

牛筋果茎中一个新的异戊烯基异黄酮类化合物

沈章阳^{†,a} 李玉洁^{†,a} 赵艺萌^a 邓雅源^a 郭亚文^a
王 俞^a 刘艳萍^{*,a,b,c} 付艳辉^{*,a,b,c}

(^a 海南师范大学 热带药用资源化学教育部重点实验室 海口 571127)

(^b 海南师范大学 南药资源产业化关键技术研究海南省工程研究中心 海口 571127)

(^c 海南师范大学 海口市热带果蔬研究与开发重点实验室 海口 571127)

摘要 综合运用硅胶柱色谱、ODS 柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱以及制备型高效液相色谱(HPLC)等色谱分离手段,对苦木科牛筋果属植物牛筋果 *Harrisonia perforata* 茎中的化学成分进行了研究,从其茎的 95%乙醇提取物中分离得到了 8 个异戊烯基异黄酮类化合物,采用多种波谱鉴定方法确定了这些分离得到化合物的化学结构,其中化合物 **1** 为 1 个新的异戊烯基异黄酮类化合物,化合物 **2~8** 为从牛筋果属植物中分离得到的化合物。化合物 **1~8** 体外抑制肿瘤细胞生长的活性评价结果表明,它们对五种肿瘤细胞株(HL-60、A549、SMMC-7721、MCF-7 和 SW480)均具有较为显著的体外生长抑制活性,抑制肿瘤细胞生长的活性的 IC₅₀ 范围为(0.38±0.03)~(31.68±0.21) μmol/L,抑制肿瘤细胞生长的活性与抗肿瘤阳性对照药顺铂的抑制活性相当。

关键词 牛筋果属;牛筋果;异戊烯基异黄酮;抑制肿瘤细胞生长活性

A New Prenylated Isoflavone from the Stems of *Harrisonia perforata*

Shen, Zhangyang^{†,a} Li, Yujie^{†,a} Zhao, Yimeng^a Deng, Yayuan^a Guo, Yawen^a
Wang, Yu^a Liu, Yanping^{*,a,b,c} Fu, Yanhui^{*,a,b,c}

(^a Key Laboratory of Tropical Medicinal Resource Chemistry of Ministry of Education, Hainan Normal University, Haikou 571127)

(^b Engineering Research Center for Industrialization of Southern Medicinal Plants Resources of Hainan Province, Hainan Normal University, Haikou 571127)

(^c Key Laboratory of Research and Development of Tropical Fruits and Vegetables of Haikou City, Hainan Normal University, Haikou 571127)

Abstract A new prenylated isoflavone, harriperforine (**1**), as well as seven known analogues, was isolated and characterized from the stems of *Harrisonia perforata*. Their chemical structures were unambiguously elucidated based on spectroscopic analyses. All known compounds **2~8** were isolated from the genus *Harrisonia* for the first time. The growth inhibitory activities against five cancer cell lines (HL-60, A549, SMMC-7721, MCF-7 and SW480) of compounds **1~8** were evaluated. As a result, compounds **1~8** displayed remarkable inhibitory activities with IC₅₀ values ranging from (0.38±0.03) μmol/L to (31.68±0.21) μmol/L, which were comparable to those of cisplatin.

Keywords *Harrisonia*; *H. perforata*; prenylated isoflavone; tumor cell growth inhibitory activities

异戊烯基异黄酮类化合物是一类非常重要的异黄酮衍生物,其特点是在异黄酮母核的碳原子位置上存在一个或者多个异戊烯基取代,结构复杂多样,且大多具

有显著的生物活性,如抗肿瘤、抗炎、抗菌、抗疟、抗氧化以及蛋白酪氨酸磷酸酶 1B 抑制等多种生物活性,正成为天然产物化学研究的热点之一^[1-6]。苦木科(Sima-

* Corresponding authors. E-mail: liuyanpinghs@163.com; fuyanhu80@163.com

Received July 4, 2022; revised August 9, 2022; published online October 10, 2022.

Project supported by the Key Research and Development Project of Hainan Province (No. ZDYF2022SHFZ028), the National Natural Science Foundation of China (Nos. 22067005, 32070390 and 21967008), the National Natural Science Foundation of Hainan Province (Nos. 222RC655, 2019RC198 and 220RC596) and the Key Research and Development Project of Haikou City (Nos. 2017050 and 2020054).

海南省重点研发计划(No. ZDYF2022SHFZ028)、国家自然科学基金(Nos. 22067005, 32070390 和 21967008)、海南省自然科学基金(Nos. 222RC655, 2019RC198 和 220RC596)和海口市重点研发计划(Nos. 2017050 和 2020054)资助项目。

[†] 共同第一作者(The authors contributed equally to this work).

roubaceae)牛筋果属(*Harrisonia*)植物全世界有 4 种, 分布于非洲热带、亚洲和大洋洲^[7]. 牛筋果属植物因富含结构复杂多变的苦木素类和柠檬苦素类化合物而受到国内外科研工作者的广泛关注, 截至目前为止, 已经从牛筋果属植物中分离得到了如柠檬苦素类、苦木苦素类、色原酮类、聚酮类、苯并吡喃类以及苯乙酮类等多种结构类型的化合物, 这些被分离得到的化合物表现出了广泛而多样生物活性, 如抗肿瘤活性、抗炎活性、抗菌活性、神经保护活性、抗疟活性、抗病毒活性以及 11 β -羟基类固醇脱氢酶 1 抑制活性等多种生物活性^[8-20]. 在我国分布的牛筋果属植物仅有 1 种, 即牛筋果 *H. perforata*, 分布于海南、广东及福建等省南部地区. 本课题组一直致力于从具有海南特色的热带药用植物中发现新的抗肿瘤活性物质, 本课题组在前期研究中发现牛筋果茎的 95%乙醇提取物对人肝癌细胞株 SMMC-7721 和人乳腺癌细胞株 MCF-7 的生长抑制活性的 IC₅₀ 值分别为(8.26 $\pm$ 0.12)和(12.68 $\pm$ 0.16) μ g/mL. 为了进一步探明牛筋果茎抗肿瘤的药效物质基础, 发现结构新颖、活性显著的抗肿瘤活性物质, 本研究对牛筋果茎的 95%乙醇提取物中的化学成分进行了研究, 分离得到了 8 个异戊烯基异黄酮类化合物, 分别鉴定为 harriperforine (**1**)、4'-*O*-methylexythrinin C (**2**)、erythrinin D (**3**)、erythrinin E (**4**)、5,3',4'-trihydroxy-6'',6''-dimethylpyrano[2'',3'':7,6]isoflavone (**5**)、norisojamicin (**6**)、5,3',4'-trihydroxy-2'',2''-dimethylpyrano(5'',6'':7,8)isoflavone (**7**)和 5,3'-dihydroxy-4'-methoxy-2'',2''-dimethylpyrano(5'',6'':8,7)isoflavone (**8**). 其中化合物 **1** 为 1 个新的异戊烯基异黄酮类化合物, 化合物 **2**~**8** 为首次从牛筋果属植物中分离得到的化合物, 分离得到化合物的化学结构如图 1 所示. 此外, 本研究对化合物 **1**~**8** 体外抑制肿瘤细胞生长的活性进行了评

价, 结果表明化合物 **1**~**8** 对 HL-60、A549、SMMC-7721、MCF-7 和 SW480 等五种人肿瘤细胞株均表现出了较为显著的生长抑制活性. 本文旨在报道这些化合物的提取与分离、结构鉴定以及它们抑制肿瘤细胞生长的活性.

1 结果与讨论

化合物 **1** 为淡黄色无定形粉末; 比旋光度 $[\alpha]_D^{25}$ 为 -86.9 (c 0.13, CH₃OH); 化合物 **1** 的 HR-ESI-MS 给出其准分子离子峰 $[M+H]^+$ 的 m/z 为 385.1283 (calcd for C₂₁H₂₁O₇ 385.1282), 可确定化合物 **1** 的分子式为 C₂₁H₂₀O₇, 不饱和度为 12; 在化合物 **1** 的 UV 光谱中, 最大吸收峰 λ_{max} (log ϵ) 分别在 232, 268 和 342 nm, 提示化合物 **1** 为一个异黄酮类化合物^[15]. 在化合物 **1** 的 IR 光谱中显示出了羟基(3402 cm⁻¹)、共轭羰基(1641 cm⁻¹)、苯环和双键(1598, 1509 和 1462 cm⁻¹)以及甲基(1380 cm⁻¹)的特征吸收峰. 在化合物 **1** 的 ¹H NMR 谱中, 低场区一个尖锐的、化学位移为 δ_H 13.12 (s, 5-OH, 1H) 的单峰氢信号的存在提示化合物 **1** 的化学结构中含有 1 个羟基基团; 低场区两个尖锐的、化学位移为 δ_H 7.86 (s, H-2, 1H) 和 6.38 (s, H-8, 1H) 的单峰氢信号的存在提示化合物 **1** 的化学结构中存在 1 个三取代双键和 1 个五取代苯环; 低场区一组相互耦合的、化学位移为 δ_H 7.10 (d, J =1.8 Hz, H-2', 1H), 7.06 (dd, J =8.0, 1.8 Hz, H-6', 1H) 和 6.93 (d, J =8.0 Hz, H-5', 1H) 的氢信号的存在提示化合物 **1** 的化学结构中存在 1 个 ABX 耦合系统. 高场区三个尖锐的、化学位移为 δ_H 3.93 (s, 4'-OCH₃, 3H), 1.37 (s, H-4'', 3H) 和 1.25 (s, H-5'', 3H) 的单峰氢信号的存在提示化合物 **1** 的化学结构中存在 1 个甲氧基团和 2 个甲基基团. 此外, 高场区一组相互耦合的、化学位移为 δ_H 4.80 (dd,

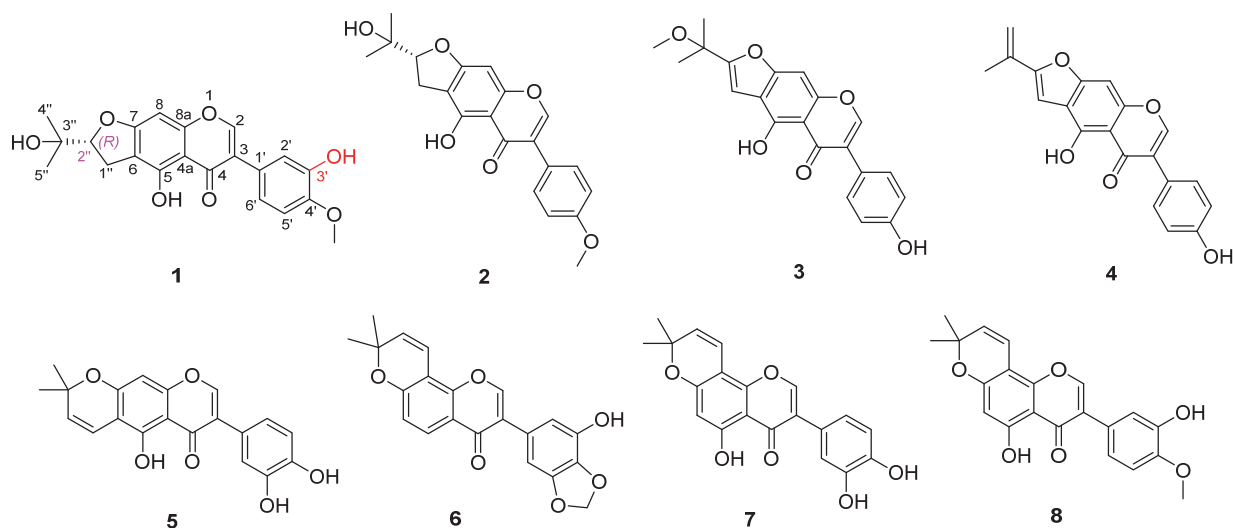


图 1 化合物 **1**~**8** 的化学结构
Figure 1 Chemical structures of compounds **1**~**8**

$J=9.3, 8.0$ Hz, 1H), 3.21 (dd, $J=15.6, 9.3$ Hz, 1H)和 3.12 (dd, $J=15.6, 8.0$ Hz, 1H)的氢信号的存在提示化合物 **1** 的化学结构中存在 1 个亚甲基和 1 个次甲基直接相连的自旋耦合体系. 化合物 **1** 的 ^{13}C NMR 和 DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer)谱数据(表 1)提示化合物 **1** 的化学结构中含有 21 个碳, 其中包括 15 个 sp^2 杂化碳、1 个 sp^3 杂化季碳、1 个 sp^3 杂化次甲基碳、1 个 sp^3 杂化亚甲基碳、1 个甲氧基碳以及 2 个甲基碳. 15 个 sp^2 杂化碳可以进一步被归属于 2 个苯环、1 个双键以及 1 个酮羰基. 上述波谱数据与文献中报道的已知化合物 4'-O-methylerythrinin C (**2**)的波谱数据极其相似, 提示化合物 **1** 与 4'-O-methylerythrinin C (**2**)具有极其相似的化学结构^[21]. 仔细比较化合物 **1** 与化合物 4'-O-methylerythrinin C (**2**)的波谱数据可以发现, 它们化学结构的主要区别在于在化合物 4'-O-methylerythrinin C (**2**)的 C-3'上的取代基是 1 个氢原子, 而在化合物 **1** 的 C-3'上的取代基为 1 个羟基, 以上推断可以进一步被一组相互耦合的化学位移为 δ_{H} 7.10 (d, $J=1.8$ Hz, H-2', 1H), 7.06 (dd, $J=8.0, 1.8$ Hz, H-6', 1H), 6.93 (d, $J=8.0$ Hz, H-5', 1H)的氢信号构成 ABX 耦合系统的出现, H-2' 与 C-3 (δ_{C} 123.4), C-1' (δ_{C} 123.9), C-3' (δ_{C} 145.7), C-4' (δ_{C} 146.8)和 C-6' (δ_{C} 121.0)的 HMBC 相关, H-5' 与 C-1', C-3', C-4' 和 C-6' 的 HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation)相关, H-6' 与 C-3、C-1'、C-2' (δ_{C} 115.1)和 C-4' 的 HMBC 相关, 以及 4'-OCH₃ 与 H-5' 的 ROESY 相关所证实. 详细的 2D NMR 波谱[包括 HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence)、HMBC、 ^1H - ^1H COSY 和 ROESY (Rotating Frame Overhauser Effect Spectroscopy)谱]分析进一步确证了化合物 **1** 的平面结构, 如图 2 所示. 考虑到化合物 **1** 仅含有一个位于 C-2''的手性中心, 并且它的比旋光度 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -86.9$ (c 0.13, CH₃OH)通过与具有类似手性结构并已确定了绝对构型的化合物 luteone metabolite BC-I 的比旋光度 $[\alpha]_{\text{D}}^{23} -100.0$ (c 0.11, CH₃OH)进行比较^[22-23], 可以看出化合物 **1** 与 luteone metabolite BC-I 具有极其相似的比旋光活性, 考虑到 luteone metabolite BC-I 的化学结构中手性中心(C-2'')的

绝对构型均为 *R*, 因此化合物 **1** 的 C-2''的绝对构型可以被归属为 *R*. 为了进一步证实化合物 **1** 中 C-2''的绝对构型, 通过 GAUSSIAN 09 程序在 B3LYP/6-311 G(d,p)水平上使用 TDDFT 方法对异构体(2''*R*)-**1** 的 ECD (Electronic Circular Dichroism)光谱进行了计算, 进一步比较化合物 **1** 的实验 ECD 光谱与异构体(2''*R*)-**1** 的计算 ECD 光谱, 结果表明它们是非常吻合的, 如图 3 所示, 进一步证实化合物 **1** 中 C-2''的绝对构型为 *R*. 至此, 确定了新化合物 **1** 的化学结构及其绝对构型, 如图 1 所示, 并将新化合物 **1** 命名为牛筋果异黄酮.

表 1 化合物牛筋果异黄酮(**1**)的 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 波谱数据

Table 1 ^1H NMR and ^{13}C NMR spectral data of harriperforine (**1**)

Position	δ_{H}^a	δ_{C}^b
2	7.86 (s, 1H)	152.7 d
3		123.4 s
4		180.9 s
4a		106.6 s
5		157.2 s
6		109.2 s
7		166.0 s
8	6.38 (s, 1H)	88.9 d
8a		158.2 s
1'		123.9 s
2'	7.10 (d, $J=1.8$ Hz, 1H)	115.1 d
3'		145.7 s
4'		146.8 s
5'	6.93 (d, $J=8.0$ Hz, 1H)	110.7 d
6'	7.06 (dd, $J=8.0, 1.8$ Hz, 1H)	121.0 d
1'' α	3.21 (dd, $J=15.6, 9.3$ Hz, 1H)	26.8 t
1'' β	3.12 (dd, $J=15.6, 8.0$ Hz, 1H)	
2''	4.80 (dd, $J=9.3, 8.0$ Hz, 1H)	91.8 d
3''		71.9 s
4''	1.37 (s, 3H)	25.8 q
5''	1.25 (s, 3H)	23.9 q
5-OH	13.12 (s, 1H)	
4'-OCH ₃	3.93 (s, 3H)	56.0 q

^a Measured at 400 MHz in CDCl₃; ^b Measured at 100 MHz in CDCl₃.

除分离鉴定的新异戊烯基异黄酮类化合物 **1** 以外, 本研究中同时分离得到了 7 个已知的异戊烯基异黄酮类

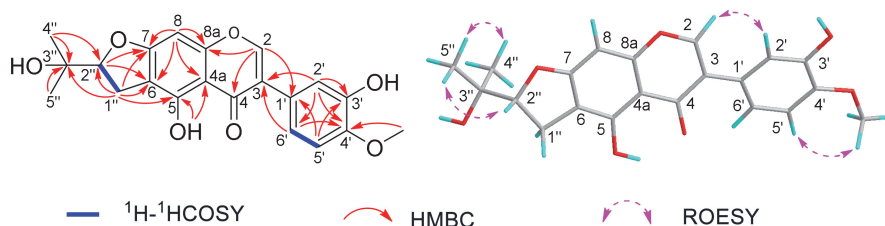


图 2 化合物牛筋果异黄酮(**1**)的选择性的 2D NMR 相关
Figure 2 Selected 2D NMR correlations for harriperforine (**1**)

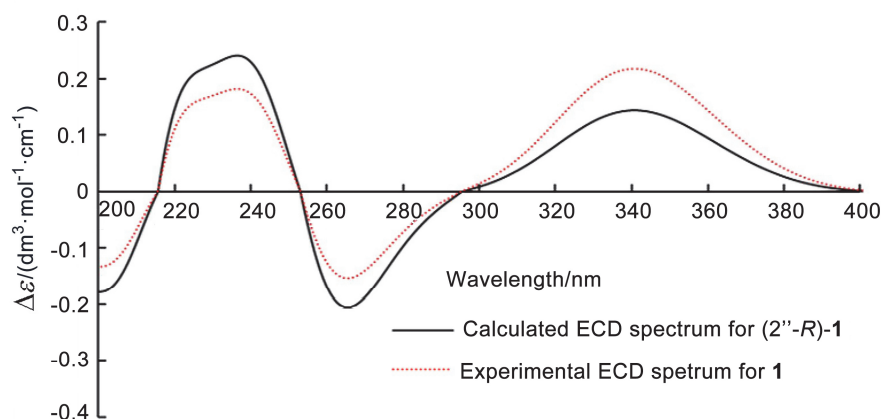


图3 化合物牛筋果异黄酮(1)的实验 ECD 光谱和计算 ECD 光谱
Figure 3 Experimental and calculated ECD spectra for harriperforine (1)

化合物,经波谱分析与文献中报道的相应化合物的波谱数据进行比较,将这7个已知的异戊烯基异黄酮类化合物 **2**~**8** 分别鉴定为 4'-*O*-methylethythrinnin C (**2**)^[21]、erythrinnin D (**3**)^[24]、erythrinnin E (**4**)^[24]、5,3',4'-trihydroxy-6'',6''-dimethyl pyrano[2'',3'':7,6]isoflavone (**5**)^[25]、norisojamicin (**6**)^[26]、5,3',4'-trihydroxy-2'',2''-dimethylpyrano-(5'',6'':7,8)isoflavone (**7**)^[27]和 5,3'-dihydroxy-4'-methoxy-2'',2''-dimethylpyrano(5'',6'':8,7)isoflavone (**8**)^[28]。所有化合物均为首次从牛筋果属植物中分离得到。

以 HL-60、A549、SMMC-7721、MCF-7 和 SW480 等五种人肿瘤细胞株为活性评价细胞株,以顺铂为阳性对照药物,采用 MTT 法对分离鉴定的化合物 **1**~**8** 的体外抑制肿瘤细胞生长的活性进行了评价。活性评价结果表明化合物 **1**~**8** 对这五种人肿瘤细胞株均显示出了显著的生长抑制活性,它们抑制肿瘤细胞生长的活性的 IC₅₀ 范围为(0.38±0.03)~(31.68±0.21) μmol/L,它们对这五种人肿瘤细胞株的生长抑制活性与阳性对照药顺铂的抑制活性相当。值得关注的是,绝大多数分离鉴定的化合物对这五种人肿瘤细胞株的生长抑制活性明显优于阳性对照药物顺铂的生长抑制活性,化合物 **1**~**8** 抑

制肿瘤细胞生长活性的具体数据如表 2 所示。

2 结论

综合运用多种色谱分离方法和波谱鉴定技术对苦木科牛筋果属植物牛筋果茎的 95%乙醇提取物中的化学成分进行了研究,共分离鉴定了 8 个异戊烯基异黄酮类化合物,其中化合物 **1** 为 1 个新化合物,化合物 **2**~**8** 为首次从牛筋果属植物中分离鉴定的化合物。通过计算化合物 ECD 的方法确定了新化合物 **1** 的绝对构型。采用 MTT 法对分离得到的化合物 **1**~**8** 的体外抑制肿瘤细胞生长的活性进行了评价,结果表明分离鉴定的 8 个化合物对五种选定的人肿瘤细胞株均显示出了显著的生长抑制活性。以上这些发现对于发现和开发新的抗肿瘤药物具有重要意义。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

Bruker AV-400 型超导核磁共振仪(德国 Bruker 有限公司); Finnigan LCQ Advantage MAX 型质谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 有限公司); Beckman DU640 型

表 2 化合物 **1**~**8** 对五种肿瘤细胞生长的抑制活性^a

Table 2 Growth inhibitory activities against five cancer cell lines of compounds **1**~**8**

化合物	IC ₅₀ ^b /(μmol·L ⁻¹)				
	HL-60	SMMC-7721	A-549	MCF-7	SW480
1	0.56±0.05	0.48±0.06	0.67±0.04	1.08±0.07	0.38±0.03
2	3.21±0.10	0.82±0.05	7.32±0.17	1.89±0.11	5.43±0.12
3	6.58±0.16	12.45±0.20	4.32±0.13	1.68±0.06	0.89±0.04
4	0.89±0.05	9.42±0.12	6.89±0.11	2.89±0.09	5.85±0.10
5	4.32±0.08	31.68±0.21	1.68±0.09	0.57±0.04	13.79±0.15
6	10.35±0.12	6.67±0.09	3.26±0.08	11.83±0.13	0.71±0.05
7	2.75±0.06	8.47±0.08	14.79±0.13	10.42±0.15	8.53±0.09
8	0.62±0.03	15.68±0.16	4.25±0.07	6.58±0.06	2.09±0.08
顺铂 ^c	1.56±0.08	11.87±0.12	17.28±0.12	22.87±0.16	30.03±0.21

^a All results are expressed as mean±SD; n=3 for all groups. ^b IC₅₀: 50% inhibitory concentration. ^c Positive control.

紫外-可见分光光度仪(美国 Beckman Coulter 有限公司); Bio-Rad FTS-135 型红外光谱仪(美国 Bio-Rad 公司); BUCHI Sepacore 型中低压制备色谱(瑞士 BUCHI 有限公司); Thermo U3000 制备型高效液相色谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 有限公司); 薄层硅胶 GF254 和柱色谱硅胶(青岛海洋化工有限公司); YMC ODS-AQ 制备型高效液相色谱柱(5 μm , 20 mm $\times$ 250 mm, 日本 YMC 株式会社); ODS 柱色谱材料(ODS, 50 μm , 日本 YMC 株式会社); OLYM PUS-IX70 型生物倒置显微镜(日本 Olympus 株式会社); Thermo HERAccl 240i 型 CO₂ 恒温细胞培养箱(美国 Thermo Fisher Scientific 有限公司); Tecan Infinite Pro 型全波长多功能酶标仪(瑞士 Tecan 集团公司); BHC-1300B2 型超净工作台(苏州安泰空气技术有限公司); 噻唑蓝(德国 Merck 公司); 胰蛋白酶、磷酸盐缓冲液、F12 培养基、胎牛血清和双抗(美国 Thermo Fisher Scientific 有限公司); HL-60、A549、SMMC-7721、MCF-7 和 SW480 等五种常见人肿瘤细胞株来源于中国科学院上海细胞库。其他试剂均为色谱纯试剂或者分析纯试剂(广东西陇化工股份有限公司)。

3.2 植物标本

牛筋果茎于 2018 年 06 月采集于海南省昌江县霸王岭国家森林公园, 经海南师范大学生命科学学院钟琼芯教授鉴定为苦木科牛筋果属植物牛筋果 *H. perforata* 的茎, 凭证标本(No. HAPE20180608)保存于海南师范大学南药资源产业化关键技术研究海南省工程研究中心植物标本室。

3.3 提取与分离

将阴干的牛筋果茎 15.6 kg, 粉碎后用 95%乙醇冷浸提取五次, 每次提取 3 d, 合并提取液后减压浓缩后得乙醇提取总浸膏。乙醇提取总浸膏加蒸馏水混悬后依次用石油醚和乙酸乙酯各萃取六次, 回收溶剂后得石油醚萃取部位(567.9 g)和乙酸乙酯萃取部位(866.8 g)。乙酸乙酯萃取部位(860.0 g)经硅胶(200~300 目)柱色谱分离, 以氯仿-甲醇($V:V=98:2\sim30:70$)为洗脱剂进行梯度洗脱得到 12 个流分(Fr.1~Fr.12)。Fr.3 (48.7 g)经 ODS (Octadecylsilyl)柱色谱分离, 以甲醇-水体系为洗脱剂进行梯度洗脱($V:V=55:45\sim100:0$)得到 8 个亚流分(Fr.3A~Fr.3H)。Fr.3B 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱纯化后, 经制备型高效液相色谱(HPLC)(流动相为: 甲醇-水, $V:V=75:25$, 12.0 mL/min, t_R 19.8, 26.9, 37.8 和 42.2 min)进行制备得到化合物 **1** (9.8 mg)、**2** (26.5 mg)、**6** (68.9 mg)和 **7** (102.8 mg)。Fr.3C 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱纯化后, 经制备型 HPLC(流动相为: 乙腈-水, $V:V=65:35$, 18.0 mL/min, t_R 26.7, 30.6, 35.9 和 39.8 min)进行制备得到化合物 **3** (23.9 mg)、**4** (36.2

mg)、**5** (54.2 mg)和 **8** (11.6 mg)。

3.4 波谱数据

牛筋果异黄酮 (**1**): 淡黄色无定形粉末, m.p. 258~259 $^{\circ}\text{C}$; $[\alpha]_D^{25} -86.9$ (c 0.13, CH₃OH); UV (CH₃OH) λ_{max} [$\log \epsilon/(\text{dm}^3\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1})$]: 232 (4.12), 268 (3.83), 342 (3.08) nm; CD (0.0006 mol/L, CH₃OH) λ_{max} [$\Delta\epsilon/(\text{dm}^3\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1})$]: 236 (18.1), 265 (-20.5), 341 (14.4) nm; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)和 ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) 波谱数据见表 1; IR (KBr) ν_{max} : 3402, 1641, 1598, 1509, 1462, 1429, 1380, 1248, 1072 cm^{-1} ; HR-ESI-MS calcd for C₂₁H₂₁O₇ [$M+H$]⁺ 385.1282, found 385.1283.

3.5 抗肿瘤活性评价

MTT 法评价分离鉴定的化合物的抗肿瘤活性^[29-31]: 采用 MTT 法对分离得到的 8 个化合物 **1~8** 的体外抑制肿瘤细胞生长活性进行评价, 研究中以 HL-60、A549、SMMC-7721、MCF-7 和 SW480 等五种人肿瘤细胞株为活性评价细胞株, 以顺铂为阳性对照药物, 具体的活性评价实验操作流程和操作方法见已经发表的研究论文中所述^[29-31]。

辅助材料(Supporting Information) 新化合物 **1** 的谱图(¹H NMR、¹³C NMR、HSQC、HMBC、¹H-¹H COSY、ROESY、HRESIMS 和 UV 谱图)以及抗肿瘤活性评价的实验操作流程和方法。这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载。

References

- [1] Liu, Y. P.; Guo, J. M.; Yan, G.; Zhang, M. M.; Zhang, W. H.; Qiang, L.; Fu, Y. H. *J. Agric. Food Chem.* **2019**, *67*, 4817.
- [2] Raksat, A.; Maneerat, W.; Andersen, R. J.; Pyne, S. G.; Laphookhieo, S. *J. Nat. Prod.* **2018**, *81*, 1835.
- [3] Liu, Y. P.; Sun, L. L.; Zhang, X. L.; Niu, H. Y.; Pan, Z. H.; Fu, Y. H. *Nat. Prod. Res.* **2020**, *34*, 2295.
- [4] Miranda, C. L.; Stevens, J. F.; Ivanov, V.; McCall, M.; Frei, B.; Deinzer, M. L.; Buhler, D. R. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 3876.
- [5] Zhang, G. P.; Xiao, Z. Y.; Rafique, J.; Arfan, M.; Smith, P. J.; Lategan, C. A.; Hu, L. H. *J. Nat. Prod.* **2009**, *72*, 1265.
- [6] Nguyen, P. H.; Sharma, G.; Dao, T. T.; Uddin, M. N.; Kang, K. W.; Ndindeh, D. T.; Mbafor, J. T.; Oh, W. K. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 6459.
- [7] Flora Reipublicae Popularis Sinicae Editorial Board *Flora Reipublicae Popularis Sinicae*, Vol. 43(3), Science Press, Beijing, **1997**, p. 15 (in Chinese). (中国植物志编辑委员会, 中国植物志, 第 43(3)卷, 科学出版社, 北京, **1997**, p. 15.)
- [8] Tang, X. H.; Luo, R. C.; Ye, M. S.; Tang, H. Y.; Ma, Y. L.; Chen, Y. N.; Wang, X. M.; Lu, Q. Y.; Liu, S.; Li, X. N.; Yan, Y.; Yang, J.; Ran, X. Q.; Fang, X.; Zhou, Y.; Yao, Y. G.; Di, Y. T.; Hao, X. J. *Org. Lett.* **2021**, *23*, 262.
- [9] Liu, S.; Zhang, C. S.; Ran, X. Q.; Tang, X. H.; Guo, Y. R.; Yan, Y.; Yao, Y. G.; Hao, X. J.; Luo, R. C.; Di, Y. T. *Org. Biomol. Chem.* **2021**, *9*, 9637.
- [10] Sombatsri, A.; Sribuham, T.; Phusrisom, S.; Kukongviriyapan, V.; Yenjai, C. *Phytochem. Lett.* **2021**, *44*, 110.

- [11] Gui, P. Y.; Yan, X. H.; Yuan, W. J.; Ma, Y. L.; Ding, X.; Liu, S.; Di, Y. T.; Zhu, W. M.; Hao, X. J. *Nat. Prod. Res.* **2019**, *33*, 2830.
- [12] Yan, X. H.; Yi, P.; Cao, P.; Yang, S. Y.; Fang, X.; Zhang, Y.; Wu, B.; Leng, Y.; Di, Y. T.; Lv, Y.; Hao, X. J. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 36927.
- [13] Lv, C.; Yan, X. H.; Tu, Q.; Di, Y. T.; Yuan, C. M.; Fang, X.; Ben-David, Y.; Xia, L.; Gong, J. X.; Shen, Y. M.; Yang, Z.; Hao, X. J. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2016**, *55*, 7539.
- [14] Fang, X.; Di, Y. T.; Zhang, Y.; Xu, Z. P.; Lu, Y.; Chen, Q. Q.; Zheng, Q. T.; Hao, X. J. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2015**, *54*, 5592.
- [15] Choodej, S.; Sommit, D.; Pudhom, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 3896.
- [16] Mayaka, R. K.; Langat, M. K.; Omolo, J. O.; Cheplogoi, P. K. *Planta Med.* **2012**, *78*, 383.
- [17] Yan, X. H.; Di, Y. T.; Fang, X.; Yang, S. Y.; He, H. P.; Li, S. L.; Lu, Y.; Hao, X. J. *Phytochemistry* **2011**, *72*, 508.
- [18] Yin, S.; Chen, X.; Su, Z. S.; Yang, S. P.; Fan, C. Q.; Ding, J.; Yue, J. M. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 1147.
- [19] Tuntiwachwuttikul, P.; Phansa, P.; Pootaeng-On, Y.; Taylor, W. C. *Chem. Pharm. Bull.* **2006**, *54*, 44.
- [20] Balde, A. M.; Apers, S.; De Bruyne, T. E.; Van den Heuvel, H.; Claeys, M.; Vlietinck, A. J.; Pieters, L. A. *Planta Med.* **2000**, *66*, 67.
- [21] Abdel-Kader, M. S.; Amer, M. E.; Tang, S.; Kingston, D. G. *Nat. Prod. Res.* **2006**, *20*, 922.
- [22] Tahara, S.; Ingham, J. L.; Mizutani, J. *Agric. Biol. Chem.* **1987**, *51*, 211.
- [23] Tahara, S.; Nakahara, S.; Mizutani, J.; Ingham, J. L. *Agric. Biol. Chem.* **1984**, *48*, 1471.
- [24] Wang, F.; Li, X. L.; Wei, G. Z.; Ren, F. C.; Liu, J. K. *Nat. Prod. Bioprospect.* **2013**, *3*, 238.
- [25] Venzke, D.; Carvalho, F. K.; Ruani, A. P.; Oliveira, A. S.; Brighente, I. M. C.; Micke, G. A.; Barison, A.; Pizzolatti, M. G. *J. Brazil. Chem. Soc.* **2013**, *24*, 1991.
- [26] Yenesew, A.; Midiwo, J. O.; Waterman, P. G. *Phytochemistry* **1998**, *47*, 295.
- [27] Wei, S. P.; Wu, W. J.; Ji, Z. Q. *Int. J. Mol. Sci.* **2012**, *13*, 7375.
- [28] Souza, R. F. D.; Marinho, V. H.; Silva, G. A. D.; Silva, J. K. R. D.; Bastos, G. N.; Arruda, A. C.; Silva, M. N. D.; Arruda, M. S. P. *J. Brazil. Chem. Soc.* **2013**, *24*, 1857.
- [29] Fu, Y. H.; Di, Y. T.; He, H. P.; Li, S. L.; Zhang, Y.; Hao, X. J. *J. Nat. Prod.* **2014**, *77*, 57.
- [30] Ma, Y. L.; Liu, Y. P.; Zhang, C.; Zhao, W. H.; Shi, S.; He, D. N.; Zhang, P.; Liu, X. H.; Han, T. T.; Fu, Y. H. *Bioorg. Chem.* **2018**, *76*, 359.
- [31] Jiang, Z. H.; Liu, Y. P.; Huang, Z. H.; Wang, T. T.; Feng, X. Y.; Yue, H.; Guo, W.; Fu, Y. H. *Bioorg. Chem.* **2017**, *75*, 260.

(Lu, Y.)