

· 论 文 ·

暗紫贝母茎化学成分研究

李 敏, 米雅慧, 蒯海敏, 胡晓龙, 汪 豪*

(中国药科大学中药学院, 南京 211198)

摘 要 采用硅胶及制备 HPLC 等柱色谱方法对暗紫贝母 (*Fritillaria unibracteata* P.K. Hsiao & K.C. Hsia) 茎乙醇提取物的化学成分进行分离纯化, 通过 NMR、ESI-MS 等波谱技术鉴定化合物结构, 分离鉴定了 9 个化合物, 分别为: 27-hydroxychlorogenone (1), sieboldogenin (2), (3 β , 25S)-spirost-5-ene-3,17,27-triol (3), 拉肖皂苷元 (4), 替告皂苷元酮 (5), 啤酒甾醇 (6), 过氧化麦角甾醇 (7), 豆甾醇 (8), β -谷甾醇 (9)。其中化合物 1 为新化合物, 化合物 2~9 均为首次从暗紫贝母茎中分离得到。体外活性初步评价了化合物 1~9 对 A549 细胞的细胞毒活性, 结果显示, 化合物 6 具有中等强度的细胞毒活性, IC₅₀ 为 (14.16 $\pm$ 1.11) μ mol/L。

关键词 暗紫贝母; 茎; 甾体; 化学成分; 细胞毒

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2025)02-0160-06

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.2024040302

引用本文 李敏, 米雅慧, 蒯海敏, 等. 暗紫贝母茎化学成分研究 [J]. 中国药科大学学报, 2025, 56(2): 160–165.

Cite this article as: LI Min, MI Yahui, KUAI Haimin, et al. Chemical constituents from the stems of *Fritillaria unibracteata*[J]. *J China Pharm Univ*, 2025, 56(2): 160–165.

Chemical constituents from the stems of *Fritillaria unibracteata*

LI Min, MI Yahui, KUAI Haimin, HU Xiaolong, WANG Hao*

School of Traditional Chinese Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

Abstract Chemical investigation of the stems of *Fritillaria unibracteata* P.K. Hsiao & K.C. Hsia resulted in the isolation of nine compounds, by means of silica gel column chromatography, and preparative HPLC. Based on spectroscopic and chemical evidence, these compounds were identified as: 27-hydroxychlorogenone (1), sieboldogenin (2), (3 β , 25S)-spirost-5-ene-3,17,27-triol (3), laxogenin (4), tigogenone (5), cerevisterol (6), ergosterol peroxide (7), stigmaterol (8), and β -sitosterol (9). Compound 1 was a new compound, and compounds 2-9 were isolated from the stems of *Fritillaria unibracteata* for the first time. The inhibitory effects of compounds 1-9 on A549 cells were determined using the MTT method. The results show that compound 6 exhibits moderate inhibitory activity with an IC₅₀ value of (14.16 $\pm$ 1.11) μ mol/L.

Key words *Fritillaria unibracteata*; stem; steroid; chemical constituents; cytotoxicity

This study was supported by the Major Science and Technology Special Projects of Yunnan Province (202402AA310001); the Expert Workstation Project of Yunnan Province (202305AF150096); Diqing State-China Pharmaceutical University State-School Cooperation Project (2021ZXYP01)

暗紫贝母 (*Fritillaria unibracteata* P.K. Hsiao & K.C. Hsia) 为百合科 (Liliaceae) 贝母属植物, 主产于四川西北部及青海东南部, 生于海拔 3 200~4 500 米

的草地上^[1]。暗紫贝母是《中华人民共和国药典》(2020 版)收载中药川贝母的基源植物之一, 通常以鳞茎入药, 具有清热润肺、化痰止咳、散结消痈的功

收稿日期 2024-04-03 * 通信作者 Tel: 025-83271328 E-mail: wanghao@cpu.edu.cn

基金项目 云南省重大科技专项 (202402AA310001); 云南省专家工作站项目 (202305AF150096); 迪庆州-中国药科大学州校合作项目 (2021ZXYP01)

效^[2]。现代研究表明, 贝母属植物还含有生物碱、萜类、甾体、多糖等多种化学成分, 并且具有广泛的药理作用, 如 Shen 等^[3] 从伊贝母中分离得到的甾体化合物对大鼠脑胶质瘤 C6 细胞和人宫颈癌 HeLa 细胞具有明显的抗增殖作用; 从暗紫贝母中分离得到的甾体生物碱具有较弱的抗炎活性^[4]; 从川贝母、暗紫贝母等多个贝母品种中提取得到的总皂苷部分均具有明显的抗炎活性^[5]。目前对暗紫贝母化学成分的研究主要集中于鳞茎部位^[4, 6-8], 非药用部位的化学成分未见报道。川贝母价格昂贵, 人工种植及采集过程中, 大量地上部位作为废料丢弃。为了揭示暗紫贝母地上部位药效物质基础及为暗紫贝母地上部分的综合开发利用提供参考依据, 本研究对暗紫贝母茎进行了较为系统的化学成分研究, 分离鉴定了 9 个化合物, 分别为: 27-hydroxychlorogenone (1), sieboldogenin (2), (3 β , 25S)-spirost-5-ene-3,17,27-triol (3), 拉肖皂苷元 (4), 替告皂苷元酮 (5), 啤酒甾醇 (6), 过氧化麦角甾醇 (7), 豆甾醇 (8), β -谷甾醇 (9)。其中化合物 1 为新化合物, 化合物 2~9 均为首次从暗紫贝母茎中分离得到。采用 MTT 法测定化合物 1~9 对 A549 细胞的抑制作用, 结果显示化合物 6 具有中等强度的细胞毒活性, IC₅₀ 为 (14.16 $\pm$ 1.11) μ mol/L。

1 仪器与材料

Avance-300, 500 及 600 型核磁共振仪 (德国布鲁克公司); LC-20AT 型高效液相色谱仪, LC-8A 型制备液相色谱仪, LCMS-2020 四极杆液质联用仪 (日本岛津公司); Agilent 6500 UPLC-Q-TOF 质谱仪 (美国安捷伦公司); JASCO P-1020 型旋光仪 (日本佳司科公司); 柱色谱硅胶 (青岛海洋化工公司); GF₂₅₄ 薄层色谱硅胶板 (烟台化工研究所); 柱色谱 RP-C₁₈ (50 μ m, 日本 YMC 公司); Sephadex LH-20 (美国 GE Healthcare 公司); MCI gel (CHP20P, 75~150 μ m, 日本三菱化学公司); 岛津 Shim-Pack VP-ODS 分析色谱柱 (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μ m); 岛津 Shim-Pack Prep-ODS 制备色谱柱 (20 mm $\times$ 250 mm, 15 μ m); 人非小细胞肺癌细胞株 A549、胎牛血清、DMEM 培养液 (江苏凯基生物技术股份有限公司); Infinite 200 Pro 全波长酶标 (瑞士帝肯公司); 其他试剂均为市售分析纯。

暗紫贝母茎由香格里拉市天泉川贝科技有限公司提供, 经中国药科大学中药学院汪豪教授鉴定

为 *Fritillaria unibracteata* P.K. Hsiao & K.C. Hsia 的干燥茎干, 植物标本存放于中国药科大学天然药物化学实验室, 标本号为 AZ20221116。

2 提取分离

干燥的暗紫贝母茎 5.0 kg, 粉碎成粗粉, 95% 乙醇室温浸渍提取 4 次, 每次 7 d, 合并醇提液, 减压浓缩得稠浸膏, 加水混悬后依次用石油醚、乙酸乙酯和水饱和正丁醇萃取。取石油醚部位 (83.5 g), 经硅胶柱色谱 (石油醚-乙酸乙酯, 100:1~0:1) 洗脱, TLC 检识, 合并得到流份 Frs. 1~10。Fr. 5 经 Sephadex LH-20 柱色谱 (氯仿-甲醇, 1:1) 分离, 得到流份 Frs. 5-1~5-7。Fr. 5-4 在甲醇中重结晶, 沉淀部分经硅胶柱色谱 (石油醚-乙酸乙酯, 15:1) 纯化, 得到化合物 5 (8.2 mg); Fr. 5-4 母液部分依次经硅胶柱色谱 (石油醚-乙酸乙酯, 30:1~0:1) 和制备 HPLC (甲醇-水, 90:10) 分离, 得到化合物 7 (18.6 mg)。Fr. 10 依次经硅胶柱色谱 (石油醚-乙酸乙酯, 5:1~3:1), 和制备 HPLC (甲醇-水, 80:20) 分离, 得到 4 (43.5 mg)。取乙酸乙酯部位 (23.5 g), 经 MCI 柱色谱 (乙醇-水, 40:60~100:0) 洗脱, TLC 检识, 合并得到流份 Frs. A~G。Fr. D 经 Sephadex LH-20 柱色谱 (氯仿-甲醇, 1:1) 洗脱, 得到流份 Frs. D-1~D-5。Fr. D-3 经 C₁₈ 柱色谱 (甲醇-水, 50:50~90:10) 洗脱, 得到流份 Frs. D-3-1~D-3-15。Fr. D-3-8 经硅胶柱色谱 (石油醚-丙酮, 5:1~3:1) 洗脱, 再分别经硅胶柱色谱 (石油醚-丙酮, 1:1) 及制备 HPLC (乙腈-水, 30:70) 纯化, 得到化合物 1 (1.7 mg), 2 (46.1 mg)。Fr. D-3-9 经硅胶柱色谱反复分离纯化, 依次以石油醚-丙酮 (3:1), 石油醚-乙酸乙酯 (1:1) 洗脱, 得到化合物 3 (3.7 mg)。Fr. E 经 C₁₈ 柱色谱 (甲醇-水, 60:40~100:0) 分离, 得到流份 Frs. E-1~E-13。Fr. E-11 经硅胶柱色谱 (石油醚-丙酮, 3:1) 分离, 得到化合物 6 (1.9 mg)。Fr. G 依次经 Sephadex LH-20 (甲醇), 硅胶柱色谱 (石油醚-丙酮, 20:1) 分离纯化, 得到化合物 8 (8.5 mg), 9 (21.1 mg)。化合物 1~9 的结构式见图 1。

3 体外抗肿瘤活性测试

A549 细胞以每毫升 5×10^4 个细胞密度接种至 96 孔板中, 每孔 100 μ L, 置 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h, 弃去孔内上清液, 空白组加入含 10%

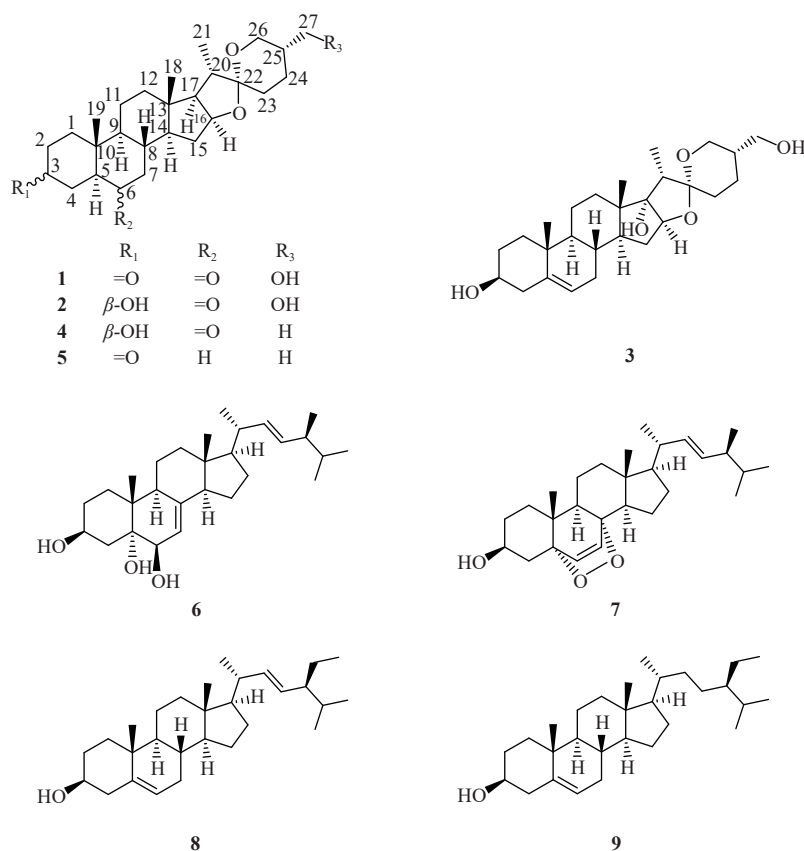


Figure 1 Chemical structures of compounds 1–9

FBS 的 DMEM 培养基 200 μ L, 实验组中加入相应浓度的含化合物 1~9 或卡铂培养基 200 μ L, 每组设置 3 个复孔, 继续培养 24 h。随后, 每孔加入 MTT 溶液 (5 mg/mL) 20 μ L, 放入培养箱中避光孵育 4 h。最后, 弃去孔内上清液, 每孔加入 DMSO 150 μ L 于摇床上振荡 10 min, 用酶标仪 490 nm 波长处测定吸收度, 并用 GraphPad Prism 8.0 计算 IC₅₀。

4 结果

4.1 结构鉴定

化合物 1 白色粉末 (CHCl₃), 茴香醛-浓硫酸反应显蓝色。[α]_D²⁰: -28.0° (c 0.05, CHCl₃); HR-ESI-MS m/z : 445.2952 (Calcd. for [C₂₇H₄₀O₅+H]⁺: 445.2948), 结合 ¹H, ¹³C NMR 信息, 推测化合物 1 分子式为 C₂₇H₄₀O₅。 ¹H NMR 谱图中显示化合物含有 3 个甲基质子信号 [δ _H 0.99 (3H, d, J = 7.0 Hz, H-21), 0.98 (3H, s, H-19), 0.80 (3H, s, H-18)], 2 组氧取代亚甲基质子信号 [δ _H 3.72 (1H, dd, J = 11.7, 2.9 Hz, H-26a), 3.53 (1H, m, H-26b); 3.48 (2H, m, H-27)], 及 1 个氧取代次甲基质子信号 [δ _H 4.43 (1H, td, J = 7.9,

5.8 Hz, H-16)]。 ¹³C NMR 和 DEPT 谱图显示化合物含有 27 个碳原子, 包括 2 个羰基碳信号 [δ _C 211.0 (C-3), 208.7 (C-6)], 2 个氧取代亚甲基碳信号 [δ _C 65.0 (C-27), 63.1 (C-26)], 1 个氧取代次甲基碳信号 δ _C 80.4 (C-16), 以及一个连氧的季碳信号 δ _C 109.5 (C-22)。化合物 1 与已知化合物 chlorogenone 的核磁数据对比发现, 二者 A-E 环的 ¹H, ¹³C NMR 数据基本一致^[9], 提示化合物 1 为螺甾烷醇类化合物, 具有 A/B *trans*, B/C *trans*, C/D *trans*, D/E *cis*, 且 H-5, Me-21 为 α 构型。与 chlorogenone 相比, 化合物 1 多出 1 组氧取代亚甲基信号 [δ _H 3.65 (H-27), δ _C 65.0 (C-27)], 缺少 27-CH₃ 的信号, 并且 C-25 向低场位移 +7.8 $\times$ 10⁻⁶, C-24, 26 分别向高场位移 -5.6 $\times$ 10⁻⁶, -3.8 $\times$ 10⁻⁶, 提示化合物 1 的 C-27 可能存在氧取代官能团。在 ¹H-¹H COSY 谱图中, 可见以下一组质子自旋偶合体系: δ _H 1.95, 1.68 (H-23a, 23b) $\leftrightarrow$ 1.69, 1.52 (H-24a, 24b) $\leftrightarrow$ 1.81 (H-25) $\leftrightarrow$ 3.72, 3.53 (H-26a, 26b)[3.48 (H-27)]。在 HMBC 谱图中, 可观察到 δ _H 3.65 (H-27) 与 δ _C 23.1 (C-24), 38.0 (C-25), 63.1 (C-26) 的远程相关信号, 因此确定 C-27 存在羟基取代。将化合物 1 与分离得到的已知化合物 2 的 F 环

^{13}C NMR 数据进行比较, 发现二者 F 环碳原子化学位移基本一致, 提示 C-25 位上的羟甲基为 α 取向。在 NOESY 谱图中, 可见 Me-18/H-20, H-20/H-23b, H-23b/H-25 的 NOE 相关信号, 表明 H-25 为 β 取向, 进一步证实化合物 **1** 中 C-25 位上的羟甲基为 α 构型。化合物 **1** 的 NMR 波谱数据归属见表 1, ^1H - ^1H COSY, HMBC 和 NOESY 的关键相关信号见图 2 和图 3。综上分析, 化合物 **1** 的结构鉴定为 (20*S*, 25*S*)-5 α -spirostane-27-ol-3,6-dione, 命名为 27-hydroxychlorogenone, 为一新化合物。

Table 1 NMR data of compound **1**^a

Positon	δ_{H}^b	δ_{C}^c	HMBC
1	1.62, 2.13, m	38.1	C-3, 5
2	2.04, 2.35, m	37.0	C-1, 3, 5, 10
3		211.0	
4	2.07, 2.43, m	37.5	C-2, 3, 5, 6
5	2.59, m	57.5	C-3, 6, 10, 19
6		208.7	
7	2.03, m 2.41, dd (16.0, 6.1)	46.6	C-6, 9
8	1.65, m	37.3	
9	1.37, m	53.4	
10		41.2	
11	1.46, 1.67, m	21.5	
12	1.26, 1.83, m	39.4	C-9, 11, 18
13		41.0	
14	1.38, m	56.3	C-8
15	1.30, 1.36, m	31.6	C-14, 16
16	4.43, 1H, td (7.9, 5.8)	80.4	C-13
17	1.84, m	62.0	C-12, 14, 16, 18, 20, 21
18	0.80, 3H, s	16.4	C-12, 14, 17
19	0.98, 3H, s	12.6	C-1, 5, 9, 10
20	1.91, m	41.7	C-17
21	0.99, 3H, d (7.0)	14.4	C-17, 20, 22
22		109.5	
23	1.68, 1.95, m	30.7	C-25
24	1.52, 1.69, m	23.1	C-22, 26
25	1.81, m	38.0	C-27
26	3.53, m 3.72, dd (11.7, 2.9)	63.1	C-22, 24, 25,
27	3.48, 2H, m	65.0	C-24, 25, 26

^a Measured in CDCl_3 . Assignments were established by DEPT, ^1H - ^1H COSY, HMQC and HMBC experiments. J values (in Hz) are in parentheses; ^b Measured at 600 MHz; ^c Measured at 150 MHz

化合物 **2** 白色粉末 (CHCl_3), ESI-MS m/z : 447 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 结合 ^1H , ^{13}C NMR 信息, 确定其分子式为 $\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{O}_5$ 。 ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 4.42

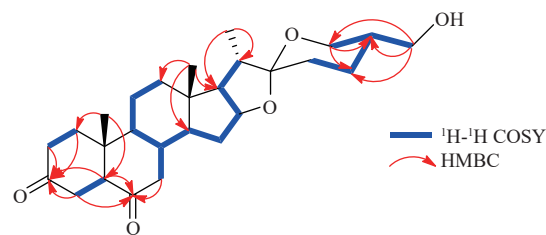


Figure 2 Key ^1H - ^1H COSY and HMBC (H $\rightarrow$ C) correlations of compound **1**

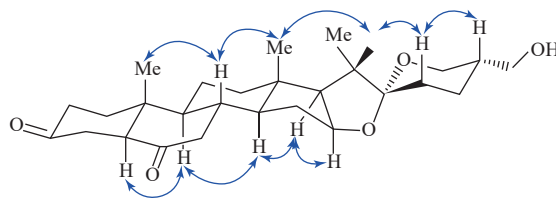


Figure 3 Key NOESY correlations of compound **1**

(1H, td, $J = 7.9, 6.0$ Hz, H-16), 3.68 (1H, dd, $J = 10.2, 3.4$ Hz, H-26a), 3.48 (2H, m, H-27), 3.43~3.36 (2H, m, H-3, 26b), 0.98 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-21), 0.81 (3H, s, H-19), 0.77 (3H, s, H-18)。 ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ : 210.5 (C-6), 109.6 (C-22), 80.7 (C-16), 70.8 (C-3), 65.2 (C-27), 63.3 (C-26), 62.2 (C-17), 57.0 (C-5), 56.7 (C-14), 54.1 (C-9), 46.9 (C-7), 41.8 (C-20), 41.1 (C-10), 41.1 (C-13), 39.7 (C-12), 38.3 (C-25), 37.5 (C-8), 36.8 (C-1), 31.7 (C-15), 30.9 (C-23), 30.9 (C-2), 30.2 (C-4), 23.3 (C-24), 21.5 (C-11), 16.6 (C-18), 14.6 (C-21), 13.4 (C-19)。与文献对照^[10], 鉴定化合物 **2** 为 sieboldogenin。

化合物 **3** 白色粉末 (CHCl_3), ESI-MS m/z : 447 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 结合 ^1H , ^{13}C NMR 信息, 确定其分子式为 $\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{O}_5$ 。 ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 5.34 (1H, d, $J = 5.1$ Hz, H-6), 3.98 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-16), 3.75 (1H, dd, $J = 11.4, 3.3$ Hz, H-26a), 3.54 (2H, m, H-27), 3.50~3.41 (2H, m, H-3, 26b), 1.02 (3H, s, H-19), 0.91 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-21), 0.82 (3H, s, H-18)。 ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ : 141.0 (C-5), 121.5 (C-6), 110.5 (C-22), 91.2 (C-16), 90.3 (C-17), 71.9 (C-3), 65.1 (C-27), 63.3 (C-26), 53.0 (C-14), 49.8 (C-9), 44.8 (C-13), 44.0 (C-20), 42.4 (C-4), 38.1 (C-25), 37.4 (C-1), 36.8 (C-10), 32.2 (C-2), 31.8 (C-8), 31.8 (C-12), 31.8 (C-23), 31.4 (C-7), 30.4 (C-15), 22.7 (C-24), 20.8 (C-11), 19.6 (C-19), 17.2 (C-18), 8.2 (C-21)。与文献对照^[11-12], 鉴定化合物 **3** 为 (3 β , 25*S*)-spirost-5-ene-3,17,27-triol。

化合物 4 白色粉末 (CHCl₃), ESI-MS m/z : 431 [M+H]⁺, 结合¹H, ¹³C NMR 信息, 确定其分子式为 C₂₇H₄₂O₄。 ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 4.37 (1H, td, J = 7.9, 4.3 Hz, H-16), 3.53 (1H, m, H-26a), 3.42 (1H, m, H-3), 3.32 (1H, t, J = 10.8 Hz, H-26b), 0.94 (3H, d, J = 6.7 Hz, H-21), 0.76 (3H, d, J = 6.7 Hz, H-27), 0.74 (6H, s, H-18, 19)。 ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ : 210.7 (C-6), 109.4 (C-22), 80.5 (C-16), 70.6 (C-3), 67.0 (C-26), 62.1 (C-17), 56.9 (C-5), 56.6 (C-14), 54.0 (C-9), 46.8 (C-7), 41.7 (C-20), 41.0 (C-10), 41.0 (C-13), 39.6 (C-12), 37.5 (C-8), 36.7 (C-1), 31.7 (C-15), 31.4 (C-23), 30.7 (C-2), 30.3 (C-25), 30.1 (C-4), 28.8 (C-24), 21.5 (C-11), 17.2 (C-27), 16.5 (C-18), 14.5 (C-21), 13.3 (C-19)。与文献对照^[10], 鉴定化合物 4 为拉肖皂苷元 (laxogenin)。

化合物 5 白色粉末 (CHCl₃), ESI-MS m/z : 437 [M+Na]⁺, 结合¹H, ¹³C NMR 信息, 确定其分子式为 C₂₇H₄₂O₃。 ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 4.39 (1H, m, H-16), 3.47 (1H, d, J = 4.6 Hz, H-26a), 3.36 (1H, t, J = 10.8 Hz, H-26b), 1.02 (3H, s, H-19), 0.96 (3H, d, J = 6.9 Hz, H-21), 0.79 (3H, s, H-18), 0.78 (3H, d, J = 6.3 Hz, H-27)。 ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ : 212.1 (C-3), 109.4 (C-22), 80.9 (C-16), 67.0 (C-26), 62.4 (C-17), 56.2 (C-14), 54.0 (C-9), 46.8 (C-5), 44.8 (C-4), 41.8 (C-20), 40.7 (C-13), 40.1 (C-12), 38.7 (C-1), 38.3 (C-2), 35.9 (C-10), 35.2 (C-8), 32.0 (C-7), 31.9 (C-15), 31.5 (C-23), 30.4 (C-25), 29.0 (C-6), 29.0 (C-24), 21.4 (C-11), 17.3 (C-27), 16.6 (C-18), 14.6 (C-21), 11.7 (C-19)。与文献对照^[13], 鉴定化合物 5 为替告皂苷元酮 (tigogenone)。

化合物 6 白色粉末 (CHCl₃), ESI-MS m/z : 453 [M+Na]⁺, 结合¹H NMR, ¹³C NMR 信息, 确定其分子式为 C₂₈H₄₆O₃。 ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 5.35 (1H, d, J = 4.9 Hz, H-7), 5.23 (1H, dd, J = 15.0, 6.9 Hz, H-23), 5.17 (1H, dd, J = 15.3, 7.5 Hz, H-22), 4.07 (1H, m, H-3), 3.62 (1H, d, J = 4.9 Hz, H-6), 1.08 (3H, s, H-19), 1.02 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-21), 0.91 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-28), 0.83 (3H, d, J = 6.7 Hz, H-26), 0.82 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-27), 0.60 (3H, s, H-18)。 ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ : 144.2 (C-8), 135.5 (C-22), 132.4 (C-23), 117.7 (C-7), 76.1 (C-5), 73.9 (C-6), 67.9 (C-3), 56.2 (C-17), 54.9 (C-14), 43.9 (C-13), 43.7 (C-9), 43.0 (C-24), 40.5 (C-20), 39.7 (C-

4), 39.4 (C-12), 37.3 (C-10), 33.2 (C-25), 33.1 (C-1), 31.0 (C-2), 28.1 (C-16), 23.1 (C-15), 22.2 (C-11), 21.3 (C-21), 20.1 (C-26), 19.8 (C-27), 19.0 (C-19), 17.7 (C-28), 12.5 (C-18)。与文献对照^[14], 鉴定化合物 6 为啤酒甾醇 (cerevisterol)。

化合物 7 无色结晶 (CHCl₃), ESI-MS m/z : 451 [M+Na]⁺, 结合¹H, ¹³C NMR 信息, 确定其分子式为 C₂₈H₄₄O₃。 ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 6.50 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-7), 6.24 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-6), 5.22 (1H, dd, J = 15.2, 7.1 Hz, H-23), 5.13 (1H, dd, J = 15.2, 7.8 Hz, H-22), 3.97 (1H, m, H-3), 0.99 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-21), 0.90 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-28), 0.88 (3H, s, H-19), 0.83 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-27), 0.81 (3H, s, H-18), 0.81 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-26)。 ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ : 135.4 (C-6), 135.4 (C-7), 132.5 (C-23), 130.9 (C-22), 81.7 (C-5), 79.0 (C-8), 66.6 (C-3), 56.4 (C-17), 51.9 (C-14), 51.3 (C-9), 44.7 (C-13), 42.9 (C-24), 39.9 (C-20), 39.5 (C-12), 37.1 (C-4), 37.1 (C-10), 34.9 (C-1), 33.2 (C-25), 30.3 (C-2), 28.8 (C-16), 23.6 (C-11), 21.0 (C-21), 20.8 (C-15), 20.1 (C-26), 19.8 (C-27), 18.3 (C-19), 17.7 (C-28), 13.0 (C-18)。与文献对照^[15], 鉴定化合物 7 为过氧麦角甾醇 (ergosterol peroxide)。

化合物 8 无色晶体 (CHCl₃), 分子式 C₂₉H₄₈O。 ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 5.35 (1H, d, J = 4.8 Hz, H-6), 5.15 (1H, dd, J = 15.2, 8.5 Hz, H-22), 5.01 (1H, dd, J = 15.2, 8.5 Hz, H-23), 3.53 (1H, m, H-3), 1.02 (3H, d, J = 6.7 Hz, H-21), 1.01 (3H, s, H-19), 0.84 (3H, d, J = 6.4 Hz, H-26), 0.80 (3H, t, J = 6.0 Hz, H-29), 0.79 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-27), 0.69 (3H, s, H-18)。 ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ : 140.9 (C-5), 138.5 (C-22), 129.5 (C-23), 121.9 (C-6), 72.0 (C-3), 57.1 (C-14), 56.2 (C-17), 51.4 (C-24), 50.3 (C-9), 42.5 (C-4), 42.4 (C-13), 40.6 (C-20), 39.9 (C-12), 37.4 (C-1), 36.7 (C-10), 32.1 (C-25), 32.1 (C-8), 32.0 (C-7), 31.9 (C-2), 29.1 (C-16), 25.6 (C-28), 24.5 (C-15), 21.4 (C-21), 21.3 (C-26), 21.2 (C-11), 19.6 (C-29), 19.1 (C-27), 12.4 (C-29), 12.2 (C-18)。与文献对照^[16], 鉴定化合物 8 为豆甾醇 (stigmasterol)。

化合物 9 白色结晶状粉末 (CHCl₃), 分子式 C₂₉H₅₀O。 ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 5.35 (1H, d, J = 5.4 Hz, H-6), 3.51 (1H, m, H-3), 1.00 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-21), 0.84 (3H, t,

$J = 6.5$ Hz, H-29), 0.83 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-27), 0.81 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-26), 0.67 (3H, s, H-18)。 ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ : 140.9 (C-5), 121.9 (C-6), 72.0 (C-3), 56.9 (C-14), 56.2 (C-17), 50.3 (C-9), 46.0 (C-24), 42.5 (C-4), 42.5 (C-13), 40.0 (C-12), 37.4 (C-1), 36.7 (C-10), 36.3 (C-20), 34.1 (C-22), 32.1 (C-7), 32.1 (C-8), 31.8 (C-2), 29.4 (C-25), 28.4 (C-16), 26.3 (C-23), 24.5 (C-15), 23.3 (C-28), 21.3 (C-11), 20.0 (C-21), 19.5 (C-19), 19.2 (C-26), 18.9 (C-27), 12.1 (C-29), 12.0 (C-18)。与文献对照^[17], 鉴定化合物 9 为 β -谷甾醇 (β -sitosterol)。

4.2 体外抗肿瘤活性评价

采用 MTT 法评价已分离鉴定的 9 个化合物的体外抗肿瘤活性, 结果见表 2。结果显示, 化合物 6 对 A549 细胞具有中等强度的增殖抑制作用, 其 IC_{50} 为 $(14.16 \pm 1.11) \mu\text{mol/L}$ 。

Table 2 Antiproliferative activities of compounds 1–9 in A549 cells

Compd.	$\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol/L})$	Compd.	$\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol/L})$
1	>50	6	14.16 ± 1.11
2	>50	7	>50
3	>50	8	>50
4	>50	9	>50
5	>50	Carboplatin	8.34 ± 0.95

5 结果与讨论

暗紫贝母通常以鳞茎入药, 其他非药用部分往往被作为废物丢弃。本研究对暗紫贝母茎乙醇提取物的化学成分进行初步研究, 分离并鉴定了 9 个化合物, 均为甾体化合物, 化合物 1 为新化合物, 化合物 2–9 为首次从暗紫贝母茎中分离得到。同时, 通过 MTT 法对分离鉴定得到的 9 个化合物进行了体外抗肿瘤初步活性测试, 结果表明, 化合物 6 对 A549 细胞具有中等强度的细胞毒活性, 其他化合物对 A549 细胞的 IC_{50} 均大于 $50 \mu\text{mol/L}$, 提示暗紫贝母中此类螺甾烷醇类化合物可能不具有明显的抗肿瘤作用, 少数 C_{21} 甾醇具有中等抗肿瘤活性。基于此, 后续将继续对分离得到的化合物进行抗炎及免疫调节的体外活性测试。

References

- [1] Editorial Board of the Flora of China. *Flora of China*: Volume 14 (中国植物志: 第 14 卷)[M]. Beijing: Science Press, 1980:

- 109.
- [2] Chinese Pharmacopoeia Commission. *Chinese Pharmacopoeia*: Part 1 (中华人民共和国药典: 一部)[S]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 38.
- [3] Shen S, Li GY, Huang J, et al. Steroidal saponins from *Fritillaria pallidiflora* Schrenk[J]. *Fitoterapia*, 2012, **83**(4): 785-794.
- [4] Wang SH, Liang H, Wang YQ, et al. Steroidal alkaloids and their glycosides from the bulbs of *Fritillaria unibracteata*[J]. *Steroids*, 2022, **181**: 108977.
- [5] Gu J, Li J, Tan R, et al. Total saponins contents and anti-inflammatory effect of *Fritillaria cirrhosae* bulbous of different species[J]. *J Southwest Univ Natl* (西南民族大学学报 自然科学版), 2012, **38**(2): 252-255.
- [6] Zhang QJ, Zheng ZF, Yu DQ. Steroidal alkaloids from the bulbs of *Fritillaria unibracteata*[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2011, **13**(12): 1098-1103.
- [7] Liu J, Peng C, He CJ, et al. New amino butenolides from the bulbs of *Fritillaria unibracteata*[J]. *Fitoterapia*, 2014, **98**: 53-58.
- [8] Zhou QM, Peng C, Lu TY, et al. Chemical Constituents from *Fritillaria unibracteata*[J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2016, **39**(10): 2237-2239.
- [9] Carabot Cuervo A, Blunden G, Patel AV. Chlorogenone and neochlorogenone from the unripe fruits of *Solanum torvum*[J]. *Phytochemistry*, 1991, **30**(4): 1339-1341.
- [10] Woo MH, Do JC, Son KH. Five new spirostanol glycosides from the subterranean parts of *Smilax sieboldii*[J]. *J Nat Prod*, 1992, **55**(8): 1129-1135.
- [11] Chen CX, Zhou J. Two minor steroidal saponins from the aerial parts of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*[J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 1995, **17**(2): 215-220.
- [12] Liu XX, Wang L, Long Y, et al. Chemical constituents from *Paris mairei*[J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2014, **39**(16): 3107-3111.
- [13] Yang L, Feng F, Gao Y. Chemical constituents from herb of *Solanum lyratum*[J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2009, **34**(14): 1805-1808.
- [14] Gao H, Hong K, Zhang X, et al. New steryl esters of fatty acids from the mangrove fungus *Aspergillus awamori*[J]. *Helv Chim Acta*, 2007, **90**(6): 1165-1178.
- [15] Niu XM, Li SH, Peng LY, et al. Constituents from *Limonia crenulata*[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2001, **3**(4): 299-311.
- [16] Forgo P, Kövér KE. Gradient enhanced selective experiments in the ^1H NMR chemical shift assignment of the skeleton and side-chain resonances of stigmasterol, a phytosterol derivative[J]. *Steroids*, 2004, **69**(1): 43-50.
- [17] Han HP. Studies on extraction technology of active ingredient and chemical components from *Fritillaria unibracteata* Hsiao et K. C. Hsia (暗紫贝母药用有效成分提取工艺及化学成分的研究)[D]. Xi'ning: Qinghai Normal University, 2010.