

雷公藤茎中的二萜类成分及生物活性研究

周晓琼, 饶凯瑞, 陈宣钦*

昆明理工大学生命科学与技术学院, 昆明 650500

摘要:综合运用正相硅胶柱色谱、中压液相色谱(MPLC)、羟丙基葡聚糖凝胶(Sephadex LH-20)及高效液相色谱等多种方法,从雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f. 茎乙醇提取物的乙酸乙酯相中分离鉴定了1个新的松香烷型二萜 wiltriptobenzene(**1**)和19个已知的二萜,包括雷藤二萜醌 H(**2**)、triptoquinone B(**3**)、hinokione(**4**)、雷酚萜(**5**)、triptonediol(**6**)、triptobenzene A(**7**)、wilforol F(**8**)、triptobenzene B(**9**)、abietatrien-3 β -ol(**10**)、triptobenzene S(**11**)、hypoglicin B(**12**)、triregelin H(**13**)、雷酚内酯(**14**)、雷酚新内酯(**15**)、16 α -hydroxy-19,20- epoxy-19R^{*}-methoxy-kaurane(**16**)、16 α -hydroxy-19,20-epoxy-20R^{*}-ethoxy-kaurane(**17**)、16 α -hydroxy-19,20-epoxy-19R^{*}-ethoxy-kaurane(**18**)、fischericin D(**19**)和 ent-pimara-8(**14**),15-diene-19-ol(**20**)。化合物的结构通过与文献对比核磁共振波谱数据确定。化合物**10**、**19**和**20**首次报道从雷公藤中分离得到。在脂多糖(LPS)诱导小鼠单核巨噬细胞(RAW 264.7)的模型中,评价了化合物**1**~**20**的体外抗炎活性;采用MTT法评价了化合物**1**~**20**的体外抗人体宫颈癌(HeLa)细胞株活性。化合物**2**、**3**和**20**具有显著的抗炎活性,其半数抑制NO生成的IC₅₀值分别为2.01、1.70和1.77 μ mol/L。化合物**11**具有微弱的体外抗肿瘤活性,IC₅₀值为18.41 μ mol/L。

关键词:雷公藤;二萜;抗炎活性;抗肿瘤活性

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2021)7-1137-10

DOI:10.16333/j.1001-6880.2021.7.008

Diterpenoids from the *Tripterygium wilfordii* stems and their biological activities

ZHOU Xiao-qiong, RAO Kai-ru, CHEN Xuan-qin*

School of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China

Abstract: A new diterpene quinone wiltriptobenzene (**1**) and nineteen known ones, including triptoquinone H (**2**), triptoquinone B (**3**), hinokione (**4**), triptonoterpene (**5**), triptonediol (**6**), triptobenzene A (**7**), wilforol F (**8**), triptobenzene B (**9**), abietatrien-3 β -ol (**10**), triptobenzene S (**11**), hypoglicin B (**12**), triregelin H (**13**), triptophenolide (**14**), neotriptophenolide (**15**), 16 α -hydroxy-19,20-epoxy-19R^{*}-methoxy-kaurane (**16**), 16 α -hydroxy-19,20-epoxy-20R^{*}-ethoxy-kaurane (**17**), 16 α -hydroxy-19,20-epoxy-19R^{*}-ethoxy-kaurane (**18**), fischericin D (**19**), and ent-pimara-8(**14**), 15-diene-19-ol (**20**) were isolated from the ethyl acetate extract of *Tripterygium wilfordii* by silica gel, medium pressure liquid chromatography (MPLC), Sephadex LH-20, and HPLC chromatograph. The structures of them were established by extensive spectroscopic methods and comparing the data with those in the literature. Compounds **10**, **19**, and **20** were isolated from *T. wilfordii* for the first time. The anti-inflammatory activity of **1**~**20** was evaluated in LPS-induced RAW 264.7 cells. Anti-tumor activity of **1**~**20** *in vitro* against HeLa cell line was examined by MTT method. Compounds **2**, **3**, and **20** exhibited significant activity to inhibit NO production with IC₅₀ values of 2.01, 1.70 and 1.77 μ mol/L. Compound **11** exhibited weak anti-tumor activity (IC₅₀ = 18.41 μ mol/L).

Key words: *Tripterygium wilfordii*; diterpene; anti-inflammatory activity; antitumor activity

雷公藤 (*Tripterygium wilfordii* Hook. f.) 是卫矛科雷公藤属植物, 又名水莽草, 断肠草等, 多分布于

长江流域以南及西南地区。雷公藤始载于《神农本草经》, 其味苦、辛, 性寒, 归肝、肾二经, 具有祛风除湿、杀虫解毒、消肿止痛和舒筋活络的功效^[1]。雷公藤作为一种常用中药, 多以根入药, 已开发成多种雷公藤制剂, 如雷公藤多苷片, 雷公藤片, 雷公藤总

收稿日期:2021-02-02

接受日期:2021-03-26

基金项目:国家自然科学基金(31660102);云南省自然科学基金(2018FB034)

* 通信作者 Tel:86-015987105354; E-mail:chenxuanqin12@sina.com

萜片和雷公藤双层片等^[2],这些雷公藤制剂主要用于免疫和炎性疾病的治疗,如类风湿关节炎,红斑狼疮和溃疡性结肠炎等^[3]。此外,现代药理学研究发现雷公藤还具有抗肿瘤活性,其在肿瘤治疗中具有很好的应用前景。

至今为止,国内外科研工作者已从雷公藤属中分离鉴定了 500 多个化合物,主要为二萜,三萜和倍半萜,其中二萜类成分骨架类型多样,包括松香烷型、海松烷型、对映贝壳杉烷型和其他类型。松香烷型三元环氧二萜内酯类化合物,如雷公藤甲素及其衍生物一直以来被认为是雷公藤二萜类成分中抗炎和抗肿瘤的主要活性成分^[4]。然而,雷公藤甲素及其衍生物的含量低且多数具有较强的肝和肾毒性,这极大的限制了雷公藤的应用和开发。在雷公藤中,除雷公藤甲素及其衍生物外,是否存在其他低毒高效的抗炎和抗肿瘤活性二萜类成分,值得进一步研究。另一方面,有关雷公藤化学成分的研究主要集中在其主要药用部位根中,对其茎的化学成分研究不够深入,查阅文献发现从雷公藤茎或者茎和叶的混合提取物中分离到的化合物目前共 24 个,其中二萜类化合物有 9 个。鉴于此,本研究采用各种色谱和波谱技术对雷公藤茎中的二萜类成分进行了系统的分离和鉴定,并对分离得到的化合物进行了体外抗炎和抗肿瘤活性评价。

1 材料与方法

1.1 药材

干燥的雷公藤茎于 2019 年 7 月购自于昆明市新螺蛳湾药材市场,并由昆明理工大学陈宣钦副教授鉴定为雷公藤 (*Tripterygium wilfordii*),凭证标本 (KUMST20190716) 存放于昆明理工大学生命科学与技术学院资源药物化学重点实验室。

1.2 仪器与试剂

拌样硅胶(80~100目)、柱色谱用硅胶(200~300目)、十八烷基硅胶(ODS-C₁₈, 75 μmol, 日本 YMC 公司)和羟丙基葡聚糖凝胶(Sephadex LH-20, 20~100 μmol, Pharmacia 公司);薄层色谱(TLC)用硅胶板(G和GF254,青岛海洋化工厂);色谱纯试剂甲醇和乙腈(Fisher 公司);显色剂 5% H₂SO₄-EtOH 溶液(喷洒后适当加热);胎牛血清(FBS, Hyclone 公司);基础培养基(DMEM, Thermofisher 公司);二甲基亚砜(DMSO, Solarbio 公司);小鼠巨噬细胞 RAW 264.7(中国科学院昆明动物研究所)和脂多糖(LPS, sigma 公司);Hela 细胞株(中国科学院昆明动

物研究所);4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES, Biosharp 公司);青链霉素混合液(Solarbio 公司);四甲基偶氮唑盐(MTT, Solarbio 公司);一氧化氮合成酶抑制剂(L-NMMA, Beyo Time 公司)。

Bruker DRX-500 和 Bruker AV III-600 核磁共振仪(德国, Bruker BioSpin Group);UV1102 II 紫外分光光度计(Betop Scientific);高分辨质谱仪(Agilent 6530 LC/MSD);Jasco DIP-370 数字偏振仪(日本, JASCO Corporation);Agilent 1200 高效液相色谱仪(Agilent 公司),配备 ZORBAX SB-C₁₈ 反相柱和二极管阵列检测器(Agilent 公司);Spectra Max M₂ 多功能读板机(美国, Molecular Devices 公司)和 CO₂ 恒温培养箱(Thermofisher 公司)。

1.3 方法

1.3.1 提取与分离

雷公藤茎 50 kg 粉碎,采用 95% 乙醇浸泡提取 3 次,每次 60 L,每次 24 h,浓缩后,加适量水溶解,并依次用石油醚,乙酸乙酯和正丁醇分别萃取 3 次。

乙酸乙酯部位(672 g)经硅胶柱层析(石油醚:乙酸乙酯,5:1和2:1)进行划段,得到 4 个部分 Fr. 1~4。Fr. 1(29 g)通过硅胶柱层析(石油醚:乙酸乙酯,50:1、30:1和20:1)划分为 2 个组分 Fr. 1.1~1.2。Fr. 1.1(2.1 g)经过 ODS-C₁₈ 反相中压柱层析(甲醇:水,70%→100%)分为 2 个组分 Fr. 1.1.1~1.1.2。Fr. 1.1.1(90 mg)采用硅胶柱层析(石油醚:乙酸乙酯,11:1)进行纯化得到化合物 4(10.7 mg)。Fr. 1.2(18 g)经过 ODS-C₁₈ 反相中压柱层析(甲醇:水,60%→100%)划分为 Fr. 1.2.1~1.2.4 共 4 个组分。Fr. 1.2.1(4.09 g)通过硅胶柱层析(石油醚:乙酸乙酯,30:1、20:1和10:1)得到 Fr. 1.2.1.1~1.2.1.4 共 4 个组分,其中 Fr. 1.2.1.1(62.8 mg)经过硅胶柱层析(石油醚:二氯甲烷,1:1)分离纯化得到化合物 2(34.3 mg)。Fr. 1.2.1.2(45 mg)通过硅胶柱层析(石油醚:二氯甲烷,1.5:1和1:1)分离纯化得到化合物 5(6.7 mg)。Fr. 1.2.1.3(420.1 mg)采用硅胶柱层析(石油醚:二氯甲烷,1.5:1和1:1)得到 2 个部分 Fr. 1.2.1.3.1~1.2.1.3.2。Fr. 1.2.1.3.1(63 mg)经过硅胶柱层析(石油醚:乙酸乙酯,10:1)分离纯化得化合物 9(9.7 mg)。Fr. 1.2.1.3.2(382.1 mg)采用硅胶柱层析(石油醚:异丙醇,100:1)分离纯化得化合物 11(58.8 mg)。Fr. 1.2.1.4(54.9 mg)通过硅胶柱层析(石油醚:乙酸乙酯,12:1)分离纯化得化合物 12(5.0 mg)。

Fr. 1. 2. 2(548. 9 mg)采用硅胶柱层析(石油醚:氯仿,1:10;氯仿:乙酸乙酯,40:1和30:1)洗脱得到化合物 **19**(26. 4 mg)。Fr. 1. 2. 3(618. 2 mg)采用硅胶柱层析(二氯甲烷:乙酸乙酯,10:1)得到化合物 **16**(121. 9 mg)。Fr. 1. 2. 4(2. 45 g)经过硅胶柱层析(石油醚:二氯甲烷,1:1)洗脱得2个部分 Fr. 1. 2. 4. 1~1. 2. 4. 2。Fr. 1. 2. 4. 1(36. 7 mg)采用硅胶柱层析(石油醚:二氯甲烷,2:1)得到化合物 **10**(1. 3 mg)。Fr. 1. 2. 4. 2(328. 7 mg)经过硅胶柱层析(石油醚:丙酮,35:1)得到化合物 **17**(23 mg)和化合物 **18**(28. 3 mg)。

Fr. 2(49. 48 g)经过 ODS-C₁₈ 反相中压柱层析(甲醇:水,60%→100%)得到3个组分 Fr. 2. 1~2. 3。Fr. 2. 1(4. 6 g)采用硅胶柱层析(石油醚:乙酸乙酯,7:1)洗脱得到2个组分 Fr. 2. 1. 1~2. 1. 2。Fr. 2. 1. 1(288. 8 mg)采用硅胶柱层析(石油醚:乙酸乙酯,7:1)分离纯化得化合物 **6**(8. 1 mg)和化合物 **7**(12 mg)。Fr. 2. 1. 2(943. 8 mg)经过 Sephadex LH-20(氯仿:甲醇,1:1)分离得到化合物 **20**(29 mg)和2个组分 Fr. 2. 1. 2. 1~2. 1. 2. 2。Fr. 2. 1. 2. 1(100 mg)通过半制备 HPLC(乙腈:水,28%,*t_R* = 9. 2 min)得到化合物 **8**(2. 2 mg)。Fr. 2. 1. 2. 2(400 mg)采用硅胶柱层析(二氯甲烷:乙酸乙酯,80:1)得到化合物 **13**(4. 8 mg)。Fr. 2. 2(8. 2 g)经过硅胶柱层析(二氯甲烷:乙酸乙酯,120:1和30:1)分成2个部分 Fr. 2. 2. 1~2. 2. 2。Fr. 2. 2. 1(582. 5 mg)采用硅胶柱层析(石油醚:异丙醇,30:1)分为2个部分 Fr. 2. 2. 1. 1~2. 2. 1. 2,其中 Fr. 2. 2. 1. 1(124. 2 mg)采用硅胶柱层析(石油醚:二氯甲烷,1:10)洗脱得到化合物 **1**(2 mg),Fr. 2. 2. 1. 2(75 mg)采用硅胶柱层析(二氯甲烷:乙酸乙酯,200:1)分离纯化得到化合物 **14**(24 mg)和化合物 **15**(22. 4 mg)。Fr. 2. 2. 2(449. 9 mg)经过硅胶柱层析(石油醚:异丙醇,50:1)划分为 Fr. 2. 2. 2. 1~2. 2. 2. 2 共2个部分。Fr. 2. 2. 2. 2(107 mg)采用硅胶柱层析(二氯甲烷:乙酸乙酯,200:1)分离,得到化合物 **3**(15 mg)。

1. 3. 2 抗炎活性和毒性筛选

1. 3. 2. 1 巨噬细胞 RAW 264. 7 的培养

RAW 264. 7 细胞使用 DMEM 培养基(含有10%胎牛血清和1%青链霉素双抗溶液),于37℃、5% CO₂ 培养箱中进行恒温培养,每日观察细胞生长的状态,同时 DMEM 培养液需要定期进行替换,直到细胞生长良好,覆盖率达90%以上对细胞进行

传代。

1. 3. 2. 2 Griess 试剂的配制

Griess I 液:在1. 0 g 无水对氨基苯磺酸中加入6 mL 的磷酸和适量的超纯水,进行水浴加热使其全部溶解,再定容至100 mL,进行除杂除菌后,于4℃的条件贮存备用。

Griess II 液:称取0. 1 g 的 *N*-1-萘基乙二胺二盐酸盐同上述方法配制。

1. 3. 2. 3 Griess 法检测体外抗炎活性

把对数生长期的 RAW 264. 7 细胞,按 7×10^4 浓度稀释,接种于96孔细胞培养板中(每孔加入100 μL 细胞悬液),再置于37℃,5% CO₂ 恒温培养箱中继续培养24 h后,把贴壁生长的细胞分别分为空白组、模型组(1 μg/mL 脂多糖 LPS)、实验组(待测物+1 μg/mL LPS)和阳性对照组(一氧化氮合成酶抑制剂 L-NMMA+1 μg/mL LPS)等4个组,每组设3个复孔。其中,待测物的浓度分别为12. 5、6. 25、3. 125、1. 56和0. 78 μmol/L;继续培养24 h之后,吸取各孔细胞的上层清液加入50 μL 的 Griess I 溶液并用摇床振摇10 min,之后再加入50 μL 的 Griess II 溶液并在避光条件下振摇10 min,最后用酶标仪检测其在540 nm 处的吸光值,使用 IBM SPSS Statistics 20 计算半数抑制浓度 IC₅₀ 值。

1. 3. 2. 4 MTT 法检测细胞毒性

把浓度为 7×10^4 的 RAW 264. 7 细胞接种于96孔细胞培养板中,再置于37℃,5% CO₂ 恒温培养箱中继续培养24 h,用不同浓度(50、25、12. 5、6. 25、3. 125 μmol/L)的待测物处理 RAW 264. 7 细胞。用 MTT 法检测化合物对 RAW 264. 7 细胞的细胞毒性^[5]。

1. 3. 2. 5 MTT 法检测抗肿瘤活性

把对数生长期的 HeLa 细胞以每孔 1×10^5 的密度接种于96孔板中,恒温培养24 h后,以顺铂为阳性对照,以不同浓度50、25、12. 5、6. 25和3. 12 μmol/L 的样品作为实验组,作用48 h,用 MTT 比色法测定细胞存活率^[6]。

2 实验结果

从雷公藤茎中分离得到了20个二萜类化合物(见图1),包括1个新二萜和19个已知二萜。

2. 1 结构鉴定

化合物 **1** 黄色油状物; $[\alpha]_D^{25} + 327. 27$ (c 0. 022, MeOH)。UV (MeOH) λ_{\max} : 248 nm; HR-ESI-MS: m/z 379. 1882 $[M + Na]^+$ (calcd for C₂₂ H₂₈

续表 1

Position	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}	Position	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}
8	-	142.7 (s)	19	1.75, s	15.9 (q)
9	-	149.1 (s)	20	1.15, s	18.5 (q)
10	-	36.6 (s)	-CO-	-	171.4 (s)
11	-	187.8 (s)	-CH ₃	2.07, s	21.0 (q)

化合物 2 淡黄色油状物; 分子式 $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_3$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.37 (1H, s, H-12), 3.00 (1H, m, H-15), 2.86 (1H, m, H-2), 2.82 (1H, m, H-7), 2.57 (2H, m, H-1), 2.32 (1H, m, H-7), 1.52 (1H, m, H-6), 1.30 (3H, s, H-20), 1.15 (3H, s, H-19), 1.12 (3H, s, H-18), 1.12 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-16), 1.11 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-17); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 217.1 (C-3), 187.7 (C-14), 187.5 (C-11), 153.2 (C-13), 148.2 (C-9), 142.8 (C-8), 131.9 (C-12), 50.8 (C-5), 47.0 (C-4), 37.5 (C-10), 34.7 (C-1), 33.9 (C-2), 27.7 (C-19), 26.4 (C-15), 25.5 (C-7), 21.4 (C-17), 21.3 (C-16), 20.7 (C-18), 20.2 (C-20), 18.6 (C-6)。以上波谱数据与文献^[8,9]报道的数据一致, 故鉴定化合物 **2** 为雷藤二萜醌 H。

化合物 3 黄色无定形粉末; 分子式 $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_4$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.38 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-12), 4.06 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-19), 3.46 (1H, m, H-19), 3.00 (1H, m, H-15), 2.84 (1H, m, H-1), 2.48 (1H, ddd, $J = 15.7, 9.1, 5.6$ Hz, H-2), 2.29 (1H, ddd, $J = 20.0, 11.8, 6.6$ Hz, H-7), 2.01 (1H, dd, $J = 13.0, 2.2$ Hz, H-5), 1.85 (2H, m, H-1, H-6), 1.83 (1H, m, H-1), 1.43 (1H, m, H-6), 1.35 (3H, s, H-18), 1.28 (3H, s, H-20), 1.12 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-16), 1.10 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-17); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 221.0 (C-3), 187.6 (C-14), 187.4 (C-11), 153.4 (C-13), 147.5 (C-9), 142.5 (C-8), 131.9 (C-12), 65.6 (C-19), 51.6 (C-5), 50.2 (C-4), 37.1 (C-10), 34.4 (C-1), 34.2 (C-2), 26.4 (C-15), 25.5 (C-7), 22.6 (C-18), 21.4 (C-17), 21.3 (C-16), 21.2 (C-20), 17.8 (C-6)。以上波谱数据与文献^[10]报道的数据一致, 故鉴定化合物 **3** 为 triptoquinone B。

化合物 4 无色油状物; 分子式 $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_2$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.87 (1H, s, H-11), 6.63 (1H, s, H-14), 3.13 (1H, m, H-15), 1.27 (3H, s, H-

18), 1.25 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-17), 1.23 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-16), 1.16 (3H, s, H-19), 1.13 (3H, s, H-20); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 217.9 (C-3), 151.1 (C-12), 145.6 (C-9), 132.3 (C-13), 126.8 (C-8), 126.6 (C-14), 111.8 (C-11), 50.5 (C-5), 47.4 (C-4), 37.5 (C-1), 37.0 (C-10), 34.6 (C-2), 30.1 (C-7), 26.9 (C-18), 26.8 (C-15), 24.6 (C-20), 22.7 (C-17), 22.5 (C-16), 21.0 (C-19), 20.4 (C-6)。以上波谱数据与文献^[11,12]报道的数据一致, 故鉴定化合物 **4** 为 hinokione。

化合物 5 无色油状物; 分子式 $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_2$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.04 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-12), 6.85 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-11), 4.75 (1H, s, 14-OH), 3.13 (1H, m, H-15), 2.92 (1H, m, H-7), 2.61 (1H, m, H-7), 2.56 (1H, m, H-2), 2.48 (1H, m, H-2), 1.93 (1H, m, H-6), 1.91 (1H, m, H-1), 1.88 (1H, m, H-1), 1.80 (1H, m, H-6), 1.33 (3H, s, H-18), 1.25 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-17), 1.23 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-16), 1.17 (3H, s, H-19), 1.14 (3H, s, H-20); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 217.3 (C-3), 150.1 (C-14), 146.4 (C-9), 130.4 (C-13), 123.6 (C-12), 120.8 (C-8), 117.3 (C-11), 50.0 (C-5), 47.4 (C-4), 37.6 (C-1), 37.1 (C-10), 34.8 (C-2), 26.9 (C-15), 26.6 (C-19), 24.7 (C-7), 24.4 (C-18), 22.8 (C-17), 22.5 (C-16), 21.2 (C-20), 19.5 (C-6)。以上波谱数据与文献^[10]报道的数据一致, 故鉴定化合物 **5** 为雷酚萜。

化合物 6 白色粉末; 分子式 $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_4$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.30 (1H, s, H-12), 4.40 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-19), 3.67 (3H, s, H-21), 3.44 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-19), 3.24 (1H, m, H-15), 3.08 (1H, m, H-7), 3.08 (1H, m, H-1), 2.77 (1H, ddd, $J = 15.1, 11.2, 6.7$ Hz, H-2), 2.55 (1H, m, H-7), 2.39 (1H, m, H-2), 2.22 (1H, dd, $J = 12.9, 12.0$ Hz, H-5), 2.04 (1H, m, H-1), 1.85 (1H, m, H-6), 1.46 (1H, m, H-6), 1.42 (3H, s, H-18),

1.29(3H, s, H-20), 1.18(3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-16), 1.17(3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-17); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 223.8 (C-3), 150.5 (C-11), 148.4 (C-14), 139.7 (C-13), 130.7 (C-9), 130.6 (C-8), 111.8 (C-12), 66.1 (C-19), 60.8 (C-21), 52.6 (C-5), 49.9 (C-4), 37.6 (C-10), 35.4 (C-1), 34.6 (C-2), 26.5 (C-7), 26.1 (C-15), 23.8 (C-17), 23.8 (C-16), 22.8 (C-18), 21.1 (C-20), 19.1 (C-6)。以上波谱数据与文献报道的数据一致^[13], 故鉴定化合物 **6** 为 triptonediol。

化合物 7 黄色无定形粉末; 分子式 $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_3$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.04 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-12), 6.85 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-11), 4.08 (1H, d, $J = 11.3$ Hz, H-19), 3.54 (1H, d, $J = 11.3$ Hz, H-19), 3.11 (1H, m, H-15), 2.92 (1H, dd, $J = 16.7, 4.8$ Hz, H-7), 2.70 (1H, ddd, $J = 16.1, 9.1, 4.5$ Hz, H-2), 2.62 (1H, dd, $J = 16.8, 8.1$ Hz, H-2), 2.48 (1H, ddd, $J = 13.0, 8.2, 4.5$ Hz, H-1), 2.10 (1H, dd, $J = 13.1, 2.2$ Hz, H-5), 2.02 (1H, m, H-1), 1.97 (1H, m, H-7), 1.70 (1H, m, H-6), 1.35 (3H, s, H-18), 1.28 (3H, s, H-20), 1.25 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-16), 1.24 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-17); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 220.4 (C-3), 150.0 (C-14), 145.6 (C-9), 130.4 (C-13), 123.7 (C-12), 120.7 (C-8), 117.7 (C-11), 65.7 (C-19), 51.0 (C-4), 50.7 (C-5), 37.3 (C-1), 36.8 (C-10), 35.0 (C-2), 26.9 (C-15), 25.5 (C-20), 24.8 (C-7), 22.7 (C-17), 22.5 (C-16), 22.1 (C-18), 19.0 (C-6)。以上波谱数据与文献^[10]报道的数据一致^[14], 故鉴定化合物 **7** 为 triptobenzene A。

化合物 8 淡黄色无定形粉末; 分子式 $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_4$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.36 (1H, s, H-11), 4.73 (1H, s, 14-OH), 4.07 (1H, d, $J = 11.3$ Hz, H-19), 3.77 (3H, s, H-21), 3.49 (1H, s, H-19), 3.45 (1H, m, H-15), 2.99 (1H, s, 19-OH), 2.80 (1H, dd, $J = 15.3, 6.4$ Hz, H-7), 2.71 (1H, ddd, $J = 16.0, 9.3, 4.6$ Hz, H-2), 2.60 (1H, dt, $J = 16.1, 8.1$ Hz, H-2), 2.50 (1H, m, H-7), 2.44 (1H, ddd, $J = 13.1, 8.5, 4.8$ Hz, H-1), 2.11 (1H, dd, $J = 13.0, 2.2$ Hz, H-5), 2.06 (1H, m, H-1), 1.96 (1H, m, H-6), 1.68 (1H, m, H-6), 1.35 (3H, s, H-18), 1.32 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-16), 1.31 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-17), 1.29 (3H, s, H-20); ^{13}C NMR (150 MHz,

CDCl_3) δ : 220.4 (C-3), 156.8 (C-12), 151.5 (C-14), 145.2 (C-9), 119.2 (C-13), 113.8 (C-8), 100.8 (C-11), 65.6 (C-19), 55.7 (C-21), 50.9 (C-4), 50.8 (C-5), 37.2 (C-1), 37.0 (C-10), 34.9 (C-2), 25.4 (C-20), 24.3 (C-7), 24.3 (C-15), 22.2 (C-18), 20.9 (C-16), 20.8 (C-17), 19.1 (C-6)。以上波谱数据与文献^[15]报道的数据一致, 故鉴定化合物 **8** 为 wilforol F。

化合物 9 白色无定形粉末; 分子式 $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_2$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.03 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-12), 6.84 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-11), 3.15 (1H, m, H-15), 2.85 (1H, dd, $J = 16.5, 6.5$ Hz, H-7), 1.25 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-16), 1.22 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-17), 1.20 (3H, s, H-20), 1.07 (3H, s, H-18), 0.90 (3H, s, H-19); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 150.2 (C-14), 148.3 (C-9), 130.2 (C-13), 123.4 (C-12), 120.6 (C-8), 116.5 (C-11), 78.7 (C-3), 49.2 (C-5), 38.9 (C-4), 37.3 (C-10), 37.1 (C-1), 28.2 (C-19), 28.0 (C-2), 26.8 (C-15), 24.9 (C-20), 24.7 (C-7), 22.8 (C-17), 22.5 (C-16), 18.2 (C-6), 15.4 (C-18)。以上波谱数据与文献^[14]报道的数据一致, 故鉴定化合物 **9** 为 triptobenzene B。

化合物 10 白色粉末; 分子式 $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.17 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-11), 7.00 (1H, m, H-12), 6.90 (1H, s, H-14), 3.30 (1H, m, H-3), 2.95 (1H, m, H-15), 2.79-2.89 (2H, m, H-15/H-7), 1.23 (3H, d, $J = 7.3$ Hz, H-17), 1.21 (3H, d, $J = 7.3$ Hz, H-16), 1.19 (3H, s, H-19), 1.07 (3H, s, H-18), 0.89 (3H, s, H-20); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 146.8 (C-9), 145.7 (C-13), 134.7 (C-8), 126.8 (C-14), 124.4 (C-11), 123.9 (C-12), 78.8 (C-3), 49.8 (C-5), 39.0 (C-4), 37.3 (C-10), 36.9 (C-1), 33.4 (C-15), 30.7 (C-7), 28.2 (C-18), 28.0 (C-2), 24.9 (C-20), 24.0 (C-17), 24.0 (C-16), 18.9 (C-6), 15.4 (C-19)。以上波谱数据与文献^[16]报道的数据一致, 故鉴定化合物 **10** 为 abietatrien-3 β -ol。

化合物 11 黄色油状物; 分子式 $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_3$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.54 (1H, s, H-12), 3.66 (3H, s, H-21), 3.29 (1H, s, H-15), 3.24 (1H, m, H-7), 3.20 (1H, m, H-1), 2.96 (1H, m, H-6), 2.70 (1H, m, H-2), 2.49 (1H, m, H-7), 2.46 (1H, m, H-2), 2.28 (1H, m, H-6), 1.89 (3H, s, H-18), 1.84 (1H, m, H-1), 1.70 (3H, s, H-20), 1.18 (3H, d, $J =$

6.9 Hz, H-17), 1.16 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-16); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 200.4 (C-3), 166.1 (C-5), 151.4 (C-11), 147.7 (C-14), 139.7 (C-13), 130.9 (C-8), 129.1 (C-9), 126.7 (C-4), 112.6 (C-12), 61.1 (C-21), 40.7 (C-10), 34.2 (C-2), 32.1 (C-1), 26.7 (C-6), 26.2 (C-15), 25.4 (C-7), 23.9 (C-17), 23.6 (C-16), 22.3 (C-20), 10.8 (C-18)。以上波谱数据与文献^[17]报道的数据一致,故鉴定化合物 **11** 为 triptobenzene S。

化合物 12 黄色无定形粉末;分子式 $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_3$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.13 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-7), 6.53 (1H, s, H-12), 6.53 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-6), 3.83 (3H, s, H-20), 2.72 (1H, m, H-1), 2.64 (1H, m, H-1), 2.56 (1H, m, H-2), 2.24 (1H, m, H-2), 1.90 (3H, s, H-18), 1.39 (3H, s, H-19), 1.35 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-16), 1.35 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-17); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 197.5 (C-3), 158.9 (C-11), 156.6 (C-5), 151.1 (C-14), 145.3 (C-9), 128.7 (C-4), 126.6 (C-7), 120.1 (C-6), 119.2 (C-13), 112.8 (C-8), 100.1 (C-12), 55.6 (C-20), 39.2 (C-10), 33.9 (C-1), 33.3 (C-2), 29.9 (C-19), 24.3 (C-15), 20.9 (C-16), 20.9 (C-17), 10.5 (C-18)。以上波谱数据与文献^[7]报道的数据一致,故鉴定化合物 **12** 为 hypoglicin B。

化合物 13 黄色无定形粉末;分子式 $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_5$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 12.78 (1H, s, 14-OH), 6.85 (1H, s, H-12), 5.04 (1H, s, 11-OH), 4.07 (1H, d, $J = 11.3$ Hz, H-19), 3.53 (1H, d, $J = 11.3$ Hz, H-19), 3.32 (1H, m, H-15), 3.32 (1H, m, H-1), 3.12 (1H, s, 19-OH), 2.76 (1H, m, H-2), 2.73 (1H, m, H-6), 2.65 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-5), 2.64 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-6), 2.54 (1H, ddd, $J = 15.6, 8.7, 6.7$ Hz, H-2), 2.07 (1H, ddd, $J = 14.1, 9.7, 6.7$ Hz, H-1), 1.42 (3H, s, H-20), 1.35 (3H, s, H-18), 1.20 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-16), 1.29 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-17); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 219.4 (C-3), 204.4 (C-7), 155.2 (C-14), 144.7 (C-11), 136.6 (C-13), 133.0 (C-9), 123.8 (C-12), 114.8 (C-8), 65.6 (C-19), 50.2 (C-4), 49.3 (C-5), 38.2 (C-10), 35.5 (C-6), 35.1 (C-1), 34.8 (C-2), 26.0 (C-15), 22.6 (C-18), 22.3 (C-17), 22.1 (C-16), 18.3 (C-20)。以上波谱数据与文献^[18]报道的数据一致,故鉴定化合物 **13** 为 triregelin H。

化合物 14 黄色油状物;分子式 $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_3$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.08 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-12), 6.96 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-11), 4.89 (1H, d, $J = 3.4$ Hz, 14-OH), 4.84 (1H, m, H-19), 4.77 (1H, m, H-19), 3.12 (1H, m, H-15), 2.92 (1H, dd, $J = 17.3, 7.3$ Hz, H-7), 2.82 (1H, m, H-7), 2.51 (2H, m, H-2), 2.00 (2H, m, H-6), 1.70 (2H, m, H-1), 1.28 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-16), 1.26 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-17), 1.03 (3H, s, H-20); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 174.4 (C-18), 163.0 (C-4), 150.8 (C-14), 143.8 (C-8), 131.0 (C-9), 125.1 (C-13), 123.4 (C-12), 120.6 (C-3), 116.3 (C-11), 70.6 (C-19), 40.8 (C-15), 36.2 (C-10), 32.6 (C-1), 26.9 (C-5), 22.8 (C-17), 22.6 (C-6), 22.54 (C-16), 22.46 (C-20), 19.7 (C-2), 18.2 (C-7)。以上波谱数据与文献^[19,20]报道的数据一致,故鉴定化合物 **14** 为雷酚内酯。

化合物 15 黄色油状物;分子式 $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_4$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.48 (1H, s, H-12), 4.80 (2H, m, H-19), 3.69 (3H, s, H-21), 3.08 (1H, m, H-15), 2.40 (2H, m, H-2), 1.82 (2H, m, H-1), 1.18 (6H, d, $J = 6.9$ Hz, H-16/H-17), 1.16 (3H, s, H-20); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 174.6 (C-18), 163.4 (C-4), 150.8 (C-14), 149.1 (C-11), 139.9 (C-13), 130.8 (C-9), 129.2 (C-8), 125.2 (C-3), 111.9 (C-12), 70.7 (C-19), 60.7 (C-21), 44.0 (C-15), 37.2 (C-10), 31.0 (C-1), 26.0 (C-5), 25.5 (C-2), 23.8 (C-17), 23.8 (C-16), 19.5 (C-6), 18.6 (C-7), 17.3 (C-20)。以上波谱数据与文献^[19]报道的数据一致,故鉴定化合物 **15** 为雷酚新内酯。

化合物 16 无色油状物;分子式 $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{O}_3$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 4.40 (1H, dd, $J = 11.1, 2.7$ Hz, H-20), 4.14 (1H, s, H-19), 3.35 (1H, d, $J = 12.4$ Hz, H-20), 3.32 (3H, s, H-21), 2.24 (1H, m, H-2), 2.17 (1H, m, H-5), 1.87 (1H, m, H-1), 1.82 (1H, m, H-6), 1.73 (1H, m, H-13), 1.66 (1H, m, H-14), 1.37 (3H, s, H-17), 0.86 (3H, s, H-18); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 105.9 (C-19), 79.4 (C-16), 62.5 (C-20), 57.6 (C-15), 55.0 (C-21), 52.5 (C-9), 49.2 (C-5), 48.2 (C-13), 44.9 (C-8), 40.6 (C-1), 40.4 (C-7), 40.35 (C-3), 39.0 (C-10), 38.5 (C-14), 36.7 (C-4), 26.8 (C-12), 24.5 (C-17), 23.3 (C-18), 22.4 (C-2), 22.1 (C-6), 18.0 (C-11)。以上

波谱数据与文献^[21]报道的数据一致,故鉴定化合物 **16** 为 16 α -hydroxy-19,20-epoxy-19R^{*}-methoxy-kaurane。

化合物 17 无色油状物;分子式 C₂₂H₃₆O₃。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 5.21 (1H, s, H-20), 3.97 (1H, m, H-21), 3.62 (1H, dd, $J = 11.3, 2.7$ Hz, H-19), 3.49 (1H, dd, $J = 11.3, 1.7$ Hz, H-19), 3.40 (1H, m, H-21), 2.52 (1H, m, H-1), 2.36 (1H, m, H-2), 1.99 (1H, m, H-11), 1.82 (1H, s, H-13), 1.38 (3H, s, H-17), 1.22 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, H-22), 1.07 (1H, m, H-5), 0.68 (3H, s, H-18); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 101.7 (C-20), 79.5 (C-16), 71.7 (C-19), 64.1 (C-21), 58.0 (C-15), 54.2 (C-9), 52.1 (C-5), 49.0 (C-13), 44.9 (C-8), 41.7 (C-10), 41.2 (C-3), 40.6 (C-7), 38.7 (C-14), 35.7 (C-1), 33.3 (C-4), 25.6 (C-12), 24.4 (C-17), 23.3 (C-18), 22.4 (C-2), 19.8 (C-6), 18.6 (C-11), 15.1 (C-22)。以上波谱数据与文献^[22]报道的数据一致,故鉴定化合物 **17** 为 16 α -hydroxy-19,20-epoxy-20R^{*}-ethoxy-kaurane。

化合物 18 白色粉末;分子式 C₂₂H₃₆O₃。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 4.43 (1H, dd, $J = 11.0, 2.8$ Hz, H-20), 4.25 (1H, s, H-19), 3.71 (1H, m, H-21), 3.36 (1H, m, H-21), 3.32 (1H, d, $J = 10.7$ Hz, H-20), 2.24 (1H, m, H-2), 2.16 (1H, m, H-1), 1.94 (1H, m, H-6), 1.81 (1H, m, H-13), 1.37 (3H, s, H-17), 1.20 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, H-22), 0.85 (3H, s, H-18); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 104.2 (C-19), 79.5 (C-16), 62.7 (C-21), 62.6 (C-20), 57.6 (C-15), 52.5 (C-9), 49.2 (C-5), 48.3 (C-13), 45.0 (C-8), 40.7 (C-1), 40.4 (C-3), 40.40 (C-7), 39.0 (C-10), 38.4 (C-14), 36.6 (C-4), 26.8 (C-12), 24.4 (C-17), 23.4 (C-18), 22.5 (C-2), 22.0 (C-6), 18.1 (C-11), 15.4 (C-22)。以上波谱数据与文献^[22]报道的数据一致,故鉴定化合物 **18** 为 16 α -hydroxy-19,20-epoxy-19R^{*}-ethoxy-kaurane。

化合物 19 无色油状物;分子式 C₂₀H₃₂O₂。¹H

NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 10.41 (1H, s, H-20), 2.61 (1H, d, $J = 12.7$ Hz, H-1), 1.34 (3H, s, H-17), 0.92 (3H, s, H-18), 0.76 (3H, s, H-19), 0.58 (1H, t, $J = 13.0$ Hz, H-1); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 208.0 (C-20), 79.6 (C-16), 58.5 (C-9), 56.0 (C-15), 55.5 (C-5), 54.1 (C-10), 48.7 (C-13), 45.0 (C-8), 41.6 (C-3), 41.0 (C-14), 40.1 (C-7), 34.7 (C-1), 33.6 (C-4), 31.9 (C-18), 24.4 (C-12), 24.0 (C-17), 20.7 (C-19), 19.7 (C-6), 19.1 (C-2), 17.6 (C-11)。以上波谱数据与文献^[23]报道的数据一致,故鉴定化合物 **19** 为 fischericin D。

化合物 20 白色无定形粉末;分子式 C₂₀H₃₂O。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 5.71 (1H, dd, $J = 17.4, 10.4$ Hz, H-15), 5.13 (1H, s, H-14), 4.95 (1H, dd, $J = 10.4, 2.0$ Hz, H-16), 4.90 (1H, dd, $J = 17.3, 2.0$ Hz, H-16), 3.83 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-19), 3.43 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-19), 2.32 (1H, ddd, $J = 14.3, 4.6, 2.1$ Hz, H-7), 0.99 (6H, s, H-17/H-18), 0.70 (3H, s, H-20); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 147.3 (C-15), 138.1 (C-8), 128.0 (C-14), 112.8 (C-16), 65.2 (C-19), 55.7 (C-5), 51.4 (C-9), 39.1 (C-1), 38.6 (C-13), 38.5 (C-10), 38.3 (C-4), 36.1 (C-7), 35.7 (C-12), 35.3 (C-3), 29.4 (C-17), 27.0 (C-18), 22.4 (C-6), 19.2 (C-11), 18.6 (C-2), 15.8 (C-20)。以上波谱数据与文献^[24]报道的数据一致,故鉴定化合物 **20** 为 ent-pimara-8 (14), 15-diene-19-ol。

2.2 抗炎活性评价

采用 LPS 诱导小鼠单核巨噬细胞的体外炎症模型,以 L-NMMA 作为阳性对照,对从雷公藤中分离得到的 20 个单体化合物进行体外抗炎活性研究,结果表明化合物 **2**、**3** 和 **20** 对 LPS 诱导 NO 的产生有显著的抑制作用,IC₅₀ 分别为 2.01、1.70 和 1.77 $\mu\text{mol/L}$,活性远强于 L-NMMA (IC₅₀ = 24.89 $\mu\text{mol/L}$,表 2),其他化合物 IC₅₀ 值大于 50,没有显示出明显的抗炎活性。

表 2 化合物 **2**、**3** 和 **20** 的体外抗炎活性

Table 2 Anti-inflammatory activities of compounds **2**, **3** and **20**

化合物 Compound	半数细胞毒性浓度 CC ₅₀ ($\mu\text{mol/L}$)	半数抑制浓度 IC ₅₀ ($\mu\text{mol/L}$)
2	24.19	2.01
3	28.31	1.70
20	>50	1.77
L-NMMA	-	24.89

2.3 抗肿瘤活性评价

采用 MTT 法评价了化合物 **1** ~ **20** 对 HeLa 细胞增殖的影响,结果表明只有化合物 **11** 具微弱的抗肿瘤活性,IC₅₀ 值为 18.41 μmol/L,其他化合物没有明显的活性(IC₅₀ >40 μmol/L)。

3 讨论与结论

本实验从雷公藤茎的乙醇提取物的乙酸乙酯萃取相中分离鉴定了 20 个二萜类化合物,骨架类型包括二萜醌类、松香烷型、海松烷型和对映贝壳杉烷型,其中 **1** 为新的二萜醌类化合物,化合物 **10**、**19** 和 **20** 为首次从雷公藤中分离得到,在以往的研究基础上,进一步丰富了雷公藤化学成分的研究内容。我们并没有分离得到具有三元环氧结构的松香烷型二萜内酯,可能是因为这类化合物主要分布在根部,其在茎中含量较低缘故。对化合物 **1** ~ **20** 进行了体外抗炎活性和抗肿瘤活性筛选,化合物 **2**、**3** 和 **20** 具有显著的抗炎活性。**2** 为 C 环具有对醌结构的松香烷型二萜,C 环的对醌结构可能是松香烷型二萜抗炎的关键活性基团。前人的研究表明具有三元环氧结构的松香烷型二萜内酯(雷公藤甲素及其衍生物)是雷公藤中二萜类成分抗炎的主要活性成分,而本研究表明,除雷公藤甲素及其衍生物外,具有 C 环对醌结构的松香烷型二萜可能也是雷公藤二萜类抗炎的活性成分之一^[25]。本研究的发现为我们对雷公藤抗炎物质基础的认识提供了新线索,也为以松香烷型二萜作为抗炎先导化合物的结构改造提供了思路。此外,所有的化合物均没有显示显著的抗肿瘤活性,与文献报道一致,具有三元环氧结构的松香烷型二萜内酯可能才是雷公藤抗肿瘤的关键活性成分^[4]。

参考文献

- Liu L, Yan J, Shu JC, et al. Advance on alkaloids from *Tripterygium wilfordii* and their bioactivities [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2019, 31: 2170-2181.
- Chen WQ, Chen AH, Li W, et al. Research progress in chemical constituents and pharmacologic actions of ethyl acetate extract of *Tripterygium* [J]. Drug Eval Res (药物评价研究), 2018, 41: 1154-1159.
- Zhou J, Xu Y, Zang YS. Research Progress in anti-inflammatory and anti-immune effects of *Tripterygium wilfordii* [J]. Med Recapit (医学综述), 2019, 25: 4855-4859.
- Wang C, Li CJ, Ma J, et al. Bioactive 18(4→3)-abeo-abietanoid derivatives from the leaves of *Tripterygium wilfordii* [J]. RSC Adv, 2015, 5: 30046.
- Cao GY, Yang XW, Xu W, et al. New inhibitors of nitric oxide production from the seeds of *Myristica fragrans* [J]. Food Chem Toxicol, 2013, 62: 167-171.
- Lin BQ, Meng YQ. Synthesis of 2-acetoxyimino asiatic acid derivatives and their antitumor activity [J]. Chin J New Drug (中国新药杂志), 2020, 29: 2221-2228.
- Chen XL, Liu F, Xiao XR, et al. Anti-inflammatory abietanes diterpenoids isolated from *Tripterygium hypoglaucum* [J]. Phytochemistry, 2018, 156: 167-175.
- Fujita R, Duan H, Takaishi Y. Terpenoids from *Tripterygium hypoglaucum* [J]. Phytochemistry, 2000, 53: 715-722.
- Zhang YW, Fan YS, Wang XD, et al. Diterpenoids possessed immunosuppressive activity from *Tripterygium hypoglaucum* [J]. Chin Tradit Herb Drug (中草药), 2007, 38: 493-496.
- Li J. Chemical components of *Tripterygium hypoglaucum* (Lévl.) Hutchins. from Guizhou Province [D]. Guizhou: Guizhou University, 2019.
- Pioveti L, Gonzalez E, Diara A. Diterpene composition of *Cupressus dupreziana* and *Cupressus sempervirens* [J]. Phytochemistry, 1980, 19: 2772-2773.
- Feliciano AS, Medarde M, Lopez JL, et al. Terpenoids from leaves of *Juniperus thurifera* [J]. Phytochemistry, 1988, 27: 2241-2248.
- Duan HQ, Takaishi Y, Momota H, et al. Immunosuppressive diterpenoids from *Tripterygium wilfordii* [J]. J Nat Prod, 1999, 62: 1522-1525.
- Takaishi Y, Wariishi N, Tateishi H, et al. Phenolic diterpenes from *Tripterygium wilfordii* var. *regelii* [J]. Phytochemistry, 1997, 45: 979-984.
- Morota T, Qin WZ, Takagi K, et al. Diterpenoids from *Tripterygium wilfordii* [J]. Phytochemistry, 1995, 40: 865-870.
- Urones JG, Marcos IS, Ferreras JF, et al. Terpenoids from *Nepeta tuberosa* subsp. *reticulata* (II) [J]. Phytochemistry, 1988, 27: 523-526.
- Li JY, Peng Y, Li LZ, et al. Two new abietane diterpenoids from the roots of *Tripterygium wilfordii* Hook. f. [J]. Helv Chim Acta, 2013, 96: 313-319.
- Fan DS, Zhou SY, Zheng ZY, et al. New abietane and kaurane type diterpenoids from the stems of *Tripterygium regelii* [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18: 147.
- Deng FX, Zhou BN, Song GQ, et al. Studies on the chemical constituents of *Tripterygium wilfordii* Hook. f. III. The isolation and structure of two new diterpenoid-lactones, triptophenolide methyl ether and neotriptophenolide [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 1982, 17: 146-150.
- Chen YZ, Huang XY, Wu QJ, et al. The crystal structure of

- triptophenolide revisited[J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1992, 27:867-870.
- 21 Gao C, Wang D, Zhang Y, et al. Kaurane and abietane diterpenoids from the roots of *Tripterygium wilfordii* and their cytotoxic evaluation [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26: 2942-2946.
- 22 Duan HQ, Takaishi Y, Momota H, et al. Immunosuppressive terpenoids from extracts of *Tripterygium wilfordii* [J]. *Tetrahedron*, 2001, 57:8413-8424.
- 23 Goby FR, Chen JJ, Zeng J, et al. Isolation, structure elucidation, and immunosuppressive activity of diterpenoids from *Ligularia fischeri* [J]. *J Nat Prod*, 2017, 80:2263-2268.
- 24 Jung HA, Lee EJ, Kim JS, et al. Cholinesterase and BACE1 inhibitory diterpenoids from *Aralia cordata* [J]. *Arch Pharm Res*, 2009, 32:1399-1408.
- 25 Chen WF, Wong LL, Zhang X, et al. New 4,5-seco-20(10→5)-abeo-abietane diterpenoids with anti-inflammatory activity from *Isodon lophanthoides* var. *graciliflorus* (Benth.) H. Hara [J]. *Chem Biodivers*, 2019, 16:e1900206.

小檗碱通过抑制 CSN5 的脱泛素活性,减少肿瘤细胞 PD-L1 的表达,促进抗肿瘤免疫

小檗碱通过抑制非小细胞肺癌中 COP9 信号转导体 5 (CSN5) 的脱泛素活性,减少细胞程序性死亡配体 1 (PD-L1) 的表达,促进抗肿瘤免疫。该项成果由中国医学科学院北京协和医学院生物技术研究所刘洋团队完成,发表在《Acta Pharmaceutica Sinica B》杂志上。

程序性细胞死亡-1 (PD-1)/PD-L1 阻断疗法已成为癌症免疫疗法的一个主要支柱。与抗体靶向相比,目前迫切需要具有良好药代动力学的小分子检查点抑制剂。刘洋等人从一组中药化学单体中发现了小檗碱 (BBR),一种被证实的抗炎药物,作为 PD-L1 的负向调节剂。BBR 通过降低癌细胞中的 PD-L1 水平,增强了肿瘤细胞对共同培养的 T 细胞的敏感性。此外,BBR 通过增强肿瘤浸润性 T 细胞免疫和减弱免疫抑制性骨髓源性抑制细胞 (MDSCs) 和调节性 T 细胞 (Tregs) 的激活,在 Lewis 肿瘤异种移植小鼠中发挥了其抗肿瘤作用。BBR 通过泛素 (Ub)/蛋白酶体依赖性途径触发了 PD-L1 的降解。值得注意的是,BBR 选择性地与 CSN5 的谷氨酸 76 结合,并通过其去泛素化活性抑制 PD-1/PD-L1 轴,导致 PD-L1 的泛素化和降解。该团队揭示了 BBR 以前未被认识的抗肿瘤机制,表明 BBR 通过促进抗肿瘤 T 细胞免疫而发挥免疫调节剂的作用,为 BBR 作为破坏 PD-L1 介导的免疫抑制的小分子抑制剂的潜在应用提供了理论依据。

胡乃华编译自:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7745128/>

原文链接:[https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211383520306249? via% 3Dihub](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211383520306249?via%3Dihub)

原文标题:Berberine diminishes cancer cell PD-L1 expression and facilitates antitumor immunity via inhibiting the deubiquitination activity of CSN5