

(OMe-3), 55.6(OMe-3'), 100.2(β -glu-1"), 73.3(β -glu-2"), 76.9(β -glu-3"), 69.7(β -glu-4"), 77.0(β -glu-5"), 58.6(β -glu-6"). 根据以上证据及文献报道^[3], 确定化合物Ⅱ为落叶松脂素-4-O- β -D-葡萄糖苷。

化合物Ⅲ: 无色结晶(MeOH), mp 200~203 °C; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3 416(OH), 1 630, 1 513(苯环), 1 412(C-O); ESI-MS m/z : 707 ($M^+ + Na$), 724 ($M^+ + K$), 683 ($M^+ - 1$); ¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 7.01(1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5), 6.98(1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5'), 6.88(1H, br, H-2), 6.81(1H, br, H-2'), 6.80(1H, d, br, $J=8.4$ Hz, H-6), 6.67(1H, d, br, $J=8.4$ Hz, H-6'), 4.70(1H, d, $J=6.0$ Hz, H-7), 2.49(1H, dd, $J=13.4, 4.1$ Hz, H-7' α), 2.84(1H, dd, $J=13.4, 4.1$ Hz, H-7' β), 2.19(1H, m, H-8), 2.60(1H, m, H-8'), 3.49(1H, m, H-9 α), 3.67(1H, m, H-9 β), 3.57(1H, m, H-9' α), 3.89(1H, m, H-9' β), 3.74(3H, s, OMe), 3.74(3H, s, OMe), 4.82(1H, d, $J=6.8$ Hz, β -glu-1"), 4.85(1H, d, $J=6.8$ Hz, β -glu-1"); ¹³C-NMR (DMSO-d₆) δ : 137.6(C-1), 110.20(C-2), 148.8(C-3), 145.6(C-4), 115.2(C-5), 117.8(C-6), 81.6(C-7), 52.4(C-8), 58.6(C-9), 134.7(C-1'), 113.2(C-2'), 148.8(C-3'), 144.9(C-4'), 115.5(C-5'), 120.4(C-6'), 32.1(C-7'), 41.8(C-8'), 71.9(C-9'), 55.7(OMe-3), 55.7(OMe-3'), 100.4(β -glu-1"), 100.3(β -glu-1"), 73.2

(β -glu-2", 2"), 76.8(β -glu-3", 3"), 69.7(β -glu-4", 4"), 77.0(β -glu-5", 5"), 60.7(β -glu-6", 6"). 根据以上证据及文献报道^[4], 确定化合物Ⅲ为落叶松脂素-4,4'-O-二- β -D-葡萄糖苷。

化合物Ⅳ: 白色针状晶体, mp 191~193 °C; 根据 IR、ESI-MS、¹H-NMR、¹³C-NMR 光谱数据及文献报道^[5], 确定化合物Ⅳ为紫丁香苷。

化合物Ⅴ: 白色结晶(MeOH), mp 185~187 °C; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3 416(OH), 1 594, 1 506(苯环), 1 463, 1 422(C-O); ESI-MS m/z : 856 ($2M^+ - 2 + 2Na$), 896 ($2M^+ - 2 + 2Na + K$); ¹H-NMR、¹³C-NMR 数据见表 1。

致谢: 质谱由上海医药工业研究院王惠敏老师代测, 红外光谱由陈谊老师代测。

References:

- [1] Li B, Chen W S, Zheng S Q, *et al.* Two new alkaloids isolated from tetraploidy Banlangen [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2000, 35(7): 508-510.
- [2] Chang Y D, Charles H P, John M P, *et al.* Plant anticancer agents XL I. Cytotoxic constituents from *Wikstroemia elliptica* [J]. *J Nat Prod*, 1986, 49(4): 706-709.
- [3] Kizu H, Shimana H, Tomimori T, *et al.* Studies on the constituents of clematis species V. The constituents of *Clematis stans* Sieb. et Zucc. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1995, 43(12): 2187-2194.
- [4] Gamal A A E, Takeya K, Itokawa H, *et al.* Lignan bis-glucosides from *Galium sinaicum* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 45(3): 597-600.
- [5] Wang M, S. Studies on the constituents of *Daphne giraldii* Nitsche (Ⅲ) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1980, 11(19): 389-390.

密脉鹅掌柴的化学成分及其抗肿瘤活性

刘睿¹, 顾谦群¹, 崔承彬^{1,2*}, 韩冰³, 蔡兵³, 刘红兵¹

(1. 海洋药物教育部重点实验室、中国海洋大学海洋药物与食品研究所, 山东 青岛 266003; 2. 军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850; 3. 天津生物医药研究所, 天津 300384)

摘要: 目的 阐明民间用于癌症治疗的密脉鹅掌柴 *Schefflera venulosa* 的化学成分及其抗肿瘤活性。方法 用小鼠乳腺癌 tsFT210 细胞的流式细胞术筛选模型, 确定抗肿瘤活性部位; 利用 Sephadex LH-20、硅胶等柱色谱, 分离活性部位的化学成分; 根据理化性质和波谱数据鉴定化合物的化学结构, 用流式细胞术和 SRB 法初步评价化合物对 tsFT210 和 K562 细胞的抗肿瘤活性。结果 从密脉鹅掌柴活性部位分离鉴定了 9 个化合物: 2-羟基-3 苯胺羰基-1-偶氮苯基-萘(Ⅰ)、大黄酚(Ⅱ)、2,6-二甲氧基对苯醌(Ⅲ)、正十六烷酸(Ⅳ)、正十八烷酸(Ⅴ)、正二十六烷酸(Ⅵ)、4,22-二烯-3-酮豆甾烷(Ⅶ)、5,22-二烯-7-酮-3 β -羟基豆甾烷(Ⅷ)和 β -谷甾醇(Ⅸ); 活性测试结果表明化合物Ⅱ、Ⅲ对 K562 细胞有增殖抑制活性, 其 IC₅₀ 值分别为 52.50 和 25.50 μ g/mL, 化合物Ⅳ对在 30 μ g/mL 的低浓度对 tsFT210 细胞具有细胞周期 G₂/M 期抑制活性, 而在 100 μ g/mL 的高浓度时却呈现显著的细胞周期 G₂/M 期抑制。

收稿日期: 2004-07-15

基金项目: 国家杰出青年科学基金资助项目(39825126); 国家 973 项目(G1998051113); 教育部长江学者奖励计划基金资助

作者简介: 刘睿, 女, 博士研究生。Tel: (0532) 2032065 E-mail: babyliurui@hotmail.com

* 通讯作者 Tel: (010) 86301131 E-mail: cuicb@sohu.com

和细胞凋亡诱导活性。**结论** 化合物 I 为新天然产物,中文俗名为 808 猩红(808 Scarlet),除 β -谷甾醇外,其余均系首次从密脉鹅掌柴中分离得到。化合物 III 的抗肿瘤活性为首次发现,化合物 II ~ IV 为该植物抗肿瘤活性成分为首次报道。

关键词: 密脉鹅掌柴;偶氮化合物;醌类化合物;脂肪酸类;抗肿瘤活性

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)03-0328-05

Chemical constituents of *Schefflera venulosa* and their antitumor activities

LIU Rui¹, GU Qian-qun¹, CUI Cheng-bin^{1,2}, HAN Bing³, CAI Bing³, LIU Hong-bing¹

(1. Key Laboratory of Marine Drugs of Chinese Ministry of Education, Marine Drug and Food Institute, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Institute of Toxicology and Pharmacology, Academy of Military Medical

Science, Beijing 100850, China; 3. Tianjin Institute for Biomedicinal Research, Tianjin 300384, China)

Abstract: **Objective** To investigate the antitumor constituents from *Schefflera venulosa*, a Chinese folk medicine used for the treatment of cancer. **Methods** Bioactive fractions were obtained from the crude extract of *S. venulosa*, and the chemical constituents of the fraction were investigated to obtain pure compounds by the combined use of column chromatography over Sephadex LH-20 method. The structures of the obtained compounds were elucidated by spectroscopic method and the antitumor activities were assayed using mouse tsFT210 cells and K562 cell line by flow cytometry and SRB method. **Results** Nine pure compounds were isolated from the bioactive fractions of the crude extract of *S. venulosa* and they were identified as 2-hydroxy-3-(phenylaminocarbonyl)naphthalene-1-azobenzene (I), chrysophanol (II), 2,6-dimethoxyl *p*-benzoquinone (III), *n*-hexadecanoic acid (IV), *n*-stearic acid (V), *n*-hexacosic acid (VI), stigmasta-4, 22-dien-3-one (VII), 3 β -hydroxystigmasta-5, 22-dien-7-one (VIII), β -sitosterol (IX), respectively. Among them, II and III inhibited the K562 cells with IC₅₀ (52.50 and 25.50 μ g/mL), respectively, and compound IV inhibited the cell cycle of tsFT210 cells at the G₂/M phase. **Conclusion** Compound I is a new natural product named as 808 Scarlet and II - VIII are isolated from *S. venulosa* for the first time. The antitumor activity of compound III has been found first. Compounds II - IV provide the first example of antitumor constituents of the same plant.

Key words: *Schefflera venulosa* (Wight et Arn.) Harms.; azo compounds; quinone compounds; fatty acids; antitumor activity

密脉鹅掌柴 *Schefflera venulosa* (Wight et Arn.) Harms, 又名七叶莲, 是五加科鹅掌柴属植物, 广泛分布于两半球的热带地区。本属植物多具有祛风止痛、疏通经络、发汗解表、活血消肿的作用^[1]。在对我国西南热带药用植物进行细胞周期抑制剂和细胞凋亡诱导剂的筛选中发现密脉鹅掌柴醇提物具有显著的细胞周期抑制和细胞坏死活性^[2,3], 且目前仅见对其甾类及三萜类成分的化学研究^[4,5], 而对其抗肿瘤活性及其成分尚未见报道。本实验采用 tsFT210 细胞流式细胞术活性筛选模型, 通过活性跟踪分离得到活性组分 1, 2, 并从活性组分 2 中分离鉴定了一个新天然产物: 2-羟基-3-苯胺羰基-1-偶氮苯基-萘(I); 2 个醌类化合物: 大黄酚(II)和 2,6-二甲氧基对苯醌(III); 3 个脂肪酸类化合物: 正十六烷酸(IV)、正十八烷酸(V)和正二十六烷酸(VI)及 3 个甾类: 4,22-二烯-3-酮豆甾烷(VII)、5,22-二烯-

7-酮-3 β -羟基豆甾烷(VIII)和 β -谷甾醇(IX)共 9 个化合物, 活性测试发现化合物 II 和 III 对 K562 细胞具有增殖抑制作用, IV 在高浓度时能将 tsFT210 细胞的细胞周期抑制在 G₂/M 期并诱发 tsFT210 细胞发生凋亡。这 3 个活性化合物为代表该组分抗肿瘤活性的成分且 III 的抗肿瘤活性为首次报道。其中化合物 I 为新天然产物, II ~ VIII 系首次从密脉鹅掌柴中分离得到, 化合物 I 的化学结构式见图 1。

1 仪器和材料

日本 Yanaco 公司 MP-500D 型显微熔点仪。美国 Nicolet Nexus

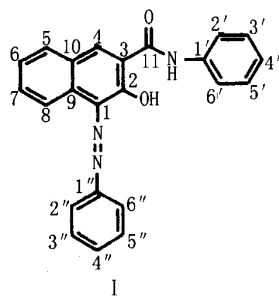


图 1 化合物 I 的化学结构
Fig. 1 Chemical structure of compound I

470 红外光谱仪。Mariner API-TOF 型质谱仪。日本 JEOL JNM-ECP600 型核磁共振仪测定。Pharmacia 公司 Sephadex LH-20 和青岛海洋化工厂产色谱用硅胶 H(10~40 μm)。美国库尔特公司产 EPICS[®]XL 型流式细胞仪。Hyclone 公司(Cat. No. STF721)的胎牛血清(FBS)和 GibcoBrl 公司的 RPMI-1640 细胞培养基。Sigma 公司的碘化丙啶 Propidium Iodide (PI)和 Triton X-100 产品。密脉鹅掌柴于 1999 年 11 月采自云南勐腊地区,由沈阳药科大学孙启时教授鉴定。

2 提取与分离

密脉鹅掌柴干燥茎皮 2.0 kg 粉碎,用 90%乙醇室温浸提 3 次,合并提取液,浓缩至无醇味,用等量氯仿萃取 3 次。氯仿提取物 18.0 g 在 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的水平下,对小鼠 tsF210 细胞显示了较强的细胞周期抑制活性,对该活性部位采用硅胶 H(250 g)减压柱色谱,以石油醚起步,不同比例的石油醚-丙酮系统梯度洗脱,收集各流份,减压浓缩合并,得到 6 个色谱组分 Fr-1~6。每个组分经活性测试,确定 Fr-1, Fr-2 和 Fr-3 为活性组分。组分 Fr-1, Fr-2 和 Fr-3 分别经正相、反相硅胶和 Sephadex LH-20 反复柱色谱分离得各化合物,从 Fr-1 得化合物 II (8.0 mg), Fr-2 得化合物 I (8.0 mg)、IV (10.0 mg)、V (15.0 mg)、VI (22.0 mg)、VII (8.0 mg)和 X (70.0 mg), Fr-3 得化合物 III (4.0 mg)和 VIII (9.0 mg)。

3 结构鉴定

化合物 I: 红色针状结晶(氯仿), mp 249~250 $^{\circ}\text{C}$, HR Positive FAB-MS 于 m/z 368.139 4 给出准分子离子峰 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$, 与其分子式 $\text{C}_{23}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2$ 相符(计算值: 368.139 3, $[\text{M}+\text{H}]^{+}$)。其 UV (CHCl_3) 光谱在 258 nm ($\lg \epsilon$ 2.20), 495 nm ($\lg \epsilon$ 2.06), 523 nm ($\lg \epsilon$ 2.09) 处有最大吸收, 提示分子中可能含有芳环高共轭体系。IR (KBr) 光谱在 1 673 cm^{-1} 处给出酰胺羰基, 在 1 595, 1 495, 1 446 cm^{-1} 处给出苯环的特征吸收。

^1H -NMR 在芳香质子区给出 15 个芳氢信号, ^{13}C -NMR 也只在 δ 110~160 区域给出 22 个芳碳信号, 进一步提示分子中含有高共轭系统。根据 ^1H - ^1H COSY (表 1)、HMQC 及 DEPT 谱推测化合物 I 中有两个单取代苯环(片断 A 和 B), 一个邻二取代苯环(片断 C)。其中, 片断 A 包括 5 个芳香质子信号(δ 7.74, d, $J=7.7$ Hz, H-2'', 6''; 7.52, dd, $J=7.9, 7.7$ Hz, H-3'', 5''; 7.33, dd, $J=7.7, 7.7$ Hz, H-4''), 6 个芳碳信号(δ 141.8, C-1''; 117.7, C-2'', 6'';

129.8, C-3'', 5''; 127.4, C-4''); 片断 B 包括 5 个芳香质子信号(δ 7.82, d, $J=7.7$ Hz, H-2', 6'; 7.40, dd, $J=7.9, 7.7$ Hz, H-3', 5'; 7.15, dd, $J=7.3, 7.3$ Hz, H-4'), 6 个芳碳信号(δ 138.5, C-1'; 120.5, C-2', 6'; 128.9, C-3', 5'; 124.1, C-4'); 片断 C 包含 4 个芳香质子信号(δ 7.76, d, $J=7.7$ Hz, H-5; 7.46, ddd, $J=7.5, 7.4, 1.1$ Hz, H-6; 7.64, ddd, $J=7.7, 7.5, 1.1$ Hz, H-7; 8.46, d, $J=8.0$ Hz, H-8), 6 个芳碳信号(表 1)。HMBC 谱(表 1)也证实了上述推测。同时, 根据 H-4 (δ 9.00) 与 C-2, C-5, C-9, C-11 (δ 177.1) 之间以及 H-8 与 C-1, C-6, C-10 之间观察到的 HMBC 相关信号(见表 1 及图 2 中箭头), 由一个邻二取代苯片断进一步推出结构片断(图 2)。

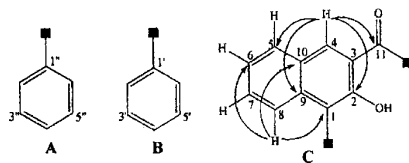


图 2 化合物 I 的结构片断

Fig. 2 Structural fragments of compound I

在 HMBC 谱测试中, 片断 A 和 B 上的质子与片断 D 上的碳上碳原子之间检测不到任何相关信号, 因此推测各片断间有杂原子相连。在 HMBC 谱中, 低场区的一个可交换质子(δ 1.62, s, NH)与片断 B 上的 2', 6' 位碳原子(δ 120.5)相关, 结合红外光谱有酰胺羰基吸收, 推断片断 B 与片断 D (C-11) 通过酰胺键相连。至此, 根据高分辨质谱给出的分子式, 化合物 I 中除一个酰胺氮以外还有 2 个氮原子。根据该化合物紫外光谱特征, 推定片断 A 与片断 D (C-1 位) 通过偶氮相连, 形成高共轭的芳香化合物。由此推断化合物 I 的结构为 2-羟基-3-苯胺羰基-1-偶氮苯基-萘[2-hydroxy-3-(phenylaminocarbonyl)naphthalene-1-azobenzene], 该化合物为一新天然产物, 有关数据见表 1。

化合物 II: 橙黄色粒状结晶, 分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_4$ 。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3 058, 2 924 (OH), 1 676 (C=O), 1 628 (C=C), 1 086 (C-O)。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ ($\lg \epsilon$): 258 (2.72), 288 (2.54), 433 (2.47)。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 12.13 (1H, s, OH-2'), 12.03 (1H, s, OH-1'), 7.83 (1H, dd, $J=6.7, 1.1$ Hz, H-5), 7.68 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-6), 7.66 (1H, s, H-4), 7.30 (1H, dd, $J=8.4, 1.1$ Hz, H-7), 7.11 (1H, s, H-2), 2.47 (3H, s, CH_3)。以上数据与文献报道一致^[6], 故鉴定化合物 II 为大黄酚。

表1 化合物I的¹H-NMR(600 MHz)和¹³C-NMR(150 MHz)数据(δ, CDCl₃^{a)})

Table 1 ¹H-NMR (600 MHz) and ¹³C-NMR(150 MHz) data for compound I (δ, CDCl₃^{a)})

位置	δ _H (J in Hz)	¹ H- ¹ H COSY ^{b)}	δ _C	HMBC ^{c)}	
				² J _{CH}	³ J _{CH}
1	—		130.4 s		
2	—		162.0 s		
3	—		126.0 s		
4	9.00, s, 1H		148.0 d	C-3	C-2, C-5
5	7.76, d, 1H(J=7.7 Hz)	H-6, H-7	131.0 d		C-4, C-7, C-9
6	7.46, ddd, 1H(J=7.5, 7.4, 1.1 Hz)	H-5, H-7, H-8	126.7 d		C-8, C-10
7	7.64, ddd, 1H(J=7.7, 7.5, 1.1 Hz)	H-5, H-6, H-8	131.4 d		C-5, C-9
8	8.46, d, 1H(J=8.0 Hz)	H-6, H-7	121.6 d		C-1, C-6, C-10
9	—		135.3 s		
10	—		126.6 s		
11	—		177.1 s		
1'	—		138.5 s		
2', 6'	7.82, d, 2H(J=7.7 Hz)	H-3', H-4'	120.5 d	C-1', C-3'-5'	C-2', 6', C-4'
3', 5'	7.40, dd, 2H(J=7.9, 7.7 Hz)	H-2', H-4'	128.9 d	C-2', 6'	C-1', C-3', 5'
4'	7.15, dd, 1H(J=7.3, 7.3 Hz)	H-2', H-3'	124.1 d	C-3', 5'	C-2', 6'
1"	—		141.8 d		
2", 6"	7.74, d, 2H(J=7.7 Hz)	H-3", H-4"	117.7 d	C-1", C-3', 5'	C-2", 6", C-4"
3", 5"	7.52, dd, 2H(J=7.9, 7.7 Hz)	H-2", H-4"	129.8 d	C-2", 6", C-4"	C-1", C-3", 5"
4"	7.33, dd, 1H(J=7.7, 7.7 Hz)	H-2", H-3"	127.4 d	C-3", 5"	C-2", 6"
N-H	11.62, s, 1H		—		C-2', 6'
OH	16.86, s, 1H		—		

a) 信号归属是基于 DEPT, PFG ¹H-¹H COSY, PFG HMQC 和 PFG HMBC 的实验结果。b) 下栏数字显示的是在 PFG ¹H-¹H COSY 中与同行质子相关联的氢信号。c) 下栏数字显示的是在 PFG HMBC 中与同行质子相关联的碳信号

a) Signal assignments were based on results of DEPT, PFG ¹H-¹H COSY, PFG HMQC, and PFG HMBC experiments. b) Numbers in column indicate protons that correlated with proton on line in PFG ¹H-¹H COSY. c) Numbers in column indicate carbons that correlated with proton on line in PFG HMBC spectrum

化合物Ⅲ:黄色针状结晶,受热易升华,Positive ESI-MS m/z : 169[M+H]⁺, 分子式为C₈H₈O₄。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3 061, 2 951, 2 852, 1 695(C=O), 1 645(C=C), 1 444, 1 324, 1 259, 1 219, 1 111, 1 005(C-O), 88, 617, 448。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ (lgε): 285 (2.76)。¹H-NMR及¹³C-NMR(CDCl₃)谱数据与文献的2,6-二甲氧基对苯醌一致^[7],故结构鉴定为2,6-二甲氧基对苯醌。

化合物Ⅳ:无色片状结晶,mp 56~57 °C, Negative ESI-MS m/z : 255[M-H]⁻, 分子式为C₁₆H₃₂O₂。¹H-NMR(600 MHz, CDCl₃)δ: 2.34(2H, t, J=7.74 Hz, H-2), 2.02(2H, m, H-3), 1.27(H-4~15), 0.88(3H, t, J=6.96 Hz, H-16)。经与实验室对照品对照,混合点样于3种系统中R_f值一致,鉴定为正十六烷酸。

化合物Ⅴ:白色球状颗粒,mp 54~55 °C, Positive ESI-MS m/z : 284[M]⁺, 分子式为C₁₈H₃₆O₂。¹H-NMR(600 MHz, CDCl₃)δ: 2.34(2H, t, J=7.68 Hz, H-2), 1.62(2H, m, H-3), 1.29(H-4~17), 0.87(3H, t, J=6.96 Hz, H-18), 经与文献对照鉴定为正十八烷酸。

化合物Ⅵ:白色片状结晶,mp 70~71 °C, Positive ESI-MS m/z : 396[M]⁺, 分子式为C₂₆H₅₂O₂。¹H-NMR(600 MHz, CDCl₃)δ: 2.51(2H, t, J=7.74 Hz, H-2), 1.80(2H, m, H-3), 1.36(H-4~25), 0.85(3H, t, J=6.24 Hz, H-26), 经与文献对照鉴定为正二十六烷酸^[8]。

化合物Ⅶ:无色针状结晶, Liebermann-Burchard 反应呈阳性, mp 115~116 °C, Positive ESI-MS m/z : 411[M+H]⁺, 分子式为C₂₉H₄₆O。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 2 932, 2 866, 1 676(C=O), 1 617, 1 459, 1 381, 1 331, 1 271, 1 231, 1 189, 969, 866, 778, 685, 512。¹H-NMR(CDCl₃, 600 MHz)δ: 5.72(1H, s, H-4), 5.14(1H, dd, J=15.1, 8.8 Hz, H-22), 5.02(1H, dd, J=15.1, 8.8 Hz, H-23), 2.36(1H, m, H-2a), 2.26(1H, m, H-2b), 2.01(1H, m, H-1a), 1.52(1H, m, H-1b), 1.18(3H, s, CH₃-19), 1.01(3H, d, J=6.6 Hz, CH₃-21), 0.84(3H, d, J=6.6 Hz, CH₃-27), 0.80(3H, t, J=7.4 Hz, CH₃-29), 0.79(3H, d, J=7.3 Hz, CH₃-26), 0.72(3H, s, CH₃-18)。¹³C-NMR(150 MHz, CDCl₃)信号的归属见表2, 以上数据与文献对照结构鉴定为4,22-二烯-3-酮豆甾烷^[9]。

化合物Ⅷ:无色针状结晶, Liebermann-Burchard 反应呈阳性, mp 150~152 °C, Positive ESI-MS m/z : 427[M+H]⁺, 分子式为C₂₉H₄₆O₂。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3 339(br, OH), 2 957, 2 869, 1 673(C=O), 1 460, 1 378, 1 327, 1 294, 1 224, 1 181, 1 059(C-O), 971, 947, 863, 840, 630。¹H-NMR(CDCl₃, 600 MHz)δ: 5.69(1H, s, H-6), 5.17(1H, dd, J=15.4, 8.8 Hz, H-22), 5.02(1H, dd, J=15.4, 8.8 Hz, H-23), 3.67(1H, m, H-3), 2.50(1H, m, H-4a), 2.38(1H, m, H-4b), 2.24(1H, dd, J=12.4, 10.9 Hz, H-8), 1.34(1H, m, H-9), 1.20(3H, s, CH₃-19), 1.02(3H, d, J=6.6 Hz, CH₃-21), 0.85(3H, d, J=6.6 Hz, CH₃-27), 0.81(3H, t, J=7.3 Hz, CH₃-29), 0.79(3H, d, J=7.3 Hz, CH₃-26), 0.70(3H, s, CH₃-18)。¹³C-NMR(150 MHz, CDCl₃)信号的归属见表

2,以上数据与文献对照,结构鉴定为5,22-二烯-7-酮-3 β -羟基豆甾烷^[10]。

表2 化合物Ⅶ和Ⅷ的¹³C-NMR (150 MHz)数据

Table 2 ¹³C-NMR (150 MHz) data for compounds Ⅶ and Ⅷ

碳位	Ⅶ	Ⅷ	碳位	Ⅶ	Ⅷ
1	35.6	36.3	16	28.8	29.0
2	32.9	31.1	17	55.9	54.6
3	199.6	70.4	18	12.1	12.1
4	123.7	41.8	19	17.3	17.2
5	171.6	165.0	20	40.4	40.2
6	32.9	126.0	21	21.1	21.4
7	32.0	202.2	22	138.1	138.0
8	35.6	45.3	23	129.4	129.4
9	53.8	49.9	24	51.2	51.2
10	38.6	38.2	25	31.8	31.8
11	21.0	21.2	26	18.9	18.9
12	35.9	38.5	27	21.0	21.0
13	42.2	42.9	28	25.3	25.3
14	55.8	50.0	29	12.2	12.2
15	24.2	26.4			

化合物Ⅸ:无色针状结晶,Liebermann-Burchard反应显红色,mp 139~140℃,经与实验室对照品对照,混合点样于3种系统中R_f值一致,结构鉴定为 β -谷甾醇。

4 单体化合物的生物活性检测

采用流式细胞术结合显微镜下检测细胞形态学变化的方法^[2,3],测试了化合物Ⅰ~Ⅸ对小鼠乳腺癌tsFT210细胞的细胞周期抑制、细胞凋亡诱导以及细胞坏死等抗肿瘤活性(将药物处理17h的ts-FT210细胞经PI染色后流式细胞术检测分析),并采用SRB法初步评价了Ⅰ~Ⅸ对K562细胞的增殖抑制作用;结果表明化合物Ⅱ、Ⅲ对K562细胞增殖有较显著的抑制作用,其IC₅₀值分别为52.50和25.50 μ g/mL,化合物Ⅳ在30 μ g/mL时对tsFT210细胞具有一定的G₀/G₁期抑制活性,但在100 μ g/mL时却表现出较强的G₂/M期抑制和细胞凋亡诱导活性(表3),其余化合物未显示相关活性。

表3 化合物Ⅳ对小鼠乳腺癌tsFT210细胞周期抑制和细胞凋亡的影响

Table 3 Effects of compound Ⅳ on cell cycle inhibition and apoptosis in tsFT210 cells of mice

组别	质量浓度 (μ g $\cdot$ mL ⁻¹)	凋亡 率/%	细胞周期/%		
			G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
对照	—	1.86	30.5	55.4	14.1
Ⅳ	0.1	1.80	29.4	56.1	14.5
	1	1.84	31.4	56.4	12.2
	10	1.96	30.6	56.7	12.7
	30	1.81	35.6	53.0	11.4
	100	9.76	16.3	29.0	54.6

5 讨论

2-羟基-3-苯胺羰基-1-偶氮苯基-萘(Ⅰ)俗名808猩红(808 Scarlet)^[11],自20世纪初作为红色染料被大量合成,但在天然产物中未见报道,本文首次完整报道该化合物的有关数据。在对化合物进行初步抗肿瘤活性评价中,首次发现化合物Ⅱ(2,6-二甲氧基对苯醌)具有显著的细胞增殖抑制作用,关于醌类化合物的抗肿瘤活性报道较多,有必要对其进行构效关系研究,以获得有应用价值的新药先导结构;对3个直链饱和脂肪酸的同系物Ⅳ~Ⅵ,只有正十六烷酸(Ⅳ)具有活性,是否与其分子链的长短有关,有待进一步确认。本实验首次从密脉鹅掌柴植物中分离得到化合物Ⅰ~Ⅷ,并对Ⅱ~Ⅳ为该植物抗肿瘤活性成分进行首例报道,上述研究结果为密脉鹅掌柴治疗癌症的民间用法提供了部分的实验依据。

致谢:日本理化学研究所抗生物质研究室长田裕之博士提供tsFT210细胞,沈阳药科大学孙启时教授采集并鉴定植物材料。

References:

- [1] Xie Z W. *Chinese Medicinal Herbs Collection* (全国中草药汇编) [M]. Vol 2. Beijing: People's Medical Publishing House, 1996.
- [2] Cui C B, Yan S Y, Cai B, *et al.* Carbazole alkaloids as new cell cycle inhibitors and apoptosis inducers from *Clausena Dunniana* Levl [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2002, 4(4): 233-241.
- [3] Cui C B, Zhao Q C, Cai B, *et al.* Two new and four known polyphenolics obtained as new cell-cycle inhibitors from *Rubus aleaefolius* Poin [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2002, 4(4): 243-252.
- [4] Purohit M C, Pant G, Rawat M S M. A beulinic acid glycoside from *Schefflera venulosa* [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(7): 2419.
- [5] Purohit M C, Rawat M S M, Pant G. Spermicidal activity and chemical analysis of *Schefflera venulosa* [J]. *Fitoterapia*, 1993, 64(3): 274-272.
- [6] Lu T S, Yi Y H, Mao S L, *et al.* Studies on the anthraquinones of *Cassia siamea* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2001, 36(7): 547-548.
- [7] Wang Y C, Zhou J. Chemical constituents of *Curvedflower Chasalis bark* (*Chasalis curviflora*) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30(9): 644-645.
- [8] Tao Z Y, Chen W S, Zheng S Q, *et al.* Studies on the chemical constituents of *Zanthoxylum dimorphophyllum* Hemsl. var. *spinifolium* Rhed et Wils [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2001, 36(7): 511-513.
- [9] Liu A, Tian J K, Zou Z M, *et al.* Studies on chemical constituents of *Uvaria tonkinensis* var. *subglabra* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(3): 205-206.
- [10] Natro G, Piccialli V, Sica D. New steroidal hydroxyketones and closely related diols from the marine sponge *Cliona copiosa* [J]. *J Nat Prod*, 1992, 55: 1588-1594.
- [11] Fei X N, Zhang T Y, Zhou C L. Modification study involving naphthol as red pigment [J]. *Dyest Pigm*, 2000, 44(2): 75-80.