

滇产黄花烟草茎叶的化学成分研究

李卫¹,程林¹,刘逸婷¹,祁艳艳¹,
王芳¹,蒋云涛¹,陈永对²,张仲凯²,李干鹏^{1*}¹云南民族大学民族医药学院 民族药资源化学国家民委-教育部重点实验室,昆明 650500;²云南省农业科学院生物技术与种质资源研究所 云南省农业生物技术重点实验室
农村农业部西南农作物基因资源与种质创制重点实验室,昆明 650205

摘要:为了探究滇产黄花烟草茎叶的化学成分及其细胞毒活性,采用大孔树脂柱色谱、硅胶柱色谱、MCI 柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱等方法从滇产黄花烟草茎叶的 95% 乙醇提取物中分离得到了 12 个化合物,通过波谱数据解析结合文献研究鉴定其结构为安那他品(1)、反式-*N*-香豆酰酪胺(2)、*N*-反式-阿魏酰酪胺(3)、*N*-反式-咖啡酰酪胺(4)、9-*epi*-blumenol C(5)、(2*R*,3*S*)-[2,3,4,4-²H₄]-hexadecanoic acid(6)、*trans*-phytyl palmitate(7)、齐墩果酸(8)、顺-冷杉醇(9)、熊果酸(10)、二氢猕猴桃内酯(11)、(1*S*,2*E*,4*R*,6*E*,8*R*,11*S*)-8,11-epoxy-2,6,12(20)-cembra-trien-4-ol(12),化合物 5、6、7 为首次从烟草属植物中分离得到。采用 CCK-8 法测定化合物 1~12 对人肝癌细胞 SMMC-7721、Hep3β 和人结肠癌 LOVO 细胞的细胞毒活性。化合物 1~4、8~10、12 对 3 种癌细胞均表现出一定的细胞毒活性,其中化合物 10 对人肝癌 Hep3β 和人结肠癌 LOVO 细胞的抑制率略优于阳性对照药,IC₅₀ 值分别为 48.21 μmol/L 和 87.34 μmol/L。

关键词:黄花烟草;化学成分;结构鉴定;细胞毒活性

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2023)Suppl-0042-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2023.S.006

Study on chemical constituents of stems and leaves
of *Nicotiana rustica* L. from YunnanLI Wei¹, CHENG Lin¹, LIU Yi-ting¹, QI Yan-yan¹,
WANG Fang¹, JIANG Yun-tao¹, CHEN Yong-dui², ZHANG Zhong-kai², LI Gan-peng^{1*}¹Key Laboratory of Chemistry in Ethnic Medicinal Resources, State Ethnic Affairs Commission & Ministry of Education, School of Ethnic Medicine, Yunnan Minzu University, Kunming 650500, China;²Yunnan Provincial Key Laboratory of Agricultural Biotechnology, Key Lab of Southwestern Crop Gene Resource and Germplasm Innovation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Biotechnology and Germplasm Resources Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650223, China

Abstract: In order to explore the chemical constituents and its cytotoxic activity of stems and leaves of *Nicotiana rustica* L. from Yunnan, 12 compounds were isolated from the 95% ethanol extracts of the sample by using macroporous resin column chromatography, silica gel column chromatography, MCI column chromatography and Sephadex LH-20 gel column chromatography. Through the analysis of spectral data and references, their structures were identified as anatabin (1), *trans*-*N*-coumaroyltyramine (2), *N*-*trans*-feruloyltyramine (3), *N*-*trans*-caffeoyltyramine (4), 9-*epi*-blumenol C (5), (2*R*,3*S*)-[2,3,4,4-²H₄]-Hexadecanoic acid (6), *trans*-phytyl palmitate (7), oleanolic acid (8), *cis*-abienol (9), ursolic acid (10), dihydroactinidiolide (11), (1*S*,2*E*,4*R*,6*E*,8*R*,11*S*)-8,11-epoxy-2,6,12(20)-cembra-trien-4-ol (12). Compounds 5-7 were isolated from the *Nicotiana* genus for the first time. The effects of compounds 1-12 on human hepatoma cells SMMC-7721, Hep3β

收稿日期:2022-04-22 接受日期:2022-09-19

基金项目:国家自然科学基金(31860100)

* 通信作者 Tel:86-871-65936602; E-mail: ganpeng_li@sina.com

and human colon cancer LOVO cells were determined by CCK-8 method. Compounds **1-4**, **8-10** and **12** showed definite antitumor activity. Among them, compound **10** has a significant effect on human liver cancer Hep3 β and human colon cancer LOVO cells. The inhibition rate of cells was significantly higher than that of positive control drugs, the IC₅₀ values were 48.21 μ mol/L and 87.34 μ mol/L, respectively.

Key words: *Nicotiana rustica* L.; chemical constituents; structural identification; cytotoxic activity

黄花烟草 (*Nicotiana rustica* L.) 为茄科 (Solanaceae) 烟草属 (*Nicotiana* L.) 一年生或有限多年生草本植物, 原产于南美洲, 中国西南、西北部及山西、广东等省有栽培^[1]。黄花烟草本名淡巴菰, 俗名菸叶, 在我国云南地区被用作传统中药。据《云南天然药物图鉴》记载, 黄花烟草干燥全草可入药, 全草: 清热解毒, 发汗, 镇静, 催吐, 豁痰, 消食, 开膈降气。叶: 行气, 解毒^[2], 《滇南本草》记载黄花烟草性辛、味温, 有毒, 可用于疔疮肿毒、头癣、秃疮、毒蛇咬伤等症, 也被用作农药杀虫剂^[3]。文献报道指出黄花烟草中含有大量生物碱、萜类、黄酮类、苯丙素类、苯并呋喃酮类成分, 具有显著的抗烟草花叶病毒活性、抗艾滋病毒活性、抗肿瘤、抗菌及细胞毒活性等^[4-12]。

本研究对滇产黄花烟草茎叶的 95% 乙醇提取物的化学成分进行研究, 以期为黄花烟草的药理活性、临床应用等研究及其药用资源的进一步开发利用奠定基础, 对抗肿瘤药物开发也具有一定参考价值。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

核磁共振波谱仪 (AVANCEIII-400/600MHz, 德国 Bruker 公司); 电子分析天平 (Adventurer-TM, 上海奥豪斯仪器有限公司); 旋转蒸发器 (EYELA, 日本东京理化器械株式会社); 暗箱式三用紫外分析仪 (ZF-7, 上海嘉鹏科技有限公司); Series II Water Jacket CO₂ 培养箱 (美国 Thermo Scientific 有限公司); 荧光显微镜 (德国 Leica 有限公司)。CCK-8 试剂盒 (兰杰柯科技有限公司); 顺铂 (阿拉丁生化科技股份有限公司)。

柱色谱硅胶 (100~200、300~400 目, 青岛科谱分离材料有限公司); GF₂₅₄ 硅胶板 (50 mm × 100 mm, 青岛科谱分离材料有限公司); Sephadex LH-20 凝胶 (美国 GE 公司); CHP-20P MCI-Gel (日本岛津公司); AB-8 大孔树脂 (南开大学化工厂); 色谱层析用分析纯化学试剂 (上海泰坦化学有限公司); 色谱级甲醇 (美国 Fisher Scientific 公司); 氘代试剂

(上海麦克林生化科技有限公司); 纯净水 (娃哈哈); 碘、碘化铯钾、冰醋酸 (分析级, 阿达玛斯试剂有限公司); 硫酸乙醇显色剂-5% 硫酸乙醇溶液 (实验室自制); 碘化铯钾显色剂 (实验室自制)。

黄花烟草药材于 2019 年 3 月采自云南省曲靖市会泽县, 经云南中医药大学杨礼攀副教授鉴定为黄花烟草 (*Nicotiana rustica* L.) 的干燥茎叶。植物标本号为: NT201903HZ-02, 保存在云南民族大学药资源化学国家民委-教育部重点实验室标本室。实验用人肝癌 SMMC-7721、Hep3 β 细胞和人结肠癌 LOVO 细胞保存于云南民族大学民族医药学院药理实验中心。

1.2 实验方法

1.2.1 提取与分离

取干燥黄花烟草茎叶 32 kg 粉碎, 用 300 L 95% 乙醇水溶液回流提取 3 次 (每次 5 h), 合并 3 次提取液, 减压浓缩得总浸膏 5.35 kg。总浸膏过 400 目滤网, 滤液 (干重 4.38 kg) 经 60 L AB-8 大孔吸附树脂, 分别用水、95% 乙醇水溶液进行洗脱, 收集相应洗脱液, 减压浓缩得水洗脱组分 2.53 kg、95% 乙醇洗脱组分 1.85 kg。95% 乙醇洗脱组分再经 CHP-20P MCI 柱色谱, 分别用 30%、60%、95% 乙醇水溶液进行洗脱, 收集相应洗脱液, 减压浓缩得 30% 乙醇洗脱组分 563 g、60% 乙醇洗脱组分 62 g、95% 乙醇洗脱组分 25.7 g。取 30% 乙醇洗脱组分 (550 g) 用 1.0 kg 300~400 目硅胶拌样, 用 8.0 kg 300~400 目硅胶湿法装柱, 经硅胶柱色谱, 以二氯甲烷-甲醇 (1:0→0:1) 进行梯度洗脱, TLC 检测后合并、浓缩, 得到 8 个组分 (Fr. A~Fr. H): Fr. A (13.8 g)、Fr. B (129.1 g, 浸膏)、Fr. C (6.32 g)、Fr. D (99.4 g)、Fr. E (37.5 g)、Fr. F (18.1 g)、Fr. G (79.3 g)、Fr. H (17.2 g)。

Fr. C (6.32 g) 经 CHP-20P MCI 柱色谱, 分别用 10%、80%、100% 甲醇水溶液进行洗脱, 经 TLC 检测后合并、浓缩, 得到 3 个样品组分: Fr. C1 (0.47 g)、Fr. C2 (2.53 g)、Fr. C3 (2.33 g)。

Fr. C2 (2.53 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱

(甲醇)分离, TLC 检测后合并、浓缩, 共得到 5 个次级组分(Fr. C2. 1 ~ Fr. C2. 5); Fr. C2. 1 (200.0 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(甲醇)进行分离, TLC 检测后合并、浓缩, 得到 2 个组分(Fr. C2. 1. 1 ~ Fr. C2. 1. 2)。Fr. C2. 1. 2 (42.7 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(甲醇)分离、纯化得到化合物 **1** (3.9 mg)。Fr. C2. 3 (1.81 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(甲醇)分离, TLC 检测后合并、浓缩, 得到 3 个组分(Fr. C2. 3. 1 ~ Fr. C2. 3. 3)。Fr. C2. 3. 2 (104.0 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(二氯甲烷: 甲醇 = 1:1) 分离、纯化得到化合物 **2** (12.1 mg) 和 **3** (5.1 mg)。Fr. C2. 4 (0.91 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(甲醇)分离, TLC 检测后合并、浓缩, 得到 6 个次级组分(Fr. C2. 4. 1 ~ Fr. C2. 4. 6); Fr. C2. 4. 5 (0.71 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(二氯甲烷: 甲醇 = 1:1) 分离、纯化得到化合物 **5** (9.9 mg)。Fr. C2. 4. 6 (101.2 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(甲醇)分离、纯化得到化合物 **4** (5.7 mg)。

95% 乙醇洗脱组分 25.7 g 经 CHP-20P MCI 柱色谱, 分别用 10%、50%、80%、90%、100% 甲醇水溶液进行洗脱, 经 TLC 检测后合并、浓缩, 得到 5 个样品组分(Fr. 1 ~ Fr. 5), Fr. 1 (1.12 g)、Fr. 2 (2.01 g)、Fr. 3 (5.23 g)、Fr. 4 (3.10 g)、Fr. 5 (4.42 g)。

Fr. 3 (5.23 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(甲醇)分离, TLC 检测后合并、浓缩, 得到 3 个次级组分: Fr. 3. 1 (1.25 g)、Fr. 3. 2 (2.75 g)、Fr. 3. 3 (0.32 g)。Fr. 3. 2 (2.75 g) 用 5.5 g 300 ~ 400 目硅胶拌样, 35.0 g 300 ~ 400 目硅胶湿法装柱, 经硅胶柱色谱, 以石油醚: 乙酸乙酯(1:0→0:1) 进行梯度洗脱, TLC 检测后合并、浓缩, 得到 11 个组分(Fr. 3. 2. 1 ~ Fr. 3. 2. 11)。Fr. 3. 2. 4 (0.27 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(甲醇)分离, TLC 检测后合并、浓缩, 得到 4 个组分(Fr. 3. 2. 4. 1 ~ Fr. 3. 2. 3. 4)。Fr. 3. 2. 3. 3 (256.7 mg) 用 0.5 g 300 ~ 400 目硅胶拌样, 5.5 g 300 ~ 400 目硅胶湿法装柱, 经硅胶柱色谱, 以石油醚: 乙酸乙酯(1:0→0:1) 进行梯度洗脱, 经 TLC 检测后合并、纯化后得到化合物 **8** (10.1 mg)、**9** (9.9 mg)。Fr. 5 (4.42 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(甲醇)分离, TLC 检测后合并、浓缩, 得到 2 个次级组分: Fr. 5. 1 (0.88 g)、Fr. 5. 2 (2.63 g)。Fr. 5. 2 (2.63 g) 用 4.0 g 300 ~ 400 目硅胶拌样, 20.0 g 300 ~ 400 目硅胶湿法装柱, 经硅胶柱色谱, 以石油醚: 乙酸乙酯(1:0→0:1) 进行梯度洗脱, TLC 检测后合

并、浓缩, 得到 10 个组分(Fr. 5. 2. 1 ~ Fr. 5. 2. 10)。Fr. 5. 2. 5 (1.33 g) 用 2.0 g 300 ~ 400 目硅胶拌样, 12.0 g 300 ~ 400 目硅胶湿法装柱, 经硅胶柱色谱, 以石油醚: 乙酸乙酯(1:0→0:1) 进行梯度洗脱, TLC 检测后合并、浓缩, 得到 7 个组分(Fr. 5. 2. 5. 1 ~ Fr. 5. 2. 5. 7)。Fr. 5. 2. 5. 3 (411.7 mg) 用 1.0 g 300 ~ 400 目硅胶拌样, 6.0 g 300 ~ 400 目硅胶湿法装柱, 经硅胶柱色谱, 以石油醚: 乙酸乙酯(1:0→0:1) 进行梯度洗脱后得到 5 个新组分(a ~ e), a、d 部分经重结晶得到化合物 **6** (0.25 g) 和 **7** (0.13 g); e 部分 (195.3 mg) 用 0.5 g 300 ~ 400 目硅胶拌样, 5.0 g 300 ~ 400 目硅胶湿法装柱, 经硅胶柱色谱, 以石油醚: 乙酸乙酯(20:1) 进行洗脱, 分离、纯化后得到化合物 **11** (25.4 mg)。Fr. 5. 2. 5. 4 (206.6 mg) 用 0.5 g 300 ~ 400 目硅胶拌样, 4.5 g 300 ~ 400 目硅胶湿法装柱, 经硅胶柱色谱, 以石油醚: 乙酸乙酯(20:1) 进行洗脱, 经 TLC 检测、纯化后得到化合物 **10** (15.5 mg)、**12** (6.3 mg)。

1.2.2 细胞毒活性测试

实验采用 CCK-8 法, 以顺铂为阳性对照, 采用人肝癌 SMMC-7721 细胞、Hep3 β 细胞和人结肠癌 LOVO 细胞对化合物 **1** ~ **12** 进行筛选实验。

细胞培育: 人肝癌细胞 SMMC-7721、Hep3 β 和人结肠癌 LOVO 细胞分别培养于含 10% 胎牛血清、50 U/mL 青霉素和 50 μ g/mL 链霉素的高糖 DMEM 细胞培养基中, 置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中, 生长至 80% 融合度时, 0.25% 胰酶消化传代, 培养至对数生长期。

给药方法: 每孔 5×10^3 个细胞培养于 96 孔板中, 24 h 后弃培养液, 加入 50 μ mol/L 的化合物含药培养基, 以不含药孔为对照, 以 50 μ mol/L 的顺铂作为阳性药, 孵育 48 h 后, 每孔加入 100 μ L 新鲜培养基及 10 μ L CCK-8 试剂, 孵育 4 h, 应用酶标仪检测 450 nm 波长吸光度, 计算抑制率, 计算公式如下。以 6.25、12.5、25、50、100 μ mol/L 的梯度浓度测定化合物 **10** 的 IC₅₀ 值。

$$\text{抑制率} = \frac{A_{\text{对照}} - A_{\text{样品}}}{A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}} \times 100\%$$

2 实验结果

2.1 结构鉴定

化合物 **1** 黄色油状液体; EI-MS: m/z 160 [M]⁺, 分子式为 C₁₀H₁₂N₂。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 8.59 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-2), 8.50 (1H,

$dd, J = 4.8, 1.8 \text{ Hz}, H-6), 7.74 (1H, dt, J = 7.8, 2.1, 1.5 \text{ Hz}, H-4), 7.27 (1H, dd, J = 8.0, 4.8 \text{ Hz}, H-5), 5.84 (2H, m, H-4', 5'), 3.90 (1H, dd, J = 8.4, 6.0 \text{ Hz}, H-2'), 3.49 \sim 3.63 (2H, m, H-6'), 2.26 \sim 2.32 (2H, m, H-3')$; $^{13}\text{C NMR} (150 \text{ MHz}, \text{CDCl}_3) \delta: 148.8 (C-2), 123.7 (C-3), 134.3 (C-4), 140.0 (C-5), 148.9 (C-6), 55.4 (C-2'), 34.0 (C-3'), 126.4 (C-4'), 125.3 (C-5'), 46.1 (C-6')$ 。以上数据与文献^[13]报道基本一致,故鉴定化合物为安那他品。

化合物 2 白色无定形粉末; EI-MS: m/z 283 $[M]^+$, 分子式为 $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{NO}_3$ 。 $^1\text{H NMR} (400 \text{ MHz}, \text{CD}_3\text{OD}) \delta: 7.44 (1H, d, J = 15.8 \text{ Hz}, H-7), 7.40 (2H, d, J = 8.6 \text{ Hz}, H-2, 6), 7.05 (2H, d, J = 8.6 \text{ Hz}, H-2', 6'), 6.79 (2H, d, J = 8.6 \text{ Hz}, H-3, 5), 6.72 (2H, d, J = 8.4 \text{ Hz}, H-3', 5'), 6.38 (1H, d, J = 15.6 \text{ Hz}, H-8), 3.46 (2H, t, J = 7.6 \text{ Hz}, H-8'), 2.75 (2H, t, J = 7.4 \text{ Hz}, H-7')$; $^{13}\text{C NMR} (100 \text{ MHz}, \text{CD}_3\text{OD}) \delta: 127.7 (C-1), 130.5 (C-2, 6), 116.2 (C-3, 5), 160.5 (C-4), 141.7 (C-7), 118.4 (C-8), 169.2 (C-9), 131.3 (C-1'), 130.7 (C-2', 6'), 116.7 (C-3', 5'), 156.9 (C-4'), 35.8 (C-7'), 42.5 (C-8')$ 。以上数据与文献^[14]报道基本一致,故鉴定化合物为反式-*N*-香豆酰酪胺。

化合物 3 白色无定形粉末; EI-MS: m/z 313 $[M]^+$, 分子式为 $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NO}_4$ 。 $^1\text{H NMR} (400 \text{ MHz}, \text{CD}_3\text{OD}) \delta: 7.44 (1H, d, J = 15.6 \text{ Hz}, H-7), 7.12 (1H, s, H-2), 7.05 (2H, d, J = 8.4 \text{ Hz}, H-2', 6), 7.01 (1H, dd, J = 8.4, 2.0 \text{ Hz}, H-6), 6.79 (1H, d, J = 8.2 \text{ Hz}, H-5), 6.76 (2H, d, J = 8.6 \text{ Hz}, H-3', 5'), 6.41 (H, d, J = 15.6 \text{ Hz}, H-8), 3.88 (3H, s, 3-OCH₃), 3.46 (2H, t, J = 7.6 \text{ Hz}, H-8'), 2.75 (2H, t, J = 7.4 \text{ Hz}, H-7')$; $^{13}\text{C NMR} (100 \text{ MHz}, \text{CD}_3\text{OD}) \delta: 128.2 (C-1), 111.4 (C-2), 149.2 (C-3), 149.8 (C-4), 116.4 (C-5), 123.2 (C-6), 42.0 (C-7), 118.6 (C-8), 169.1 (C-9), 131.5 (C-1'), 130.7 (C-2, 6'), 116.2 (C-3', 5'), 156.9 (C-4'), 35.8 (C-7'), 42.5 (C-8'), 56.3 (O-CH₃)$ 。以上数据与文献^[15]报道基本一致,故鉴定化合物为*N*-反式-阿魏酰酪胺。

化合物 4 淡黄色固体粉末; EI-MS: m/z 299 $[M]^+$, 分子式为 $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{NO}_4$ 。 $^1\text{H NMR} (400 \text{ MHz}, \text{CD}_3\text{OD}) \delta: 7.38 (1H, d, J = 15.7 \text{ Hz}, H-7), 7.05 (2H, d, J = 8.4 \text{ Hz}, H-2', 6'), 6.99 (1H, d, J = 2.1 \text{ Hz}, H-2), 6.90 (1H, dd, J = 8.2, 2.1 \text{ Hz}, H-6), 6.76$

$(1H, d, J = 8.2 \text{ Hz}, H-5), 6.71 (2H, d, J = 8.4 \text{ Hz}, H-3', 5'), 6.33 (1H, d, J = 15.7 \text{ Hz}, H-8), 3.45 (2H, dd, J = 8.2, 6.7 \text{ Hz}, H-8'), 2.74 (2H, t, J = 7.4 \text{ Hz}, H-7')$; $^{13}\text{C NMR} (100 \text{ MHz}, \text{CD}_3\text{OD}) \delta: 128.3 (C-1), 116.4 (C-2), 146.7 (C-3), 148.7 (C-4), 118.3 (C-5), 122.1 (C-6), 114.9 (C-7), 142.1 (C-8), 169.3 (C-9), 131.3 (C-1'), 130.7 (C-2', 6'), 116.2 (C-3', 5'), 156.9 (C-4'), 35.8 (C-7'), 42.6 (C-8')$ 。以上数据与文献^[16]报道基本一致,故鉴定化合物为*N*-反式-咖啡酰酪胺。

化合物 5 白色固体粉末; EI-MS: m/z 210 $[M]^+$, 分子式为 $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}_2$ 。 $^1\text{H NMR} (400 \text{ MHz}, \text{CD}_3\text{OD}) \delta: 5.81 (1H, s, H-4), 3.69 (1H, m, H-9), 2.43 (1H, d, J = 17.4 \text{ Hz}, H-2a), 2.04 (3H, d, J = 1.0 \text{ Hz}, H-13), 2.00 (1H, d, J = 17.0 \text{ Hz}, H-2b), 1.96 (1H, m, H-6), 1.92 (3H, s, H-13), 1.70 (3H, m, H-8, 7b), 1.24 (1H, m, H-7a), 1.17 (3H, d, J = 7.0 \text{ Hz}, H-10), 1.09 (3H, s, H-11), 1.00 (3H, s, H-12)$; $^{13}\text{C NMR} (100 \text{ MHz}, \text{CD}_3\text{OD}) \delta: 37.3 (C-1), 48.1 (C-2), 202.2 (C-3), 125.4 (C-4), 169.7 (C-5), 52.4 (C-6), 27.3 (C-7), 39.8 (C-8), 68.8 (C-9), 27.4 (C-10), 29.0 (C-12), 23.5 (C-11), 24.9 (C-13)$ 。以上数据与文献^[17]报道基本一致,故鉴定化合物为 9-epi-blumenol C。

化合物 6 白色无定形粉末; EI-MS: m/z 256 $[M]^+$, 分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$ 。 $^1\text{H NMR} (400 \text{ MHz}, \text{CDCl}_3) \delta: 11.23 (1H, s, -COOH), 2.35 (2H, t, J = 8.4 \text{ Hz}, H-2), 1.64 (1H, d, J = 8.4 \text{ Hz}, H-3), 1.37 \sim 1.25 (24H, m, 12 \times \text{CH}_2), 0.88 (3H, t, J = 7.1 \text{ Hz}, H-16)$; $^{13}\text{C NMR} (100 \text{ MHz}, \text{CDCl}_3) \delta: 180.1 (-COOH), 34.2 (C-2), 24.8 (C-3), 29.9 (C-4), 29.8 (C-5), 29.8 (C-6), 29.8 (C-7), 29.8 (C-8), 29.6 (C-9), 29.5 (C-10), 29.4 (C-11), 29.3 (C-12), 29.2 (C-13), 32.1 (C-14), 22.9 (C-15), 14.3 (C-16)$ 。以上数据与文献^[18]报道基本一致,故鉴定化合物为 (2*R*,3*S*)-[2,3,4,4-²H₄]-hexadecanoic acid。

化合物 7 白色无定形粉末; EI-MS: m/z 534 $[M]^+$, 分子式为 $\text{C}_{36}\text{H}_{70}\text{O}_2$ 。 $^1\text{H NMR} (400 \text{ MHz}, \text{CDCl}_3) \delta: 5.41 (1H, t, J = 7.0 \text{ Hz}, H-2'), 4.16 (2H, d, J = 7.0 \text{ Hz}, H-1'), 2.34 (2H, t, J = 8.0 \text{ Hz}, H-2), 2.01 (2H, t, J = 7.0 \text{ Hz}, H-4'), 1.89 (3H, s, 3'-CH₃), 1.64 (2H, m, H-3), 1.53 (1H, m, H-15'), 1.35-1.25 (36H, s, H-4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13,$

14, 15, 5', 7', 9', 11', 12', 13'), 1.10 (2H, m, H-14'), 1.00 (6H, m, H-6', 8', 10'), 0.86 (3H, m, H-16), 0.84 (6H, m, H-15, 16'), 0.78 (6H, m, H-7', 11'); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 172.8 (C-1), 32.9 (C-2), 25.2 ~ 24.7 (C-3, 5', 9', 13'), 29.8 ~ 29.5 (C-4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13), 32.1 (C-14), 22.8 (C-15), 14.3 (C-16), 63.2 (C-1'), 123.1 (C-2'), 140.5 (C-3'), 16.3 (C-3'), 40.0 (C-4'), 37.5 ~ 37.4 (C-6', 8', 10'), 32.7 (C-7', 11'), 19.9 (C-7', 9'), 36.8 (C-12'), 39.5 (C-14'), 28.1 (C-15'), 22.7 (C-15', 16'). 以上数据与文献^[19]报道基本一致,故鉴定化合物为 *trans*-phytyl palmitate。

化合物 8 白色无定形粉末; EI-MS: *m/z* 456 [M]⁺, 分子式为 C₃₀H₄₈O₃。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 5.24 (1H, s, H-12), 3.15 (1H, d, *J* = 7.0 Hz, H-3), 2.85 (1H, dd, *J* = 11.2 Hz, H-18), 1.16, 0.97, 0.94, 0.94, 0.91, 0.81, 0.78 (CH₃ × 7, H-23, 24, 25, 26, 27, 29, 30); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ: 38.2 (C-1), 27.9 (C-2), 79.6 (C-3), 39.8 (C-4), 56.7 (C-5), 19.5 (C-6), 34.0 (C-7), 40.5 (C-8), 47.6 (C-9), 39.8 (C-10), 24.0 (C-11), 123.6 (C-12), 145.2 (C-13), 42.9 (C-14), 28.7 (C-15), 24.0 (C-16), 48.5 (C-17), 42.7 (C-18), 47.2 (C-19), 31.6 (C-20), 34.9 (C-21), 33.5 (C-22), 28.8 (C-23), 15.9 (C-24), 16.3 (C-25), 17.7 (C-26), 26.4 (C-27), 181.9 (-COOH, C-28), 33.8 (C-29), 24.5 (C-30)。以上数据与文献^[20]报道基本一致,故鉴定化合物为齐墩果酸。

化合物 9 无色油状物; EI-MS: *m/z* 290 [M]⁺, 分子式为 C₂₀H₃₄O。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 6.88 (1H, dd, *J* = 17.4, 10.8 Hz, H-14), 5.50 (1H, t, *J* = 7.6 Hz, H-12), 5.20 (1H, d, *J* = 17.6 Hz, H-15b), 5.11 (1H, d, *J* = 10.8 Hz, H-15a), 1.79 (3H, s, H-16), 1.19 (3H, s, H-17), 0.87 (3H, s, H-20), 0.83 (3H, s, H-19), 0.79 (3H, s, H-18); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 40.2 (C-1), 18.7 (C-2), 42.0 (C-3), 33.4 (C-4), 56.2 (C-5), 20.4 (C-6), 44.1 (C-7), 74.4 (C-8), 62.3 (C-9), 39.1 (C-10), 23.3 (C-11), 133.9 (C-12), 131.0 (C-13), 133.7 (C-14), 113.9 (C-15), 20.1 (C-16), 24.6 (C-17), 33.6 (C-18), 21.7 (C-19), 15.6 (C-20)。以上数据与文献^[21]报道基本一致,故鉴定化合物为顺-冷杉醇。

化合物 10 白色粉末状结晶; ESI-MS: *m/z*

457.36 [M + H]⁺, 分子式为 C₃₀H₄₈O₃。¹H NMR (400 MHz, C₅D₅N-*d*₅) δ: 5.88 (1H, brs, H-12), 3.48 (1H, dd, *J* = 6.4, 10.2 Hz, H-3), 2.67 (1H, d, *J* = 11.2 Hz, H-18), 1.27 (3H, s, H-23), 1.24 (3H, s, H-27), 1.04 (3H, s, H-25), 1.02 (3H, s, H-26), 1.00 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-29), 0.96 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-30), 0.89 (3H, s, H-24); ¹³C NMR (100 MHz, C₅D₅N-*d*₅) δ: 39.8 (C-1), 28.6 (C-2), 78.6 (C-3), 39.5 (C-4), 56.3 (C-5), 19.2 (C-6), 34.0 (C-7), 39.9 (C-8), 48.5 (C-9), 37.9 (C-10), 24.1 (C-11), 126.1 (C-12), 139.7 (C-13), 42.9 (C-14), 29.3 (C-15), 25.4 (C-16), 48.4 (C-17), 54.0 (C-18), 40.4 (C-19), 39.9 (C-20), 31.5 (C-21), 37.7 (C-22), 29.1 (C-23), 17.0 (C-24), 16.2 (C-25), 17.9 (C-26), 24.4 (C-27), 180.4 (C-28), 18.0 (C-29), 21.9 (C-30)。以上数据与文献^[22]报道基本一致,故鉴定化合物为熊果酸。

化合物 11 无色油状物; ESI-MS: *m/z* 181.12 [M + H]⁺, 分子式为 C₁₁H₁₆O₂。¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ: 4.91 (1H, s, H-3), 1.81 (2H, m, H-6), 1.76 (1H, m, H-4), 1.57 (3H, d, *J* = 0.6 Hz, H-10), 1.45 (2H, dt, *J* = 4.8 Hz, H-5), 1.34 (1H, m, H-6), 1.29 (3H, s, H-8), 1.26 (3H, s, H-9); ¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz) δ: 185.4 (C-2), 112.9 (C-3), 174.3 (C-3a), 37.7 (C-4), 41.2 (C-5), 20.6 (C-6), 42.7 (C-7), 89.3 (C-7a), 24.7 (C-8), 30.1 (C-9), 24.7 (C-10)。以上数据与文献^[23]报道基本一致,故鉴定化合物为二氢猕猴桃内酯。

化合物 12 淡黄色油状物; ESI-MS: *m/z* 305.24 [M + H]⁺, 分子式为 C₂₀H₃₂O₂。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ: 5.49 (1H, d, *J* = 16.6 Hz, H-7), 5.40 (1H, d, *J* = 15.7 Hz, H-3), 5.26 (1H, dt, *J* = 16.6, 6.4 Hz, H-6), 5.13 (1H, d, *J* = 15.7 Hz, H-2), 5.00 (1H, br d, *J* = 1.6 Hz, Ha-20), 4.87 (1H, br t, *J* = 1.6 Hz, Hb-20), 1.37 (3H, s, H-16), 1.31 (3H, s, H-19), 0.88 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-16), 0.84 (3H, d, *J* = 6.7 Hz, H-17); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ: 50.6 (C-1), 131.9 (C-2), 138.0 (C-3), 73.8 (C-4), 121.1 (C-6), 140.4 (C-7), 83.2 (C-8), 33.6 (C-9), 31.7 (C-10), 85.9 (C-11), 150.0 (C-12), 35.7 (C-13), 26.9 (C-14), 32.1 (C-15), 20.8 (C-16), 19.9 (C-17), 24.7 (C-18), 28.7 (C-19), 113.4 (C-20)。以上数据与文献^[24]报道基本一致,故鉴定化合物为

(1*S*,2*E*,4*R*,6*E*,8*R*,11*S*)-8,11-epoxy-2,6,12(20)-
cembratrien-4-ol。

化合物 **1** ~ **12** 的结构见图 1。

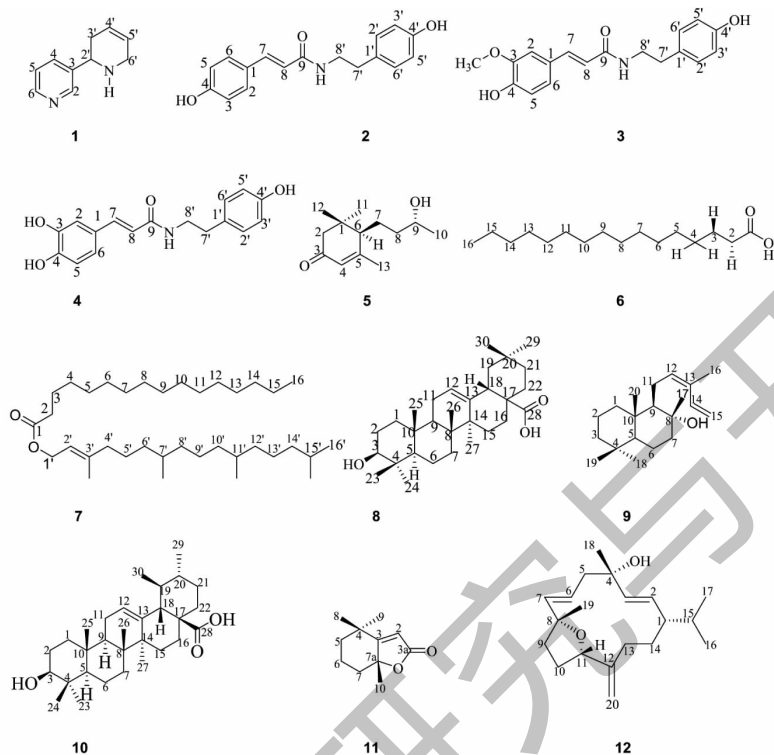


图 1 化合物 **1** ~ **12** 的结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds **1-12**

2.2 细胞毒活性测试结果

实验结果(见表 1)显示,化合物 **1**、**2**、**3**、**4**、**8**、**9**、**10**、**12** 对人肝癌 SMMC-7721、Hep3β 和人结肠癌 LOVO 细胞均显示出一定细胞毒活性。

化合物 **1** ~ **4**、**8** ~ **10**、**12** 对人肝癌 SMMC-7721 细胞有细胞毒活性,其余化合物并无抑制活性(抑

制率 < 0)。化合物 **1** ~ **12** 对人肝癌 Hep3β 细胞有细胞毒活性,化合物 **10** 的抑制率略高于阳性对照药,其 IC₅₀ 值为 48.21 μmol/L。化合物 **1** ~ **5**、**7** ~ **10**、**12** 对人结肠癌 LOVO 细胞有细胞毒活性,化合物 **10** 的抑制率略高于阳性对照药,其 IC₅₀ 值为 87.34 μmol/L。

表 1 化合物 **1** ~ **12** 的体外细胞毒活性($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Cytotoxic activity *in vitro* of compounds **1-12** ($\bar{x} \pm s, n=3$)

| 化合物 Compound | 抑制率 Inhibition rate (%) | | |
|-----------------|-------------------------|--------------|--------------|
| | SMMC-7721 | Hep3β | LOVO |
| 顺铂 Cisplatin | 89.16 ± 3.53 | 82.57 ± 3.99 | 86.51 ± 3.99 |
| 1 | 10.03 ± 6.90 | 2.95 ± 1.79 | 23.11 ± 4.18 |
| 2 | 2.09 ± 1.20 | 1.85 ± 3.92 | 1.79 ± 0.97 |
| 3 | 1.84 ± 1.30 | 11.09 ± 5.55 | 18.91 ± 1.00 |
| 4 | 32.00 ± 12.8 | 23.88 ± 4.03 | 38.65 ± 2.26 |
| 5 | — | 4.96 ± 5.10 | 11.72 ± 5.59 |
| 6 | — | 4.87 ± 1.24 | — |
| 7 | — | 11.75 ± 2.22 | 4.59 ± 1.15 |

续表 1 (Continued Tab. 1)

| 化合物 Compound | 抑制率 Inhibition rate (%) | | |
|-----------------|-------------------------|-------------------|-------------------|
| | SMMC-7721 | Hep3 β | LOVO |
| 8 | 1.54 \pm 1.62 | 21.60 \pm 2.98 | 25.55 \pm 3.65 |
| 9 | 21.70 \pm 2.90 | 10.78 \pm 2.32 | 16.41 \pm 3.08 |
| 10 | 8.53 \pm 3.31 | 87.60 \pm 3.10* | 91.57 \pm 1.44* |
| 11 | - | 3.68 \pm 0.79 | - |
| 12 | 57.89 \pm 1.97 | 23.44 \pm 3.11 | 26.19 \pm 2.69 |

注：“-”表示无活性；与顺铂相比，* $P < 0.05$ 。

Note：“-” means no activity; Compared with cisplatin, * $P < 0.05$.

3 结论

本文对滇产黄花烟草的化学成分和细胞毒活性进行了研究,从其茎叶的 95% 乙醇提取物中分离得到了 12 个单体化合物,其中化合物 5、6、7 为首次从烟草属植物中分离得到。细胞毒活性结果显示化合物 1~4、8~10、12 对 3 种癌细胞均表现出一定的细胞毒活性,其中化合物 10 的抑制活性略高于阳性对照药顺铂。化合物 1~4 为生物碱类成分,化合物 5 为紫罗兰酮类成分,化合物 6、8、10 为有机酸类成分、化合物 7 为有机酯类成分,化合物 9、12 为萜类成分,化合物 11 为苯并呋喃酮类成分。相较于已有研究,本研究虽并未发现新化合物,但在一定程度上丰富了滇产黄花烟草化学成分及生物活性研究。烟草属植物中所含成分复杂,尚有大量结构新颖、活性显著的成分亟待发掘,本研究为后续关于黄花烟草和烟草属植物的药理活性研究,特别是为推动烟草属植物进一步的临床应用和阐明其发挥药理活性的药效物质基础提供数据参考和理论支持。

参考文献

- 1 Editorial Committee of Flora of China, Chinese Academy of Sciences. Flora of China (中国植物志) [M]. Beijing Science and Technology Press, Beijing, 1978:150.
- 2 Fu HM, Wei H, Liu ZL. Advances in herbal textual research and medicinal research of tobacco [J]. J Pharm Pract (药学实践杂志), 2005, 23: 321-325.
- 3 Yunnan Institute of Medicine. Yunnan Natural Medicine Atlas, Vol 6 (云南天然药物图鉴: 第六卷) [M]. Kunming: Yunnan Science and Technology Press, 2012, 12: 389.
- 4 Warfield AH, Galloway WD, Kallianos AG, et al. Some new alkaloids from burley tobacco [J]. Phytochemistry, 1972, 11: 3371-3375.
- 5 Yang CY, Mo LJ, Sun PL. Review on chemical constituents and bioactivities of *Nicotiana tabacum* [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2016, 28: 1657-1663.

- 6 Yang CY, Geng CA, Huang XY, et al. Noreudesmane sesquiterpenoids from the leave of *Nicotiana tabacum* [J]. Fitoterapia, 2014, 96: 81-87.
- 7 Feng X, Wang JS, Kong LY. Two new sesquiterpene glucosides from the leaves of *Nicotiana tabacum* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2009, 11: 675-680.
- 8 Yang CY, Geng CA, Ma YB, et al. Two new sesquiterpenoid glycosides from *Nicotiana tabacum* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2014, 16: 611-616.
- 9 Liu ZH, Hang JM, Zhao W, et al. 2-Arylbzofurans from the leaves of oriental tobacco and their cytotoxicity [J]. Asian J Chem, 2013, 25: 8278-8280.
- 10 Zhang FM, Xia JJ, Yang PS, et al. Three new phenylpropanoids from the leaves of Yunnan local sun cured tobacco and their bioactivities [J]. Heterocycles, 2016, 92: 1857-1863.
- 11 Shi JL, Xu XM, Liu CB, et al. Two new benzolactones from the leaves of Yunnan local sun cured tobacco and their bioactivities [J]. Chem Nat Compd, 2018, 54: 238-241.
- 12 Shen QP, Xu XM, Zhang FM, et al. Two new isobenzofurans from Yunnan local sun-cured tobacco and their cytotoxicity [J]. Chem Nat Compd, 2017, 53: 59-62.
- 13 Anne Rouchaud, William R. Kem. A convenient racemic synthesis of two isomeric tetrahydropyridyl alkaloids: isoanatabine and anatabine [J]. J Heterocyclic Chem, 2010, 47: 569-581.
- 14 Feng WM, Han ZJ, Wang ZT. Chemical constituents from *Dioscorea Opposite* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2018, 49: 5034-5039.
- 15 Kim JK, Heo HY, Park SJ, et al. Characterization of phenethyl cinnamamide compounds from hemp seed and determination of their melanogenesis inhibitory activity [J]. ACS Omega, 2021, 6: 31945-31954.
- 16 Zheng XH, Chen F, Liang QP, et al. Amide constituents from the root of *Lycium yunnanense* Kuang and their anti-inflammatory activity [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2018, 30: 603-609.