

广西美登木中两个新的三萜类化合物及其抗肿瘤活性

黄园园, 贾学恭, 邓富声, 莫静雅, 袁经权*

(广西中医药大学科学实验中心, 广西 南宁 530200)

摘要: 采用硅胶、SephadexLH-20、MCI、制备高效液相等色谱技术对广西美登木 (*Maytenus guangxiensis*) 95% 乙醇提取物中的三萜类成分进行分离纯化, 从中分离得到了4个三萜类化合物, 根据其理化性质及波谱数据鉴定为广西美登木酮 A (1)、广西美登木酮 B (2)、11 α -methoxyurs-12-ene-1 β ,3 β -diol (3) 和 lup-20(29)-ene-3 β ,11 α -diol (4), 其中化合物 1 和 2 为新化合物, 化合物 3 和 4 首次从该植物中分离得到。采用 MTT 法评价化合物 1、3 和 4 体外细胞毒活性, 结果表明化合物 3 对宫颈癌细胞 (HeLa) 具有良好的抑制作用, 其 IC₅₀ 值为 10.68 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

关键词: 广西美登木; 三萜; 细胞毒活性

中图分类号: R284

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870(2022)02-0441-05

Two new triterpenes from *Maytenus guangxiensis* with their antiproliferative activity

HUANG Yuan-yuan, JIA Xue-gong, DENG Fu-sheng, MO Jing-ya, YUAN Jing-quan*

(Scientific Experimental Center of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China)

Abstract: Four triterpenoids were isolated and purified from the 95% ethanol extract of *Maytenus guangxiensis* by silica gel column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography, MCI column chromatography and preparative RP-HPLC. Their structures were determined from their physicochemical properties and spectral data. They were identified as maytguanone A (1), maytguanone B (2), 11 α -methoxyurs-12-ene-1 β ,3 β -diol (3), lup-20(29)-ene-3 β ,11 α -diol (4). Compounds 1 and 2 are new triterpenoids, along with compounds 3 and 4 were isolated from *M. guangxiensis* for the first time. The cytotoxicity of compounds 1, 3 and 4 was evaluated using the MTT procedure with three cancer cell lines. The results show that compound 3 displayed good inhibitory effects against HeLa, with an IC₅₀ of 10.68 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

Key words: *Maytenus guangxiensis*; triterpenoids; cytotoxic activity

广西美登木 (*Maytenus guangxiensis* C. Y. Cheng et W. L. Sha) 为卫矛科 (Celastraceae) 美登木属植物, 主要分布于中国广西, 是中国的特有植物, 也是广西的特有品种^[1]。现代药理实验表明, 广西美登木具有抗肿瘤等活性^[2]。该植物可用于调火路, 清热毒, 祛风毒, 抗癌等^[3]。美登木属植物富含三萜类、倍半萜及其生物碱类等化学成分。其中, 三萜类为该属植物的特征成分, 具

有抗菌^[4]、抗肿瘤^[5]等活性。目前, 国内外研究者从美登木属植物中已分离得到 100 多个新的三萜类化合物^[6]。但针对广西美登木中的化学成分及其药理活性研究尚不深入, 本研究在开展美登木属三萜类等成分的归纳基础上^[6], 初步开展了广西美登木三萜类化学成分研究, 从中分离得到了4个三萜类化合物, 分别鉴定为: 广西美登木酮 A (1)、广西美登木酮 B (2)、11 α -methoxyurs-12-ene-1 β ,3 β -diol (3) 和 lup-20(29)-ene-3 β ,11 α -diol (4) (图 1), 其中化合物 1 和 2 为两个新的三萜类化合物, 化合物 3 和 4 为首次从广西美登木中分离得到。同时, 采用 MTT 法评价化合物 1、3 和 4 体外细胞毒

收稿日期: 2021-10-14; 修回日期: 2021-11-11.

基金项目: 瑶药创新体系建立及广西民族医药产业化技术平台建设项目资助 (桂科能 10100027-3).

*通讯作者 Tel: 86-771-3946492, E-mail: yjqgx@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2021-1483

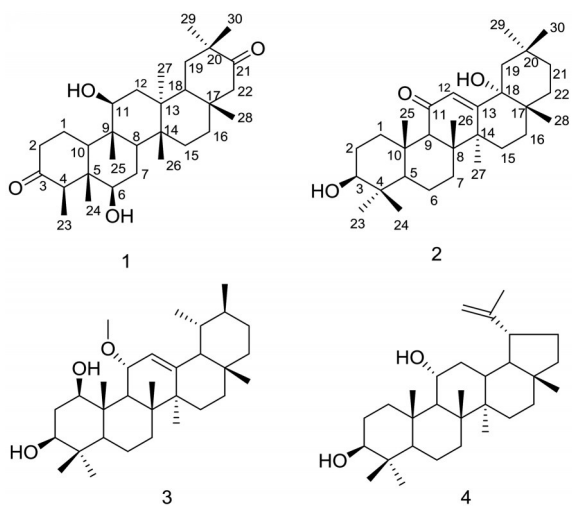


Figure 1 Chemical structures of compounds 1–4

活性, 实验结果表明化合物 **3** 对人宫颈癌细胞 (HeLa) 具有良好的抑制作用, 其 IC_{50} 值为 $10.68 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

结果与讨论

1 结构鉴定

化合物 1 白色粉末, TLC 薄层色谱喷 10% 的硫酸乙醇溶液, 加热显色呈紫红色, 提示其可能为三萜类化合物。红外光谱 IR 显示化合物结构中存在羟基官能团 (3473 cm^{-1})、甲基官能团 (2937 cm^{-1}), 在 1708 cm^{-1} 处的碳氧双键伸缩振动提示有羰基存在。HR-ESI-MS 显示准分子离子峰 m/z : $473.3609 [M+H]^+$ (计算值: 473.3631), 确定其分子式为 $C_{30}H_{48}O_4$, 不饱和度为 7。在 $^1\text{H NMR}$ 谱中, 高场区显示 7 个甲基氢质子单峰信号 δ_{H} 0.79 (3H, s)、0.93 (3H, s)、1.07 (3H, s)、1.09 (3H, s)、1.15 (3H, s)、1.17 (3H, s)、1.22 (3H, s) 和 1 个甲基氢质子双峰信号 δ_{H} 1.13 (3H, d, $J = 6.7 \text{ Hz}$), 低场区显示 2 个连有电负性基团的氢质子信号 δ_{H} 3.67 (1H, dd, $J = 6.5, 4.9 \text{ Hz}$) 和 3.69 (1H, dd, $J = 5.9, 4.9 \text{ Hz}$), 提示结构母核中含有 2 个含氧取代基。结合 $^{13}\text{C NMR}$ 和 DEPT135° 谱, 发现该化合物共有 30 个碳信号, 其中包括 8 个伯碳、8 个仲碳、6 个叔碳、8 个季碳。在高场区部分显示 8 个甲基碳信号 δ_{C} 9.4、10.6、12.5、19.5、21.0、25.0、28.9、33.5, 以及 2 个连氧碳信号 δ_{C} 76.2、79.0, 均与氢谱中所得结论相符。同时, 还给出了 2 个羰基碳信号 δ_{C} 212.8、218.5。通过 HSQC 图谱, 对化合物 **1** 的碳氢信号进行了准确的归属, 发现其核磁数据与文献报道的已知化合物 D: A-friedo-oleanan-3,21-dione 的核磁数据^[7]相似, 同时化合物 **1** 的分子质量比 D: A-friedo-oleanan-3,21-dione 多 32 Da, 推测化合物 **1** 比 D: A-friedo-oleanan-3,21-dione 多了两个羟基, 这一推断可通过 H-6/H₂-7 和

H-11/H₂-12 的 $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY 相关以及 HMBC 谱中 H-6 [δ_{H} 3.69 (1H, dd, $J = 5.9, 4.9 \text{ Hz}$)] 与 C-4 (δ_{C} 58.2)、C-24 (δ_{C} 9.4) 相关, H-11 [δ_{H} 3.67 (1H, dd, $J = 6.5, 4.9 \text{ Hz}$)] 与 C-10 (δ_{C} 59.5)、C-25 (δ_{C} 12.5) 相关得到证实, 说明两个羟基分别连接在 6 位和 11 位上。

此外, 在 HMBC 谱 (图 2) 中, H₃-23 [δ_{H} 1.13 (3H, d, $J = 6.7 \text{ Hz}$)] 与 C-3 (δ_{C} 212.8)、C-4 (δ_{C} 58.2)、C-5 (δ_{C} 48.6) 相关, 提示 C-3 位存在羰基; H₃-29 [δ_{H} 1.09 (3H, s)] 和 H₃-30 [δ_{H} 1.17 (3H, s)] 都与 C-19 (δ_{C} 37.1)、C-20 (δ_{C} 42.8)、C-21 (δ_{C} 218.5) 相关, 提示 C-29 和 C-30 是连在同一碳上的偕甲基以及 C-21 位存在羰基。由以上数据进一步确定化合物的平面结构。同时通过 ROESY 谱 (图 3) 确定羟基的相对构型。在 ROESY 谱中, H_α-4 和 H-6 相关, H-11 和 H_α-27 相关, 说明 C-6、11 位上相连的羟基为 β 构型 (图 3)。

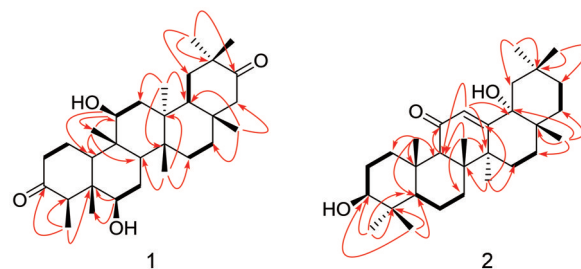


Figure 2 Key HMBC (\curvearrowright) and $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY (—) correlations of compounds 1 and 2

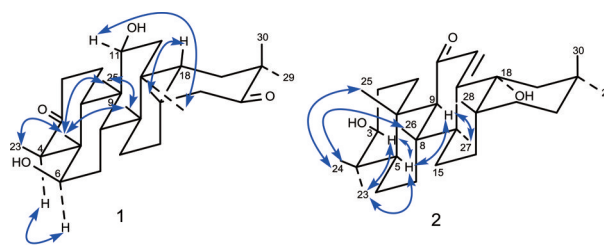


Figure 3 Key ROESY (\curvearrowright) correlations of compounds 1 and 2

综上所述该化合物的结构鉴定为 $6\beta, 11\beta$ -dihydroxy-D: A-friedo-oleanane-3,21-dione, 经文献检索未见报道, 为一新化合物, 命名为广西美登木酮 A (mayt-guanone A)。化合物的波谱数据归属见表 1。

化合物 2 白色粉末, TLC 薄层色谱喷 10% 的硫酸乙醇溶液, 加热显色呈紫红色, 提示其可能为三萜类化合物。红外光谱 IR 显示化合物结构中存在羟基官能团 (3426 cm^{-1})、甲基官能团 (2927 cm^{-1})、双键官能团 (1637 cm^{-1}), 在 1653 cm^{-1} 处的碳氧双键伸缩振动提示有羰基存在。HR-ESI-MS 显示准分子离子峰 m/z : $457.3675 [M+H]^+$ (计算值: 457.3682), 确定其分子式

为 $C_{30}H_{48}O_3$, 不饱和度为7。在 1H NMR谱中, 高场区显示8个甲基氢质子单峰信号 δ_H 0.78 (3H, s)、0.80 (3H, s)、0.94 (3H, s)、1.00 (3H, s)、1.10 (3H, s)、1.10 (3H, s)、1.13 (3H, s)、1.55 (3H, s), 低场区显示1个连有电负性基团的氢质子信号 δ_H 3.22 (1H, dd, $J = 11.1, 5.3$ Hz), 以及1个烯氢信号 δ_H 5.75 (1H, s), 提示结构母核中含有1个含氧取代基和1个双键基团。结合 ^{13}C NMR和DEPT135°谱, 发现该化合物共有30个碳信号, 其中包括8个伯碳、9个仲碳、4个叔碳、9个季碳。在高场区部分显示8个甲基碳信号 δ_C 15.7、16.5、18.8、19.1、24.0、28.2、29.8、35.2, 2个连氧碳信号 δ_C 75.9、78.9, 以及1组 sp^2 杂化烯碳信号 δ_C 124.2、167.2, 此外, 还给出了1个羰基碳信号 δ_C 201.4。通过HSQC图谱, 对化合物2的碳氢信号进行了准确的归属, 发现其核磁数据与文献报道的已知化合物3 β -hydroxyolean-12-en-11-one的核磁数据^[8]相似, 同时化合物2分子质量比3 β -hydroxyolean-12-en-11-one多16 Da, 推测化合物2比3 β -hydroxyolean-12-en-11-one多一个羟基。这一推断可通过HMBC谱中H-12 [δ_H 5.75 (1H, s)]与C-9 (δ_C 61.6)、C-14 (δ_C 44.2)、C-18 (δ_C 75.9)相关, H₃-28 [δ_H 0.78 (3H, s)]与C-16 (δ_C 30.9)、C-18 (δ_C 75.9)、C-22 (δ_C 31.2)相关得到证实, 说明羟基连在18位上。

此外, 在HMBC谱中, H₃-23 [δ_H 1.00 (3H, s)]和H₃-24 [δ_H 0.80 (3H, s)]都与C-3 (δ_C 78.9)、C-4 (δ_C 39.2)、C-5 (δ_C 54.9)相关, H₃-29 [δ_H 0.94 (3H, s)]和H₃-30 [δ_H 1.10 (3H, s)]都与C-19 (δ_C 44.0)、C-20 (δ_C 31.2)、C-21 (δ_C 33.7)相关, 提示C-23和C-24、C-29和C-30是连在同一个碳上的偕甲基以及3位存在羟基; H-9 [δ_H 2.39 (1H, s)]与C-11 (δ_C 201.4)相关, H-12 [δ_H 5.75 (1H, s)]与C-9 (δ_C 61.6)相关, 提示11位存在羰基; H-12 [δ_H 5.75 (1H, s)]与C-9 (δ_C 61.6)、C-14 (δ_C 44.2)、C-18 (δ_C 75.9)相关, 提示双键在12和13位上。同时通过ROESY谱(图3)确定羟基的相对构型。在ROESY谱中, H_a-5和H-3相关, 说明C-3相连的羟基为 β 构型; 根据文献报道, 当C-18相连的羟基为 α 构型时, H₃-27的化学位移明显向低场位移, 当为 β 构型时, H₃-27的化学位移没有明显的变化或者变化很小^[9], 化合物2的H₃-27 [δ_H 1.55 (3H, s)]的化学位移较已知化合物3 β -hydroxyolean-12-en-11-one的H₃-27 [δ_H 1.36 (3H, s)]^[8]的化学位移相比, 明显向低场位移, 故C-18相连的羟基为 α 构型(图3)。

综上所述该化合物的结构鉴定为3 β , 18 α -dihydroxy-12-oleanen-11-one, 经文献检索未见报道, 为一新化合物, 命名为广西美登木酮B (maytguanone B)。化合物的波谱数据归属见表1。

Table 1 1H NMR (600 MHz) and ^{13}C NMR (150 MHz) data in $CDCl_3$ for compounds **1** and **2**

Position	1		2	
	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C
1	1.85, m	24.5	0.96, m	39.2
	2.84, m		2.71, m	
2	2.33, m	41.4	1.62, m	27.4
	2.39, m			
3	-	212.8	3.22, dd, $J = 11.1, 5.3$ Hz	78.9
4	2.46, q, $J = 6.7$ Hz	58.2	-	39.2
5	-	48.6	0.70, m	54.9
6	3.69, dd, $J = 5.9, 4.9$ Hz	79.0	1.42, m	17.7
			1.60, m	
7	1.37, m	32.7	1.39, m	32.6
	1.59, m		1.70, m	
8	1.50, m	49.4	-	45.5
9	-	44.1	2.39, s	61.6
10	1.69, m	59.5	-	37.0
11	3.67, dd, $J = 6.5, 4.9$ Hz	76.2	-	201.4
12	1.43, m	42.1	5.75, s	124.2
	1.62, m			
13	-	41.1	-	167.2
14	-	38.0	-	44.2
15	1.58, m	28.8	1.21, m	26.5
	1.70, m		1.87, m	
16	1.43, m	35.0	1.05, m	30.9
	1.78, m		2.13, m	
17	-	33.3	-	36.6
18	1.80, m	41.7	-	75.9
19	1.63, m	37.1	1.42, m	44.0
	1.91, m		1.59, m	
20	-	42.8	-	31.2
21	-	218.5	1.28, m	33.7
			1.57, m	
22	1.84, m	54.9	1.02, m	31.2
	2.59, d, $J = 12.9$ Hz		1.92, m	
23	1.13, d, $J = 6.7$ Hz	10.6	1.00, s	28.2
24	0.79, s	9.4	0.80, s	15.7
25	0.93, s	12.5	1.13, s	16.5
26	1.07, s	21.0	1.10, s	18.8
27	1.22, s	19.5	1.55, s	24.0
28	1.15, s	33.5	0.78, s	19.1
29	1.09, s	28.9	0.94, s	35.2
30	1.17, s	25.0	1.10, s	29.8

2 化合物的抗癌活性

采用MTT法对化合物**1**、**3**和**4**进行了人宫颈癌细胞(HeLa)、人膀胱癌细胞(EJ)、人乳腺癌细胞(PANC-1)3种常见癌细胞的细胞毒活性实验, 并以顺铂作为阳性对照进行评价。结果表明化合物**3**对人宫颈癌细胞(HeLa)有良好的抑制作用(表2)。

Table 2 Cytotoxicities of compounds **1**, **3**, **4** ($IC_{50}/\mu mol \cdot L^{-1}$)

Compound	HeLa	EJ	PANC-1
1	64.46 ± 1.809	34.79 ± 1.541	94.49 ± 1.975
3	10.68 ± 1.028	35.60 ± 1.551	54.31 ± 1.735
4	70.10 ± 1.846	36.05 ± 1.557	43.44 ± 1.638
Cisplatin ^a	9.07 ± 0.957 6	17.95 ± 1.254	2.03 ± 0.306 8

实验部分

Bruker AV III 600 型核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司); Agilent 1260 Infinity II 制备型高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); Finnigan MAT-95 质谱仪 (美国 Thermo Finnigan 公司); EYELA 型旋转蒸发仪 (上海爱朗仪器有限公司); Thermo iS50 FT-IR 红外光谱仪 (美国 Thermo Fisher Scientific); 酶标仪 (瑞士帝肯公司); 二氧化碳培养箱 (新加坡 ESCO 公司); 湘仪 TD5A-WS 医用离心机 (湖南长沙湘仪离心机公司); EVOS XL Core 倒置显微镜 (美国 Thermo Fisher Scientific); 细胞株 (HeLa、EJ、PANC-1, 凯基公司, 中国); SunFire C18 OBD Prep Column 色谱柱 (10 mm × 150 mm, 5 μm, 美国 Waters 公司); MCI GEL (CHP20/P120) (Mitsubishi Chemical Corporation); Sephadex LH-20 (GE Healthcare, Tokyo, 日本); 柱色谱硅胶、薄层色谱硅胶 (青岛海洋化工); 乙腈、甲醇 (色谱纯), 其余试剂均为国产分析纯。

广西美登木于 2019 年 6 月采于广西马山县, 由广西中医药研究院黄云峰副研究员鉴定为广西美登木 *M. guangxiensis* 的茎叶。

1 提取与分离

广西美登木茎叶 200 kg, 干燥, 粉碎成 10 目粗粉, 用 95% 乙醇加热回流提取 3 次, 每次 2 h, 提取液减压回收溶剂后得浸膏 9 kg, 分散于水中, 加入 2% 盐酸使 pH = 2~3, 过滤酸不溶物, 酸水层用二氯甲烷萃取 3 次, 合并浓缩萃取液得到二氯甲烷萃取物 (a) 260 g, 酸水层继续加入 30% Na₂CO₃ 溶液使 pH = 9~10, 产生大量沉淀, 过滤沉淀, 碱水层分别用二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇萃取 3 次, 回收溶剂后得到二氯甲烷萃取物 (b) 10 g、乙酸乙酯萃取物 10 g 和正丁醇萃取物 30 g。

将酸化后过滤所得的酸不溶物用甲醇溶解, 过滤, 回收溶剂, 得浸膏 (500 g), 取浸膏 200 g 经硅胶 (100~200 目) 柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (100:0、100:1、70:1、50:1、30:1、10:1、5:1、1:1、0:1) 梯度洗脱, 合并相同极性部分, 得到 9 个流分 Fs. I~Fs. IX。流分 Fs. III 经硅胶 (100~200 目) 柱色谱, 石油醚-乙酸乙酯 (12:1、10:1、8:1、6:1、4:1、2:1、0:1) 梯度洗脱, 合并相同极性部分, 得到 7 个流分 Fs. III.1~Fs. III.7。流分 Fs. III.5 经 MCI 反相柱色谱, 乙醇-水 (80%、90%、100%) 梯度洗脱, 得到 3 个流分 Fs. III.5.1~Fs. III.5.3。流分 Fs. III.5.1 经 Sephadex LH-20 柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (1:1) 洗脱, 得到 4 个流分 Fs. III.5.1.1~Fs. III.5.1.4, 流分 Fs. III.5.1.2 经制备型 HPLC (MeOH-H₂O 90:10, 3 mL·min⁻¹) 分离纯化, 得到化合物 1 (20.9 mg)。流分 Fs. II 经硅胶 (100~200 目) 柱色谱, 石油醚-乙酸乙酯 (70:1、50:1、30:1、10:1、8:1、6:1、4:1、2:1、0:1) 梯度洗脱, 合并相同极

性部分, 得到 9 个流分 Fs. II.1~Fs. II.9。流分 Fs. II.7 经 Sephadex LH-20 柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (1:1) 洗脱, 得到 4 个流分 Fs. II.7.1~Fs. II.7.4, 流分 Fs. II.7.3 经制备型 HPLC (MeOH-H₂O 90:10, 3 mL·min⁻¹) 分离纯化, 得到化合物 4 (6.6 mg)。流分 Fs. II.7.4 经制备型 HPLC (MeOH-H₂O 80:20→92:8, 3 mL·min⁻¹) 分离纯化, 得到化合物 2 (7.8 mg)。流分 Fs. V 经硅胶 (100~200 目) 柱色谱, 石油醚-乙酸乙酯 (10:1、8:1、6:1、4:1、2:1、0:1) 梯度洗脱, 合并相同极性部分, 得到 6 个流分 Fs. V.1~Fs. V.6。流分 Fs. V.3 经 MCI 反相柱色谱, 乙醇-水 (80%、90%、100%) 梯度洗脱, 得到 3 个流分 Fs. V.3.1~Fs. V.3.3。流分 Fs. V.3.2 经 Sephadex LH-20 柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (1:1) 洗脱, 得到 4 个流分 Fs. V.3.2.1~Fs. V.3.2.4, 流分 Fs. V.3.2.3 经制备型 HPLC (MeOH-H₂O 90:10, 3 mL·min⁻¹) 分离纯化, 得到化合物 3 (5.0 mg)。

2 结构鉴定

化合物 1 白色粉末; IR (KBr) ν_{\max} : 3 473, 2 937, 1 708 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) 和 ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) 数据见表 1; HR-ESI-MS m/z 473.360 9 [M+H]⁺ (计算值 473.363 1, C₃₀H₄₈O₄)。

化合物 2 白色粉末; IR (KBr) ν_{\max} : 3 426, 2 927, 1 653, 1 637 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) 和 ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) 数据见表 1; HR-ESI-MS m/z 457.367 5 [M+H]⁺ (计算值 457.368 2, C₃₀H₄₈O₃)。

化合物 3 白色粉末; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 5.38 (1H, d, J = 3.3 Hz, H-12), 4.11 (1H, dd, J = 8.6, 3.3 Hz, H-11), 3.40 (1H, m, H-1), 3.37 (3H, s, 11-OCH₃), 3.30 (1H, m, H-3), 1.15 (3H, s, H-27), 1.06 (3H, s, H-25), 1.05 (3H, s, H-26), 1.00 (3H, s, H-23), 0.94 (3H, br s, H-30), 0.88 (3H, d, J = 6.4 Hz, H-29), 0.80 (3H, s, H-28), 0.79 (3H, s, H-24); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 77.1 (C-1), 35.7 (C-2), 76.1 (C-3), 39.2 (C-4), 52.5 (C-5), 17.7 (C-6), 33.4 (C-7), 43.9 (C-8), 52.4 (C-9), 44.8 (C-10), 75.9 (C-11), 122.4 (C-12), 146.3 (C-13), 42.1 (C-14), 27.3 (C-15), 28.0 (C-16), 33.7 (C-17), 58.7 (C-18), 39.3 (C-19), 39.6 (C-20), 31.2 (C-21), 41.4 (C-22), 28.3 (C-23), 15.3 (C-24), 13.2 (C-25), 18.4 (C-26), 22.5 (C-27), 28.8 (C-28), 17.8 (C-29), 21.5 (C-30), 53.9 (11-OCH₃)。以上数据与文献^[10]报道基本一致, 故鉴定化合物为 11 α -methoxyurs-12-ene-1 β , 3 β -diol。

化合物 4 白色粉末; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 4.71 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-29), 4.59 (1H, br s, H-29), 3.93 (1H, td, J = 10.7, 5.3 Hz, H-11), 3.20 (1H, dd, J = 9.1, 7.3 Hz, H-3), 1.68 (3H, s, H-30), 1.03 (3H, s, H-26), 1.03 (3H, s, H-25), 0.98 (3H, s, H-23), 0.96 (3H, s, H-

27), 0.79 (3H, s, H-24), 0.78 (3H, s, H-28); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 39.1 (C-1), 27.5 (C-2), 78.7 (C-3), 39.5 (C-4), 55.8 (C-5), 18.2 (C-6), 35.4 (C-7), 41.2 (C-8), 55.7 (C-9), 37.7 (C-10), 70.7 (C-11), 27.8 (C-12), 37.2 (C-13), 42.7 (C-14), 27.5 (C-15), 35.6 (C-16), 43.2 (C-17), 47.8 (C-18), 47.9 (C-19), 150.4 (C-20), 29.9 (C-21), 40.0 (C-22), 28.4 (C-23), 15.7 (C-24), 16.5 (C-25), 17.4 (C-26), 14.6 (C-27), 18.2 (C-28), 110.1 (C-29), 19.5 (C-30)。以上数据与文献^[11]报道基本一致, 故鉴定化合物为 lup-20(29)-ene-3 β ,11 α -diol。

3 抗肿瘤活性筛选

采用 MTT 法进行肿瘤细胞增殖抑制活性测定, 分别将人宫颈癌细胞 (HeLa)、人膀胱癌细胞 (EJ)、人乳腺癌细胞 (PANC-1) 培养于含 10% 胎牛血清的细胞培养液中, 取对数生长期的细胞约每毫升 5×10^4 个细胞的密度接种于 96 孔板, 每孔接种 200 μL , 于 37 $^\circ\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中孵育 24 h 后加入样品 (终浓度分别为 0、5、10、20、30、40 和 60 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 继续培养 48 h 后, 每孔加入 20 μL MTT (浓度为 5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 溶液, 继续在 37 $^\circ\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中孵育 4 h 后小心吸弃去上清液, 每孔加入 200 μL DMSO, 摇床振荡 10 min, 用酶标仪在 490 nm 波长处检测吸光度 (OD 值), 使用 Graphpad Prism 8 软件计算其半数存活浓度 IC_{50} ^[12,13]。

致谢: 感谢广西中医药大学附属瑞康医院广西广西壮族自治区中西医结合转化医学中心提供平台进行细胞毒活性实验。

作者贡献: 黄园园负责进行实验、结构鉴定、论文撰写; 贾学恭和邓富声协助进行细胞毒活性实验; 莫静雅协助进行分离实验; 袁经权负责了研究选题提出、研究方案设计以及论文的修改。

利益冲突: 所有作者声明不存在任何利益冲突。

References

- [1] Editorial Committee of Flora of China. Flora of China (中国植物志) [M]. 45th Vol. Beijing: Science Press, 1999, 45: 136.
- [2] Qian XL, Cai CC, Yao SH. Studies on the antileukemic principle of *Maytenus guangsiensis* cheng et sha [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 1979, 14: 182-184.
- [3] Huang RS. Selection of Zhuang Medicine (first volume) (壮药选编·上册) [M]. Nanning: Guangxi Science & Technology Publishing House Co., Ltd., 2015: 230.
- [4] Gonzalez AG, Alvarenga NL, Ravelo AG, et al. Antibiotic phenol nortriterpenes from *Maytenus canariensis* [J]. Phytochemistry, 1996, 43: 129-132.
- [5] Magalhães CG, De Fátima Silva GD, Duartel LP, et al. Salicassin, an unprecedented chalconediterpene adduct and a quinone methide triterpenoid from *Maytenus salicifolia* [J]. Helv Chim Acta, 2013, 96: 1046-1054.
- [6] Huang YY, Chen L, Ma GX, et al. A review on phytochemicals of the genus *Maytenus* and their bioactive studies [J]. Molecules, 2021, 26: 4563-4604.
- [7] Anjaneyulu V, Suresh Babu J, Hari Babu B, et al. Two D: A-friedo-oleanane derivatives from *Euphorbia tortilis* [J]. Phytochemistry, 1993, 33: 647-649.
- [8] Herath HMTB, Athukoralage PS. Oleanane triterpenoids from *Gordonia ceylanica* [J]. Nat Prod Sci, 1998, 4: 253-256.
- [9] Itokawa H, Nakajima H, Ikuta A, et al. Two triterpenes from the flowers of *Camellia Japonica* [J]. Phytochemistry, 1981, 20: 2539-2542.
- [10] Hichem L, Ahmed K, Abdulmagid AM, et al. Triterpenoids from *Salvia argentea* var. *aurasiaca* (Pomel) Batt. & Trab. and their chemotaxonomic significance [J]. Phytochemistry, 2014, 102: 145-151.
- [11] Vigar UA, Shaheen B, Wolfgang V, et al. Chemical examination of *Nepeta hindostana* (Roth) haines the structure of nepeticin [J]. Tetrahedron Lett, 1981, 22: 1714-1718.
- [12] Wu YL. Study on the Anti-tumor Mechanism of B-cholesterol Benzimidazole Compounds (B 降胆甾苯并咪唑化合物的抗肿瘤机制研究) [D]. Nanning: Nanning Normal University, 2019.
- [13] Yan HL, Chen Y, Tang F, et al. A novel fatty acid monoglyceride from the stem and leaves of *Ligusticum chuanxiong* Hort [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2021, 56: 2573-2576.