弱, 仅有化合物 **2** 和 **3** 有一定的抑制作用, IC_{50} 分别为 46.1 和 $44.3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。(表 2)

Table 2 *In vitro* antiproliferative activity of compounds **1**–**7**

| Compound | $\text{IC}_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ | |
|-------------|--|-----------------|
| | HeLa | HCT-8 |
| 1 | 28.4 ± 2.3 | > 50 |
| 2 | 6.78 ± 1.1 | 46.1 ± 2.3 |
| 3 | 14.6 ± 0.79 | 44.3 ± 0.96 |
| 4 | 41.3 ± 1.4 | > 50 |
| 5 | 37.1 ± 1.2 | > 50 |
| 6 | 23.4 ± 1.6 | > 50 |
| 7 | > 50 | > 50 |
| Doxorubicin | 1.1 ± 0.13 | 0.82 ± 0.05 |

实验部分

Bruker Avance III 600 型核磁共振波谱仪, 赛默飞世 LTQ-Obitrap XL 液质联用仪, BYLABUV-III 紫外灯 (北京炳洋科技有限公司), Waters 公司高效液相色谱仪 (Waters TM600 Delta 四元泵; Waters TM 600 Controller 系统控制器; Waters 2996 检测器), Lumtech 高效液相色谱仪 (K501 四元低压半制备) 流速 $2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 检测波长 210 nm, 薄层色谱用硅胶 G、H、GF-254 和柱色谱用硅胶 (青岛海洋化工有限公司), Sephadex LH-20 凝胶为 Pharmacia 公司产品, MCI 为日本三菱化学公司产品, 常规试剂均为分析纯。

长果雪胆块茎采于重庆金佛山地区, 经吉首大学生物资源与环境科学学院张代贵教授鉴定为长果雪胆 *H. dolichocarpa* 的干燥块茎, 标本现保存于湖南吉首大学, 标本号为 No. JIU.WH 20161183。

1 提取与分离

长果雪胆干燥块茎 (1.6 kg) 粉碎后过 80 目筛, 加 8 倍量 95% 乙醇加热回流提取 3 次, 每次 2 h, 合并提取液, 减压回收溶剂, 浓缩后得总浸膏 114.0 g。总浸膏经水分散后, 依次用石油醚、氯仿、乙酸乙酯萃取, 萃取液减压浓缩至干。最终得到石油醚部位浸膏 17.8 g, 氯仿部位浸膏 34.9 g, 乙酸乙酯部位浸膏 11.3 g。

取乙酸乙酯层浸膏 11.3 g, 经硅胶柱色谱 (100~200 目) 分离, 氯仿-甲醇 (1:0~0:1) 梯度洗脱, 得到 7 个馏分 Fr A-G。其中馏分 Fr D (氯仿-甲醇 60:1) 经 Sephadex LH-20 柱色谱洗脱, 除去色素类物质, 进一步经 ODS 中压色谱柱依次用 30%、50%、60%、70%、80%、90% 甲醇洗脱。60% 洗脱液经高效液相色谱分离纯化, 得到化合物 **1** (6.5 mg, CH₃OH-H₂O: 55-45, *t_R* = 17.8 min); 70% 洗脱液经高效液相色谱分离纯化, 得到化合物 **2** (3.6 mg, CH₃OH-H₂O: 60-40, *t_R* = 21.4 min)、**3** (6.1 mg, CH₃OH-H₂O: 60-40, *t_R* = 23.5 min); 80% 洗脱液经高效液相色谱分离纯化, 得到化合物 **6** (5.5 mg, CH₃OH-H₂O: 68-32, *t_R* = 34.1 min); Fr F (氯仿-甲醇 40:1) 经 ODS 中压色谱柱依次用 50%、70%、90% 甲醇洗脱, 其中 50% 洗脱液经高效液相色谱分离纯化, 得到化合物 **4** (6.4 mg, CH₃OH-H₂O: 44-56, *t_R* = 23.6 min); 70% 洗脱液经高效液相色谱分离纯化 **5** (7.7 mg, CH₃OH-H₂O: 55-45, *t_R* = 33.5 min)、**7** (5.8 mg, CH₃OH-H₂O: 55-45, *t_R* = 37.2 min)。

2 结构鉴定

化合物 1 白色粉末(甲醇)。[α]_D²⁰ +2.8 (*c* 0.06, MeOH); HR-ESI-MS *m/z*: 821.4673 [M+Na]⁺ (计算值: 821.4663), 确定分子式为 C₄₂H₇₀O₁₄, 不饱和度为 8。UV 末端吸收峰 λ_{max} (log ε): 204 (3.78) nm。红外光谱显示结构中存在羟基 (3458~3347 cm⁻¹)、甲基 (2948、2867 cm⁻¹)、双键 (1625 cm⁻¹) 等特征信号峰。NMR 数据见表 1。

化合物 2 白色无定形粉末, 易溶于甲醇。ESI-MS *m/z*: 541 [M+Na]⁺。¹H NMR (600 MHz, pyridine-*d*₅) δ_H 1.22 (3H, s, H-19), 1.28 (3H, s, H-18), 1.29 (3H, s, H-29), 1.36 (3H, s, H-28), 1.43 (3H, s, H-30), 1.46 (3H,

s, H-21), 3.42 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-3), 4.11 (1H, m, H-2), 4.72 (2H, s, H-27), 4.73 (2H, s, H-26), 5.11 (1H, m, H-16), 5.15 (1H, m, H-23), 5.69 (1H, d, *J* = 5.4 Hz, H-6), 6.71 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-24); ¹³C NMR (150 MHz, pyridine-*d*₅) δ_C 34.4 (C-1), 70.7 (C-2), 81.2 (C-3), 42.6 (C-4), 142.2 (C-5), 118.5 (C-6), 24.0 (C-7), 42.6 (C-8), 49.0 (C-9), 34.0 (C-10), 212.9 (C-11), 48.6 (C-12), 48.5 (C-13), 48.5 (C-14), 41.5 (C-15), 70.3 (C-16), 55.8 (C-17), 19.9 (C-18), 20.3 (C-19), 72.2 (C-20), 30.0 (C-21), 46.4 (C-22), 70.6 (C-23), 128.3 (C-24), 142.1 (C-25), 65.3 (C-26), 58.2 (C-27), 21.6 (C-28), 22.1 (C-29), 25.2 (C-30)。以上数据与文献报道 scandenogenin D 一致^[7], 故将化合物 **2** 鉴定为 scandenogenin D。

化合物 3 白色无定形粉末, 易溶于甲醇。525 [M+Na]⁺, ¹H NMR (600 MHz, pyridine-*d*₅) δ_H 1.22 (3H, s, H-19), 1.26 (3H, s, H-18), 1.28 (3H, s, H-29), 1.36 (3H, s, H-28), 1.42 (3H, s, H-21), 1.47 (3H, s, H-30), 1.97 (3H, s, H-26), 3.40 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-3), 4.10 (1H, m, H-2), 4.52 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, H-27a), 4.58 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, H-27b), 5.09 (1H, m, H-23), 5.14 (1H, m, H-16), 5.71 (1H, d, *J* = 6.0 Hz, H-6), 6.68 (1H, d, *J* = 6.0 Hz, H-24); ¹³C NMR (150 MHz, pyridine-*d*₅) δ_C 35.2 (C-1), 71.3 (C-2), 81.7 (C-3), 43.2 (C-4), 142.8 (C-5), 119.0 (C-6), 24.6 (C-7), 43.3 (C-8), 49.8 (C-9), 34.6 (C-10), 213.4 (C-11), 49.2 (C-12), 49.0 (C-13), 49.1 (C-14), 42.2 (C-15), 70.8 (C-16), 56.5 (C-17), 20.4 (C-18), 21.2 (C-19), 72.7 (C-20), 30.5 (C-21), 47.2 (C-22), 71.4 (C-23), 129.4 (C-24), 139.1 (C-25), 21.4 (C-26), 61.3 (C-27), 22.3 (C-28), 22.7 (C-29), 25.8 (C-30)。以上数据与文献报道 jinfushanencin F 一致^[11], 故将化合物 **3** 鉴定为 jinfushanencin F。

化合物 4 白色无定形粉末, 易溶于甲醇。ESI-MS *m/z*: 819 [M+Na]⁺。¹H NMR (600 MHz, pyridine-*d*₅) δ_H 1.23 (3H, s, H-19), 1.21 (3H, s, H-18), 1.29 (3H, s, H-28), 1.31 (3H, s, H-29), 1.52 (3H, s, H-30), 1.68 (3H, s, H-21), 1.89 (3H, s, H-27), 3.66 (1H, m, H-3), 4.90 (2H, d, *J* = 7.8 Hz, H-26), 5.46 (1H, d, *J* = 6.0 Hz, H-6), 5.48 (1H, t, *J* = 6.6 Hz, H-24); ¹³C NMR (150 MHz, pyridine-*d*₅) δ_C 22.3 (C-1), 28.6 (C-2), 87.2 (C-3), 42.1 (C-4), 141.6 (C-5), 118.9 (C-6), 25.0 (C-7), 43.8 (C-8), 49.0 (C-9), 36.1 (C-10), 214.2 (C-11), 49.2 (C-12), 49.8 (C-13), 50.1 (C-14), 34.9 (C-15), 22.4 (C-16), 51.1 (C-17), 19.1 (C-18), 20.4 (C-19), 74.2 (C-20), 26.1 (C-21), 44.7 (C-22), 23.1 (C-23), 130.3 (C-24), 132.3 (C-25), 75.2 (C-26), 14.2 (C-27), 19.1 (C-28), 28.1 (C-29), 26.7 (C-30), 3-Glc: 107.9 (C-1'), 75.9 (C-2'),

79.1 (C-3'), 72.1 (C-4'), 78.6 (C-5'), 63.4 (C-6'), 26-Glc: 103.4 (C-1''), 75.6 (C-2''), 79.1 (C-3''), 72.1 (C-4''), 78.2 (C-5''), 63.2 (C-6''), 以上数据与文献报道 scandenoside R3 一致^[12], 故将化合物 **4** 鉴定为 scandenoside R3。

化合物 5 白色无定形粉末, 易溶于甲醇。ESI-MS m/z : 657 [M+Na]⁺。¹H NMR (600 MHz, pyridine-*d*₅) δ_{H} 1.12 (3H, s, H-18), 1.15 (3H, s, H-28), 1.19 (3H, s, H-19), 1.25 (3H, s, H-29), 1.47 (3H, s, H-30), 1.57 (3H, s, H-21), 1.78 (1H, s, H-27), 3.68 (1H, m, H-3), 4.31 (2H, s, H-26), 5.50 (1H, d, $J = 5.4$ Hz, H-6), 5.78 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, H-24); ¹³C NMR (150 MHz, pyridine-*d*₅) δ_{C} 22.1 (C-1), 28.5 (C-2), 87.5 (C-3), 42.2 (C-4), 141.3 (C-5), 118.8 (C-6), 24.5 (C-7), 43.4 (C-8), 49.0 (C-9), 36.3 (C-10), 214.5 (C-11), 49.5 (C-12), 50.5 (C-13), 49.6 (C-14), 34.7 (C-15), 22.4 (C-16), 51.4 (C-17), 19.6 (C-18), 20.3 (C-19), 74.0 (C-20), 26.1 (C-21), 45.2 (C-22), 23.7 (C-23), 125.0 (C-24), 136.7 (C-25), 68.3 (C-26), 14.1 (C-27), 18.5 (C-28), 28.6 (C-29), 26.5 (C-30), 3-Glc: 107.2 (C-1'), 75.6 (C-2'), 79.1 (C-3'), 72.5 (C-4'), 78.4 (C-5'), 63.1 (C-6'), 以上数据与文献报道 scandenoside R₁ 一致^[13], 故将化合物 **5** 鉴定为 scandenoside R₁。

化合物 6 白色无定形粉末, 易溶于甲醇。ESI-MS m/z : 495 [M+Na]⁺。¹H NMR (600 MHz, pyridine-*d*₅) δ_{H} 1.14 (3H, s, H-18), 1.15 (3H, s, H-28), 1.24 (3H, s, H-19), 1.27 (3H, s, H-29), 1.44 (3H, s, H-30), 1.65 (3H, s, H-21), 1.83 (1H, s, H-27), 3.71 (1H, m, H-3), 4.32 (2H, s, H-26), 5.72 (1H, t, $J = 5.4$ Hz, H-6), 6.12 (1H, t, $J = 6.6$ Hz, H-24); ¹³C NMR (150 MHz, pyridine-*d*₅) δ_{C} 21.8 (C-1), 30.3 (C-2), 76.0 (C-3), 42.3 (C-4), 141.8 (C-5), 119.5 (C-6), 24.5 (C-7), 43.7 (C-8), 49.4 (C-9), 36.4 (C-10), 214.7 (C-11), 49.8 (C-12), 50.9 (C-13), 49.9 (C-14), 34.7 (C-15), 23.0 (C-16), 54.0 (C-17), 18.8 (C-18), 20.6 (C-19), 75.5 (C-20), 26.7 (C-21), 48.8 (C-22), 23.0 (C-23), 129.2 (C-24), 136.9 (C-25), 67.7 (C-26), 14.5 (C-27), 19.5 (C-28), 28.3 (C-29), 27.0 (C-30), 以上数据与文献报道 scandenogenin A 一致^[13], 故将化合物 **6** 鉴定为 scandenogenin A。

化合物 7 白色粉末, 易溶于甲醇。ESI-MS m/z : 657 [M+Na]⁺。¹H NMR (600 MHz, pyridine-*d*₅) δ_{H} 1.07 (3H, s, H-18), 1.13 (3H, s, H-28), 1.26 (3H, s, H-19), 1.34 (3H, s, H-29), 1.46 (3H, s, H-30), 1.53 (3H, s, H-21), 1.85 (1H, s, H-26), 3.62 (1H, m, H-3), 4.23 (2H, s, H-27), 5.47 (1H, d, $J = 5.4$ Hz, H-6), 5.85 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, H-24); ¹³C NMR (150 MHz, pyridine-*d*₅) δ_{C} 22.5 (C-1), 29.0 (C-2), 87.7 (C-3), 42.2 (C-4), 141.7 (C-5), 118.9 (C-6), 24.6 (C-7), 42.5 (C-8), 49.2 (C-9),

36.1 (C-10), 213.6 (C-11), 49.2 (C-12), 49.3 (C-13), 50.0 (C-14), 34.6 (C-15), 22.5 (C-16), 51.8 (C-17), 18.2 (C-18), 20.5 (C-19), 72.9 (C-20), 26.3 (C-21), 45.3 (C-22), 23.6 (C-23), 128.1 (C-24), 136.5 (C-25), 21.0 (C-26), 61.3 (C-27), 18.4 (C-28), 28.6 (C-29), 26.3 (C-30), 3-Glc: 107.9 (C-1'), 75.9 (C-2'), 79.2 (C-3'), 72.9 (C-4'), 78.7 (C-5'), 63.4 (C-6'), 以上数据与文献报道 scandenoside R₂ 一致^[13], 故将化合物 **7** 鉴定为 scandenoside R₂。

3 活性筛选

采用 MTT 比色法, 对所得化合物 **1~7** 进行抗肿瘤活性筛选: 选取人宫颈癌细胞 HeLa、人结肠癌细胞 HCT-8, DMEM 培养基稀释后, 以每毫升 6×10^4 个的密度接种于 96 孔板, 每孔 100 μL , 培养箱中正常培养 24 h 后, 加药, 使待测药物的最终浓度分别为 3.125、6.25、12.5、25、50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 阳性药为阿霉素, 每个浓度 3 个复孔, 并设空白组。培养 48 h 后, 于每孔加 MTT 10 μL 染色。继续培养 4 h 后, 吸弃原培养液, 每孔加入 DMSO 200 μL , 置摇床上低速振荡 10 min, 使结晶物充分溶解, 并于酶联免疫检测仪 570 nm 波长处检测光密度值。

References

- [1] Shi YQ, Yang PQ, Chen L, et al. Studies on the chemical constituents of Emeixuedan (*Hemsleya errriensis*) [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 1995, 26: 619–621.
- [2] Li Y, Xu XT, Zheng CF, et al. Research progress on chemical constituents and biological activities of plants from *Hemsleya Cogn.* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2015, 46: 2800–2808.
- [3] Meng XJ, Chen YZ, Nie RL, et al. A new cucurbitacin from *Hemsleya graciliflora* [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 1985, 20: 455–458.
- [4] Rui HK, Yuan MY, Yu QM, et al. The structure of cucurbitacin II glycoside [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 1981, 16: 445–447.
- [5] Xu XT, Bai H, Zhou L, et al. Three new cucurbitane triterpenoids from *Hemsleya penxianensis* and their cytotoxic activities [J]. Biol Med Chem Lett, 2014, 24: 2159–2162.
- [6] Xu JZ, Wang XQ, Huang KX, et al. Studies on the chemical constituents of triterpenoid saponins in *Hemsleya chinensis Cogn.* [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2009, 43: 1770–1773.
- [7] Morita T, Rui LN, Hiroko F. Solubilization of saikosaponin-a with hemslosides Ma₂ and Ma₃ and structure of hemsloside

- H₁ from *Hemsleya chinensis* [J]. Chem Pharm Bull, 1986, 34: 401–405.
- [8] Kasai R, Nie RL. Saponins from Chinese medicinal plant, *Hemsleya graciliflora* [J]. Chem Pharm Bull, 1990, 38: 1320–1322.
- [9] Hano Y, Shi YQ. Two acetogenins from *Hemsleya ellipsoidea* [J]. Phytochemistry, 1997, 46: 1447–1449.
- [10] Song N, Li L, Zhen J, et al. Two new penterpenoid saponins and a new diterpenoid glycoside from *Hemsleya chinensis* [J]. Phytochem Lett, 2015, 13: 103–107.
- [11] Kubo H, Ohtani K, Kasai R, et al. Cucurbitane glycosides from *Hemsleya panacis-scandens* Rhizomes [J]. Phytochemistry, 1996, 41: 1169–1174.
- [12] Li YD, Yi SR, Sun XB, et al. Bioactive cucurbitane triterpenoids from the tubers of *Hemsleya penxianensis* [J]. Phytochem Lett, 2016, 18: 5–9.
- [13] Kasai R, Matsumoto K, Nie RL, et al. Glycosides from Chinese medicinal plant, *Hemsleya panacis-scandens*, and structure-taste relationship of cucurbitane glycosides [J]. Chem Pharm Bull, 1988, 36: 234–243.