

草药, 1999, 30(5): 336-339.

- [19] 李洪武, 朱文元. 治疗白癜风复方中药体外对蘑菇酪氨酸酶活性的作用[J]. 临床皮肤科杂志, 2000, 29(3): 133-135.
- [20] 李洪武, 赵健, 朱文元. 部分复方中药对酪氨酸酶活性影响的实验研究[J]. 江苏中医, 1999, 20(11): 46-47.
- [21] Swope V B, Medrano E E, Smalara D, et al. Long-term proliferation of human melanocytes is supported by the physiological mitogens alpha-melanotropin endothelin-1, and basic fi-

broblast growth factor[J]. Exp Cell Res, 1995, 217(2): 453-459.

- [22] 程东庆, 尉晓冬, 王遂泉, 等. 复方中药对小鼠 B-16黑素瘤细胞株黑色素合成和酪氨酸酶的激活作用[J]. 中华皮肤科杂志, 2000, 33(3): 173-174.
- [23] 曾伟成, 陈曾曼, 郑能武. 乙醇对酪氨酸酶活性的影响[J]. 海峡药学, 2000, 12(4): 36-37.

## 泡番荔枝辛——明日抗癌之星

韩金玉, 于良涛, 王 华

(天津大学 化工学院, 天津 300072)

**摘要:** 泡番荔枝辛(bullatacin)是一种邻双四氢呋喃环番荔枝内酯, 在体内和体外实验中展现出强抗肿瘤活性, 因此预计将成为继 taxol 之后新的天然抗癌药物。就泡番荔枝辛的化学结构, 分离纯化以及药理作用进行详细阐述。

**关键词:** 泡番荔枝辛; 天然药物; 生物活性; 分离纯化; 多药抗药性

中图分类号: R282.91

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2002)04-0380-03

### Bullatacin——potent anticancer agent

HAN Jin-yu, YU Liang-tao, WANG Hua

(School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

**Key words** bullatacin; natural products; bioactivity; isolation and purification; multidrug resistance

在过去 20 年里, 由于番荔枝内酯的广泛且显著的生物活性和特殊的化学结构, 已经引起许多植物学家和化学家的兴趣。自从 Jolad<sup>[1]</sup>在 1982 年开创性的发现 Uvarian 之后, 这方面研究得到了长足发展。到目前为止, 在这个属的植物中已经发现 250 种番荔枝内酯。许多番荔枝内酯展现出强有力的抗肿瘤、抗原虫、抗菌、免抑制免疫力和杀虫的活性。在所有的番荔枝内酯之中, 根据美国国家癌症研究中心(NCI)的数据表明, 泡番荔枝辛(bullatacin)在治疗一些癌症中表现出极强的抗癌生理活性。因此人们对泡番荔枝辛的化学结构(图 1)<sup>[2]</sup>性质、生物活性、分离纯化方法和药理作用进行了深入的研究。

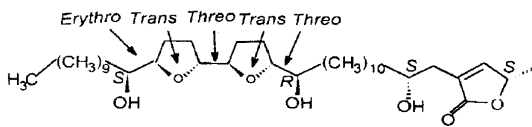


图 1 bullatacin 的化学结构

#### 1 来源

泡番荔枝辛的来源主要是 2 种: 天然提取和化学合成。在回归自然的浪潮之中, 天然提取的方法得到了人们的普遍青睐。而且, 相对于其它的方法, 天然提取有着成本低、生产工艺简单的优点。

1.1 天然提取: 许多番荔枝属番荔枝科的植物都含有泡番荔枝辛, 在 *Annona bullata* Roch. 和 *A. squamosa* 中含量特别高。*A. bullata* Rich. 是产于古巴的一种高树, *A. squamosa* 是一种美洲土生的落乔木。泡番荔枝辛可以从植物的种子、树根和树皮中提取而得。总体说来, 泡番荔枝辛在树皮中的含量比在其它部位的含量要高。但从环境保护的角度考虑, 不应过多从树皮中提取, 而应开发从其它部位提取, 如从种子中提取。

在中国, 从 *A. atemoyacin* 的树皮和种子的粗提物中, 陈文森<sup>[3]</sup>提取出了这种有甲酯的番荔枝内酯, 据报道, 在 *A. atemoyacin* 的含量高达 10<sup>5</sup>。

1.2 化学合成: 泡番荔枝辛已经成功的被 Hoyle<sup>[4]</sup>等化学家合成出来。然而, 与天然提取的方法相比, 由于泡番荔枝辛复杂的化学结构和独特的空间结构, 如复杂的过程, 生产成本低, 低产率, 所以此种方法仅限于学术研究而无实际生产价值。

#### 2 分离和纯化

从植物中分离纯化泡番荔枝辛的实验室步骤主要包括以下 3 个步骤: 从植物中浸取有用成分以除去不溶的物质; 然后加入不同极性的试剂进行分离以除去不溶的化合物, 如叶绿素; 最后, 使用传统色谱技术的适当组合得到纯品。分离纯化的步骤以 2 个实例加以说明。

\* 收稿日期: 2001-06-20

作者简介: 韩金玉, 天津大学化工学院教授, 硕士生导师。1993 年博士毕业于天津大学化学工程专业, 主要研究方向为天然药物分离纯化、生产工艺的研究与开发, 主持了国家自然科学基金项目工作, 发表学术论文 30 余篇。

2.1 方法 1<sup>[5]</sup>: 粉碎的 *A. bullata* Rich. 树皮加入 95% EtOH 浸取, 浓缩, 得浆状物。加入水和氯仿分层后除去水溶物, 氯仿层通过蒸发浓缩, 得浆状物, 加入己烷-90% MeOH (1: 1) 以除去溶解在己烷的化合物。90% MeOH 部分真空干燥后吸附在 100 g 硅藻土上, 装入硅胶柱, 用己烷-CHCl<sub>3</sub>-MeOH 梯度洗脱, 根据相同的 TLC 性质汇总, 称重, 用盐水虾致死实验 (BST) 加以生物分析。最多且毒性最强的部分 (组分 40~ 51) 吸附在 100 g 硅藻土上, 再用含有 CHCl<sub>3</sub> 的硅胶柱色谱分离, CHCl<sub>3</sub>-EtOAc-MeOH 梯度洗脱, 收集各个组分 (每份 100~ 200 mL), 根据 TLC 性质汇总并用 BST 分析。使用 CHCl<sub>3</sub>-EtOAc (1: 1) 洗脱得到毒性最大的部分 (组分 106~ 111), 浓缩得到白色晶体, 加入 EtOAc 重结晶得到白色针状晶体—泡番荔枝辛。

2.2 方法 2<sup>[3]</sup>: 粉碎的树根用 95% EtOH 萃取, 真空蒸干以得到浆状物, 加入石油醚脱脂, 然后加入氯仿萃取。溶液吸附在硅胶柱 (250 g) 后色谱洗脱。采用 3 种不同的洗脱液: (A) 7: 3 正己烷-丙酮; (B) 1: 1 正己烷-丙酮; (C) 丙酮, 按照每份 100 mL 收集。洗脱剂 A, B, C 相应收集 1~ 23, 24~ 46, 47~ 54 组分。收集用洗脱液 C 洗脱的组分并蒸发浓缩得到浆状物, 通过 TLC 色谱分离以得到半成品, 进一步用 HPLC 分离纯化得到纯品泡番荔枝辛。

### 3 生理活性

3.1 抗癌和抗肿瘤活性: 泡番荔枝辛对许多癌细胞都有很强的选择性 (表 1)。最为重要的是, 在相同的条件下, 其往往呈现出比其它化合物更强的抗癌生理活性。在小鼠体内, taxol 以 20~ 300 mg/(kg·d) 的剂量对肿瘤系统有疗效, 而泡番荔枝辛的最佳剂量是 0.05 mg/(kg·d), 表明其在小鼠体内的活性比 taxol 强 400~ 600 倍<sup>[6]</sup>。为了进一步验证泡番荔枝辛抗肿瘤的选择性, 将其送至美国国立肿瘤研究所做众多肿瘤细胞株实验, 表现出独特的选择性, 尤其是对一些中枢神经系统癌、非小细胞性肺癌、白血病、卵巢癌。

表 1 泡番荔枝辛对特殊细胞株的选择性

细胞株	ED <sub>50</sub> ( $\mu$ g/mL)
9PS	$< 10^{-15}$
9KB	$6.2 \times 10^{-14}$
A-549	$1.3 \times 10^{-13}$
HT-29	$< 10^{-12}$
MCF-7	$< 10^{-12}$

注: 9PS 鼠类淋巴白血病细胞株; 9KB 人鼻咽癌细胞株; A-549 人肺癌细胞株; HT-29 人结肠癌细胞株; MCF-7 人乳腺癌细胞株。

泡番荔枝辛不仅在体外实验表现出抗肿瘤活性, 而且在体内实验也同样表现出抗肿瘤活性。用其治疗 L1210 白血病, 实验表明小鼠的寿命得以延长。而且, 当 A2780 卵巢癌细胞的异种转移物培养在无胸腺的小鼠体内, 其明显抑制肿瘤细胞的生长 (表 2)。实验表明有必要进一步研究以寻求更好的治疗药物。

泡番荔枝辛也表现出抑制多药抗药性 (multidrug-resistant, MDR) 肿瘤细胞的生物活性。由于肿瘤细胞内在或已

获得的药物抗性, 化疗治疗肿瘤经常失败。所以, 多药抗药性是肿瘤化疗的一个很大的障碍。到目前为止, 最好的解决办法是寻求新的对多药抗药性细胞无抵抗力的药物。泡番荔枝辛正是这种对多种癌细胞株有强的细胞毒的番荔枝内酯。人乳腺癌细胞 MCF-7/ADR 和人鼻咽癌细胞 KBV200 对阿霉素 (doxorubin) 和长春新碱 (vincristine) 的抗性比它们的亲代 MCF-7 和 KB 强 100 倍, 然而泡番荔枝辛表现出对它们有很强的细胞毒性, 对多药抗药性细胞的 IC<sub>50</sub> 值接近它们亲代的敏感细胞的 IC<sub>50</sub> 值<sup>[7]</sup>。多药抗药性肿瘤细胞对天然抗癌药物引起的凋亡有抵抗力, 泡番荔枝辛对敏感细胞和多药抗药性细胞都能引起凋亡。因此, 泡番荔枝辛和抗癌药物的辅助治疗将会加强对多药抗药性细胞的治疗效果。

表 2 泡番荔枝辛在裸鼠体内的抗肿瘤活性

肿瘤细胞株	剂量 (mg/kg)	抗肿瘤活性 (T/C)
L1210	0.05	138
A2780	0.1	68*

\* 在裸鼠体内增加寿命 (%), \*\* 肿瘤生长抑制 (%)

L1210 鼠类淋巴细胞株; A2780 人卵巢癌细胞株

3.2 杀虫活性: 泡番荔枝辛强的杀虫活性正在被开发。Eli Lilly Laboratories 进行了广泛的实验, 结果如表 3 所示<sup>[8]</sup>, 甚至在  $1 \times 10^{-6}$  的浓度下其对许多昆虫有很强的毒性, 有望成为天然的杀虫剂。

表 3 泡番荔枝辛的杀虫活性 (%)

浓度 ( $\times 10^{-6}$ )	CA	ML	SAW	CRW	2SSM
0.5	—	0	—	—	—
1	80	0	—	—	—
6	—	—	—	20	—
10	80	80	0	—	20
24	—	—	—	80	—
100	80	—	0	—	30
400	90	—	0	—	20

注: CA—cotton aphid; ML—mosquito larvae; SAW—southern army worm; CRW—corn root worm; 2SSM—two-spotted spider mite

### 4 作用机制

泡番荔枝辛的作用靶点是在线粒体的辅酶 I (NADH-ubiquinone oxidoreductase), 作用机制表现为抑制线粒体电子传输系统的辅酶 I。抑制的辅酶 I 阻碍了 ATP 的生成, 细胞间的能量得以耗尽。由于失去新陈代谢的能量导致辅酶 I 死亡, P-gp (可渗透性糖蛋白) 的作用彻底失去, 多药抗药性细胞内的泡番荔枝辛和其它的抗癌药物的浓度的增加, 所以多药抗药性细胞对泡番荔枝辛敏感而无抵抗力<sup>[9]</sup>。表明泡番荔枝辛是一种有望治疗多药抗药性天然药物。

### 5 结论

在体内、外实验泡番荔枝辛都表现出显著的抗肿瘤活性且以其独特的末端不饱和内酯和邻双四氢咪喃环结构, 有望成为继 taxol 之后新的抗癌药物。到目前为止, 已证明泡番荔枝辛具有强的抗肿瘤、杀虫等活性。最近发现的治疗多药抗药性的活性则吸收更多的研究者投入到研究这种番荔枝内酯的研究之中。泡番荔枝辛特殊活性在于它能够抑制线粒体传输系统内的 complex I。而且, 化疗失败主要原因 P-gp 泵

依靠 ATP 能量代谢表明,泡番荔枝辛辅助治疗和其他抗癌的治疗将有利于抑制多药抗药性细胞的发展,从而得以治愈。

泡番荔枝辛的药理和生物活性,给我们提供了一个治疗多药抗药性肿瘤细胞的一个很好的前景。然而,由于含量低,工业化生产并非易事。而且,由于存在手性中心,更多的工作是要除去空间异构体,从而增加生产的难度。如何有效且经济的提取泡番荔枝辛依然是一个摆在化学家面前的一个挑战。

参考文献:

[1] Jolad S D, Hoffmann J J, Schram K H, *et al.* Uvaricin, a new antitumor agent from *Uvaria acuminata* (Annonaceae) [J]. *J Org Chem*, 1982, 47(3): 351-353.  
 [2] 符立梧,潘启超,梁永钜. 一种新番荔枝内酯单体 atemoy-acin-B 克服肿瘤多药抗药性 [J]. *Acta Pharmaceutical Sinica*, 1999, 20(5): 435-439.  
 [3] 吴萍,陈文森,俞千,等. 阿蒂莫耶根番荔枝内酯的研究

[J]. *有机化学*, 1999, 19: 46-52.  
 [4] Thomas R Hoye, Lushi Tan. Total synthesis of potent anti-tumor, bis-tetrahydrofuranlyl annonaceous acetogenins (+)-asimicin and (+)-Bullatacin [J]. *Tetrahedron Letters*, 1995, 36(12): 1981-1984.  
 [5] McLughlin, Jerry L. Chemotherapeutically active acetogenins [P]. United States Patent 5229419, 1993-07-20.  
 [6] Ahammadshahib K I, Hollingworth R M. Mode of action of bullatacin: a potent antitumor and pesticidal annonaceous acetogenin [J]. *Life Science*, 1993, 53: 1113-1120.  
 [7] 符立梧,潘启超,陈文林. 阿蒂莫耶根番荔枝内酯体外抗肿瘤作用 [J]. *癌症*, 1997, 16(6): 409-410.  
 [8] Hui Y H, Rupprecht J K, Liu Y M. Bullatacin and bullatacinone: two highly potent bioactive acetogenins from *annona bullata* [J]. *J Nat Prod*, 1989, 52(3): 463-477.  
 [9] 符立梧,潘启超,梁永钜. 一种新番荔枝内酯单体 atemoy-acin-B 克服肿瘤多药抗药性 [J]. *Acta Pharmaceutical Sinica*, 1999, 20(5): 435-439.

## 金钱白花蛇真伪鉴别研究综述

黄成勇

(广西柳州市药品检验所,广西 柳州 545001)

摘要: 概述了近十余年来金钱白花蛇及其伪品的鉴别研究情况,介绍了从传统到现代化的各种鉴别方法,对一些鉴别内容及方法提出了进一步完善的想法。

关键词: 金钱白花蛇;伪品;鉴别

中图分类号: R282.740.3 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)04-0382-03

### Survey of studies on identification of *Bungarus multicinctus multicinctus*

HUANG Cheng-yong

(Liuzhou Institute for Drug Control, Liuzhou Guangxi 545001, China)

Key words *Bungarus multicinctus multicinctus* Blyth; adulterant; identification

金钱白花蛇为眼镜蛇科动物银环蛇 *Bungarus multicinctus multicinctus* Blyth 除去内脏的幼蛇干燥体<sup>[1]</sup>。具有祛风、通络、止痉功能。由于金钱白花蛇价格较昂贵,加之用药量的增加,故而市场上其伪品及混淆品屡有所见。常见的伪品有同科动物金环蛇 *B. fasciatus* (Schneider)、游蛇科动物赤链蛇 *Dinodon rufozonatum* (Cantor)、黄链蛇 *D. flavozonatum* Pope、水赤链游蛇 *Natrix annularis* (Hallowell)、黑背白环蛇 *Lycodon ruhstrati* (Fischer)、双全白环蛇 *L. fasciatus* (Anderson)、百花锦蛇 *Elaphe moellendorffi* (Boettger)、铅色水蛇 *Enhydria plumbea* Boie、中国水蛇 *E. chinensis* (Gray)、横纹后棱蛇 *Opisthotropis balteata* (Cope)、海蛇科动物青灰海蛇 *Hudrophis caerulea* (Shaw) 等 11 种或以具有横纹的蛇纵向割成数条后配以其它蛇头制成的

伪品及以其它幼蛇经白色油漆、退色药水涂制成的伪品<sup>[2-6]</sup>。本文综述采用性状鉴别、鳞片鉴别、显微鉴别、理化鉴别、生物学技术鉴别等手段,对金钱白花蛇进行真伪鉴别研究的情况。

#### 1 性状鉴别

适用于鉴别蛇体完整者。根据蛇头部、盘径、蛇头与蛇体连接情况、白色环纹数、环纹宽度、蛇尾、脊棱、背鳞、毒牙有无等差异进行鉴别,如党江川等<sup>[2-5]</sup>鉴别了金钱白花蛇及其以上 11 种伪品,并列有性状鉴别比较表,可根据特征加以区别真伪。

张昌禧等<sup>[7]</sup>提出了专属性较强、简易快捷的鉴别要领:游蛇科动物无毒牙,有颊鳞,尾下鳞双行,上唇鳞在 8 片以上,无六角形脊鳞;青灰海蛇黑色与黄白环纹相间,深色部分