

· 论著 ·

## 月腺大戟的化学成分及其乳腺癌细胞毒活性研究

曹青青<sup>1</sup>, 李盛建<sup>2</sup>, 李云青<sup>3</sup>, 葛继云<sup>2</sup>, 陈俊<sup>2</sup>, 周瑾<sup>4</sup>, 钱跣<sup>2</sup>, 赵亮<sup>4</sup> (1. 上海市浦东新区人民医院药剂科, 上海 201299; 2. 上海东方肝胆外科医院药材科, 上海 200438; 3. 山西省儿童医院药剂科, 山西 太原 030013; 4. 上海市宝山区罗店医院药剂科, 上海 201908)

**[摘要]** **目的** 研究大戟科植物月腺大戟的化学成分及其对乳腺癌细胞毒活性。**方法** 采用多种色谱技术对化合物进行分离纯化, 根据化合物的理化性质和光谱数据分析鉴定化合物的结构。采用噻唑蓝(MTT)比色法研究化合物对6种乳腺癌细胞的抑制活性。**结果** 月腺大戟植物中分离得到10个化合物, 分别鉴定为: 2,4-二羟基-6-甲氧基-3-甲酰基苯乙酮(1); 2,4-二羟基-6-甲氧基-3-甲基苯乙酮(2); 月腺大戟素 A(3); 3,3'-乙酰基-4,4'-二甲氧基-2,2',6,6'-四羟基二苯基甲烷(4); 岩大戟内酯 B(5); 岩大戟内酯 A(6); 亚油酸(7); fischeria A(8);  $\beta$ -香树脂醇乙酸酯(9); 单十九酸甘油酯(10)。乳腺癌细胞毒活性研究显示: 化合物3对乳腺癌细胞MDA-MB-231、Sum149、MCF7、ZR-75-1、SKBr3、BT474的IC<sub>50</sub>值分别为6.69、5.50、5.50、7.08、8.64、5.42  $\mu$ mol/L。**结论** 化合物6、7、8、10为首次从该植物中分离得到; 化合物3对乳腺癌细胞具有显著的抑制活性。

**[关键词]** 月腺大戟; 化学成分; 结构鉴别; 乳腺癌; 细胞毒活性

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2019)04-0309-06

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.04.005

## Chemical constituents and cytotoxic activities in breast cancer of *Euphorbia ebracteolata*

CAO Qingqing<sup>1</sup>, LI Chengjian<sup>2</sup>, LI Yunqing<sup>3</sup>, GE Jiyun<sup>2</sup>, CHEN Jun<sup>2</sup>, ZHOU Jin<sup>4</sup>, QIAN Xian<sup>2</sup>, ZHAO Liang<sup>4</sup> (1. Department of Pharmacy, People's Hospital of Shanghai Pudong New District, Shanghai 201299, China; 2. Department of Pharmacy, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Naval Medical University, Shanghai 200438, China; 3. Department of Pharmacy, Shanxi Provincial Children Hospital, Taiyuan 030013, China; 4. Department of Pharmacy, Luodian Hospital of Baoshan District, Shanghai 201908, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the chemical constituents and cytotoxic activities of breast cancer in the roots of *Euphorbia ebracteolata*. **Methods** The chemical constituents were isolated and purified by various chromatographic techniques. The *in vitro* cytotoxic activities of breast cancer of the isolated compounds were studied by MTT method. Their structures were identified on the basis of spectroscopic analyses and physicochemical properties. **Results** Ten compounds were isolated from the roots of *Euphorbia ebracteolata*, and elucidated as 2,4-dihydroxy-6-methoxy-3-formyl-1-acetophenone (1), 2,4-dihydroxy-6-methoxy-3-methyl-1-acetophenone (2), ebracteolatin A (3), 3,3'-diacetyl-4,4'-dimethoxy-2,2',6,6'-tetrahydroxy diphenylmethane (4), jolkinolide B (5), jolkinolide A (6), linoleic acid (7), fischeria A (8),  $\beta$ -amyrin acetate (9), nonadecanoic acid monoglyceride (10). Compound 3 showed cytotoxicity against MDA-MB-231 cell, Sum149 cell, MCF7 cell, ZR-75-1 cell, SKBr3 cell, BT474 cell with IC<sub>50</sub> values of (6.69 $\pm$ 0.128), (5.50 $\pm$ 0.126), (5.50 $\pm$ 0.126), (7.08 $\pm$ 0.111), (8.64 $\pm$ 0.197), (5.42 $\pm$ 0.113)  $\mu$ mol/L, respectively. Compound 4 had no cytotoxicity on the above cancer cells. **Conclusion** Compounds 6, 7, 8, 10 were firstly isolated from *Euphorbia ebracteolata*. Compound 3 showed significant cytotoxicity on breast cancer cells.

**[Key words]** *Euphorbia ebracteolata*; chemical constituents; structure identified; breast cancer; cytotoxic activities

月腺大戟(*Euphorbia ebracteolata* Hayata.)为

大戟科大戟属多年生草本植物,生于山坡、草地或林下,分布于全国,主要产地为安徽、江苏、河南、湖北、山东等省。月腺大戟作为传统中药已有2000年历史,始记载于《神农本草经》:根入药,性平,味辛,有大毒。功能主治:逐水散结,破积杀虫<sup>[1]</sup>。用于治疗消化不良、水肿、咳嗽、哮喘、皮癣、皮炎等疾病<sup>[2]</sup>,对

**[基金项目]** 国家自然科学基金—青年项目(81303300)

**[作者简介]** 曹青青,药师,研究方向:中药化学、药效学研究, Email: amy5629@163.com

**[通讯作者]** 赵亮,副主任药师,研究方向:中药药效物质基础及新药开发, Email: zhaoliangphar@163.com

于结核和癌症的治疗亦有明显效果<sup>[3]</sup>。近年有文献报道中药月腺大戟醇提物具有抗痛风作用<sup>[4]</sup>,其水提物对于小鼠移植性肿瘤具有明显的抑制作用,同时提高了小鼠的免疫能力<sup>[5]</sup>。为确定该药的药效成分,前期从月腺大戟中分离得到了多种类型化合物,包括苯乙酮类、二萜类、三萜类以及甾醇类等<sup>[6]</sup>,其中萜类和苯乙酮类化合物表现出显著的抗结核杆菌生长的作用<sup>[7]</sup>,二萜和苯乙酮类化合物亦表现出一定细胞毒和肿瘤细胞抑制作用<sup>[8]</sup>。结合该药物的治疗作用和毒理研究,对月腺大戟的化学成分及细胞毒活性展开进一步的研究。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

AVANCE III 600 高分辨核磁共振波谱仪系统(德国布鲁克科技有限公司);Agilent1260 高效液相色谱仪、Agilent 6220 飞行时间质谱仪(美国安捷伦科技有限公司);LC-20AP 制备液相色谱仪(日本岛津公司);SMART-N 超纯水机(香港力康生物医疗科技控股有限公司);RE-52 型旋转蒸发器(上海申生科技有限公司);Multiskan MK3 酶标仪(美国 Thermo);CO<sub>2</sub> 培养箱(美国 Thermo);TS-100 摇床(海门其林贝尔);XDS-200 倒置显微镜(上海蔡康光学);SB3200-T 超声发生器(上海科导,50 KHz,120 W);18XW-80A 型旋涡混合器(海门其林贝尔),AE240 型十万分之一电子天平(瑞士梅特勒);全自动手持式细胞计数器 Scepter 2.0(美国 Millipore)。

### 1.2 材料

所用试剂(江苏强盛功能化学股份有限公司)均为分析纯试剂,水为本实验室制备的超纯水。玻璃层析柱(江苏南通三晶玻璃仪器有限公司);Kromasil 100-5 C<sub>18</sub> 制备柱(50 mm×250 mm);柱层析用硅胶、硅胶 GF254 薄层板(山东烟台江友化工有限公司);羟丙基葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20(上海国药集团化学试剂有限公司),反相 C<sub>18</sub> 硅胶(日本大曹株式会社)。

乳腺癌细胞株 MDA-MB-231、Sum149、MCF7、ZR-75-1、SKBr3、BT474(南京科佰生物科技有限公司,来源 ATCC);紫杉醇(北京谱析);澳洲胎牛血清、DMEM 培养基、PBS 溶液、0.5%胰蛋白酶(美国 Gibco 公司)。

中药月腺大戟饮片购自安徽(产地山东,批号:20140811),经第二军医大学药学院生药教研室的韩婷副教授鉴定为大戟科大戟属植物月腺大戟 *eu-phorbia ebracteolata* Hayata. 的干燥根。

## 2 提取和分离

取月腺大戟药材 30 kg 粉碎后,用 8 倍量体积分数为 80% 的乙醇于 65℃ 下依次热提 2 次,每次 2 h,合并 2 次滤液减压回收溶剂至无醇残留,得浓缩液体积 7 L。取浓缩液 2 L,分别用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇各萃取 3 次,每次加入萃取溶剂体积 2 L。分别合并各萃取层溶液,减压回收溶剂,得石油醚浸膏 50 g,乙酸乙酯浸膏 135 g,正丁醇浸膏 250 g。

取乙酸乙酯浸膏 135 g 过正相硅胶柱层析(石油醚:乙酸乙酯,50:1~1:1 洗脱),得到 9 个馏分 Fr1-Fr9,分别取 Fr1 (20 g)、Fr2 (20 g)用石油醚:乙酸乙酯:甲醇(从石油醚:乙酸乙酯:甲醇=100:1:1,50:1:1,20:1:1;10:1:1;2:1:1;1:1:1,每个体积约 1.5 L)梯度洗脱,Fr1 分离得到化合物 7 (170 mg),8 (52 mg),9 (60 mg);Fr2 分离得到化合物 1 (45 mg);取 Fr3 (15 g)、Fr4 (15 g) 经反相 C<sub>18</sub> 硅胶用氯仿:甲醇(氯仿:甲醇=20:1;10:1;5:1;2:1;每个体积约 1.5 L)梯度洗脱,从 Fr3 中分离得到化合物 5 (37 mg),6 (45 mg);从 Fr4 中得到化合物 2 (34 mg),3 (27 mg);从 Fr9 (15 g) 中经反相 C<sub>18</sub> 硅胶用甲醇洗脱分离得到 3 个馏分:Fr9-1,Fr9-2,Fr9-3;对 Fr9-1 (1.2 g),Fr9-2 (1.5 g) 用 LH-20 柱,采用甲醇水(甲醇:水=50%,洗脱体积 8 L)洗脱,最后得到化合物 4 (25 mg),10 (26 mg)。

## 3 结构鉴定

采用 Agilent HPLC-ESI-TOF/MS 对月腺大戟中分离得到的 10 个单体化合物进行分子量和分子式的分析,采用 Bruker AVANCE III 600 高分辨核磁共振波谱仪采集 <sup>1</sup>H-NMR 谱与 <sup>13</sup>C-NMR 谱数据。结合理化性质及现有文献中报道的核磁数据,对化合物进行结构解析,结构详见图 1。

化合物 1:无色针晶,C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>,ESI-MS 的质核比(M/Z)为 211.0531 [M+H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz,CDCl<sub>3</sub>,δ,ppm):15.39 (1H,s,3-OH),13.01 (1H,s,3-CHO),10.20 (1H,s,4-OH),5.90 (1H,s,H-5),3.98 (3H,s,6-OCH<sub>3</sub>),2.62 (3H,s,1-COCH<sub>3</sub>)。 <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz,CDCl<sub>3</sub>,δ,ppm):204.8,34.2 (1-COCH<sub>3</sub>),194.0 (3-CHO),172.8 (C-4),171.7 (C-6),169.9 (C-2),106.5 (C-3),105.9 (C-1),92.2 (C-5),57.6 (6-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[9]</sup>基本一致,鉴定化合物为 2,4-二羟基-6-甲氧基-3-甲酰基苯乙酮。

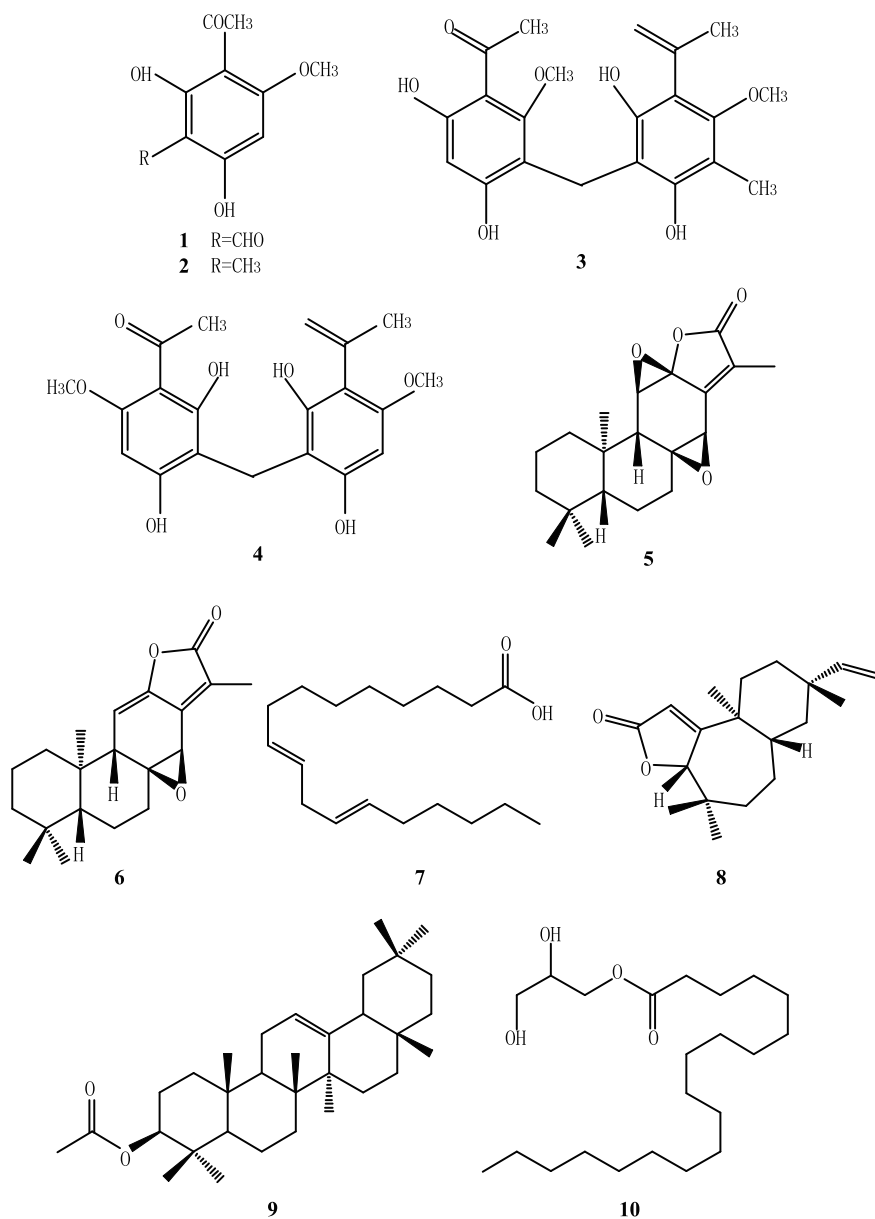


图1 10个单体化合物的结构图

化合物 2: 无色针晶,  $C_{10}H_{12}O_4$ , ESI-MS 的质核比 (M/Z) 为 197.0721  $[M + H]^+$ 。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , ppm): 14.21 (1H, s, 2-OH), 10.52 (1H, s, 4-OH), 6.04 (1H, s, H-5), 3.78 (3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>), 2.51 (3H, s, 1-COCH<sub>3</sub>), 1.85 (3H, s, H-3)。<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , ppm): 204.3, 34.5 (1-COCH<sub>3</sub>), 165.9 (C-4), 164.8 (C-6), 162.7 (C-2), 106.0 (C-3), 104.6 (C-1), 92.3 (C-5), 57.4 (6-OCH<sub>3</sub>), 9.2 (3-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[10]</sup>基本一致, 推测化合物为 2,4-二羟基-6-甲氧基-3-甲基苯乙酮。

化合物 3: 黄色针晶,  $C_{20}H_{22}O_8$ , ESI-MS 的质核比 (M/Z) 为 391.1126  $[M + H]^+$ 。<sup>1</sup>H-NMR

(600 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 13.19 (1H, s, 4-OH), 9.15 (1H, s, 6-OH), 8.82 (1H, s, 6'-OH), 6.02 (1H, s, H-5), 3.95 (3H, s, 2-OCH<sub>3</sub>), 3.84 (3H, s, 4'-OCH<sub>3</sub>), 3.74 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 2.69 (3H, s, 3'-COCH<sub>3</sub>), 2.63 (3H, s, 3-COCH<sub>3</sub>), 2.06 (3H, s, 5'-CH<sub>3</sub>)。<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 205.2, 32.9 (3-COCH<sub>3</sub>), 203.7, 31.9 (3, 3'-COCH<sub>3</sub>), 164.4 (C-6), 164.1 (C-4'), 164.0 (C-4), 163.9 (C-2'), 161.9 (C-6'), 157.2 (C-2), 112.2 (C-1'), 112.1 (C-5'), 109.0 (C-3'), 106.6 (C-1), 106.6 (C-3), 93.8 (C-5), 66.0 (4'-OCH<sub>3</sub>), 57.1 (2-OCH<sub>3</sub>), 17.6 (CH<sub>2</sub>), 9.3 (5'-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[11]</sup>报道基本一致, 推测该化合物为月腺大戟

素(ebracteolatin A)。

化合物**4**:浅黄色针晶,  $C_{19}H_{20}O_8$ , ESI-MS的质核比(M/Z)为 377.1299  $[M+H]^+$ 。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , ppm): 14.20 (2H, s, 2, 2'-OH), 10.21 (2H, s, 6, 6'-OH), 8.30 (2H, s, 5, 5'-H), 5.92 (6H, s, 4, 4'-OCH<sub>3</sub>), 3.75 (2H, s, ArCH<sub>2</sub> Ar), 3.62 (6H, s, 6, 6'-COCH<sub>3</sub>)。 <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , ppm): 204.1, 34.6 (3, 3'-COCH<sub>3</sub>), 166.4 (C-6, 6'), 165.0 (C-4, 4'), 162.6 (C-2, 2'), 108.3 (C-1, 1'), 105.6 (C-3, 3'), 92.6 (C-5, 5'), 57.3 (4, 4'-COCH<sub>3</sub>), 17.2 (ArCH<sub>2</sub> Ar)。以上数据与文献<sup>[12]</sup>报道基本一致,推测化合物为 3, 3'-乙酰基-4, 4'-二甲氧基-2, 2', 6, 6'-四羟基二苯基甲烷。

化合物**5**:白色针晶,  $C_{20}H_{26}O_4$ , ESI-MS的质核比(M/Z)为 331.1183  $[M+H]^+$ 。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 4.03 (1H, s, H-11), 3.67 (1H, s, H-14), 2.28 (1H, s, H-9), 2.08 (3H, s, 17-CH<sub>3</sub>), 0.93 (3H, s, 18-CH<sub>3</sub>), 0.85 (3H, s, 19-CH<sub>3</sub>), 0.82 (3H, s, 20-CH<sub>3</sub>)。 <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 171.0 (C-16), 149.8 (C-13), 131.6 (C-15), 86.6 (C-12), 67.5 (C-8), 62.3 (C-11), 56.8 (C-14), 54.9 (C-5), 49.4 (C-9), 42.7 (C-1), 40.6 (C-3), 40.6 (C-10), 37.0 (C-7), 34.9 (C-4), 34.9 (C-18), 23.3 (C-6), 22.3 (C-19), 19.8 (C-2), 16.8 (C-20), 10.1 (C-17)。以上数据与文献<sup>[13]</sup>报道基本一致,推测化合物为 jolkinolide B。

化合物**6**:无色雪花状晶体,  $C_{20}H_{26}O_3$ , ESI-MS的质核比(M/Z)为 314.1882  $[M+H]^+$ 。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 5.46 (1H, d, J=6 Hz, H-11), 3.70 (1H, s, H-14), 2.63 (1H, d, J=6 Hz, H-9), 2.06 (3H, s, H-5), 0.95 (3H, s, 18-CH<sub>3</sub>), 0.86 (3H, s, 19-CH<sub>3</sub>), 0.72 (3H, s, 20-CH<sub>3</sub>)。 <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 172.0 (C-16), 148.9 (C-12), 146.4 (C-13), 126.6 (C-15), 105.5 (C-11), 62.6 (C-8), 55.9 (C-14), 54.9 (C-5), 53.3 (C-9), 43.0 (C-1), 42.9 (C-10), 41.3 (C-3), 35.6 (C-7), 34.9 (C-4), 34.9 (C-18), 23.3 (C-19), 22.3 (C-6), 19.9 (C-2), 16.4 (C-20), 10.1 (C-17)。以上数据与文献<sup>[14]</sup>报道基本一致,故鉴定该化合物为 jolkinolide A。

化合物**7**:淡黄色油状液体,  $C_{20}H_{32}O_2$ , ESI-MS的质核比(M/Z)为 281.2366  $[M+H]^+$ , 279.2337  $[M-H]^-$ 。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm):

5.38 (4H, m, H-9, H-10, H-12, H-13), 2.77 (1H, t, J=6.6 Hz, H-11), 2.34 (1H, t, J=7.2 Hz, H-2), 2.05 (2H  $\times$  2, m, H-8, H-14), 1.63 (2H, p, J=7.2 Hz, H-3), 1.25 (2H  $\times$  7, br. s, H-4 ~ H-7, H-15 ~ H-17), 0.89 (3H, t, J=7.2 Hz, H-18)。 <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 180.7 (C-1), 131.6 (C-10), 131.4 (C-12), 129.5 (C-13), 129.3 (C-9), 35.3 (C-2), 33.3 (C-16), 31.1 (C-7), 31.0 (C-6), 30.8 (C-15), 30.8 (C-5), 30.6 (C-4), 28.6 (C-8), 28.6 (C-14), 27.0 (C-11), 26.1 (C-3), 24.1 (C-17), 15.5 (C-18)。以上数据与文献<sup>[15]</sup>报道基本一致,故推断该化合物为亚油酸(linoleic acid),目前,月腺大戟的研究中未见该化合物的报道,本化合物首次报道于月腺大戟中。

化合物**8**:无色针晶,  $C_{19}H_{28}O_2$ , ESI-MS的质核比(M/Z)为 289.2151  $[M+H]^+$ 。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 5.89 (1H, d, J=1.2 Hz, H-3), 5.78 (1H, dd, J=10.7 Hz, 15.7 Hz, H-15), 4.92 (1H, s, H-5), 4.87 (1H, s, H-16), 1.68 (1H, m, H-8), 1.62 (1H, m, H-9), 1.44 (1H, t, J=12 Hz, H-14), 1.27 (1H, dd, J=2.9 Hz, 13.7 Hz, H-12), 1.21 (1H, s, H-18), 1.20 (1H, s, H-20), 1.14 (1H, m, H-11), 1.11 (1H, m, H-14), 1.02 (1H, s, H-17), 0.69 (1H, s, H-19)。 <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 185.2 (C-2), 174.7 (C-4), 151.4 (C-15), 118.7 (C-3), 110.9 (C-16), 91.3 (C-5), 44.7 (C-7), 42.4 (C-14), 41.1 (C-10), 41.0 (C-8), 40.8 (C-9), 40.5 (C-6), 37.4 (C-13), 33.0 (C-12), 31.4 (C-20), 29.9 (C-11), 24.0 (C-17), 20.3 (C-19), 20.2 (C-18)。以上数据与文献<sup>[16]</sup>报道基本一致,故推测该化合物为 fischeria A。目前,月腺大戟的研究中未见该化合物的报道,该化合物主要从大戟科白狼毒中研究发现,从月腺大戟中首次发现。

化合物**9**:无色针晶,  $C_{32}H_{52}O_2$ , ESI-MS的质核比(M/Z)为 469.3967  $[M+H]^+$ 。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 5.17 (1H, t, J=3.4 Hz, H-12), 4.49 (1H, dd, J=7.7 Hz, H-3), 2.04 (3H, s, CH<sub>3</sub>CO), 1.13 (3H, s, CH<sub>3</sub>-27), 0.97 (6H, s, CH<sub>3</sub>-25, 26), 0.96 (6H, s, CH<sub>3</sub>-29, 30), 0.87 (6H, s, CH<sub>3</sub>-23, 24), 0.83 (3H, s, CH<sub>3</sub>CO)。 <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 172.4 (C-32), 146.6 (C-13), 123.1 (C-12), 82.4 (C-3), 56.7 (C-5), 49.0 (C-9), 48.7 (C-18), 48.2 (C-19), 43.1 (C-14), 41.2 (C-8), 39.7 (C-1), 39.1 (C-4), 38.6

(C-22), 38.3 (C-10), 36.2 (C-21), 34.7 (C-29), 34.6 (C-7), 33.1 (C-17), 32.5 (C-20), 29.8 (C-28), 29.5 (C-23), 28.4 (C-15), 27.6 (C-16), 27.4 (C-27), 25.0 (C-30), 25.0 (C-2), 24.91 (C-11), 22.3 (C-31), 19.7 (C-6), 19.2 (C-24), 18.1 (C-26), 17.0 (C-25)。以上数据与文献<sup>[17]</sup>报道基本一致,故推测该化合物为β-香树脂醇乙酸酯。

化合物 10: 微黄色粉末, C<sub>22</sub>H<sub>44</sub>O<sub>4</sub>, ESI-MS 的质核比(M/Z)为 353.2660 [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 4.18 (2H, m), 3.93 (1H, m), 3.67 (2H, m)。<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 175.8, 71.7 (-CH), 66.6 (-CH<sub>2</sub>), 64.8 (-CH<sub>2</sub>), 提示该化合物有甘油酸酯片段。δ<sub>H</sub> 2.34 (2H, t, J=7.5 Hz)与 δ<sub>C</sub> 35.6 是与酯羰基相连的-CH<sub>2</sub>的信号。δ<sub>H</sub> 0.87 (3H, t, J=6.7 Hz)与 δ<sub>C</sub> 15.5 是端甲基信号。以上信号与文献<sup>[18]</sup>对照,推断该化合物为单十九酸甘油酯,该化合物首次在月腺大戟研究中报道。

#### 4 细胞毒活性试验

采用 MTT 法对提取得到的苯乙酮类成分进行细胞毒性评价,选取 6 种类型乳腺癌细胞,分别为三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 及 Sum149; LuminalA 型 MCF-7, LuminalB 型 ZR-75-1, Her 2 阳性型 SKBr3 及 BT474。将上述 6 种乳腺癌细胞接种到 96 孔培养板中,置于 37 °C 的 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养过夜。设置阳性对照组,肿瘤细胞对照组和各个不同浓度药物的实验组。配置化合物 1-4 母液浓度为 5 mmol/L 母液经稀释得到 8 个梯度浓度的样品溶液,浓度分别为 20、15、12.5、10、7.5、5、2、1 μmol/L,作用于 6 种乳腺癌细胞,每个剂量设 6 个平行孔。各分别置于 37°C、CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 72 h,之后每孔加入 MTT。继续培养 4 h,用酶标仪(波长 492 nm)测定吸光度(OD)值,计算不同浓度的化合物对乳腺癌细胞的抑制率。

细胞抑制率=(加药组 OD 值-调零孔 OD 值)/(对照组 OD 值-调零孔 OD 值),结果如表 1 所示。

表 1 MTT 法测定 4 个化合物对各乳腺癌细胞生长的影响(72 h, n=6)

化合物	IC <sub>50</sub> /(μmol/L)					
	MDA-MB-231	Sum149	MCF7	ZR-75-1	SKBr3	BT474
1	—	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—	—
3	6.69	5.50	6.16	7.08	8.64	5.42
4	—	20 μmol(30%)	—	—	20 μmol(35%)	—

注:“—”表示没有活性;20 μmol(30%)表示给药浓度 20 μmol 时抑制率为 30%

#### 5 讨论

本次研究采用多种分离技术和鉴别方法对月腺大戟的化学成分开展了进一步研究,从中分离 10 个化合物,并对其进行结构解析。其中分析得到 4 个苯乙酮类化合物,3 个二萜类化合物,1 个三萜类化合物和 2 个脂肪酸酯类化合物。化合物 6、7、8、10 为首次从该植物中分离得到。采用 MTT 法选用 6 种乳腺癌细胞测试 4 个苯乙酮类化合物的抗乳腺癌活性,化合物 3 显示出明显的抗乳腺癌活性,化合物 4 对乳腺癌细胞抑制活性较弱,化合物 1 和化合物 2 未表现出生物活性。化合物 1 和化合物 2 均为单苯乙酮化合物,化合物 3 和化合物 4 均为双苯乙酮类化合物,化合物 3 为对称的甲基取代对称的双苯乙酮,化合物 4 为非对称的无甲基取代对称的双苯乙酮,化合物 3 对抗乳腺癌细胞的生物活性较化合物 4 显著,而单苯乙酮类化合物 1 和化合物 2 对乳腺癌细胞未表现出抑制活性。因此,本研究初

步探讨了苯乙酮类化合物的构效关系,为月腺大戟的抗乳腺癌活性开发及质量控制提供一定的物质基础和参考依据。

#### 【参考文献】

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典. 下册[M]. 上海科学技术出版社, 2002.
- [2] 刘志国, 李占林, 李达翔, 等. 月腺大戟的化学成分及其抗炎活性研究[C]// 全国中药和天然药物学术研讨会. 2014.
- [3] 夏青, 徐柯心, 张文婷, 等. 中药狼毒化学成分与药理作用概述[J]. 环球中医药, 2017, 10(8): 927-932.
- [4] 徐娇, 易立涛, 翁连进, 等. 月腺大戟乙醇提取物的抗痛风活性研究[J]. 中药材, 2014, 37(2): 315-317.
- [5] 居学海, 崔晞, 陈鸣岳, 等. 月腺大戟水提物对小鼠的毒性作用[J]. 山东大学学报(医学版), 2007, 45(1): 62-64.
- [6] 熊爽. 月腺大戟化学成分的研究[D]. 吉林大学, 2009.
- [7] 徐晨耕, 谈光新, 施旭东, 等. 月腺大戟治疗传染性肺结核的临床研究[C]// 中国防痨协会全国学术会议大会学术报告. 2001.

(下转第 317 页)

- products of microbial origin from 2010 to 2013 [J]. *Chin J Org Chem (有机化学)*, 2013, 33 (6): 1195-1234.
- [6] KIRK P M, CANNON P F, DAVID J C, et al. *Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi*, 9th Edition, [M]. CABI Publishing, 2001.
- [7] FATIMA N, MUKHTAR U, IHSAN UL H, et al. Biological evaluation of endophytic fungus *Chaetomium* sp. NF15 of *Justicia adhatoda* L.: A potential candidate for drug discovery [J]. *Jundishapur J Microbiol*, 2016, 9 (6): e29978.
- [8] JIAO R H, XU S, LIU J Y, et al. Chaetominine, a cytotoxic alkaloid produced by endophytic *Chaetomium* sp. IFB-E015 [J]. *Org Lett*, 2006, 8 (25): 5709-5712.
- [9] SY A A, SWENSON D C, GLOER J B, et al. Botryolides A-E, decarestrictine analogues from a fungicolous *Botryotrichum* sp. (NRRL 38180) [J]. *J Nat Prod*, 2008, 71 (3): 415-419.
- [10] RADHA KRISHNA P, RAO T J. Total synthesis of decarestrictine I and botryolide B via RCM protocol [J]. *Org Biomol Chem*, 2010, 8 (14): 3130-3132.
- [11] LOUKACI A, KAYSER O, BINDSEIL K, et al. New trichothecenes isolated from *Holarrhena floribunda* [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63 (1): 52-56.
- [12] SUN P, LU S, REE T, et al. Nonanolides of natural origin: structure, synthesis, and biological activity [J]. *Curr Med Chem*, 2012, 19: 3417-3455.
- [13] YADAV J S, VENKATESH M, KUMAR A S, et al. Astereoselective total synthesis of decarestrictine I [J]. *Helv Chim Acta*, 2014, 97 (6): 830-838.
- [14] PHILIPPS S, MAYER M, G HRT A, et al. [P], EP, 0497300A12, 1992.
- [15] WU Q, DOHNAL V, KUCA K, et al. Trichothecenes: structure-toxic activity relationships [J]. *Curr Drug Metab*, 2013, 14 (6): 641-660.
- [收稿日期] 2018-11-06 [修回日期] 2019-02-25  
[本文编辑] 陈盛新

(上接第 313 页)

- [8] 颜秉强, 张永清. 月腺大戟研究进展 [J]. *山东中医药大学学报*, 2008(5): 432-435.
- [9] WANG X Y, LIU L P, KANG T G, et al. Chemical constituents of *Euphorbia fischeriana* [J]. *Chin J Nat Med*, 2012, 10 (4): 299-302.
- [10] DENG B, MU S Z, HAO X J. Chemical constituents from *uphorbia ebracteolata* [J]. *Chin J Nat Med*, 2010, 8(3): 18-185.
- [11] 王晓阳, 刘丽萍, 康廷国, 等. 狼毒大戟的化学成分 [J]. *中国天然药物*, 2012, 10(4): 299-302.
- [12] 董云发, 丁云梅. 月腺大戟根中乙酰基间苯三酚衍生物 [J]. *植物资源与环境学报*, 1992(2): 1-3.
- [13] 邓彬, 穆淑珍, 黄烈军, 等. 月腺大戟中二萜类化学成分的研究 [J]. *中国中药杂志*, 2009, 34(6): 789-791.
- [14] 潘勤, 施敏锋, 闵知大. 狼毒大戟中 4 种 Jolkinolide 型二萜的二维核磁共振研究 [J]. *中国药科大学学报*, 2004, 35 (1): 16-19.
- [15] 杨阳, 蔡飞, 杨琦, 等. 头花蓼化学成分的研究 (I) [J]. *第二军医大学学报*, 2009, 30(8): 937-940.
- [16] PEI Y, KOIKE K, HAN B, et al. Fischeria A, a novel norditerpene lactone from *Euphorbia fischeriana* [J]. *Tetrahedron Lett*, 1999, 40(5): 951-952.
- [17] 浮光苗, 余伯阳, 朱丹妮. 月腺大戟化学成分的研究 [J]. *中国药科大学学报*, 2003, 34(4): 377-379.
- [18] 刘文洁. 苍耳根化学成分及其药理活性的研究 [D]. 海口: 海南师范大学, 2013.
- [收稿日期] 2018-04-25 [修回日期] 2019-02-25  
[本文编辑] 陈盛新