

# 鞘花的化学成分及抗肿瘤活性研究

潘立卫, 罗泽萍\*, 韦正, 汪艳平, 潘彩燕, 王爱娟

河池学院, 宜州 546300

**摘要:**研究黄樟鞘花 *Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) Van Tiegh. 茎叶的化学成分及其抗肿瘤活性。采用硅胶、大孔树脂、聚酰胺、MCI Gel、ODS、Sephadex LH-20 柱色谱及高效制备液相色谱法对黄樟鞘花乙醇提取物进行分离纯化, 运用现代波谱技术鉴定了 14 个化合物, 分别为  $\beta$ -香树酯醇乙酸酯(1)、 $\beta$ -香树酯醇(2)、羽扇豆醇(3)、环桉树醇(4)、菜油甾醇(5)、 $\beta$ -谷甾醇(6)、槲皮素(7)、槲皮苷(8)、没食子酸(9)、芦丁(10)、鞣花酸(11)、短叶苏木酚(12)、鞣花酸-3,3'-二甲醚-4'- $O$ - $\beta$ -D-木糖苷(13)、鞣花酸-3,3'-二甲醚-4'- $O$ - $\beta$ -D-木糖苷(14), 14 个化合物均为首次从黄樟鞘花中分离得到。以 A549 肺癌细胞为研究对象, 采用 CCK-8 细胞增殖检测试剂盒测定化合物 1~14 对 A549 肺癌细胞的抑制效果。利用流式细胞仪分析化合物 14 对 A549 肺癌细胞周期分布和凋亡水平变化的影响。研究发现除化合物 1、2 和 4 外, 其余化合物对 A549 细胞均有不同程度的抑制作用 ( $IC_{50} = 9.3 \sim 42.2 \mu\text{g/mL}$ ), 以化合物 14 作用最强, 其细胞周期被阻滞在 G1 期, 细胞凋亡率显著增加。研究表明化合物 3 和化合物 5~14 可能是鞘花主要抗肿瘤活性成分, 化合物 14 能抑制 A549 肺癌细胞增殖, 其机制可能是通过阻滞细胞周期从而诱导细胞凋亡。

**关键词:**鞘花; 化学成分; 黄樟; 抗癌

中图分类号: R932

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2022)8-1338-07

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2022.8.009

## Study on the chemical constituents and anticancer effects of *Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) Van Tiegh.

PAN Li-wei, LUO Ze-ping\*, WEI Zheng, WANG Yan-ping, PAN Cai-yan, WANG Ai-juan

Hechi University, Yizhou 546300, China

**Abstract:** To study the chemical constituents and antitumor activities in the stems and leaves of *Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) Van Tiegh. Silica gel, macroporous resin, polyamide, MCI Gel, ODS, Sephadex LH-20 column chromatography and preparative high performance liquid chromatography were used to separate and purify ethanol extract from *M. cochinchinensis*, and modern spectroscopic techniques were used to identify 14 compounds, namely  $\beta$ -amyirin acetate (1),  $\beta$ -amyirin (2), lupeol (3), cycloeucaleanol (4), campesterol (5),  $\beta$ -sitosterol (6), quercetin (7), quercitrin (8), gallic acid (9), rutin (10), ellagic acid (11), brevifolin (12), ellagic acid-4'- $O$ - $\beta$ -D-xylopyranoside-3,3'-dimethylether (13) and ellagic acid-4'- $O$ - $\beta$ -D-xylopyranoside-3,3'-dimethylether (14). All 14 compounds were isolated from *M. cochinchinensis* for the first time. Taking A549 lung cancer cells as the research object, the inhibitory effect of compounds 1-14 on A549 lung cancer cells was determined by CCK-8 cell proliferation test kit. The effects of compound 14 on cell cycle distribution and apoptosis level change of A549 lung cancer cells were analyzed by flow cytometry. It was found that all compounds except compounds 1, 2 and 4 had different inhibitory effects on A549 cells ( $IC_{50} = 9.3 \sim 42.2 \mu\text{g/mL}$ ), and compound 14 had the strongest effect, and its cell cycle was blocked in G1 phase, and the apoptosis rate increased significantly. Compound 3 and compounds 5-14 may be the main antitumor active components of *M. cochinchinensis*. Compound 14 can inhibit the proliferation of A549 lung cancer cells, and its mechanism may be to induce apoptosis by blocking cell cycle.

**Key words:** *Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) Van Tiegh.; chemical constituents; *Cinnamomum porrectum* (Roxb.) Kosterm.; anticancer

鞘花 *Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) Van Tiegh. 广泛分布于我国西南地区,曾被作为传统桑寄生用药,具有补肝肾,除风湿,强筋骨,通经络,益血,安胎等功效。临床上用于治疗腰膝酸痛、风寒湿痹、筋骨痿弱、崩漏经多、脚气、妊娠漏血、产后乳汁不下、胎动不安、偏枯、头晕目眩等<sup>[1,2]</sup>。鞘花主要寄生于板栗、樟树、杉木、枫香树等植被枝干上<sup>[3]</sup>,其因寄主的不同,会有不同的药用功效。课题组前期研究发现黄樟鞘花水煎液抗肿瘤活性显著,此外,鞘花多种溶剂的萃取物在体外对 A549 细胞有抑制增殖的作用,而关于鞘花的化学成分和抗肿瘤作用研究得较少,特别是寄主为黄樟的鞘花的化学成分及抗肿瘤作用,笔者未见国内外文献报道。为进一步研究黄樟鞘花的药用物质基础,本文对广西产黄樟鞘花的化学成分进行了系统分离。最后对分离获得的单体化合物的抗肿瘤活性进行初步评价,以进一步明确黄樟鞘花抑制肿瘤细胞增殖的化学物质基础及其可能机制,为黄樟鞘花的深度加工利用和新型天然抗肿瘤功能性食品的开发提供一定的理论参考,对充分挖掘黄樟鞘花的食用及保健价值具有积极意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

METTLER-ME104E 电子分析天平(瑞士 METTLER 公司);MS Finnigan Trace DSQ 四极杆质谱仪;NMR 瑞士 Bruker Drx-500 MHz;瑞士 Bruker AV-400 MHz;1260 高效制备液相色谱仪(美国安捷伦公司);1260-6130 液质联用色谱仪(美国安捷伦公司);RE-52C 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);SHB-III 循环水式真空泵(郑州长城科工贸有限公司)。BD C6 plus 流式细胞仪(美国 BD 公司);xMark 酶标仪(美国伯乐 BIO-RAD 公司);Forma3111 CO<sub>2</sub> 恒温培养箱(美国 Thermo);CKX53 倒置显微镜(日本奥林巴斯);BSC-1600IIA2 生物安全柜(苏州安泰)。AB-8 大孔吸附树脂(南开大学树脂厂);RP-C<sub>18</sub> 反相硅胶(加拿大 Silicycle 公司);Sephadex LH-20(美国 Pharmacia 公司);MCI(三菱化学 MCI GEL CHP20P 聚苯乙烯型反相树脂填料,粒径 75~150 μm,孔径:0.03 μm);色谱甲醇(美国天地)。其余试剂均为分析纯,由国药控股集团化学试剂有限公司提供。鞘花寄生药材采摘于广西河池市,经河池学院覃勇荣教授鉴定为桑寄生科鞘花寄生属植物 *Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) Van

Tiegh. 茎叶。人肺癌细胞株 A549(河池学院化学与生物工程学院细胞室保存);CCK-8 细胞增殖检测试剂盒(汉恒生物科技(上海)有限公司);DMEM 培养基和胎牛血清(美国 Gibco 公司);细胞周期检测试剂盒和 Annexin V-FITC/PI 双染细胞凋亡试剂盒(南京建成生物工程研究所);P53、Bax、Bcl-2 ELISA 试剂盒(上海优选生物科技有限公司);5-氟尿嘧啶(5-FU,上海士锋生物科技有限公司);二甲基亚砜(DMSO,上海国药集团化学试剂有限公司)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 提取与分离

鞘花寄生药材粗粉 50.0 kg,用乙醇回流提取,回收溶剂得乙醇总提取物,总提取物用水溶解后,再用石油醚,乙酸乙酯,正丁醇依次萃取并回收溶剂,分别得到石油醚部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位浸膏 1 450、860、2 650 g。用硅胶柱色谱分离石油醚部位浸膏 103 g,用石油醚-乙酸乙酯 = 100:1→1:1 梯度洗脱,得到 11 个流分经石油醚-乙酸乙酯反复硅胶柱色谱分离,得化合物 **1**(5 mg)、**2**(90 mg)、**3**(415 mg)、**4**(560 mg)、**5**(725 mg)、**6**(1 450 mg)。取乙酸乙酯部位浸膏 107 g 用硅胶柱色谱分离,氯仿-甲醇(100:0→0:100)梯度洗脱,得 12 个流分经硅胶、聚酰胺、MCI、ODS、Sephadex LH-20 及高效制备液相色谱分离,制备液相条件为色谱柱(ZORBAX Eclipse XDB, 21.2 mm × 150 mm, 5 μm);λ = 268 nm;进样量:100 μL;流速:5 mL/min;流动相:甲醇/水(5%→100%);梯度洗脱 45 min,得到化合物 **7**(270 mg)、**8**(325 mg)、**9**(55 mg)、**10**(215 mg)。用 AB-8 孔吸附树脂柱色谱分离正丁醇部位浸膏 2 600 g,用水-乙醇作为洗脱剂梯度洗脱。聚酰胺、MCI Gel、DS、Sephadex LH-20 柱色谱及高效制备液相色谱法进行分离纯化,制备条件为色谱柱(ZORBAX Eclipse XDB, 21.2 mm × 150 mm, 5 μm);λ = 254 nm;进样量:200 μL;流速:5 mL/min;流动相:甲醇/水(5%→55%);梯度洗脱 50 min,得到化合物 **11**(625 mg)、**12**(560 mg)、**13**(130 mg)、**14**(3 120 mg)。

#### 1.2.2 细胞培养

A549 细胞株培养于含 10% 胎牛血清和 1% 双抗(100 U/mL 青霉素、100 mg/L 链霉素)的 DMEM 培养液中,37 °C,5% CO<sub>2</sub> 培养箱中传代培养。用 0.25% 胰蛋白酶胰酶消化贴壁细胞进行传代,取对数生长期细胞进行试验。

### 1.2.3 细胞活力检测

取对数生长期 A549 细胞,用 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液调整细胞数为  $5 \times 10^5$  个/mL,接种于 96 孔细胞培养板,每孔 0.2 mL,待细胞贴壁 70% ~ 80% 时,吸弃旧培养液,分别加入含不同浓度化合物 **1** ~ **14** (1.5、3.0、6.0、12.0、24.0、48.0、96.0、192  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 的培养液 0.2 mL,每组设 3 个重复,即每个剂量组设 3 个平行孔取平均值。培养 24 h 后,每孔加入 10  $\mu\text{L}$  CCK-8 溶液,继续培养 4 h,用酶标仪测定在 450 nm 处的吸光度。按照以下公式计算各组细胞增殖抑制率:细胞增殖抑制率 =  $(1 - A_{\text{实验组}} / A_{\text{对照组}}) \times 100\%$ ,用 SPSS18.0 软件计算半数抑制浓度 ( $\text{IC}_{50}$ )。

### 1.2.4 细胞凋亡率检测

取对数生长期 A549 细胞,以  $2 \times 10^5$  个/孔的密度接种于 6 孔细胞培养板中。待细胞贴壁 70% ~ 80% 时,吸弃旧培养液,分别加入含不同浓度化合物 (10、20、30、40、50、60、70、80  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ) 的培养液 2 mL,每组设 5 个重复。处理 24 h 以后,吸弃旧培养液,用 0.25% 胰蛋白酶消化收集细胞,冷 PBS (磷酸盐缓冲液, pH7.4) 洗涤细胞 3 次,并调整细胞数至  $1 \times 10^6$  个/mL。根据试剂盒说明书操作流式细胞仪测定细胞凋亡率。

### 1.2.5 Bcl-2、Bax、p53 蛋白表达水平检测

细胞培养、分组与化合物处理同“1.2.4”项。随后 1 000 r/min, 4  $^{\circ}\text{C}$  离心 5 min 收集细胞,小心吸除上清,每个 EP 管加入 100  $\mu\text{L}$  细胞裂解液,重悬沉淀,冰浴裂解 30 min。4  $^{\circ}\text{C}$ , 12 000 r/min 离心 15 min。将上清转移到冰浴预冷的 EP 管中。按试剂盒说明书测定 Bcl-2、Bax、p53 蛋白表达水平。

### 1.2.6 数据分析

采用 SPSS18.0 软件对数据进行分析,数据用“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,组间两两比较采用  $t$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 化合物结构鉴定

**化合物 1** 白色粉晶 ( $\text{CHCl}_3$ ); ESI-MS:  $m/z$  491  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{O}_2$ ;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.17 (1H, t,  $J = 3.4$  Hz, H-12), 4.49 (1H, dd,  $J = 9.0, 7.0$  Hz, H-3), 2.06 (3H, s,  $\text{COCH}_3$ ), 1.15 (3H, s, H-27), 1.08 (3H, s, H-26), 1.03 (3H, s, H-25), 0.97 (3H, s, H-30), 0.97 (3H, s, H-24), 0.96 (3H, s, H-29), 0.83 (3H, s, H-23), 0.79

(3H, s, H-28);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 38.3 (C-1), 26.9 (C-2), 80.9 (C-3), 37.7 (C-4), 55.2 (C-5), 18.2 (C-6), 32.6 (C-7), 39.8 (C-8), 47.6 (C-9), 36.8 (C-10), 23.5 (C-11), 121.6 (C-12), 145.2 (C-13), 41.7 (C-14), 28.4 (C-15), 26.1 (C-16), 32.6 (C-17), 47.5 (C-18), 46.8 (C-19), 31.1 (C-20), 34.7 (C-21), 37.2 (C-22), 28.4 (C-23), 16.8 (C-24), 15.7 (C-25), 16.7 (C-26), 26.1 (C-27), 27.3 (C-28), 33.3 (C-29), 23.6 (C-30), 170.9 (C-31), 21.3 (C-32)。以上数据与文献<sup>[4]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 **1** 为  $\beta$ -香树脂醇乙酸酯。

**化合物 2** 白色粉末状结晶 ( $\text{CHCl}_3$ ); EI-MS:  $m/z$  426  $[\text{M}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.18 (1H, d,  $J = 4.8$  Hz, H-12), 3.21 (1H, m, H-3), 1.20、1.10、0.99、0.96、0.93、0.86、0.82、0.78 (3H, s,  $\text{CH}_3 \times 8$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 38.5 (C-1), 26.9 (C-2), 79.0 (C-3), 38.9 (C-4), 55.1 (C-5), 18.3 (C-6), 32.7 (C-7), 39.8 (C-8), 47.6 (C-9), 36.9 (C-10), 23.5 (C-11), 121.7 (C-12), 145.2 (C-13), 41.7 (C-14), 26.1 (C-15), 26.9 (C-16), 32.5 (C-17), 47.2 (C-18), 46.8 (C-19), 31.1 (C-20), 34.7 (C-21), 37.2 (C-22), 28.0 (C-23), 15.5 (C-24), 15.6 (C-25), 16.8 (C-26), 26.0 (C-27), 28.4 (C-28), 33.3 (C-29), 23.7 (C-30)。以上数据与文献<sup>[5]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 **2** 为  $\beta$ -香树脂醇。

**化合物 3** 白色粉末 ( $\text{CHCl}_3$ ); EI-MS:  $m/z$  426  $[\text{M}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 4.68 (1H, s, H-29), 4.56 (1H, s, H-29), 3.21 (1H, dd,  $J = 11.6, 5.1$  Hz, H-3), 1.67 (3H, s, H-30), 1.02 (3H, s, H-26), 0.97 (3H, s, H-23), 0.96 (3H, s, H-27), 0.82 (3H, s, H-25), 0.78 (3H, s, H-28), 0.78 (3H, s, H-24);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 38.7 (C-1), 28.0 (C-2), 79.0 (C-3), 39.0 (C-4), 55.3 (C-5), 18.3 (C-6), 34.2 (C-7), 40.8 (C-8), 50.4 (C-9), 37.1 (C-10), 20.8 (C-11), 25.1 (C-12), 38.0 (C-13), 43.0 (C-14), 27.4 (C-15), 35.5 (C-16), 43.0 (C-17), 48.3 (C-18), 48.0 (C-19), 150.6 (C-20), 29.8 (C-21), 40.0 (C-22), 28.5 (C-23), 15.3 (C-24), 16.1 (C-25), 16.2 (C-26), 14.6 (C-27), 18.0 (C-28), 109.3 (C-29), 19.8 (C-30)。以上数据与文献<sup>[6]</sup>报道基本一致,鉴定化合物 **3** 为羽扇豆醇。

**化合物 4** 白色固体( $\text{CHCl}_3$ ); EI-MS:  $m/z$  426, 分子式为  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.21 (1H, m, H-3), 1.72 (1H, m, Ha-2), 1.62 (1H, m, Hb-2), 1.56 (1H, m, Ha-1), 1.56 (1H, m, H-8), 1.56 (1H, m, Ha-11), 1.56 (1H, m, Ha12), 1.55 (1H, m, Ha-15), 1.31 (1H, m, Hb-1), 1.31 (1H, m, Hb-11), 1.31 (1H, m, Hb-12), 1.30 (1H, m, Hb-15), 1.25 (1H, m, H-5), 1.25 (18H, m, H-18、20、26、27、29、30);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 31.3 (C-1), 32.8 (C-2), 76.6 (C-3), 43.3 (C-4), 44.5 (C-5), 24.7 (C-6), 27.3 (C-7), 46.9 (C-8), 21.9 (C-9), 29.5 (C-10), 27.2 (C-11), 35.3 (C-12), 45.3 (C-13), 48.9 (C-14), 32.8 (C-15), 25.2 (C-16), 52.2 (C-17), 17.8 (C-18), 29.5 (C-19), 19.1 (C-20), 36.1 (C-21), 35.0 (C-22), 30.8 (C-23), 156.9 (C-24), 34.8 (C-25), 23.5 (C-26), 22.0 (C-27), 105.9 (C-28), 18.3 (C-29), 14.4 (C-30)。以上数据与文献<sup>[7]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 4 为环桉树醇。

**化合物 5** 白色针状结晶( $\text{CHCl}_3$ ); EI-MS:  $m/z$  400  $[\text{M}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{28}\text{H}_{48}\text{O}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.35 (1H, d,  $J = 5.2$  Hz, H-6), 3.52 (1H, m, H-3 $\alpha$ ), 1.01 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz, H-28), 0.85 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz, H-27), 0.82 (3H, d,  $J = 1.3$  Hz, H-25), 0.81 (3H, d,  $J = 6.9$  Hz, H-21), 0.68 (3H, s, H-18);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 37.3 (C-1), 28.3 (C-2), 71.8 (C-3), 42.3 (C-4), 140.8 (C-5), 121.7 (C-6), 31.6 (C-7), 29.2 (C-8), 50.1 (C-9), 36.5 (C-10), 21.1 (C-11), 42.3 (C-12), 45.8 (C-13), 56.8 (C-14), 23.1 (C-15), 24.3 (C-16), 56.1 (C-17), 11.9 (C-18), 19.4 (C-19), 36.2 (C-20), 19.1 (C-21), 34.0 (C-22), 26.1 (C-23), 39.8 (C-24), 30.9 (C-25), 18.8 (C-26), 19.8 (C-27), 12.0 (C-28)。以上数据与文献<sup>[8]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 5 为菜油甾醇。

**化合物 6** 无色针状结晶( $\text{CHCl}_3$ ); ESI-MS:  $m/z$  453  $[\text{M} + \text{K}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$ ; mp. 129 ~ 130  $^{\circ}\text{C}$ ; Liebermann-Burchard 反应阳性;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.34 (1H, d,  $J = 4.6$  Hz, H-6), 3.51 (1H, m, H-3), 0.96、0.82、0.80、0.78、0.67 (5  $\times$   $\text{CH}_3$ ), 0.90 (3H, d, H-21);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 37.3 (C-1), 31.7 (C-2), 71.8 (C-3), 42.4 (C-4), 140.8 (C-5), 121.8 (C-6), 32.1 (C-7), 32.1 (C-8), 50.2 (C-9), 36.6 (C-10), 21.2 (C-11), 39.9

(C-12), 42.4 (C-13), 56.8 (C-14), 24.4 (C-15), 28.3 (C-16), 56.1 (C-17), 11.9 (C-18), 19.5 (C-19), 36.2 (C-20), 18.9 (C-21), 34.0 (C-22), 26.1 (C-23), 45.9 (C-24), 29.2 (C-25), 19.9 (C-26), 19.1 (C-27), 23.1 (C-28), 12.1 (C-29)。以上数据与文献<sup>[9]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 6 为  $\beta$ -谷甾醇。

**化合物 7** 黄色针状结晶( $\text{CH}_3\text{OH}$ ); mp. 313 ~ 314  $^{\circ}\text{C}$ ; ESI-MS:  $m/z$  303  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$ ;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 12.48 (1H, s, 5-OH), 9.39 (1H, br s, OH), 7.65 (1H, s, H-2'), 7.52 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-6'), 6.86 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-5'), 6.38 (1H, s, H-8), 6.16 (1H, s, H-6)。以上数据与文献<sup>[10]</sup>报道基本一致, 与槲皮素对照品共薄层  $R_f$  值一致, 故鉴定化合物 7 为槲皮素。

**化合物 8** 黄色粉末( $\text{CH}_3\text{OH}$ ); ESI-MS:  $m/z$  449  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.32 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-2'), 7.25 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-6'), 6.85 (1H, d,  $J = 8.3$  Hz, H-5'), 6.35 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-8), 6.19 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-6), 5.26 (1H, s, Rha-H-1), 0.85 (3H, d,  $J = 6.2$  Hz, Rha- $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 156.7 (C-2), 134.2 (C-3), 178.1 (C-4), 159.8 (C-5), 98.9 (C-6), 165.1 (C-7), 94.9 (C-8), 157.4 (C-9), 104.1 (C-10), 122.9 (C-1'), 115.5 (C-2'), 145.6 (C-3'), 148.9 (C-4'), 116.1 (C-5'), 121.1 (C-6'), 103.7 (C-1''), 72.2 (C-2''), 72.3 (C-3''), 73.4 (C-4''), 72.1 (C-5''), 17.8 (C-6'')。以上数据与文献<sup>[11]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 8 为槲皮苷。

**化合物 9** 白色针晶( $\text{CH}_3\text{OH}$ ); ESI-MS:  $m/z$  171  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ ;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 9.22 (3H, br s, OH), 7.06 (2H, s, H-2, 6);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 121.0 (C-1), 110.1 (C-2), 146.0 (C-3), 138.7 (C-4), 146.0 (C-5), 110.1 (C-6), 168.0 (C-7)。以上数据与文献<sup>[12]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 9 为没食子酸。

**化合物 10** 黄色粉末( $\text{CH}_3\text{OH}$ ); ESI-MS:  $m/z$  633  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 12.58 (1H, br s, 5-OH), 10.91 (1H, s, 7-OH), 9.75 (1H, s, 4-OH), 7.52 (2H, m, H-2', H-6'), 6.83 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz, H-5'), 6.37

(1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-8), 6.18 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-6), 5.33 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz, H-1''), 4.37 (1H, d,  $J = 1.1$  Hz, H-1'''), 3.40 (10H, m), 0.98 (3H, d,  $J = 6.2$  Hz, H-6''');  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 125 MHz)  $\delta$ : 156.6 (C-2), 133.3 (C-3), 177.3 (C-4), 161.2 (C-5), 98.7 (C-6), 164.1 (C-7), 93.6 (C-8), 156.6 (C-9), 103.9 (C-10), 121.2 (C-1'), 115.2 (C-2'), 144.7 (C-3'), 148.4 (C-4'), 116.2 (C-5'), 121.6 (C-6'), 101.2 (C-1''), 74.1 (C-2''), 76.4 (C-3''), 70.4 (C-4''), 75.9 (C-5''), 67.0 (C-6''), 100.8 (C-1'''), 70.5 (C-2'''), 70.0 (C-3'''), 71.8 (C-4'''), 68.2 (C-5'''), 17.8 (C-6'''). 以上数据与文献<sup>[13]</sup>报道一致,故鉴定化合物 **10** 为芦丁。

**化合物 11** 淡黄色针晶 (DMSO); ESI-MS:  $m/z$  303  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{14}\text{H}_6\text{O}_8$ ;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 7.45 (2H, s, H-5);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 107.7 (C-1, 1'), 139.6 (C-2, 2'), 136.4 (C-3, 3'), 148.1 (C-4, 4'), 110.3 (C-5, 5'), 112.3 (C-6, 6'), 159.1 (C-7, 7')。以上数据与文献<sup>[14]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 **11** 为鞣花酸。

**化合物 12** 黄色针晶 ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ); ESI-MS:  $m/z$  247  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , 分子式为  $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{O}_6$ ;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 7.27 (1H, s, H-7), 3.17 (2H, t,  $J = 3.8$  Hz, H-10), 2.50 (2H, t,  $J = 3.8$  Hz, H-9);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 145.0 (C-2), 140.1 (C-3), 115.5 (C-3a), 144.2 (C-4), 141.4 (C-5), 149.3 (C-6), 108.0 (C-7), 113.3 (C-7a), 160.6 (C-8), 23.9 (C-9), 33.0 (C-10), 195.6 (C-11)。以上数据与文献<sup>[14]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 **12** 为短叶苏木酚。

**化合物 13** 黄色无定形粉末 (DMSO); ESI-MS:  $m/z$  485  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{12}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 8.40 (1H, s, H-5'), 8.07 (1H, s, H-5), 5.80 (1H, d,  $J = 7.0$  Hz, H-1''), 4.39 (4H, m, H-2'', 3'', 4'', 5''a), 4.30 (3H, s, 3'-OCH<sub>3</sub>), 4.22 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>), 3.92 (1H, m, H-5''b);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ )  $\delta$ : 111.7 (C-1), 142.4 (C-2), 141.4 (C-3), 60.4 (3-OCH<sub>3</sub>), 151.9 (C-4), 112.5 (C-5), 112.3 (C-6), 158.6 (C-7), 114.5 (C-1'), 142.5 (C-2'), 141.9 (C-3'), 61.9 (3'-OCH<sub>3</sub>), 152.5 (C-4'), 112.6 (C-5'), 115.1 (C-6'), 159.2 (C-7'), 103.7 (C-1''), 74.5 (C-2''), 78.2 (C-3''), 70.7 (C-4''), 67.4 (C-5'')。以上数据与文献<sup>[14,15]</sup>报道基

本一致,故鉴定化合物 **13** 为鞣花酸-3,3'-二甲醚-4'-*O*- $\beta$ -D-木糖苷。

**化合物 14** 黄色无定形粉末 (DMSO); ESI-MS:  $m/z$  485  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{12}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 10.8 (1H, s, OH), 7.74 (1H, s, H-5'), 7.52 (1H, s, H-5), 5.49 (1H, d,  $J = 3.8$  Hz, H-1''), 5.18 (1H, d,  $J = 5$  Hz, H-2''), 5.14 (1H, d,  $J = 10$  Hz, H-3''), 5.11 (1H, d,  $J = 5$  Hz, H-4''), 4.06 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 4.03 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3.80 ~ 3.20 (2H, m, H-5'');  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 114.2 (C-1), 141.6 (C-2), 141.9 (C-3), 151.2 (C-4), 12.8 (C-5), 111.8 (C-6), 158.4 (C-7), 111.1 (C-1'), 141.0 (C-2'), 140.6 (C-3'), 152.9 (C-4'), 111.9 (C-5'), 111.6 (C-6'), 158.4 (C-7'), 101.8 (C-1''), 76.2 (C-2''), 73.1 (C-3''), 69.3 (C-4''), 65.8 (C-5''), 61.7 (3-OCH<sub>3</sub>), 61.0 (3'-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[16]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 **14** 为鞣花酸-3,3'-二甲醚-4'-*O*- $\beta$ -D-木糖苷。

## 2.2 化合物 1~14 对 A549 细胞的抑制活性

以 5-氟尿嘧啶 (5-FU) 作为阳性对照测定化合物 **1~14** 对 A549 细胞的抑制活性,由表 1 可见,除了化合物 **1**、**2** 和 **4** 外,其余化合物对 A549 细胞均有不同程度的抑制作用,其中以化合物 **14** 作用最强。其促进 A549 细胞凋亡的作用及机制值得进一步深入研究。

表 1 化合物 **1~14** 对 A549 细胞的抑制活性 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 1 Inhibitory activity of compounds **1-14** on A549 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

化合物 Compound	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
<b>1</b>	> 100
<b>2</b>	> 100
<b>3</b>	37.4 $\pm$ 13.8
<b>4</b>	> 100
<b>5</b>	40.6 $\pm$ 0.3
<b>6</b>	42.2 $\pm$ 3.7
<b>7</b>	39.9 $\pm$ 7.3
<b>8</b>	29.6 $\pm$ 4.1
<b>9</b>	21.8 $\pm$ 4.9
<b>10</b>	37.9 $\pm$ 1.8
<b>11</b>	21.9 $\pm$ 2.5
<b>12</b>	19.6 $\pm$ 2.5
<b>13</b>	12.9 $\pm$ 0.4
<b>14</b>	9.3 $\pm$ 0.4
5-FU	5.6 $\pm$ 0.4

### 2.3 化合物 14 对 A549 细胞凋亡的影响

随着化合物 14 处理浓度的升高, 处理组细胞凋亡率逐渐升高。结果表明化合物 14 对 A549 细胞的凋亡具有诱导效应, 并呈现一定的剂量依赖性 (见图 1)。

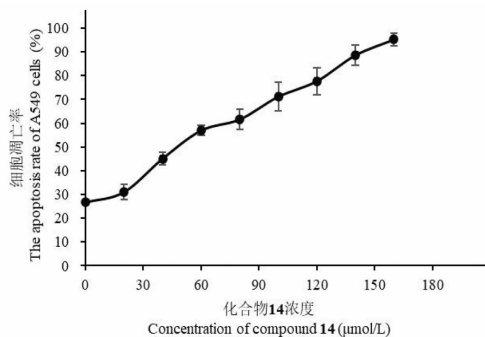


图 1 化合物 14 对 A549 细胞凋亡的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Fig. 1 Effect of compound 14 on apoptosis of A549 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

### 2.4 化合物 14 对 A549 细胞凋亡相关基因表达的影响

用化合物 14 处理 A549 细胞 24 h 后, 随着化合物 14 浓度的增加, Bcl-2 蛋白表达量降低, 而 Bax 和 p53 蛋白表达量逐渐增高。上述结果表明化合物 14 可能通过抑制肺癌 A549 细胞 Bcl-2 蛋白表达, 并增强 Bax 和 p53 蛋白表达, 进而诱导细胞凋亡 (见图 2~4)。

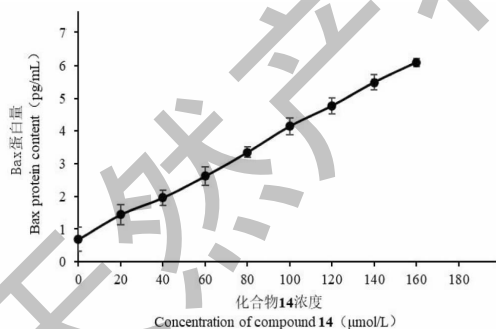


图 2 化合物 14 对 A549 细胞 Bax 蛋白影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Fig. 2 Effect of compound 14 on Bax protein in A549 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

### 3 结论

鞣花植物中共分离得到 14 个化合物, 主要为鞣类、甾醇、黄酮、酚酸、鞣花酸等类型化合物, 均为首次从该植物中分离得到。经体外细胞毒活性测定后, 发现除了化合物 1、2 和 4 外, 其余化合物对

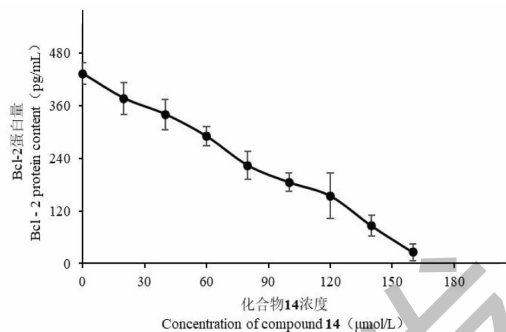


图 3 化合物 14 对 A549 细胞 Bcl-2 蛋白影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Fig. 3 Effect of compound 14 on Bcl-2 protein in A549 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

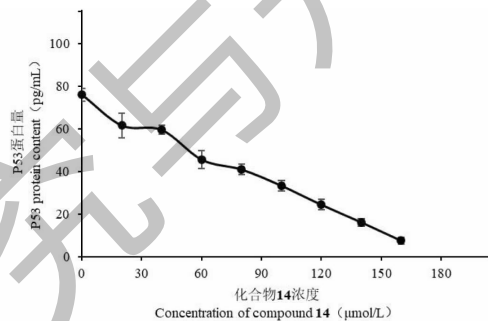


图 4 化合物 14 对 A549 细胞 p53 蛋白影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Fig. 4 Effects of compound 14 on p53 protein of A549 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

A549 细胞均有不同程度的抑制作用, 其中以化合物 14 作用最强。对化合物 14 诱导非小细胞肺癌 A549 细胞凋亡的作用研究发现, 其能抑制 A549 肺癌细胞增殖, 其机制可能是通过阻滞细胞周期从而诱导细胞凋亡。

### 参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I (中华人民共和国药典: 第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020:312.
- 2 Zhao QY, Yu Q, Zhang H. Pharmacognostic identification on crude drug of *Macrosolen cochinchinensis* [J]. Chin J Ethnomed Ethnopharm (中国民族民间医药杂志), 1998, 5: 1-3.
- 3 Zhou JG. Molecular structure analysis of complete chloroplast genomes of *Taxillus* and *Macrosolen* species from the family Loranthaceae [D]. Beijing: Peking Union Medical College (北京协和医学院), 2018.

- 4 Guo LJ, Tan XQ, Zheng W, et al. Chemical constituents of *Ficus tikoua* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2011, 42:1709-1711.
- 5 Wei JH, Chen J, Cai SF, et al. Chemical constituents in whole herb of *Cardiospermum halicacabum* (I) [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2011, 42:1509-1511.
- 6 Bai LM, Wang J, Fu ML, et al. Chemical constituents from *Inula helenium* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2018, 49:2512-2518.
- 7 Wu GH, Chen Y, Zhen LH, et al. Chemical constituents of *Eucommia ulmoides* in Guizhou Province [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2015, 38:980-984.
- 8 Wang XY, Wang WW, Zhou YH, et al. Study on chemical constituents of *Rosa chinensis* Jacq. flower [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2012, 47:500-503.
- 9 Liu Y, Ma XX, Chen HB, et al. Chemical constituents of *Hedysarum gmelinii* [J]. J Chin Pharm Sci (中国药学:英文版), 2005, 14:75-78.
- 10 Zhang ZH, Zuo YM, Xu L, et al. Studies on chemical components of flavonoids in aerial part of *Saururus chinensis* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2011, 42:1490-1493.
- 11 Lu ZY, Cai X, Liu JX, et al. Chemical constituents from *Sabina chinensis* (Linn.) Ant. cv. Kaizuca [J]. J Yunnan Agr Univ (云南农业大学学报:自科), 2017, 32:371-375.
- 12 Yan HJ, Zhao W, Geng YL, et al. Chemical constituents from the flower petals of *Paeonia suffruticosa* Andr. [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2015, 27:2056-2059.
- 13 Cheng YX, Zhou J, Tan NH. The Chemical constituents of *Parakmeria yunnanensis* [J]. Acta Bot Yunnan (云南植物研究), 2001, 23:352-356.
- 14 Shi XH, Du XL, Kong LY. Study on chemical constituents in roots of *Euphorbia soongarica* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2006, 31:1503-1506.
- 15 Yu MH, Hou AJ. Anti-HBV constituents from *Euphorbia officinalis* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2010, 35:3002-3006.
- 16 Zhou GX, Yang YC, Shi JG, et al. Study on chemical constituents from *Semiliquidambar cathayensis* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2002, 33:589-591.

## 魏茨曼科学研究所开发噬菌体疗法精准抑制肠道致病菌

以色列魏茨曼科学研究所开发了一种利用感染致病菌的病毒精确靶向和抑制与炎症性肠病相关的肠道细菌的潜在疗法。研究成果发表于2022年8月4日的《细胞》期刊。

研究人员将来自法国、德国、以色列和美国四个不同国家的健康志愿者与两种主要炎症性肠病患者的肠道微生物组成进行了比较,通过详细的计算分析确定了在人类肠道炎症中起作用的细菌菌株。随后,研究人员筛选了数千个噬菌体,选取约40个对已确定细菌菌株最具活性的噬菌体。但仅仅应用噬菌体是不够的,因为细菌会不断地对噬菌体产生耐受性,例如细菌可利用CRISPR系统识别和摧毁噬菌体DNA。研究人员在深入了解细菌与噬菌体竞争的分子机制的基础上,探寻到能够阻止细菌反击的理想噬菌体组合。根据噬菌体的基因图谱、电子显微镜揭示的结构特征以及对肺炎克雷伯菌(包括耐药菌株)活性对多个组合进行筛选后,最终确定5种噬菌体组成混合物,其不仅具有有效性和稳定性,还具有好的耐受性。重要的是,随着时间的推移,噬菌体在人的肠道内持续存在和繁殖,而不会对其他肠道微生物造成影响或脱靶。

如果噬菌体混合体在大规模临床试验中被证明安全有效,那么该成果很可能有助于开发针对炎症性肠病,以及肥胖、糖尿病、神经退行性疾病等其他与肠道微生物组相关的疾病的新颖疗法。

丁陈君编译自:[https://www.cell.com/cell/pdf/S0092-8674\(22\)00850-9.pdf](https://www.cell.com/cell/pdf/S0092-8674(22)00850-9.pdf)

原文标题: Targeted suppression of human IBD-associated gut microbiota commensals by phage consortia for treatment of intestinal inflammation