

## 箭叶淫羊藿中化学成分及其体外抗肿瘤活性研究

韩惠<sup>1</sup>, 单洪<sup>2,3</sup>, 周福军<sup>2,3</sup>, 刘珺瑶<sup>4</sup>, 侯文彬<sup>2,3\*</sup>

1. 天津中医药大学, 天津 300193

2. 天津药物研究院, 天津 300193

3. 天津中药制剂与质量控制技术国家地方联合工程实验室, 天津 300193

4. 广西中医药大学, 广西 南宁 530001

**摘要:** 目的 分离箭叶淫羊藿中的化学成分并对 8-异戊烯基黄酮类化合物进行体外抗肿瘤活性筛选。方法 采用硅胶柱色谱、凝胶柱色谱和 HPLC 制备色谱方法分离纯化, 根据理化性质和波谱分析方法鉴定其结构, 利用 MTT 法对分离得到的异戊烯基黄酮类化合物进行体外抗肿瘤活性筛选。结果 分离得到 7 个黄酮类化合物, 分别鉴定为淫羊藿苷 (1)、淫羊藿素 (2)、宝藿苷 I (3)、去甲淫羊藿素 (4)、苜蓿素 (5)、淫羊藿次苷 I (6) 和朝藿定 C (7)。体外抗肿瘤结果表明, 在 0.5~100  $\mu\text{mol/L}$  浓度, 化合物 2、3、4、6 对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖具有明显抑制作用, 并随浓度的增加抑制作用更加明显, 48 h 的  $\text{IC}_{50}$  分别为 12.43、35.44、11.53、16.31  $\mu\text{mol/L}$ , 化合物 1、7 活性很弱。结论 化合物 3、4 为首次从箭叶淫羊藿植物分离得到, 化合物 3 有望成为靶向抗乳腺癌的候选药物。

**关键词:** 箭叶淫羊藿; 8-异戊烯基黄酮; 宝藿苷 I

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2013)03-0269-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2013.03.002

## Chemical constituents in *Epimedium sagittatum* and their *in vitro* antitumor activities

HAN Hui<sup>1</sup>, SHAN Qi<sup>2,3</sup>, ZHOU Fu-jun<sup>2,3</sup>, LIU Jun-yao<sup>4</sup>, HOU Wen-bin<sup>2,3</sup>

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

3. Tianjin Local and State Joint Engineering Laboratory of Preparation and Quality Control Techniques for TCM, Tianjin 300193, China

4. Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530001, China

**Abstract: Objective** To investigate the chemical constituents from *Epimedium sagittatum* and screen *in vitro* antitumor activity for 8-prenylated flavonoids. **Methods** Chemical constituents were isolated and purified by chromatography on silica gel, Sephadex LH-20 columns, and preparative HPLC. Their structures were identified by physicochemical constants and spectroscopic methods. The *in vitro* antitumor activities of the isolated prenylated compounds were evaluated by MTT assay. **Results** Seven flavonoids were isolated and their structures were identified as icariin (1), icaritin (2), baohuoside I (3), desmethylicaritin (4), tricrin (5), Icariside I (6), and epimedin C (7). *In vitro* antitumor results showed that compounds 2–4 and 6 showed the enhanced inhibition on the cell proliferation of human breast cancer cell line MDA-MB-231 in 0.5 — 100  $\mu\text{mol/L}$  with concentration increasing. The  $\text{IC}_{50}$  value for 48 h was 12.43, 35.44, 11.53, and 16.31  $\mu\text{mol/L}$  respectively, the activity of compound 1 and 7 were very weak. **Conclusion** Compounds 3 and 4 are isolated from *E. sagittatum* for the first time. Compound 3 is expected to become one of the anti-breast cancer drug candidates.

**Keywords:** *Epimedium sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim.; 8-prenylated flavonoids; baohuoside I

箭叶淫羊藿 *Epimedium sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim. 系小檗科淫羊藿属植物的干燥叶, 为

收稿日期: 2013-03-27

基金项目: 国家重大新药创制科技重大专项 (2009ZX09102)

作者简介: 韩惠 (1988—), 女, 山东泰安人, 硕士研究生, 研究方向为中药及天然产物研究。Tel: (022)23006903 E-mail: hanhui0202@126.com

\*通信作者 侯文彬 (1969—), 男, 研究员, 硕士生导师, 研究方向为中药及天然产物的研究。Tel: (022)23006295 E-mail: houwb@tjpr.com

传统补益类中药, 具有补肾阳、强筋骨、祛风湿等功效。现代药理研究表明, 淫羊藿黄酮类成分具有调节肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞凋亡、调节肿瘤细胞端粒酶活性的作用<sup>[1]</sup>。本实验对富含黄酮类化合物的箭叶淫羊藿水提物的大孔树脂 50%乙醇洗脱物化学成分进行了研究, 从中分离得到了 7 个黄酮类化合物, 分别鉴定为淫羊藿苷(1)、淫羊藿素(2)、宝藿苷 I (3)、去甲淫羊藿素(4)、苜蓿素(5)、淫羊藿次苷 I (6)、朝藿定 C (7), 其中化合物 3、4 为首次从该植物中分离得到。8-异戊烯基黄酮类化合物的母核结构见图 1。

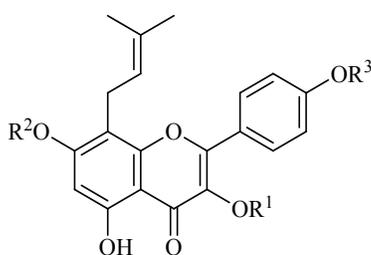


图 1 8-异戊烯基黄酮类化合物的母核结构

Fig. 1 Chemical structure of 8-prenylated flavonoids

近年研究表明, 新型雌激素受体 ER $\alpha$ 36 对于乳腺癌的发生、发展及对他莫西芬疗效和耐药性中扮演着重要角色<sup>[2-6]</sup>。本课题组参与研制的靶向雌激素受体 ER $\alpha$ 36 治疗乳腺癌的中药一类新药阿可拉定为 8-异戊烯基黄酮类化合物, 是从传统中药淫羊藿中获得的有效单体, 阿可拉定是目前唯一的一个针对 ER $\alpha$ 36 受体的治疗乳腺癌药物<sup>[7]</sup>。根据化学结构类似的化合物往往具有类似的生物活性, 本实验对从箭叶淫羊藿中分离得到的 5 个与阿可拉定结构类似的 8-异戊烯基黄酮类化合物进行了抗肿瘤活性筛选, 期望其为开发选择性雌激素受体调节剂提供依据。

### 1 仪器与材料

Bruker AV-400 型核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); 制备 HPLC 色谱仪 (北京创新通恒科技有限公司); Venusil XBP-C<sub>18</sub> 色谱柱 (北京艾杰尔公司); Axiovert 200 型倒置显微镜 (Carl Zeiss 公司); MCO-18AC 型 CO<sub>2</sub> 培养箱 (Sanyo 公司); SpectraMax M5 型酶标仪 (Molecular Devices 公司)。

薄层色谱硅胶、柱色谱硅胶 (青岛海洋化工厂); Sephadex LH-20 (Pharmacia 公司); RPMI-1640 培养基、胎牛血清及胰蛋白酶 (Gibco 公司); 噻唑蓝、二甲基亚砜 (Amresco 公司); 其他试剂均为分析纯。

箭叶淫羊藿采购自陕西省宝鸡仁寿中药饮片加工有限责任公司, 经天津药物研究院周福军副研究员鉴定为 *Epimedium sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim. 的干燥叶; 人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞购于北京协和医学院细胞中心, 本实验室冻存。

### 2 提取与分离

取淫羊藿药材 4.0 kg, 粉碎后用 10 倍量水回流提取 3 次, 每次 2 h, 合并提取液, 浓缩后的提取液经 HPD300 大孔树脂吸附, 水洗后依次用 30%、50% 乙醇水溶液洗脱。取 50%乙醇洗脱部分浸膏 200 g, 经硅胶柱色谱氯仿-甲醇梯度洗脱, 根据 TLC 检测结果合并相同部分, 分别经葡聚糖凝胶柱色谱 Sephadex LH-20 甲醇-水 (4:1)、制备 HPLC 色谱乙腈-水 (25:75) 洗脱得化合物 1 (180.0 mg)、2 (75.3 mg)、3 (43.4 mg)、4 (39.0 mg)、5 (30.2 mg)、6 (45.0 mg)、7 (49.3 mg)。

### 3 结构鉴定

化合物 1: 黄色针状结晶 (甲醇), mp 201~202 °C。Molish 反应、HCl-Mg 粉反应均呈阳性; HPLC 色谱条件: Acchrom C<sub>18</sub> 不锈钢色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5  $\mu$ m), 流动相为乙腈-水 (30:70), 体积流量为 1 mL/min, 检测波长为 270 nm,  $t_R$  为 10.00 min; TLC 展开剂氯仿-甲醇-水 (7:3:0.2), R<sub>f</sub>=0.57。以上数据与淫羊藿苷对照品<sup>[8]</sup>一致, 故确定化合物 1 为 3,5,7-三羟基-4'-甲氧基-8-异戊烯基黄酮-3-O- $\alpha$ -L-吡喃鼠李糖基-7-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷, 即淫羊藿苷。

化合物 2: 黄色针状结晶 (丙酮)。HCl-Mg 粉反应呈阳性; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 12.35 (1H, s, OH-5), 8.10 (2H, d,  $J$ =8.8 Hz, H-2', 6'), 7.09 (2H, d,  $J$ =8.8 Hz, H-3', 5'), 1.62 (3H, s, H-4''), 1.73 (3H, s, H-5''), 3.41 (2H, d,  $J$ =6.4 Hz, H-1''), 5.16 (1H, t,  $J$ =6.4 Hz, H-2''), 6.28 (1H, s, H-6); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 146.1 (C-2), 135.9 (C-3), 176.2 (C-4), 158.3 (C-5), 97.8 (C-6), 161.2 (C-7), 105.6 (C-8), 153.5 (C-9), 103.0 (C-10), 123.5 (C-1'), 129.1 (C-2', 6'), 114.0 (C-3', 5'), 160.4 (C-4'), 21.2 (C-1''), 122.5 (C-2''), 130.9 (C-3''), 25.4 (C-4''), 17.9 (C-5'')。以上数据与文献报道<sup>[9]</sup>一致, 故确定化合物 2 为 3,5,7-三羟基-4'-甲氧基-8-异戊烯基黄酮, 即淫羊藿素。

化合物 3: 黄色粉末 (甲醇)。Molish 反应、

HCl-Mg 粉反应均呈阳性, 酸水解后检出鼠李糖;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 12.51 (1H, s, OH-5), 7.84 (2H, d,  $J=8.8$  Hz, H-2', 6'), 7.10 (2H, d,  $J=8.8$  Hz, H-3', 5'), 6.30 (1H, s, H-6), 5.26 (1H, brs, rha-H-1), 5.14 (1H, t,  $J=6.6$  Hz, H-2''), 3.84 (3H, s, OCH<sub>3</sub>-4'), 1.61 (3H, s, H-4''), 1.63 (3H, s, H-5''), 0.78 (3H, d,  $J=6.0$  Hz, rha-H-6)。  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 154.8 (C-2), 135.4 (C-3), 179.0 (C-4), 162.2 (C-5), 99.3 (C-6), 162.6 (C-7), 106.9 (C-8), 157.7 (C-9), 105.2 (C-10), 22.1 (C-1''), 123.2 (C-2''), 132.0 (C-3''), 26.4 (C-4''), 18.7 (C-5''), 123.4 (C-1'), 131.6 (C-2', 6'), 115.0 (C-3', 5'), 159.8 (C-4'), 56.4 (4'-OMe)。 Rha: 102.9 (C-1), 71.0 (C-2), 71.3 (C-3), 72.0 (C-4), 71.6 (C-5), 18.4 (C-6)。以上数据与文献报道<sup>[10]</sup>一致, 故确定化合物 **3** 为 3,5,7-三羟基-4'-甲氧基-8-异戊烯基黄酮-3-*O*- $\alpha$ -L-吡喃鼠李糖苷, 即宝藜苷 I。

化合物 **4**: 黄色结晶 (甲醇)。HCl-Mg 粉反应呈阳性;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 12.94 (1H, s, OH-5), 8.02 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-2', 6'), 6.92 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-3', 5'), 6.28 (1H, s, H-6), 1.61 (3H, s, H-4''), 1.73 (3H, s, H-5''), 3.41 (2H, d,  $J=6.0$  Hz, H-1'');  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 147.4 (C-2), 136.2 (C-3), 176.8 (C-4), 159.8 (C-5), 98.4 (C-6), 161.8 (C-7), 106.2 (C-8), 154.1 (C-9), 103.7 (C-10), 122.7 (C-1'), 130.0 (C-2', 6'), 116.4 (C-3', 5'), 159.9 (C-4'), 21.9 (C-1''), 123.2 (C-2''), 131.5 (C-3''), 26.1 (C-4''), 18.4 (C-5'')。以上数据与文献报道<sup>[11]</sup>一致, 故确定化合物 **4** 为 3,5,7,4'-四羟基-8-异戊烯基黄酮, 即去甲淫羊藿素。

化合物 **5**: 黄色针晶 (甲醇-丙酮)。HCl-Mg 粉反应阳性, FeCl<sub>3</sub> 反应阳性。  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 12.94 (1H, s, 5'-OH), 7.31 (2H, s, H-2', 6'), 6.95 (1H, s, H-3), 6.54 (1H, s, H-8), 6.19 (1H, s, H-6), 3.87 (6H, s, OCH<sub>3</sub>-3', 5');  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 182.4 (C-4), 164.8 (C-7), 164.3 (C-2), 162.0 (C-5), 158.0 (C-9), 105.0 (C-10), 104.2 (C-3), 99.5 (C-6), 94.8 (C-8), 121.2 (C-1'), 104.4 (C-2', 6'), 140.5 (C-4'), 148.8 (C-3', 5'), 57.0 (C-3', OCH<sub>3</sub>-5')。以上数据与文献报道<sup>[12]</sup>一致, 故确定化合物 **5** 为 4', 5, 7-三羟基-3', 5'-二甲氧基黄酮, 即苜蓿素。

化合物 **6**: 黄色针晶 (甲醇), Molish 反应阳性, HCl-Mg 粉反应阳性, 酸水解后检出葡萄糖。  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 12.42 (1H, s, OH-5), 9.57 (1H, s, OH-3), 8.13 (2H, d,  $J=8.8$  Hz, H-2', 6'), 7.12 (2H, d,  $J=9.2$  Hz, H-3', 5'), 6.60 (1H, s, H-6), 3.41 (2H, d,  $J=6.6$  Hz, H-1''), 5.19 (1H, t,  $J=6.8$  Hz, H-2''), 1.62 (3H, s, H-4''), 1.76 (3H, s, H-5''), 3.84 (3H, s, OCH<sub>3</sub>-4'), 5.31 (1H, brs, Glc-1-H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 147.6 (C-2), 136.8 (C-3), 177.2 (C-4), 160.8 (C-5), 98.1 (C-6), 161.3 (C-7), 108.7 (C-8), 153.4 (C-9), 105.1 (C-10), 124.1 (C-1'), 130.0 (C-2', 6'), 114.8 (C-3', 5'), 159.2 (C-4'), 56.1 (OCH<sub>3</sub>-4'), 22.1 (C-1''), 123.0 (C-2''), 131.7 (C-3''), 26.1 (C-4''), 18.6 (C-5''), Glu: 101.1 (C-1), 74.0 (C-2), 77.3 (C-3), 70.3 (C-4), 77.8 (C-5), 61.3 (C-6)。以上数据与文献报道<sup>[13]</sup>一致, 故确定化合物 **6** 为 3,5,7-三羟基-4'-甲氧基-8-异戊烯基黄酮-7-*O*- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷, 即淫羊藿次苷 I。

化合物 **7**: 黄色针状结晶 (甲醇), Molish 反应、HCl-Mg 粉反应呈阳性, 酸水解后检出葡萄糖和鼠李糖;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 12.61 (1H, s, OH-5), 7.88 (2H, d,  $J=8.8$  Hz, H-2', 6'), 7.12 (2H, d,  $J=8.8$  Hz, H-3', 5'), 6.64 (1H, s, 6-H), 5.39 (1H, brs, Rha-1-H), 5.00 (1H, d,  $J=6.8$  Hz, Glc-1-H), 3.84 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 1.59 (3H, s, H-4''), 1.68 (3H, s, H-5''), 0.81 (3H, d,  $J=4.8$  Hz, Rha-6), 1.09 (3H, d,  $J=6.0$  Hz, Rha'-6);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 158.0 (C-2), 135.3 (C-3), 178.9 (C-4), 159.8 (C-5), 98.8 (C-6), 161.2 (C-7), 109.1 (C-8), 153.7 (C-9), 106.2 (C-10), 122.8 (C-1'), 131.2 (C-2'), 114.8 (C-3'), 162.1 (C-4'), 114.8 (C-5'), 131.2 (C-6'), 22.13 (C-1''), 122.8 (C-2''), 131.8 (C-3''), 26.1 (C-4''), 18.5 (C-5''), 56.2 (4'-OMe), Rha: 102.3 (C-1), 77.8 (C-2), 70.9 (C-3), 72.0 (C-4), 70.8 (C-5), 18.3 (C-6), Rha': 101.4 (C-1), 70.3 (C-2), 71.4 (C-3), 77.6 (C-4), 69.5 (C-5), 18.2 (C-6), Glc: 100.2 (C-1), 74.0 (C-2), 76.3 (C-3), 71.2 (C-4), 77.3 (C-5), 61.3 (C-6)。以上数据与文献报道<sup>[14]</sup>一致, 故确定化合物 **7** 为 3,5,7-三羟基-4'-甲氧基-8-异戊烯基黄酮-3-*O*- $\alpha$ -L-吡喃鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-吡喃鼠李糖基-7-*O*- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷, 即朝藜定 C。

## 4 体外抗肿瘤活性筛选实验

### 4.1 MTT 法体外活性筛选

所用受试药均用 DMSO 充分溶解, 配制成最终浓度为 10 mmol/L 的溶液。人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞株用 RPMI-1640 培养基及 10% 胎牛血清常规培养传代。细胞以密度为 8 000 个/孔接种于 96 孔培养板, 180  $\mu$ L/孔, 在饱和湿度为 37  $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub> 通用培养条件下常规培养 24 h 后, 更换为无血清培养基 180  $\mu$ L/孔, 每孔加 20  $\mu$ L 药液, 使其最终浓度为 100、50、10、5、1、0.5  $\mu$ mol/L。每个浓度均设置对照孔(等浓度的 DMSO)及空白本底(不加细胞), 各组设置 3 个复孔。继续培养 48 h 后, 各孔中加入 20  $\mu$ L MTT (5 mg/mL), 置 CO<sub>2</sub> 培养箱中继续培养 4 h 后, 吸取上清。每孔加入 100  $\mu$ L DMSO, 置微

量振荡器震荡 5 min 至结晶完全溶解, 于酶标仪 490 nm 比色, 测定吸光度(A)值。以化合物 2 为阳性对照药, 根据以下公式计算细胞生长抑制率。

$$\text{抑制率} = 1 - (A_{\text{药物组}} - A_{\text{空白组}}) / (A_{\text{对照组}} - A_{\text{空白组}})$$

### 4.2 结果

体外抗肿瘤结果表明, 化合物 2、3、4、6 在 0.5~100  $\mu$ mol/L 对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖具有明显抑制作用, 并随浓度的增加抑制作用更加明显, 化合物 2、3、4、6 作用于 MDA-MB-231 细胞 48 h 的 IC<sub>50</sub> 分别为 12.43、35.44、11.53、16.31  $\mu$ mol/L。化合物 3 在浓度低于 50  $\mu$ mol/L 时活性较低, 在高浓度(50~100  $\mu$ mol/L)下的抗肿瘤活性与阳性药相当; 化合物 4、6 与阳性药抗肿瘤活性相当; 化合物 1、7 各浓度抗肿瘤活性很弱, 结果见表 1。

表 1 受试化合物作用于 MDA-MB-231 细胞 48 h 的量效数据 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

Table 1 Dose-response effect of tested compounds on MDA-MB-231 cells after 48 h ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

浓度/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	抑制率/%					
	化合物 1	化合物 2(阳性)	化合物 3	化合物 4	化合物 6	化合物 7
0.5	15.11 $\pm$ 4.00*	2.70 $\pm$ 4.74	-5.49 $\pm$ 6.17	5.76 $\pm$ 1.06	9.74 $\pm$ 0.14	-2.64 $\pm$ 1.26
1	23.21 $\pm$ 5.16*	15.61 $\pm$ 5.43	2.79 $\pm$ 3.97**	7.75 $\pm$ 2.32*	10.22 $\pm$ 0.12	0.46 $\pm$ 1.65**
5	31.44 $\pm$ 0.84	35.83 $\pm$ 2.61	1.36 $\pm$ 8.43**	11.96 $\pm$ 4.80**	11.15 $\pm$ 0.31**	2.67 $\pm$ 3.10**
10	33.77 $\pm$ 2.36	38.66 $\pm$ 6.45	3.09 $\pm$ 7.60**	62.47 $\pm$ 8.84**	37.55 $\pm$ 0.47**	6.32 $\pm$ 2.13**
50	40.38 $\pm$ 14.32**	82.67 $\pm$ 2.33	70.55 $\pm$ 2.98*	82.16 $\pm$ 4.53	83.68 $\pm$ 0.9	7.29 $\pm$ 1.71**
100	41.72 $\pm$ 5.18**	83.64 $\pm$ 1.24	84.56 $\pm$ 0.91	82.53 $\pm$ 11.90	86.96 $\pm$ 1.57	11.30 $\pm$ 0.59**

与阳性对照组比较: \* $P<0.05$  \*\* $P<0.01$

\* $P<0.05$  \*\* $P<0.01$  vs positive control group

## 5 讨论

乳腺癌为女性常见恶性肿瘤之一, 发病率占全身各种恶性肿瘤的 7%~10%, 死亡率为发病率的 20%~40%, 近年来, 我国乳腺癌发病率逐年上升, 且呈年轻化趋势, 发病中位年龄为 48 岁, 比西方提早了 10 年。近年来研究发现, 淫羊藿中黄酮类成分可能竞争性的与雌激素受体结合, 阻止其他强活性的雌激素分子与受体的结合, 从而有效减弱了靶细胞对雌激素的应答<sup>[15]</sup>。

体外抗肿瘤活性筛选结果表明: 黄酮 8-异戊烯基取代可能不是其抗肿瘤活性的主要因素, 与文献报道<sup>[16-17]</sup>一致。对 A 环 7 位, 连有羟基化合物活性明显高于 7 位单葡萄糖苷类化合物, A 环 C-7 位羟基化可能属于增效基<sup>[18]</sup>。化合物 6 表现明显抑制人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖活性, 为国内外首次报道。

本次受试化合物中化合物 3 体外抗肿瘤活性明显, 近年研究表明淫羊藿主要活性成分大部分在体内代谢为更易吸收的宝藿昔 I 而发挥作用<sup>[19]</sup>, 有文献报道其可以呈时间和剂量相关地诱导 MDA-MB-231 细胞凋亡<sup>[19]</sup>, 因此化合物 3 有望成为抗乳腺癌候选药物, 在本研究基础上对其进行体内和临床研究, 将对靶向治疗乳腺癌药物的研发具有重要意义, 还可为以 ER $\alpha$ 36 为靶点的新药结构改造及有效部位新药的研发提供参考。

### 参考文献

- [1] 尹剑云, 陈红凤. 淫羊藿及其有效成分抗肿瘤机制的研究进展 [J]. 中西医结合学报, 2009, 7(12): 1184-1187.
- [2] Li Y, Yao J, Chang M, et al. Equine catechol estrogen 4-hydroxyequilenin is a more potent inhibitor of the variant form of catechol-O-methyltransferase [J]. Chem

- Res Toxicol*, 2004, 17(4): 512-520.
- [3] Nilsson S, Gustafsson J A. Estrogen receptor action [J]. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 2002, 12(4): 237-257.
- [4] Wang Z, Zhang X, Shen P, *et al*. A variant of estrogen receptor- $\alpha$ , hER- $\alpha$ 36: transduction of estrogen- and antiestrogen-dependent membrane-initiated mitogenic signaling [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(24): 9063-9068.
- [5] Shi L, Dong B, Li Z, *et al*. Expression of ER- $\alpha$ 36, a novel variant of estrogen receptor  $\alpha$ , and resistance to tamoxifen treatment in breast cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(21): 3423-3429.
- [6] Siegelmann-Danieli N, Kurnik D, Lomnicki Y, *et al*. Potent CYP2D6 Inhibiting drugs do not increase relapse rate in early breast cancer patients treated with adjuvant tamoxifen [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2011, 125(2): 505-510.
- [7] 单 淇, 周渭渭, 周福军, 等. 阿可拉定的有关物质研究 [J]. *药物评价研究*, 2011, 34(2): 92-95.
- [8] 李 娜. 朝鲜淫羊藿提取物化学成分的研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2006.
- [9] Mizuno M, Kanie Y, Iinuma M, *et al*. Two flavonol glycosides from *Vancouveria hexandra* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(1): 297-299.
- [10] 李 枫, 刘永澐. 宝藿甙-I, VI, VII和宝藿素的分离和结构研究 [J]. *药学报*, 1988, 23(10): 739-748.
- [11] Fukai T, Nomura T.  $^1\text{H-NMR}$  chemical shift of the flavonol 5-hydroxy proton as a characterization of 6-or 8-isoprenoid substitution [J]. *Heterocycles*, 1992, 34(6): 1213-1225.
- [12] Bhattacharyya J, Stagg D, Mody N V, *et al*. Constituents of *Spartina cynosuroides*: isolation and  $^{13}\text{C-NMR}$  analysis of tricin [J]. *J Pharm Sci*, 1978, 67(9): 1325-1326.
- [13] 李文魁, 张如意, 肖培根. 朝鲜淫羊藿化学成分的研究 [J]. *中草药*, 1995, 26(9): 453-455.
- [14] 李文魁. 朝鲜淫羊藿和万山淫羊藿化学成分的研究 [D]. 北京: 中国协和医科大学, 1995.
- [15] Touillaud M S, Pillow P C, Jakovljevic J, *et al*. Effect of dietary intake of phytoestrogens on estrogen receptor status in premenopausal women with breast cancer [J]. *Nutr cancer*, 2005, 51(2): 162-169.
- [16] Husain S R, Cillard J, Cillard P. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids [J]. *Phytochemistry*, 1987, 26(9): 2489-2491.
- [17] 王 婷, 张金超, 陈 瑶. 6种淫羊藿黄酮抗氧化和抗肿瘤活性的比较 [J]. *中国中药杂志*, 2007, 32(8): 715-718.
- [18] Birt D F, Hendrich S, Wang W. Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids [J]. *Pharmacol Ther*, 2001, 90(2/3): 157-177.
- [19] 黄朝情, 陈晓光, 郭宝林, 等. Icariside II 诱导人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞凋亡的机制研究 [C]. 海峡两岸 CSNR 全国第 10 届中药及天然药物资源学术研讨会论文集. 兰州: 中国自然资源学会天然药物资源专业委员会, 2012: 610-614.