

有效成分。

观光木树皮的生物活性成分研究

宋晓凯¹, 吴立军², 屠鹏飞^{3*}

(1. 天津理工学院生物与化工学院, 天津 300191; 2. 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016; 3. 北京大学药学院中医药现代研究中心, 北京 100083)

摘要: 目的 研究观光木树皮的化学成分和生物活性。方法 运用生物活性跟踪的方法, 对中国特有植物观光木(学名: 宿轴木兰)树皮乙醇浸膏的乙酸乙酯萃取部分和正丁醇萃取部分进行体外抗肿瘤活性筛选。结果 这 2 个萃取部分均具有抗肿瘤活性。用柱层析对活性部位进行化学成分研究, 从乙酸乙酯部分分得 3 个吉马烷型半萜内酯: 木香烯内酯(I)、小白菊内酯(II)和 11, 13-二氢小白菊内酯(III)。从正丁醇部分得到 1 个阿朴菲类生物碱: 鹅掌楸碱(IV)、1 个呋喃酮类化合物: 2, 3-二羟基-2-甲基-丁内酯(V)。结论 上述 5 个化合物均为首次从该植物中分离得到。化合物 I、II、IV、V 分别对所测试的不同肿瘤细胞株具有较好的细胞毒活性。

关键词: 观光木; 木香烯内酯; 小白菊内酯; 二氢小白菊内酯; 鹅掌楸碱; 生物活性

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)08-0676-03

Studies on bioactive constituents in bark of *Tsoongiodendron odorum*SONG Xiao-kai¹, WU Li-jun², TU Peng-fei³

(1. College of Biology and Chemical Engineering, Tianjin Institute of Technology, Tianjin 300191, China;

2. College of Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110015, China;

3. Modern Research Center for TCM, School of Pharmacy, Peking University, Beijing 100083, China)

Abstract Object To study the chemical constituent and the bioactivity in the bark of *Tsoongiodendron odorum* Chun.

Methods By bioactive following method, the extracts of both EtOAc and *n*-BuOH in the bark of *T. odorum* were screened for *in vitro* anti-tumor activity. **Results** Five constituents were obtained. Among them, three from EtOAc fraction belonged to germacranolides. They were costunolide (I), parthenolide (II) and dihydroparthenolide (III). The other two were from the fraction of *n*-BuOH, one was an oxoaporphinoid alkaloid, liriodenine (IV), and the last was a furanone, 2, 3-dihydroxyl-2-methyl-butylrolactone (V). **Conclusion** All the above five compounds are found for the first time from this plant. Compounds I, II, IV, and V show the cytotoxic activities against a variety of tumor cell strains, respectively.

Key words *Tsoongiodendron odorum* Chun.; costunolide; parthenolide; dihydroparthenolide; liriodenine; biological activity

观光木 *Tsoongiodendron odorum* Chun. 系木兰科观光木属常绿乔木, 为中国特有的珍稀濒危植物, 主要分布于广东、广西、海南等地^[1]。在我国南方, 民间用其树皮或根皮治疗癌症有一定的疗效。有关其化学成分及生物活性除仅有的脂肪酸分析外^[2], 未见任何文献报道。人们从木兰科植物中分离出多种倍半萜内酯和生物碱、酚酸类物质等。经研究

发现, 凡是 γ -内酯环 C₁₁~C₁₃ 上具双键结构的, 对人体鼻咽癌细胞 (KB) 都具有细胞毒活性^[3]。

为了挽救观光木这一濒危植物, 充分了解濒危植物的化学成分和生物活性, 变被动保护为主动保护, 作者对其化学成分及抗肿瘤活性进行了研究。运用生物活性跟踪的方法, 对观光木树皮 95% 乙醇提取物的乙酸乙酯和正丁醇萃取部分进行了体外抗肿

* 收稿日期: 2002-01-08

基金项目: 国家自然科学基金重点资助项目 (29732040)

作者简介: 宋晓凯 (1958-), 男, 天津人, 副教授, 博士, 中国药学会会员, 1982年毕业于沈阳药学院药理学系, 2001年毕业于沈阳药科大学药物化学专业, 获理学博士学位。现为天津理工学院生物与化学工程学院副院长, 兼生物与制药工程系主任。主要研究方向: 1. 中药及天然药物活性成分的研究、结构修饰及合成; 2. 中药的二次开发、各种新技术在中药制药工艺中的应用等。

瘤活性筛选 结果表明:这 2个萃取部分均具有抗肿瘤活性。用柱层析对活性部位进行化学成分研究,从乙酸乙酯部分得到 2个具有生物活性的吉马烷型倍半萜内酯,木香烯内酯(costunolide, I),小白菊内酯(parthenolide, II),此外还得到 11, 13-二氢小白菊内酯(11, 13-dihydro parthenolide, III);从正丁醇部分得到了 2个具有生物活性的物质:鹅掌楸碱(liriodenine, IV)和 2, 3-二羟基-2-甲基-丁内酯(2, 3-dihydroxyl-2-methyl-butylrolactone, V)对化合物 I、II、IV、V 进行了体外抗肿瘤活性筛选,分别对所测试的不同的肿瘤细胞株具有较好的细胞毒活性,这一发现对文献报道的有关其抗肿瘤生物活性进行了补充和完善^[3-5]。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂: INOVA-500型核磁共振仪; VXR-300型核磁共振仪(CDCl₃为溶剂, TMS作内标); Perkin-Elmer 983型红外光谱仪, KBr压片; AEI-MS-50型质谱仪和 ZAB-HS型质谱仪; XT4A型显微熔点测定仪,温度计未校正; Vario-El元素分析仪;常规提取分离用的有机溶剂为国产 AR级试剂;柱层析硅胶和薄层层析硅胶均为青岛海洋化工厂产品;体外抗肿瘤活性筛选所用试剂参照文献^[5,6]。观光木 *T. odorum* Chun. 购买于广东省广州市华南植物园,经广东省木兰学会秘书长曾庆文先生鉴定

1.2 提取与分离:观光木树皮粗粉 5 kg, 95%乙醇提取,回收乙醇得总提取物 300 g 将乙醇提取物分布于 300 mL水中,依次用石油醚(500 mL×3次),乙酸乙酯(500 mL×3次),正丁醇(500 mL×3次)萃取,分别得浸膏为 48.5, 50, 60 g 取乙酸乙酯干膏(40 g)进行硅胶柱层析(200~300目),石油醚-丙酮(10:1~1:1)洗脱,得到化合物 I~III 正丁醇干膏(120 g)进行硅胶柱层析(200~300目),氯仿-甲醇(20:1~1:1)洗脱,得到化合物 IV、V。

1.3 化合物鉴定

化合物 I: 无色柱状结晶(石油醚-乙酸乙酯); mp 103 °C~105 °C; IR(KBr) cm⁻¹: 1757(α,β-不饱和 γ 内酯), 1656, 1244, 1136; EI-MS m/z 332(M⁺)(30), 204(M⁺-CO)(3), 190(M⁺-C₂H₅CO)(4), 化合物 I 的¹H NMR ¹³C NMR 化学位移(δ)分别见表 1, 2 以上数据与文献报道的木香烯内酯一致^[5,7]。

化合物 II: 无色片状结晶(石油醚-乙酸乙酯); mp 114 °C~115 °C; IR(KBr) cm⁻¹: 1745(α,β-不

饱和 γ 内酯), 1655, 1246, 1144; EI-MS m/z 248(M⁺)(2), 230(M⁺-H₂O)(9), 190(M⁺-COOCH₃)(61), 化合物 II 的¹H NMR 化学位移(δ)见表 1, ¹³C NMR 化学位移(δ)见表 2 以上数据与文献报道的小白菊内酯一致^[4]

化合物 III: 油状物; IR(KBr) cm⁻¹: 1753(γ 内酯), 1444, 1225, 1167, 974; EI-MS m/z 250(M⁺), 232(3), 207(4), 192(M⁺-COCH₃)(13), 13(19), 119(32); 化合物 III 的¹H NMR 化学位移(δ)见表 1, ¹³C NMR 化学位移(δ)见表 2 以上数据与文献报道的 11, 13-二氢小白菊内酯一致^[4]

化合物 IV: 绿色针状结晶(CHCl₃); mp 275 °C~277 °C; IR(KBr) cm⁻¹: 1652, 1590; EI-MS m/z 275(M⁺), 246(M⁺-CHO), 化合物 IV 的¹H NMR 化学位移(δ)见表 1, ¹³C NMR 化学位移(δ)见表 2 元素分析结果: C₇H₉O₃N(C: 67.17%; H: 3.95%; O: 21.06%; N: 4.49%) 以上数据与文献报道的鹅掌楸碱(liriodenine)一致^[3,4,8,9]。

表 1 化合物 I~V 的¹H NMR 数据(CDCl₃, 500 MHz)

化合物	¹ H NMR δ
I	4.86(d, H, 11.5 Hz, H-1), 4.72(d, H, 10 Hz, H-5) 4.57(dd, H, 8.5 Hz, H-6), 2.57(t, H, 8.5, 8.5 Hz, H-7) 2.45(brdd, H, 13.5 Hz, H-8), 5.53(d, H, 3.5 Hz, H-13) 6.25(d, H, 4 Hz, Hb-13), 1.42(s, 3H, CH ₃ -10) 1.69(s, 3H, CH ₃ -4)
II	5.22(d, H, 12.5 Hz, H-1), 2.78(d, H, 9 Hz, H-5) 3.87(t, H, 8.51 Hz, H-6), 5.63(d, H, 3.5 Hz, Ha-13) 6.53(d, H, 3.5 Hz, Hb-13), 1.72(s, 3H, CH ₃ -10) 1.31(s, 3H, CH ₃ -4)
III	5.15(dd, H, 2.3, 11.9 Hz, H-1) 2.11(dddd, 2.3, 6.0, 13.0, 13.0 Hz, Ha-2) 2.37(dddd, 5.0, 11.9, 13.0, 13.0 Hz, Hb-2) 2.69(d, H, 9.0 Hz, H-5), 3.80(dd, H, 8.4, 9.0 Hz, H-) 2.28(m, H, H-8a), 1.80(m, H, H-8b), 1.80(m, H, H-9a), 2.25(m, H, H-9b), 2.27(dq, H, H-1β), 1.25(d, 3H, CH ₃ -11) 1.67(s, 3H, CH ₃ -10), 1.26(s, 3H, CH ₃ -4)
IV	6.35(s, 2H, C1-O-CH ₂ O-C2), 7.12(s, 1H, H-3) 7.7(bns, H, H-4), 8.53(d, H, 8.0 Hz, H-8) 7.56(t, 1H, 8.01 Hz, H-9), 7.67(t, H, 8.0 Hz, H-10) 8.87(d, H, 5.1 Hz, H-11)
V	1.48(s, 3H, CH ₃ -2), 4.0(d, 3.5 Hz, H-β) 4.15(d, H, 10.5 Hz, H-4a), 4.35(dd, H, 3.5 Hz, 10.5 Hz, H-4β)

化合物 V: 白色颗粒(丙酮); IR(KBr) cm⁻¹: 3615, 1780; EI-MS m/z 133(M⁺), 115(M⁺-H₂O), 97(M⁺-2H₂O); 化合物 V 的¹³C NMR 化学位移(δ)见表 2 以上数据与文献报道的 2, 3-二羟基-2-甲基-丁内酯一致^[10]。

1.4 体外抗肿瘤活性筛选试验: 人白血病细胞株活性测试采用 MTT法进行,参照文献^[5]; 其他肿瘤细

表 2 化合物 I ~ V 的 ^{13}C NMR 数据 (CDCl_3 , 500 MHz)

碳位	I	II	III	IV	V
1	127.10	125.30	12.51	144.25	178.29
2	26.02	24.14	24.04	147.92	73.68
3	39.27	36.35	36.62	107.92	73.18
4	141.25	61.50	61.46	123.15	72.12
5	127.10	66.39	66.34	145.18	21.48
6	81.72	82.43	82.13		
7	50.20	47.67	51.90	182.31	
8	27.85	41.20	29.73	127.52	
9	40.79	30.65	41.12	128.50	
10	136.78	134.58	134.40	135.71	
11	139.90	139.20	42.45	127.29	
12	170.26	169.23	177.34	128.76	
13	119.44	121.23	13.23	126.52	
14	15.93	17.28	17.14	131.16	
15	17.15	16.96	16.85	133.88	
16				119.16	
17				102.29	

胞株活性测试参照文献^[6]所描述的 SRB 法进行。

表 4 化合物 I , II , IV 和 V 的细胞毒性

成分	HL-60	KB	SKOV3	Bel-7402	HCT-8	Hela	ET	BGC-823	293
I	50.26%								
II		81.12%	88.11%	54.60%	87.92%	67.17%	55.66%		
		10	10	10	10	10	10		
IV		52.38%		60.62%				55.70%	
		10		10				10	
V									51.97%
									100

2 讨论

2.1 对观光木抗癌活性的一点认识: 观光木一直被民间用来治疗癌症, 但人们并没有去探究其发挥抗癌疗效的有效成分, 甚至没有进行过其粗提物的药理研究, 包括动物体内和体外的活性筛选。作者据此进行了以生物活性跟踪为手段的活性成分筛选研究, 由此分离出上述 4 个具有生理活性的成分。从某种意义上来说, 作者阐明了这一中国特有植物在临床上用于抗癌的物质基础, 为进一步系统研究该植物的药用价值提供了一定的依据。

2.2 体外抗肿瘤活性筛选结果分析: 从表 3, 4 可以发现, 不论是乙酸乙酯部分、正丁醇部分, 还是化合物 I、II、IV、V 均对所测试的某些肿瘤细胞株产生细胞毒作用。通常认为, 只有当抑制浓度 $< 10 \text{ mg/L}$ 时, 其抑制率达到 50% 以上才对该肿瘤细胞株产生细胞毒。因此, 该植物的抗癌活性可能是植物内多种有效成分协同发挥作用而产生的。这也表明, 一种药用植物实际上就是一个中药复方, 其疗效完全是由植物体内的有效成分共同作用的结果。

致谢: 北京大学医学部天然药物及仿生药物国家重点实验室崔景荣教授、王瑞卿同志等协助完成

观光木树皮的乙酸乙酯部分和正丁醇部分的体外抗肿瘤活性筛选结果(抑制率(%)(上行数字)抑制的剂量(10 mmol/L)或抑制浓度(100 mg/L)(下行数字))详见表 3

化合物 I , II , IV , V 的体外肿瘤活性筛选结果(内容同上)详见表 4

活性筛选所用的肿瘤细胞株如下: 人白血病 (HL-60); 人结肠癌 (HCT-8); 人胃癌 (BGC-823); 人肝癌 (Bel-7402); 人卵巢癌 (SKOV3); 人鼻咽癌 (KB); 人宫颈癌 (Hela); 人胚肾 (293); 人膀胱癌 (EJ)

表 3 观光木树皮提取物的细胞毒性

部位	KB	BGC-823	Bel-7402	HCT-8	HL-60
乙酸乙酯部分	抑制率 (%)	90	95.62	93.20	82.70
	剂量 (mmol/L)	10	10	10	10
正丁醇部分	抑制率 (%)	67.50	84.30	53.65	
	剂量 (mmol/L)	10	10	100 mg/L	

植物活性成分体外筛选实验

参考文献:

- [1] 中国科学院华南植物所. 海南植物志 [M]. 广州: 广东科学技术出版社, 1964.
- [2] 中国油脂植物编写委员会. 中国油脂植物 [M]. 北京: 科学出版社, 1983.
- [3] Masaru O, Geoffrey A C, Norman R. Anticancer sesquiterpene lactones of *Michelia compressa* (Magnoliaceae) [J]. *Phytochemistry*, 1978, 17(4): 957-961.
- [4] Ni Jiri R, Arthom R. Constituents of *Paramichelia baillon* II: A new antitumor genmacranolide alkaloid [J]. *J Nat Prod*, 1987, 50(5): 891-896.
- [5] Michael C A, Dominic A S, Anne M, et al. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay [J]. *Cancer Res*, 1998, 48(1): 589-601.
- [6] Philip S, Ritsa S, Dominic S, et al. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1990, 82: 1107-1112.
- [7] Ulla J, Vijaya K, Shantini S. Sesquiterpene lactones from *Michelia champaca* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 39(4): 839-843.
- [8] Chen C V, Chang H M, Ellis B C. Aporphine alkaloids in heartwood of *Liriodendron tulipifera* [J]. *Phytochemistry*, 1976, 15(2): 547-550.
- [9] Guinaudeau H, Leboeuf M, Cave A. Aporphine alkaloids II [J]. *J Nat Prod (Lloydia)*, 1983, 46(4): 325-360.
- [10] Ahmed A A, Pring O, Mohamed H, et al. Sesquiterpene lactones and other constituents from *Hymenoxys richardsonii* and *H. subintegra* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 39(5): 1127-1131.