

白术化学成分分离鉴定

邹辉, 杨郴, 易美玲, 吴富旋, 盛习锋, 冯星*
(湖南师范大学 医学院, 长沙 410013)

[摘要] **目的:**对白术乙酸乙酯提取物的化学成分进行研究。**方法:**采用多种现代色谱技术进行分离纯化,通过理化性质及光谱方法鉴定化合物的结构。噻唑蓝(MTT)法对所得化合物进行细胞毒活性测试。**结果:**从白术的乙酸乙酯提取物中分离得到16个化合物,分别鉴定为1-乙酰氧基-6*E*,12*E*-二烯-8,10-二炔-3-醇(1),3-乙酰氧基-6*E*,12*E*-二烯-8,10-二炔-1-醇(2),6*E*,12*E*-十四碳二烯-8,10-二炔-1,3-二醇乙酸酯(3),12-异戊烯酰氧基-14-乙酰氧基-2*E*,8*Z*,10*E*-三烯-4,6-二炔-1-醇(4),12-异戊烯酰氧基-14-乙酰氧基-2*E*,8*E*,10*E*-三烯-4,6-二炔-1-醇(5),白术内酯I(6),白术内酯II(7),白术内酯III(8),双白术内酯(9),杜松脑(10),蒲公英萜醇乙酸酯(11),3β-乙酰氧基-12-齐墩果烯-11-酮(12),7-羟基香豆素(13),二十八烷酸(14),十七烷酸(15),7- α -羟基-β-谷甾醇(16)。**结论:**化合物1,2,16为首次从白术中分离得到,化合物12~15为首次从苍术属植物中分离得到,化合物6对宫颈癌HeLa细胞系具有较好抑制作用,IC₅₀为15.6 μmol·L⁻¹。

[关键词] 白术; 1-乙酰氧基-6*E*, 12*E*-二烯-8, 10-二炔-3-醇; 苍术属; 细胞毒活性; 7- α 羟基-β-谷甾醇

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)17-0043-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016170043

Chemical Constituents of *Atractylodis Macrocephalae* Rhizoma

ZOU Hui, YANG Chen, YI Mei-ling, WU Fu-xuan, SHENG Xi-feng, FENG Xing*
(Medical College, Hunan Normal University, Changsha 410013, China)

[Abstract] **Objective:** To study the chemical constituents of *Atractylodis Macrocephalae* Rhizoma. **Method:** The compounds were isolated and purified from ethyl acetate extract of *Atractylodis Macrocephalae* Rhizoma by using a combination of chromatographic techniques. Their structures were elucidated on the basis of thierphysico-chemical properties and spectroscopic data analyses. MTT method was used to assay the cytotoxicity agianst HeLa cells. **Result:** Sixteen compounds were isolated and purified from ethyl acetate extract of *Atractylodis Macrocephalae* Rhizoma and determined as 1-acetoxytetradeca-6*E*, 12*E*-dien-8, 10-diyn-3-ol (1), 3-acetoxytetradeca-6*E*, 12*E*-dien-8, 10-diyn-1-ol (2), tetradeca-6*E*, 12*E*-dien-8, 10-diyn-1, 3-diol diacetate (3), 14-acetoxy-12-seneciolyoxytetradeca-2*E*, 8*Z*, 10*E*-trien-4, 6-diyn-1-ol (4), 14-acetoxy-12-seneciolyoxytetradeca-2*E*, 8*E*, 10*E*-trien-4, 6-diyn-1-ol (5), atractylenolide I (6), atractylenolide II (7), atractylenolide III (8), biatractylenolide (9), juniper camphor (10), taraxerylacetate (11), 3β-acetoxy-12-oleanen-11-one (12), 7-hydroxy coumarin (13), octacosanic acid (14), heptadecanoic acid (15), 7- α -hydroxyl-β-sitosterol (16). **Conclusion:** Among them, compounds 1, 2, 16 were isolated from the species firstly and compounds 12-15 were isolated from the genus of *Atractylodes* for the first time. Compound 6 showed good inhibitory activity against HeLa cells with IC₅₀ values of 15.6 μmol·L⁻¹.

[Key words] *Atractylodes macrocephala*; 1-acetoxytetradeca-6*E*, 12*E*-dien-8, 10-diyn-3-ol; *Atractylodes*; cytotoxicity; 7- α -hydroxyl-β-sitosterol

[收稿日期] 20160322(015)

[基金项目] 湖南省教育厅资助科研项目(14C0709);湖南师范大学博士启动基金项目(130668);湖南省教育厅重点项目(10A071)

[第一作者] 邹辉,博士,讲师,从事天然药物研究,Tel: 0731-88912473,E-mail: zouhui308@163.com

[通讯作者] *冯星,博士,教授,从事中药药理学研究,Tel: 0731-88912473,E-mail: fengxing01@hotmail.com

白术主产于浙江、安徽、河南、湖南等地,是我国的传统药用植物,为 2015 年版《中国药典》收载品种^[1],具有健脾益气、燥湿利水、止汗、安胎的功效,白术是传统中药方剂应用最广泛的中药材之一,有“十方九术”之说。现代药理研究表明白术具有广泛的药理活性,包括抗炎^[2]、抗氧化^[3]、肝保护^[4]等,近期研究证实白术多糖对提高免疫力具有显著作用^[5-6]。此外,白术还具有较好的抗肿瘤作用,其对肺癌 PG 细胞、白血病 HL-6 细胞有较好的抑制作用^[7-9]。宫颈癌是最常见的妇科恶性肿瘤,其全球死亡率仅次于乳腺癌。天然药物是抗肿瘤药物发现的重要来源,从中药中发现治疗宫颈癌的有效成分是创制抗宫颈癌药物的有效途径,而目前关于白术抗宫颈癌的研究国内外未见报道。

白术化学成分的报道主要集中于倍半萜类化合物, Li Y 等^[10]从白术中分离得到 2 个新的桉叶烷型倍半萜类化合物;李伟等^[11]从白术中分离得到白术内酯 I 等 12 种化学成分。关于白术中聚炔类及香豆素类成分的报道较少,且现有研究中,主要采用不同的乙醇进行提取,鲜见关于白术乙酸乙酯提取物化学成分研究的报道。因此,本研究对白术乙酸乙酯提取物的化学成分进行了系统研究,期望发现抗宫颈癌的活性成分,为白术抗肿瘤药效物质基础的揭示提供依据,进而促进该植物药用价值的进一步发掘。

1 材料

AV-500 MHz 型超导核磁共振仪(德国 Bruker 公司), Finnigan LCQ-Advantage 型质谱仪, MultiskanTM GO 型酶标仪(Thermo Scientific), 3111 型 CO₂ 培养箱(Thermo);培养基和血清均购自 HyClone 公司,薄层色谱硅胶 GF₂₅₄ 和柱色谱硅胶(200~300 目)均为青岛海洋化工厂生产, LH-20 型羟丙基葡聚糖凝胶(Sephadex, 日本 Toyopearl Tosoh 公司), LC-8A 型高效液相色谱仪(日本岛津), Sinochrom ODS-BP 色谱柱(50 mm × 10 mm, 10 μm, 依利特),其他试剂均为分析纯或色谱纯。宫颈癌 HeLa 细胞株购自中国典型培养物保藏中心。

白术药材购自长沙吉祥中药材商行,经湖南师范大学医学院盛习锋副教授鉴定为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* 的根茎,标本(No. 20130519)保存于湖南师范大学医学院药理学系。

2 提取分离

取白术药材 10 kg,用粉碎机粉碎过 20~30 目

筛,用 3 倍量乙酸乙酯浸渍 3 次,每次 7 d,合并提取液减压浓缩回收乙酸乙酯得浸膏 185 g。浸膏提取物拌样进行硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯(30:1, 20:1, 10:1, 10:1.5, 10:2, 10:4)梯度洗脱,所有流分经 TLC 分析后合并得 8 个流分 Fr. A~Fr. H。Fr. A 经正相硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱, TLC 检测后合并后得到 5 个流分(Fr. A1~Fr. A5)。Fr. A3 经硅胶柱色谱和重结晶得到化合物 **11**(120 mg), Fr. A4 经 Sephadex LH-20 柱(甲醇等度洗脱)和制备 HPLC[乙腈-水(45:55)],分离得到化合物 **13**(6.5 mg), Fr. A5 经硅胶柱和制备薄层色谱得到化合物 **12**(12.5 mg)。Fr. B 经硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯,梯度洗脱,分离得到化合物 **7**(200.0 mg)和 **14**(35.0 mg)。Fr. C 经硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯系统(20:1)洗脱,得到 10 个流分 Fr. C1~Fr. C10, Fr. C2~Fr. C4 析出固体,经重结晶后得到化合物 **15**(200.0 mg), Fr. C8~Fr. C9 析出固体,经重结晶后得到化合物 **10**(110.0 mg)。Fr. D 经硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯(30:1~5:1)洗脱梯度洗脱, TLC 合并后得到 5 个流分(Fr. D1~Fr. D5), Fr. D3(10:1)析出晶体,经乙酸乙酯重结晶后得到化合物 **9**(120.0 mg)。Fr. E 析出晶体,经硅胶柱, Sephadex LH-20 柱[三氯甲烷-甲醇(1:1)]及重结晶方法得到化合物 **6**(1.5 g)。Fr. F 经反复硅胶柱和重结晶方法得到化合物 **8**(3.5 g), **16**(9.5 mg)。Fr. G 经硅胶柱,以石油醚-乙酸乙酯洗脱梯度,得到 60 个流分(Fr. G1~Fr. G60), Fr. G3~Fr. G5 经制备 HPLC[乙腈-水(55:45)],得到化合物 **3**(13.0 mg), **4**(18.5 mg), **5**(16.7 mg)。Fr. G8~Fr. G12 经制备 HPLC[乙腈-水(50:50)],得到化合物 **1**(8.0 mg), **2**(9.0 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1** 淡黄色油状物,易溶于三氯甲烷, ESI-MS m/z 283.1 [M + Na]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 6.38 (1H, dq, $J = 16.0, 6.0$ Hz, H-13), 6.31 (1H, dt, $J = 16.0, 6.5$ Hz, H-6), 5.70 (2H, m, H-7, 12), 4.36 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H-1), 3.75 (1H, m, H-3), 2.18~2.42 (2H, m, H-5), 2.11 (3H, s, 1'-CH₃), 1.93 (2H, m, H-2), 1.82 (3H, dd, $J = 7.0, 1.5$ Hz, 14-CH₃), 1.63 (2H, m, H-4)。¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ: 60.8 (C-1), 36.2 (C-2), 68.9 (C-3), 36.1 (C-4), 29.7 (C-5), 145.3 (C-6), 108.3 (C-7), 80.0 (C-8), 73.1 (C-9), 73.5 (C-10), 80.1 (C-11), 110.2

(C-12), 144.0 (C-13), 19.9 (C-14), 171.6 (1'), 20.8 (2')。结合¹H-¹HCOSY, HSQC 及 HMBC 谱对该化合物的碳氢信号进行归属, 以上波谱数据与文献[12]报道基本一致, 故确定化合物 **1** 为 1-乙酰氧基-6*E*, 12*E*-二烯-8, 10-二炔-3-醇。

化合物 **2** 淡黄色油状物, 易溶于三氯甲烷, ESI-MS *m/z* 283.1 [M + Na]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 6.35 (1H, dq, *J* = 16.0, 7.0 Hz, H-13), 6.27 (1H, dt, *J* = 16.0, 7.0 Hz, H-6), 5.67 (2H, m, H-7, 12), 5.20 (1H, m, H-3), 3.65 (2H, t, *J* = 6.5 Hz, H-1), 2.15 ~ 2.30 (2H, m, H-5), 2.11 (3H, s, 1'-CH₃), 1.93 (2H, m, H-2), 1.81 (3H, dd, *J* = 7.5, 2.0 Hz, 14-CH₃), 1.70 (2H, m, H-4)。¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ: 60.5 (C-1), 37.9 (C-2), 70.4 (C-3), 33.4 (C-4), 29.6 (C-5), 145.3 (C-6), 109.0 (C-7), 80.2 (C-8), 72.6 (C-9), 73.0 (C-10), 80.7 (C-11), 108.9 (C-12), 144.1 (C-13), 19.1 (C-14), 172.1 (1'), 20.9 (2')。以上波谱数据与文献[12]报道基本一致, 故确定化合物 **2** 为 3-乙酰氧基-6*E*, 12*E*-二烯-8, 10-二炔-1-醇。

化合物 **3** 淡黄色油状物, 易溶于三氯甲烷, ESI-MS *m/z* 325.1 [M + Na]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 6.47 (1H, dq, *J* = 16.5, 7.0 Hz, H-13), 6.32 (1H, dt, *J* = 16.0, 7.0 Hz, H-6), 5.71 (1H, d, *J* = 15.5 Hz, H-7), 5.60 (1H, d, *J* = 15.5 Hz, H-12), 5.00 (1H, m, H-3), 4.23 (1H, t, *J* = 6.0 Hz, H-1), 2.20 (2H, m, H-5), 2.10 (3H, s, 1'-CH₃), 1.97 (2H, m, H-2), 1.82 (3H, dd, *J* = 7.0, 2.0 Hz, 14-CH₃), 1.71 (2H, m, H-4)。¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ: 60.2 (C-1), 33.4 (C-2), 70.4 (C-3), 33.3 (C-4), 28.7 (C-5), 145.4 (C-6), 108.9 (C-7), 80.2 (C-8), 70.4 (C-9), 74.5 (C-10), 80.4 (C-11), 111.4 (C-12), 144.1 (C-13), 18.9 (C-14), 171.0 (1'), 20.9 (2'), 172.1 (1''), 22.3 (2'')。以上波谱数据与文献[12]报道基本一致, 故确定化合物 **3** 为 6*E*, 12*E*-十四碳二烯-8, 10-二炔-1, 3-二醇乙酸酯。

化合物 **4** 淡黄色油状物, 易溶于三氯甲烷, ESI-MS *m/z* 379.1 [M + Na]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 6.75 (1H, dd, *J* = 16.0, 11.0 Hz, H-10), 6.49 (1H, dd, *J* = 11.0, 10.5 Hz, H-9), 6.42 (1H, dt, *J* = 16.0, 5.0 Hz, H-2), 5.83 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-3), 5.80 (1H, dt, *J* = 15.5, 6.5

Hz, H-11), 5.53 (1H, d, *J* = 10.5 Hz, H-8), 5.49 (1H, m, H-12), 4.28 (1H, dd, *J* = 5.0, 1.5 Hz, H-1), 4.10 (2H, t, *J* = 6.5 Hz, H-14), 2.00 (2H, m, H-13), 2.17 (3H, s, H-4'), 2.08 (3H, s, H-3''), 1.90 (3H, s, H-5')。¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ: 63.6 (C-1), 145.7 (C-2), 108.9 (C-3), 81.0 (C-4), 75.2 (C-5), 78.8 (C-6), 80.7 (C-7), 110.9 (C-8), 142.5 (C-9), 129.0 (C-10), 136.0 (C-11), 69.8 (C-12), 33.4 (C-13), 60.5 (C-14), 165.5 (1'), 115.6 (2'), 158.0 (3'), 20.3 (4'), 27.5 (5'), 171.0 (1''), 20.9 (2'')。以上波谱数据与文献[13]报道基本一致, 故确定化合物 **4** 为 12-异戊烯酰氧基-14-乙酰氧-2*E*, 8*Z*, 10*E*-三烯-4, 6-二炔-1 醇。

化合物 **5** 淡黄色油状物, 易溶于三氯甲烷, ESI-MS *m/z* 379.1 [M + Na]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 6.70 (1H, dd, *J* = 16.0, 11.0 Hz, H-9), 6.42 (1H, dt, *J* = 16.0, 5.0 Hz, H-2), 6.31 (1H, dd, *J* = 15.5, 11.0 Hz, H-10), 5.86 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-3), 5.76 (1H, dt, *J* = 16.0, 7.0 Hz, H-11), 5.69 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-8), 5.43 (1H, m, H-12), 4.28 (1H, dd, *J* = 5.5, 1.5 Hz, H-1), 4.11 (2H, t, *J* = 6.5 Hz, H-14), 2.05 (2H, m, H-13), 2.17 (3H, s, H-4'), 2.09 (3H, s, H-3''), 1.90 (3H, s, H-5')。¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ: 63.6 (C-1), 145.6 (C-2), 109.0 (C-3), 80.8 (C-4), 80.2 (C-5), 75.3 (C-6), 70.2 (C-7), 111.9 (C-8), 143.5 (C-9), 131.0 (C-10), 134.6 (C-11), 70.3 (C-12), 33.3 (C-13), 60.3 (C-14), 165.6 (1'), 115.6 (2'), 158.0 (3'), 20.7 (4'), 27.5 (5'), 171.0 (1''), 20.9 (2'')。以上波谱数据与文献[13]报道基本一致, 故确定化合物 **5** 为 12-异戊烯酰氧基-14-乙酰氧-2*E*, 8*E*, 10*E*-三烯-4, 6-二炔-1 醇。

化合物 **6** 白色方晶, 易溶于三氯甲烷、乙酸乙酯。ESI-MS *m/z* 233.1 [M + H]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 4.85 (1H, br s, H-15), 4.81 (1H, s, H-8), 4.58 (1H, br s, H-15), 2.70 (1H, dd, *J* = 13.5, 3.0 Hz, H-6α), 2.33 (1H, m, H-3β), 2.30 (1H, m, H-6β), 2.27 (1H, m, H-9β), 2.02 (1H, t, *J* = 3.0 Hz, H-3α), 1.83 (1H, m, H-5), 1.80 (3H, s, 13-CH₃), 1.62 ~ 1.60 (2H, m, H-2), 1.56 (1H, d, *J* = 12.5 Hz, H-9), 1.31 (1H, m, H-1β), 1.13 (1H, t, *J* = 12 Hz, H-1α), 0.87

(3H, s, 14-CH₃)。¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ: 40.8 (C-1), 22.3 (C-2), 36.3 (C-3), 148.4 (C-4), 49.9 (C-5), 25.7 (C-6), 162.5 (C-7), 77.9 (C-8), 47.5 (C-9), 36.9 (C-10), 120.1 (C-11), 174.7 (C-12), 8.19 (C-13), 16.4 (C-14), 106.8 (C-15)。以上波谱数据与文献[14]报道基本一致,故确定化合物**6**为白术内酯I。

化合物**7** 白色针晶,易溶于三氯甲烷、乙酸乙酯。ESI-MS *m/z* 231.1 [M + H]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 5.58 (1H, s, H-9), 4.89 (1H, s, H-15), 4.61 (1H, s, H-15), 2.69 (1H, dd, *J* = 17.0, 3.5 Hz, H-6α), 2.52 (1H, t, *J* = 13.5 Hz, H-6β), 2.35 (1H, m, H-3β), 2.33 (1H, m, H-3α), 2.02 (1H, m, H-5), 1.88 (3H, s, 13-CH₃), 1.58 ~ 1.71 (4H, m, H-1, H-2), 0.92 (3H, s, 14-CH₃)。¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ: 39.0 (C-1), 22.6 (C-2), 36.1 (C-3), 148.2 (C-4), 48.3 (C-5), 23.0 (C-6), 148.0 (C-7), 120.3 (C-8), 147.9 (C-9), 38.0 (C-10), 119.0 (C-11), 171.2 (C-12), 8.3 (C-13), 18.4 (C-14), 107.3 (C-15)。以上波谱数据与文献[14]报道基本一致,故确定化合物**7**为白术内酯II。

化合物**8** 白色针晶,易溶于三氯甲烷、乙酸乙酯。ESI-MS *m/z* 249.1 [M + H]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 4.85 (1H, d, *J* = 1.0 Hz, H-15α), 4.58 (1H, s, *J* = 1.0 Hz, H-15β), 2.61 (1H, dd, *J* = 13.0, 3.5 Hz, H-6α), 2.43 (1H, td, *J* = 13.0, 1.5 Hz, H-6β), 2.35 (1H, m, H-3β), 2.28 (1H, d, *J* = 14.0 Hz, H-9β), 1.92 ~ 1.99 (1H, m, H-2β), 1.84 (1H, m, H-5), 1.80 (3H, s, 13-CH₃), 1.64 ~ 1.55 (3H, m, H-1β, 2α, 2β), 1.53 (1H, d, *J* = 14.0 Hz, H-9α), 1.22 (1H, m, H-1α), 1.02 (3H, s, 14-CH₃)。¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ: 41.2 (C-1), 22.2 (C-2), 36.0 (C-3), 148.6 (C-4), 51.6 (C-5), 24.6 (C-6), 161.3 (C-7), 104.0 (C-8), 51.0 (C-9), 36.6 (C-10), 121.8 (C-11), 172.9 (C-12), 8.1 (C-13), 16.5 (C-14), 106.7 (C-15)。以上波谱数据与文献[15]报道基本一致,故确定化合物**8**为白术内酯III。

化合物**9** 白色颗粒状晶体,易溶于三氯甲烷,微溶于乙酸乙酯。ESI-MS *m/z* 463.2 [M + H]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 4.86 (1H, s, H-15β), 4.64 (1H, s, H-15α), 2.82 (1H, d, *J* = 14.5 Hz, H-9β), 2.76 (1H, d, *J* = 13.0 Hz, H-

6β), 2.64 (1H, dd, *J* = 13.5, 3.0 Hz, H-6α), 2.35 (1H, d, *J* = 13.0 Hz, H-3β), 1.94 (1H, m, H-3α), 1.74 (3H, s, 13-CH₃), 1.72 (1H, m, H-5), 1.64 ~ 1.58 (3H, m, H-1β, 2α, 2β), 1.41 (1H, d, *J* = 14.5 Hz, H-9α), 1.23 (1H, m, H-1α), 1.12 (3H, s, 14-CH₃)。¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ: 42.2 (C-1), 22.4 (C-2), 36.0 (C-3), 148.0 (C-4), 53.0 (C-5), 28.0 (C-6), 164.6 (C-7), 89.4 (C-8), 49.8 (C-9), 37.0 (C-10), 124.5 (C-11), 172.0 (C-12), 8.4 (C-13), 17.2 (C-14), 107.4 (C-15)。该以上波谱数据与文献[16]报道基本一致,故确定化合物**9**为双白术内酯。

化合物**10** 白色针晶,易溶于乙酸乙酯,硫酸-甲醇薄层加热显紫色。将该化合物的¹H-NMR和¹³C-NMR数据与文献[17]对照,确定化合物**10**为杜松脑。

化合物**11** 白色针晶,易溶于三氯甲烷。将该化合物的¹H-NMR和¹³C-NMR数据与文献[16]对照,确定化合物**11**为蒲公英萜醇乙酸酯。

化合物**12** 白色固体,易溶于三氯甲烷。¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 5.50 (1H, s, H-12), 4.51 (H, dd, *J* = 11.5, 5.5 Hz, H-3α), 2.33 (1H, s, H-9), 2.04 (3H, s, H-COCH₃), 1.28 (3H, s), 1.09 (6H, s), 0.96 (3H, s), 0.91 (3H, s), 0.89 (6H, s), 0.87 (3H, s), 0.85 (3H, s)。¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ: 38.5 (C-1), 23.7 (C-2), 80.9 (C-3), 37.8 (C-4), 55.3 (C-5), 18.2 (C-6), 32.5 (C-7), 45.1 (C-8), 61.0 (C-9), 37.7 (C-10), 199.3 (C-11), 128.0 (C-12), 170.3 (C-13), 43.0 (C-14), 26.3 (C-15), 26.5 (C-16), 32.5 (C-17), 47.8 (C-18), 45.2 (C-19), 31.0 (C-20), 34.7 (C-21), 37.1 (C-22), 28.7 (C-23), 16.5 (C-24), 16.6 (C-25), 18.9 (C-26), 23.5 (C-27), 28.7 (C-28), 33.3 (C-29), 23.2 (C-30), 171.0 (CH₃COO), 20.2 (CH₃)。以上波谱数据与文献[18]报道基本一致,故确定化合物**12**为3β-乙酰氧基-12-齐墩果烯-11酮。

化合物**13** 黄色晶体,易溶于甲醇。¹H-NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ: 7.82 (1H, d, *J* = 9.5 Hz, H-4), 7.52 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-5), 6.85 (1H, dd, *J* = 8.5, 2.0 Hz), 6.80 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.19 (1H, d, *J* = 9.5 Hz, H-3)。¹³C-NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ: 164.1 (C-2), 114.8 (C-3), 146.1 (C-4), 130.8 (C-5), 112.5 (C-6), 157.3 (C-

7), 104.0 (C-8), 163.7 (C-9), 113.6 (C-10)。以上波谱数据与文献[19]报道基本一致,故确定化合物 **13** 为 7-羟基香豆素。

化合物 **14** 白色粉末。¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 2.36 (2H, t, *J* = 7.5 Hz, 2-CH₂), 1.65 (2H, m, 3-CH₂), 1.27 (48H, br s, H-4 ~ H-27), 0.90 (3H, t, *J* = 7.0 Hz, 28-CH₃)。¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ: 14.1 (C-28), 22.7 (C-27), 31.9 (C-26), 29.7 ~ 29.0 (C-4 ~ 25), 24.6 (C-3), 33.9 (C-2), 179.3 (COOH)。以上波谱数据与文献[20]报道基本一致,确定化合物 **14** 为二十八烷酸。

化合物 **15** 白色粉末。¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 2.36 (2H, t, *J* = 7.5 Hz, 2-CH₂), 1.65 (2H, m, 3-CH₂), 1.27 (26H, br s, H-4 ~ H-16), 0.90 (3H, t, *J* = 7.0 Hz, 17-CH₃)。¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ: 14.1 (C-17), 22.7 (C-16), 31.9 (C-15), 29.7 ~ 29.0 (C-4 ~ 14), 24.6 (C-3), 34.0 (C-2), 180.2 (COOH)。以上波谱数据与文献[21]报道基本一致,确定化合物 **15** 为十七烷酸。

化合物 **16** 无色针晶,易溶于乙酸乙酯、三氯甲烷,薄层色谱硫酸-香草醛显红色。¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 5.65 (1H, *J* = 3.5 Hz, H-6), 3.86 (1H, br s, H-7), 3.58 (1H, m, H-3), 0.99 (3H, s, 19-CH₃), 0.93 (3H, d, *J* = 7.0 Hz, 21-CH₃), 0.83 (3H, d, *J* = 7.0 Hz, 26-CH₃), 0.82 (3H, d, *J* = 7.0 Hz, 27-CH₃), 0.85 (3H, t, *J* = 7.5 Hz, 29-CH₃), 0.69 (3H, s, 18-CH₃)。¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ: 37.0 (C-1), 31.6 (C-2), 71.4 (C-3), 42.0 (C-4), 145.0 (C-5), 123.9 (C-6), 65.4 (C-7), 37.5 (C-8), 42.3 (C-9), 37.4 (C-10), 20.7 (C-11), 39.2 (C-12), 42.1 (C-13), 49.2 (C-14), 25.9 (C-15), 28.3 (C-16), 55.7 (C-17), 11.6 (C-18), 18.2 (C-19), 36.1 (C-20), 18.8 (C-21), 33.9 (C-22), 26.0 (C-23), 45.8 (C-24), 29.1 (C-25), 19.8 (C-26), 19.0 (C-27), 23.0 (C-28), 12.0 (C-29)。以上波谱数据与文献[22]报道基本一致,确定化合物 **16** 为 7-*a*-羟基-β-谷甾醇。

4 细胞毒活性实验

采用 MTT 法首次对分离得到的化合物 **1** ~ **10** 进行了体外抗人宫颈癌 HeLa 细胞的活性筛选。于 96 孔培养板中加入密度为 10⁴ 个/mL 的 HeLa 细胞悬液 100 μL,然后向相应孔中加入不同浓度的样品 (1, 10, 100, 500 μmol·L⁻¹),继续培养 48 h,吸去药液后每孔加入 MTT 溶液 (5 g·L⁻¹) 10 μL,于 37 °C

孵育 3 h,吸去上清液,加入 MTT 溶液 100 μL,于室温下继续孵育 2 h,酶标仪 570 nm 测定吸光度 *A*。每个浓度设 3 个复孔,以溶剂为空白组。计算抑制率:细胞生长抑制率 = (1 - $A_{\text{样品组}}/A_{\text{空白组}}$) × 100%。结果表明化合物 **6** 对宫颈癌 HeLa 细胞显示出较好抑制活性,IC₅₀ 为 15.6 μmol·L⁻¹,其他化合物未表现出明显抑制作用。

5 讨论

本研究对白术乙酸乙酯提取物的化学成分进行了系统研究,从中分离鉴定了 16 个化合物,其中聚炔类化合物 5 个,萜类化合物 7 个,香豆素类化合物 1 个,脂肪酸 2 个,甾醇类化合物 1 个。化合物 **1, 2, 16** 为首次从白术中分离得到,化合物 **12 ~ 15** 为首次从苍术属植物中分离得到。药理活性测试的结果表明白术内酯 I (**6**) 对宫颈癌 HeLa 细胞系具有较好抑制作用,它可能是白术发挥抗宫颈癌作用的主要活性成分。本研究丰富了白术的化学成分,为充分开发和利用这一药用植物资源提供了实验依据。

[参考文献]

- [1] 国家药典编委会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:103-104.
- [2] Li C Q, He L C, Dong H Y, et al. Screening for the anti-inflammatory activity of fractions and compounds from *Atractylodes macrocephala* Koidz [J]. *J Ethnopharmacol*, 2007, 114(2): 212-217.
- [3] 李昕,何花,肖木欣,等. 白术挥发油对小鼠耐缺氧能力的影响[J]. 湖南师范大学学报:医学版,2012, 9(3): 17-20.
- [4] 王常鹤,耿庆光,王雨轩. 白术内酯 I 对免疫性肝损伤的保护作用[J]. 中国中药杂志,2012, 35(12): 1809-1813.
- [5] Ji G Q, Chen R Q, Zheng J X. Macrophage activation by polysaccharides from *Atractylodes macrocephala* Koidz through the nuclear factor-κB pathway [J]. *Pharm Biol*, 2015, 53(4): 512-517.
- [6] Liu J, Chen X, Yue C, et al. Effect of selenylation modification on immune-enhancing activity of *Atractylodes macrocephala* polysaccharide [J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 72:1435-1440.
- [7] 朱庆均. 白术挥发油对人肺癌细胞株 PG 细胞增殖和细胞周期的影响[J]. 中国中医药科技,2008, 15(6):428-429.
- [8] Wang C C, Lin S Y, Cheng H C, et al. Pro-oxidant and cytotoxic activities of atractylenolide I in human promyeloleukemic HL-60 cells [J]. *Food Chem Toxicol*, 2006, 44(8): 1308-1315.

- [9] Wang C C, Chen L G, Yang L L, et al. Cytotoxic activity of sesquiterpenoids from *Atractylodes ovata* on leukemia cell lines [J]. *Planta Med*, 2003, 68 (3): 204-208.
- [10] Li Y, Yang X W. New eudesmane-type sesquiterpenoids from the processed rhizomes of *Atractylodes macrocephala* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2014, 16(2): 123-128.
- [11] 李伟, 文红梅, 崔小兵, 等. 白术的化学成分研究 [J]. *中草药*, 2007, 38(10): 1460-1462.
- [12] Pachaly P, Lansing A, Neugebauer M, et al. Acetylenes from *Atractylis koreana* [J]. *Planta Med*, 1990, 56 (5): 469-471.
- [13] Chen Z L. The Acetylenes from *Atractylodes macrocephala* [J]. *Planta Med*, 1987, 53(5): 493-494.
- [14] 彭伟, 韩婷, 刘青春, 等. 白术地上部分化学成分研究 [J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(5): 578-581.
- [15] Dong H Y, He L C, Huang M, et al. Anti-inflammatory components isolated from *Atractylodes macrocephala* Koizd [J]. *Nat Prod Res*, 2008, 22(16): 1418-1427.
- [16] 方学敏, 曹岗, 蔡银燕. 白术化学成分的制备研究 [J]. *中华中医药学刊*, 2013, 31(5): 993-995.
- [17] 夏郭平, 冯煦, 陈雨, 等. 北美盐角草化学成分的研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2010, 22 (6): 1012-1014.
- [18] Chiang Y M, Kuo Y H. New peroxy triterpenes from the aerial roots of *Ficus microcarpa* [J]. *J Nat Prod*, 2001, 64(4): 436-439.
- [19] 姜薇薇, 张晓琦, 李茜, 等. 竹叶榕根的化学成分研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2007, 19 (4): 588-590.
- [20] 方圣鼎, 张振德, 陈女燕, 等. 安络小皮伞菌丝体中镇痛成分 [J]. *中草药*, 1989, 20(10): 434-435.
- [21] 张晓丹, 刘向前, 李丽丽, 等. 黄水枝化学成分研究 [J]. *中草药*, 2009, 40(12): 1886-1888.
- [22] Greca M D, Monaco P, Previtera L. Stigmasterols from *Typha latifolia* [J]. *J Nat Prod*, 1990, 53 (6): 1430-1435.

[责任编辑 顾雪竹]

欢迎订阅《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管, 中华中医药学会、中国中医科学院中药研究所主办的学术刊物。本刊创建于 1995 年 10 月, 主要设置栏目包括复方配伍专论、方剂学研究、药剂与炮制、资源与鉴定、化学分析、药物代谢、药理、毒理、临床、数据挖掘、中医传承及相关综述等。目前为 CSCD 来源期刊、中文核心期刊、RCCSE 中国学术期刊排行榜核心期刊、美国《化学文摘》统计源期刊; 并被评为中国中医药优秀期刊及中国学术期刊优秀期刊。

本刊为半月刊, 16 开本, 234 页, 标准刊号 ISSN1005-9903; CN11-3495/R。每期定价 35 元, 全年 840 元。国内外公开发行, 国内由北京市报刊发行局办理总发行, 邮发代号 2-417; 国外由中国国际图书贸易集团有限公司办理发行, 代号 SM4655, 欢迎订阅。读者还可通过本刊编辑部办理邮购, 地址: 北京市东城区东直门内南小街 16 号, 收件人: 《中国实验方剂学杂志》编辑部, 邮编 100700, Tel: (010)84076882, E-mail: syfjx_2010@188.com, 网址: www.syfjzxx.com。