

蔓菁中两个新的三萜化合物及其抗癌活性研究

杜琳^{1,2}, 黄清东³, 陈聪地^{1,2}, 韩涛^{1,2}, 张琦^{1,2}, 杜伟^{4*}

(1. 成都师范学院化学与生命科学学院, 四川 成都 611130; 2. 成都师范学院功能分子研究所, 四川 成都 611130;
3. 成都百特万合医药科技有限公司; 四川 成都 611130; 4. 郑州大学第一附属医院神经外科, 河南 郑州 450052)

摘要: 综合运用大孔吸附树脂、硅胶柱色谱、半制备型高效液相及 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱等各种色谱技术, 对蔓菁 *Brassica rapa* L. 乙醇提取物的化学成分进行系统研究, 共分离得到 4 个三萜、3 个黄酮和 1 个甾体类化合物。根据其理化性质和高分辨及二维核磁等波谱数据鉴定化合物的结构, 其中 **1**、**2** 为新的三萜类化合物, **3**~**7** 首次从该植物中分离得到。细胞毒活性显示 **1** 和 **2** 对 5 种常见的癌细胞均显示一定的抑制作用, 尤其是对 HL-60 具有显著的细胞毒活性, 其 IC₅₀ 分别为 5.87 和 10.32 μmol·L⁻¹。

关键词: 藏药; 蔓菁; 化学成分; 细胞毒活性

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2019)11-2049-06

Anti-cancer activity of two new triterpenes from *Brassica rapa*

DU Lin^{1,2}, HUANG Qing-dong³, CHEN Cong-di^{1,2}, HAN Tao^{1,2}, ZHANG Qi^{1,2}, DU Wei^{4*}

(1. College of Chemistry and Life Science, Chengdu Normal University, Chengdu 611130, China; 2. Institute of Functional Molecules, Chengdu Normal University, Chengdu 611130, China; 3. Chengdu Better Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Chengdu 611130, China; 4. Department of Neurosurgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

Abstract: The chemical constituents from *Brassica rapa* were identified by various chromatographic techniques including silica gel, reversed-phase silica gel, macroporous resin and Sephadex LH-20 column chromatography. Eight compounds were isolated from this plant. The isolated compounds were elucidated by physicochemical properties and spectroscopic methods, including extensive 1D, 2D-NMR, and HR-ESI-MS techniques. Compounds **1**, **2** are new triterpenoids and **3**–**7** were isolated for the first time from *Brassica rapa*. The cytotoxic effect of compounds **1** and **2** were tested by MTT assay against five cancer cell lines. The result showed that all compounds exhibit growth inhibition for the cancer lines. Compound **1** has an IC₅₀ value of 5.87 μmol·L⁻¹ for growth inhibition of leukemia cell line HL-60, and IC₅₀ value for compound **2** was 10.32 μmol·L⁻¹.

Key words: Tibetan material herb; *Brassica rapa*; chemical constituent; cytotoxic activity

蔓菁 (*Brassica rapa*) 是一种药食同源植物, 属于十字花科, 在我国西藏、新疆等高海拔地区均有分布, 秋季块根及种子在成熟时采收。在藏药典籍中, 蔓菁又名“妞玛”、“圆根”、或者“芫根”^[1], 而在维药中则称为“恰玛古”, 药用部分均为种子或其根部^[2]。传统理论认为, 其味甘、性温, 具有清热解毒, 滋补增氧的特

性, 临床用于治疗各种中毒症及身体虚弱者^[3-5]。化学成分主要包括: 皂苷类、黄酮类、多糖类、生物碱类及挥发油, Zhou 等^[6-8]从蔓菁叶中分离得到了槲皮素、山柰酚、异鼠李素等黄酮类成分, 但未见关于其块根具体的化学成分研究报道。现代药理研究表明, 蔓菁皂苷具有提高小鼠体内谷胱甘肽过氧化酶 (GSH-PX) 活性的作用^[9], 同时具有抗疲劳、抗缺氧、抗肿瘤及降血糖等药理活性^[8]。本课题组在前期研究中发现, 蔓菁的 80% 醇提取物对白血病细胞 HL-60 表现出较为显著的

收稿日期: 2019-06-10; 修回日期: 2019-07-02.

基金项目: 四川省科技厅重点研发项目 (2019YFS0096).

*通讯作者 Tel: 1383851334, E-mail: duwei@zcu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2019-0454

细胞毒活性。为了寻找具有更高活性单体化合物, 探明蔓菁的药理活性物质基础, 本研究对蔓菁块根的80%乙醇提取物的化学成分进行系统研究, 分离得到4个三萜、3个黄酮以及1个甾体类化合物。分别鉴定为: 蔓菁皂苷A (1)、蔓菁酸 (2)、桔梗皂苷D (3)、桔梗皂苷E (4)、异鼠李素-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖基-7-*O*- β -D-龙胆双糖苷 (5)、异鼠李素-3, 7-二-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 (6)、胡萝卜苷 (7) 和异鼠李素 (8) (图1)。其中1、2为新的三萜类化合物, 3~7为首次从蔓菁中分离得到。同时, 采用MTT方式对化合物1和2进行了体外细胞毒活性进行评价, 结果表明化合物1、2对HL-60、A549、DU145、CEM、HeLa均表现出一定的抑制作用, 尤其是对HL-60能够显著抑制肿瘤细胞株的生长, 其 IC_{50} 分别为5.87和10.32 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。本文旨在报道这些化合

物的提取分离、结构鉴定以及它们的药理活性。

结果与讨论

1 结构鉴定

化合物1 白色无定形粉末 (甲醇), $[\alpha]_{20}^D -22.3$ (c 0.1, MeOH); mp 218~220 $^{\circ}\text{C}$; Libermann-Berchard 和 Molish 反应均呈阳性, TLC 薄层色谱喷5%的硫酸乙醇溶液, 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热显色, 呈紫红色, 提示其可能为三萜皂苷类化合物。ESI-MS m/z 941.5 $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ 、943.5 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ 、965.5 $[\text{M}+\text{Na}]^{+}$, 推测相对分子质量为942; HR-ESI-MS m/z 965.462 55 $[\text{M}+\text{Na}]^{+}$ (计算值: 965.462 78, $\text{C}_{48}\text{H}_{78}\text{NaO}_{18}$), 确定其分子式为 $\text{C}_{48}\text{H}_{78}\text{O}_{18}$, 不饱和度为10; 在 ^1H NMR谱中, 在高场区域出现7个角甲基信号 δ_{H} 0.72、0.96、1.00、1.23、1.28、1.30、1.44 (s, each 3H) 和

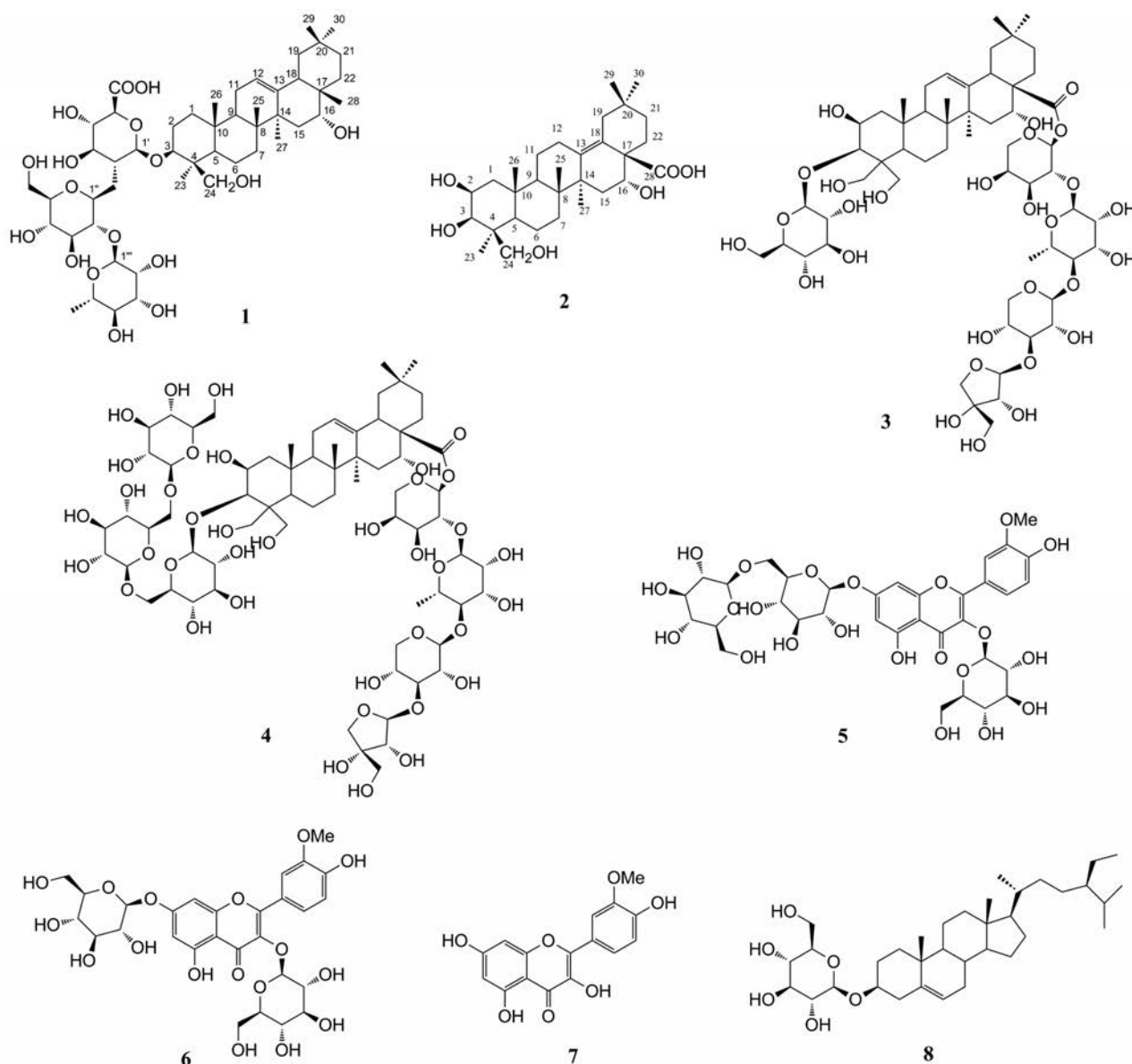


Figure 1 Chemical structures of compounds 1–8

1个糖上甲基信号 δ_{H} 1.79 (d, $J = 6.0$ Hz, 3H); 同时谱图中中间区域出现1个齐墩果烷型烯氢信号 δ_{H} 5.31 (br s, 1H) 以及3个糖的端基氢信号 δ_{H} 4.99 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H)、 δ_{H} 5.73 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H)、 δ_{H} 6.23 (s, 1H)。在 ^{13}C NMR (表1) 中, 低场部分除了出现齐墩果烷型烯炔双键信号 δ_{C} 144.5、122.1 以外, 还有1个羰基碳信号 δ_{C} 172.2。分析 HSQC、HMBC 图谱, 除糖基碳信号外, 还有3个连氧碳信号 δ_{C} 91.0 (d)、69.0 (d)、63.3 (t), 说明除了齐墩果酸母核 C-3 与氧相连外还有1个亚甲基和次甲基与氧相连。通过 DEPT 135°、HSQC、HMBC 对化合物的碳氢信号进行全归属, 与文献报道的已知化合物 spartitrioxide 核磁数据比较一致^[10], 化合物 1 的 C-17 位向低场移动 3.2 ppm, C-22 的则向高场移动了 47.2 ppm, 说明 22 位没有连接羟基, 同时 C-28 位向低场移动 4.2 ppm。HMBC 谱进一步确证了发生具体变化的位置, δ_{H} 1.28 (H-28) 与 C-16 (δ_{C} 69.0)、C-17 (δ_{C} 39.6)、C-22 (δ_{C} 28.4) 存在远程相关; 在 ^1H - ^1H COSY 图谱中 δ_{H} 1.65 (H-21) 与 δ_{H} 0.84 (H-22) 存在相关; 此外, 化合物 1 与 spartitrioxide 的糖部分 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 基本一致, 同时 HMBC 也证实 3 位碳与糖基端基氢具有远程相关, 说明其糖部分与母核 3 位碳相连形成糖苷键。

对化合物 1 进行酸水解, 通过薄层色谱的方式与对照品进行比较分析, 该化合物含有 *D*-葡萄糖醛酸、*L*-鼠李糖及 *D*-葡萄糖; 结合 HSQC、 ^{13}C NMR 谱中出现 3 个糖基端基碳信号 δ_{C} 105.2 (d)、102.1 (d)、101.4 (d), 以及 ^1H NMR 谱图端基氢的偶合常数, 表明 3 个糖基分别为 β -*D*-葡萄糖醛酸吡喃糖基、 α -*L*-鼠李糖基以及 β -*D*-吡喃葡萄糖基^[11]。

糖的连接顺序由 HBMC 谱确定: 在 3-*O* 糖链中, β -*D*-吡喃葡萄糖端基氢 (δ_{H} 4.99) 与母核 3 位碳 (δ_{C} 91.0) 具有远程相关, β -*D*-吡喃葡萄糖端基氢 (δ_{H} 5.73) 和葡萄糖醛酸的 C-2' (δ_{C} 78.0) 具有远程相关, 而 α -*L*-鼠李糖端基氢 (δ_{H} 6.23) 与葡萄糖的 C-2'' (δ_{C} 76.3) 远程相关; 在 NOESY 图谱中 H-27 (δ_{H} 1.30) 与 H-23 (δ_{H} 1.44) 相关, 说明 3 位羟基为 β 构型, 而 H-16 (δ_{H} 5.01) 与 H-28 (δ_{H} 1.28) 相关, 说明 16 位羟基为 α 构型 (图 2)。综合以上分析, 确认该化合物结构为: 3-*O*- α -*L*-吡喃鼠李糖基-(1 \rightarrow 2)- β -*D*-吡喃葡萄糖基-(1 \rightarrow 2)- β -*D*-葡萄糖醛酸吡喃糖基-3 β ,16 α ,24-三羟基-齐墩果烷, 命名为蔓菁皂苷 A (brasside A)。

化合物 2 白色针状晶体 (甲醇), $[\alpha]_{20}^{\text{D}} +37.8$ (c 0.1, MeOH); mp 267~269 °C; Libermann-Berchard 和 Molish 反应均呈阳性, TLC 薄层色谱喷 5% 的硫酸乙醇溶液, 105 °C 加热显色, 呈紫红色, 提示其可能为三萜

Table 1 ^{13}C NMR (150 MHz, pyridine- d_5) data of compounds 1 and 2

Position	1	2	Position	1	2
1	38.3	46.4	25	15.6	19.4
2	26.1	72.6	26	16.7	19.8
3	91.0	73.8	27	25.4	26.2
4	43.6	46.1	28	28.4	179.9
5	55.8	49.3	29	32.9	33.6
6	18.2	19.3	30	20.8	25.9
7	33.0	35.8	Glu-1'	105.2	
8	39.6	43.6	2'	78.0	
9	47.5	52.6	3'	76.2	
10	36.2	37.5	4'	75.3	
11	23.8	23.8	5'	77.6	
12	122.1	25.9	6'	172.2	
13	144.5	137.7	Glc-1''	101.4	
14	42.1	26.9	2''	76.3	
15	26.4	37.4	3''	76.1	
16	69.0	71.6	4''	72.1	
17	39.6	55.2	5''	77.4	
18	45.1	128.0	6''	61.3	
19	46.5	43.2	Rha-1'''	102.1	
20	30.6	34.6	2'''	72.4	
21	41.9	37.9	3'''	73.5	
22	28.4	29.0	4'''	74.1	
23	22.7	23.7	5'''	70.8	
24	63.3	68.4	6'''	18.6	

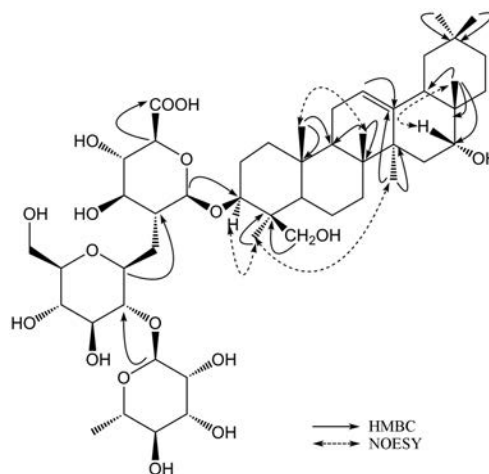


Figure 2 Key correlations of compound 1 HMBC and NOESY

类化合物。ESI-MS m/z 503.3 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 、527.3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 推测相对分子质量为 504; HR-ESI-MS m/z 527.329 20 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (计算值: 527.329 35, $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{NaO}_6$), 确定其分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_6$, 不饱和度为 7; 从 ^1H NMR 谱图可以看出, 信号主要集中在高场区域, 除了 6 个角甲基氢信号 [δ_{H} 0.97、1.01、1.31、1.34、1.56、1.59 (s, each 3H)] 以外, 还有 5 个连氧氢信号 (δ_{H} 3.70~4.93)。结合 ^{13}C NMR 及 DEPT 135°, 发现该化合物共有 30 个碳信号, 包括 9 个季碳、5 个叔碳、10 个仲碳、6 个伯碳。低场部分有 3 个季碳信号, 包括 1 个羰基 (δ_{C} 179.9) 及 1

个烯碳信号 (δ_c 137.7、128.0), 但在氢谱中无相应的烯信号, 说明该烯氢全部被取代基取代。同时还有 4 个连氧碳信号 δ_c 73.8 (d)、72.6 (d)、71.6 (d)、68.4 (t)。结合 HSQC 及 HMBC, 对化合物的碳氢信号进行全归属, 核磁数据与 centellasapogenol A 进行比较, 数据基本一致^[12], 同时化合物 **2** 的分子质量比 centellasapogenol A 多 16 Da, 推测化合物 **2** 比 centellasapogenol A 多一个羟基, 这与核磁数据推测结果相吻合。利用 HMBC 判断羟基的连接位置, δ_H 4.90 与 C-14 (δ_c 26.9)、C-17 (δ_c 55.2)、C-18 (δ_c 128.0)、C-28 (δ_c 179.9) 存在远程相关, 说明 16 位连接有羟基。同时通过 NOESY 确认羟基的相对构型, δ_H 4.57 (H-2)\4.29 (H-3)\1.73 (H-5)\1.55 (H-27) 相关, δ_H 4.90 (H-16)\1.30 (H-26) 相关, 说明 2、3 位羟基为 β 构型, 而 16 位羟基为 α 构型 (图 3)。

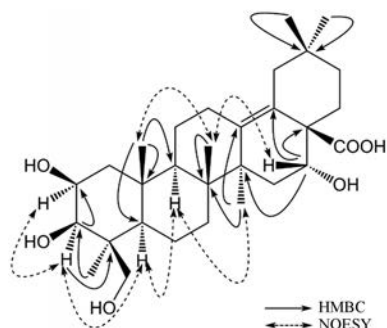


Figure 3 Key correlations of compound **2** HMBC and NOESY

综上所述, 化合物 **2** 结构鉴定为 $2\beta,3\beta,16\alpha,24$ -四羟基-13(18)-烯-齐墩果酸, 经 Scifinder 结构检索, 未见相关报道, 命名为蔓菁酸 (brassica acid)。

化合物 **3**~**8** 为已知化合物, 经核磁分析与文献数据进行比较, 鉴定为桔梗皂苷 D (**3**)^[13]、桔梗皂苷 E (**4**)^[14]、异鼠李素-3- O - β -D-吡喃葡萄糖基-7- O - β -D-龙苷 (**5**)^[15]、异鼠李素-3,7-二- O - β -D-吡喃葡萄糖苷 (**6**)^[16]、异鼠李素 (**7**)^[16]、胡萝卜苷 (**8**)^[14]。

2 化合物的抗癌活性

采用 MTT 法对所得的新化合物进行了 5 种常见癌细胞的细胞毒性实验, 并以依托泊苷作为阳性对照进行评价, 化合物 **1** 和 **2** 均显示出一定的药理活性 (表 2), 特别是对于 HL-60 能够显著抑制肿瘤细胞的生产, 这对于进一步深度开发该药用资源提供参考依据。

Table 2 Cytotoxicities of compounds **1**, **2** and etoposide

Compd.	IC ₅₀ / $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$				
	HL-60	A549	DU145	CEM	HeLa
1	5.87 ± 1.52	48.31 ± 2.35	66.57 ± 2.97	57.3 ± 1.82	81.19 ± 0.42
2	10.32 ± 0.91	85.53 ± 1.13	31.01 ± 3.45	8.23 ± 0.91	43.25 ± 4.18
Etoposide	1.35 ± 0.45	3.84 ± 0.62	1.53 ± 0.33	8.12 ± 0.19	6.37 ± 0.47

实验部分

Waters Vion® IMS QTof 型高分辨质谱仪 (Waters 公司, 美国), Bruker AV 600 型核磁共振波谱仪 (TMS 为内标), 中压制备色谱仪 (MPLC) FS-9200T (天津博纳艾杰尔科技有限公司), 半制备型高效液相色谱仪 Waters 2545, 2487 检测器 (美国 Waters 公司), 酶标仪及培养箱 (Thermo 公司, 美国), 细胞株 (DU145、CEM、HeLa、A549、HL-60, ATCC 公司, 美国), 柱色谱硅胶、薄层色谱硅胶 (青岛海洋化工), 乙腈、甲醇 (色谱纯), 其余试剂为国产分析纯。

实验所用蔓菁药材 2018 年 5 月采购于西藏拉萨市, 经中国科学院成都生物研究所赵佐成研究员鉴定为蔓菁 (*Brassica rapa*) 的地下部分, 标本保存于成都师范学院化学与生命科学学院标本室 (标本号: 20180510)。

1 提取与分离

将新鲜的蔓菁 20 kg 切片, 阴干, 加 10 倍体积的 80% 乙醇, 加热回流提取 3 次, 每次 2 h。将提取液合并, 减压回收至基本无醇味, 再加等体积的水进行分散稀释。中速滤纸过滤, 将滤液上 D-101 大孔吸附树脂, 水洗至流出液基本无色, 直接用 95% 乙醇进行洗脱, 浓缩洗脱液至干, 得 95% 乙醇洗脱部分 55 g。将 95% 乙醇洗脱部分 (50 g) 用甲醇溶解, 60~80 目硅胶拌样, 进行硅胶柱色谱分离。洗脱剂为二氯甲烷-甲醇-水 (20:1:0.01→1:1:0.01), 约 1 L 收集一份, 共收集 36 份。用 TLC 对各流分进行检测, 显色剂为 5% 硫酸-乙醇溶液, 合并相同部分, 得到 Fr. A~F。对具有明显斑点的 Fr. B (1.1 g) 进行再次硅胶柱色谱分离, TLC 过程监控, 收集较为单一部分 Fr. B1 和 Fr. B6; Fr. B1 用甲醇重结晶, 得化合物 **7** (32 mg), Fr. B6 用半制备液相色谱进行分离纯化, 流动相为甲醇-水 (86:14), 检测波长为 205 nm, 得到化合物 **2** (17 mg); 将 Fr. C (2.6 g) 用常压反相硅胶柱色谱进行再次粗分, 以甲醇-水 (60:40→90:10) 进行梯度洗脱, TLC 过程监控, 得到 Fr. C2、Fr. C5 和 Fr. C8 三个较单一部分, 对得到的每一部分样品再用半制备高效液相进行精制, 流动相为乙腈-水 (65:35), 检测波长为 205 nm, 得到化合物 **3** (28 mg)、化合物 **4** (16 mg), 化合物 **8** (25 mg)。Fr. D (0.8 g) 再次进行硅胶柱色谱分离, TLC 过程检测, 得到一个较为单一的组分 Fr. D1, 将 Fr. D1 进行半制备反相色谱分离, 流

动相为乙腈-水 (68:32), 检测波长为 205 nm, 收集主要目标化合物, 减压浓缩至干, 甲醇溶解, 过滤, 滤液上 Sephadex LH-20 再次精分, 甲醇为洗脱剂, 得到化合物 **1** (14 mg); Fr. F (0.8 g) 再次进行硅胶柱色谱分离, TLC 进行过程检测, 得到一个较为单一的组分 Fr. F1, 将 Fr. F1 进行半制备反相色谱分离, 流动相为乙腈-0.2% 磷酸水 (25:75), 检测波长为 254 nm, 收集主要目标峰, 减压浓缩至析出固体, 得到化合物 **5** (17 mg)、**6** (10 mg)。

2 结构鉴定

Brasside A (1) 白色无定形粉末, $[\alpha]_{20}^D -22.3$ (c 0.1, MeOH); mp 218~220 °C; $^1\text{H NMR}$ (600 MHz, Pyridine- d_5) δ 1.37 (1H, m, H-1 α), 0.84 (1H, m, H-1 β), 1.89 (1H, m, H-2 α), 1.83 (1H, m, H-2 β), 3.38 (1H, m, H-3), 0.91 (1H, m, H-5), 1.55 (1H, m, H-6 α), 0.84 (1H, m, H-6 β), 1.53 (1H, m, H-7 α), 1.35 (1H, m, H-7 β), 1.62 (1H, m, H-9), 1.82 (2H, m, H-11), 5.31 (1H, br s, H-12), 1.88 (1H, m, H-15 α), 1.81 (1H, m, H-15 β), 5.03 (1H, m, H-16), 2.37 (1H, d, $J = 5.8$ Hz, H-18), 1.89 (1H, m, H-19 α), 1.15 (1H, m, H-19 β), 1.78 (1H, m, H-21 α), 1.65 (1H, m, H-21 β), 1.89 (1H, m, H-22 α), 0.84 (1H, m, H-22 β), 1.44 (3H, s, H-23), 4.28 (1H, d, $J = 5.4$ Hz, H-24 α), 3.25 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, H-24 β), 0.72 (3H, s, H-25), 0.96 (3H, s, H-26), 1.30 (3H, s, H-27), 1.28 (3H, s, H-28), 1.00 (3H, s, H-29), 1.23 (3H, s, H-30), Glu: 4.99 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1), 4.37 (1H, m, H-2), 4.11 (1H, m, H-3), 3.76 (1H, m, H-4), 4.53 (1H, m, H-5), Glc: 5.73 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1), 4.56 (1H, m, H-2), 3.95 (1H, t, $J = 5.4$ Hz, H-3), 4.83 (1H, m, H-4), 4.65 (1H, m, H-5), 4.28 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-6 α), 3.25 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-6 β), Rha: 6.23 (1H, s, H-1), 4.73 (1H, m, H-2), 4.49 (1H, t, $J = 5.4$ Hz, H-3), 4.38 (1H, m, H-4), 4.41 (1H, m, H-5), 1.79 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-6)。HR-ESI-MS m/z 965.462 55 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (计算值: 965.462 78, $\text{C}_{48}\text{H}_{78}\text{NaO}_{18}$), 确定其分子式为 $\text{C}_{48}\text{H}_{78}\text{O}_{18}$, 不饱和度为 10; $^{13}\text{C NMR}$ 数据见表 1。

Brassica acid (2) 白色针状晶体 (甲醇), $[\alpha]_{20}^D +37.8$ (c 0.1, MeOH); mp 267~269 °C; $^1\text{H NMR}$ (600 MHz, pyridine- d_5) δ 2.48 (1H, dd, $J = 9.6, 1.8$ Hz, H-1 α), 1.32 (1H, m, H-1 β), 4.57 (1H, br d, $J = 2.1$ Hz, H-2), 4.29 (1H, d, $J = 2.7$ Hz, H-3), 1.74 (1H, m, H-5), 1.78 (1H, m, H-6 α), 1.57 (1H, m, H-6 β), 1.68 (1H, m, H-7 α), 1.53 (1H, m, H-7 β), 1.74 (1H, m, H-9), 1.74 (1H, m, H-11 α), 1.50 (1H, m, H-11 β), 2.88 (1H, br d, $J = 9.0$ Hz, H-12 α), 1.52 (1H, m, H-12 β), 2.34 (1H, dd, $J = 9.6, 2.4$ Hz, H-15 α), 1.73 (1H, m, H-15 β), 4.90 (1H, dd, $J = 4.8, 2.4$ Hz,

H-16), 2.71 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-19 α), 2.38 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-19 β), 2.01 (1H, m, H-21 α), 1.50 (1H, m, H-21 β), 2.60 (1H, br d, $J = 9.3$ Hz, H-22 α), 2.38 (1H, br d, $J = 9.3$ Hz, H-22 β), 1.01 (3H, s, H-23), 4.14 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-24 α), 2.38 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-24 β), 0.97 (3H, s, H-25), 1.34 (3H, s, H-26), 1.56 (3H, s, H-27), 1.31 (3H, s, H-29), 1.59 (3H, s, H-30)。HR-ESI-MS m/z 527.329 20 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (计算值: 527.329 35, $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{NaO}_6$), 确定其分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_6$, 不饱和度为 7; $^{13}\text{C NMR}$ 数据见表 1。

3 抗癌活性筛选

化合物 **1**、**2**, 使用二甲基亚砜 (DMSO) 溶解。配成浓度为 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的母液, 储存于 -20 °C。临用时用相应的培养液将其稀释为 100、10、1 及 $0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 进行实验。DMSO 配置的样品进行实验时, DMSO 的终浓度为 0.1%。阳性药依托泊苷注射乳浓度为 100、10、1 和 $0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

取对数生长期的细胞, 调整适当的细胞密度, 接种于 96 孔板内, 每空 $100 \mu\text{L}$, 培养于 37 °C、5% CO_2 的培养箱内。培养 24 h 后加药, 作用 72 h。分设空白组、给药组和阳性对照组, 每组设 4 个复孔。将细胞与 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ MTT 于 37 °C 共同抚育 3~4 h, 离心吸除上清液, 加入 DMSO $100 \mu\text{L}$, 完全溶解后使用酶标仪于 492 nm 测定其 OD 值。最后以空白组 OD 值为 100%, 计算细胞抑制率。数据采用 SPSS (16.0) 统计软件包进行检验分析。

References

- [1] Yang YC. Tibetan Medicine Records (藏药志) [M]. Xining: Qinghai People's Publishing House, 1992: 95.
- [2] Li QJ, Xiao CX, Zhang HL. Advance in the study on the chemical constituents and biological activity of *Brassica rapa* L. [J]. Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药), 2013, 24: 2247-2249.
- [3] Luo DS. Chinese Herbal Medicine (中华藏本草) [M]. Beijing: China Nation Press, 1977: 104.
- [4] State Administration of Traditional Chinese Material Medica Editorial Board. Chinese herbal medicine, Tibetan Medicine (中华本草·藏药卷) [M]. Shanghai: People's Medical Publishing House, 2002: 349.
- [5] Commission Pharmacopoeia. Drug Standard of the Ministry of Health of People's Republic of China-Uighur Medicine Fascicule (中华人民共和国卫生部药品标准·维吾尔药分册) [M]. Urumqi: Xinjiang Science, Technology and Hygiene Press, 1999: 36.
- [6] Dai WH. Studies on Quality Standards of *Brassica rapa* L. Seed (茺菁子药材质量标准的研究) [D]. Urumqi: Xinjiang Medical

- University, 2015.
- [7] Sun L, Ma YL, Ba T, et al. Study on chemical constituents of *Brassica rapa* [J]. West China J Pharm Sci (华西药学报) 2012, 27: 54-56.
- [8] Zhou L. Preliminary Research on Anti-fatigue and Antioxidant Activity Screening and Quality Analysis of Tibetan Medicine *Brassica rapa* (藏药蔓菁抗疲劳、抗氧化活性筛选及质量分析初步研究) [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2012.
- [9] Yang BQ, Ma FJ. *In vivo* antioxidant activity of saponins extracted from *Brassica campestris* L. [J]. Food Res Dev (食品研究与开发), 2016, 37: 6.
- [10] Yesilada E, Takaishi Y. A saponin with anti-ulcerogenic effect from the flowers of *Spartium junceum* [J]. Phytochemistry, 1999, 51: 903-908.
- [11] Kizu H, Shimana H, Tomimori T. Studies on the constituents of Clematis species. VI. The constituents of *Clematis stans* SIEB. et ZUCC [J]. Chem Pharm Bull. 1995, 43: 2187-2194
- [12] Matsuda H, Morikawa T, Ueda H, et al. Medicinal foodstuffs. XXVI. Inhibitors of aldose reductase and new triterpene and its oligoglycoside, centellasapogenol A and centellasaponin A, from *Centella asiatica* (Gotu Kola) [J]. Heterocycles, 2001, 55: 1499-1504.
- [13] Du HQ. Studies on the Chemical Constituents and Anti-tumor Activity of *Platycodon grandiflorum* A. DC (中药桔梗化学成分及其抗肿瘤活性研究) [D]. Shenyang: Shenyang Pharmaceutical University: 2005.
- [14] Wang CZ. Studies on Chemical Constituents and Antidepressant Effect of Different Parts from *Platycodon grandiflorum* (桔梗不同部位化学成分及抗抑郁作用的研究) [D]. Changchun: Jilin University, 2018.
- [15] Feng WS, Li CG, Chen WJ, et al. Chemical constituents from chemical split fractions of seeds of *Descurainia sophia* (L.) Webb. ex Prantl [J]. World Sci Technol/Mod Tradit Chin Med Mater Med (世界科学技术-中医药现代化), 2015, 17: 455-463.
- [16] Wang AQ, Wang XK. Isolation and structure identification of chemical constituents from the seeds of *Descurainia sophia* (L.) Webb ex Prantl [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2004, 39: 46-51.