



a-(表)儿茶素 b-(表)棓儿茶素 c-(表)儿茶素苄硫醚 d-(表)棓儿茶素苄硫醚
a-(epi) catechin b-(epi) gallo catechin c-(epi) catechin benzylthioether d-(epi) gallo catechin benzylthioether

图 2 沙棘籽原花色色素多聚体硫解产物的质谱图

Fig. 2 Mass spectrogram of components in thiolysis media of sea buckthorn seed proanthocyanidins polymers

表 1 沙棘籽原花色色素多聚体的平均聚合度及单体组成分析*

Table 1 Analysis of average polymerization grade and single composition of sea buckthorn seed proanthocyanidin polymers determined by HPLC*

末端单元				延伸单元			平均聚合度/	原飞燕草素比例/%
GC	EGC	Cat	EC	GC+EGC	Cat	EC	mDP	
4.6	1.3	1.6	0.70	75.2	13.7	2.9	12.2	81.2

*GC, EGC, Cat, EC 分别为棓儿茶素、表棓儿茶素、儿茶素及表儿茶素单元的缩写,表中数据为摩尔分率

*GC, EGC, Cat, and EC are abbreviations for gallo catechin, epigallo catechin, catechin, and epicatechin units. All amounts represent relative concentrations (in mol)

聚体在分离纯化过程中极易氧化,因而未能得到。在试验过程中,同时发现了数量较多的混合二聚体,即由(表)儿茶素和(表)棓儿茶素单元组成的二聚体(HPLC-ESI 分析结果另见报道)多聚体由儿茶素、表儿茶素、棓儿茶素、表棓儿茶素单元组成,并且主要为原飞燕草素。以上研究结果表明:沙棘籽原花色色素组成复杂,具有高度异质的特点。这是有关沙棘籽原花色色素组成的首次报道。

References:

- [1] Rousi A. The genus *Hippophae* L. A taxonomic study [J]. *Ann Bot Fennici*, 1971, 8: 177-227.
- [2] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1977.
- [3] R ösch D, Bergmann M, Knorr D, *et al*. Structure-antioxi-

dant efficiency relationships of phenolic compounds and their contribution to antioxidant activity of sea buckthorn juice [J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51(15): 4233-4329.

- [4] Guyot S, Marnet N, Drilleau J F. Thiolysis HPLC characterization of apple procyanidins covering a large range of polymerizations rates [J]. *J Agric Food Chem*, 2001, 49: 14-20.
- [5] Meagher L P, Lane G, Sivakumaran S, *et al*. Characterization of condensed tannins from *Lotus* species by thiolytic degradation and electrospray mass spectrometry [J]. *Animal Feed Sci Technol*, 2004, 117: 151-163.
- [6] Foo L Y, Lu Y, Menabb W C, *et al*. Proanthocyanidins from *Lotus pedunculatus* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 45(8): 1689-1690.
- [7] Jorge M, Ricardo da Sliva, Rigard J, *et al*. Procyanidin dimmers and trimers from grape seed [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(4): 1259-1264.
- [8] Matthews W, Mila I, Scalbert A, *et al*. Method for estimation of proanthocyanidins based on their acid depolymerization in the presence of nucleophiles [J]. *J Agric Food Chem*, 1997, 45: 1195-1201.

喜树果脂肪酸化学成分分析

刘展眉^{1,2}, 崔英德¹, 方岩雄²

(1. 广东工业大学 轻工化工学院, 广东 广州 510090; 2. 仲恺农业技术学院 化学与化工系, 广东 广州 510225)

喜树 *Camptotheca acuminata* Decne. 隶喜树属 *Camptotheca* Decne. 珙桐科, 为我国特有树种, 出产于我国的浙江、江苏、江西、湖北、湖南、广东等地。

1966 年由 Wall 等人首次从我国引种的喜树杆中分离得到喜树碱(CPT), 研究发现喜树碱对胃癌、直肠癌等恶性肿瘤均有一定的近期疗效。1985 年,

收稿日期: 2005-10-30

基金项目: 广东省科学技术攻关项目资助(2KB01202S)

作者简介: 刘展眉(1963—), 女, 广州, 副教授, 在职博士, 主要从事天然产物化学研究。

Tel: (020)89003160 E-mail: liuzhanm@21cn.com

Hsiang 等人发现喜树碱及衍生物是以拓朴异构酶 (Topo I) 为作用靶抑制 DNA 的合成而发挥抗癌作用的机制后,又引起人们的进一步关注。许多衍生物应运而生,成为抗癌领域研究的新热点,目前喜树碱类药物已进入临床阶段,并获美国 (FDA) 的批准,成为继紫杉醇之后第 2 个获准上市的具抗癌活性的天然药物。喜树果作为喜树碱的主要基源,对其化学成分的深入了解,将有利于提高提取效益,发展综合利用。胡锦涛等^[1]曾报道从喜树果中检出 10 种脂肪酸组分,本实验用加夹带剂的 CO₂ 超临界流体萃取方法对喜树果进行萃取,并用 GC-MS 方法对萃出物进行了分析,检出 16 种脂肪酸组分。

1 实验部分

1.1 仪器与材料:HA230-50-03 超临界萃取装置 (江苏南通华安超临界萃取有限公司);气相色谱-质谱-计算机联用仪 HP6890GC/5973MS;实验材料:喜树果购自广州清平药材市场,该样品经广东省医药公司王晓文药剂师鉴定为正品。

1.2 用加夹带剂的超临界 CO₂ 流体提取喜树果脂肪酸:将自然干燥的喜树果粉碎至 60 目,称取 250 g,加入到萃取槽中,萃取条件:萃取压力 35 MPa,温度 40 °C,夹带剂投入比例为每克试样加入 0.3 mL 乙醇,分离压力 8 MPa,萃取槽、分离柱、解析釜 I、解析釜 II 及贮灌分别进行加热或冷却,调节温度和压力和夹带剂比例,循环萃取。调节流量为 155~180 kg/h 恒温恒压萃取 3 h 出料。萃取物(脂质)于常压下与 CO₂ 分离并被收集,经浓缩、称重、甲酯化、分离其他成分、浓缩、称重等后处理过程,取得混合脂肪酸甲酯供分析测试。

1.3 GC-MS 法测定^[2]

1.3.1 GC 条件:色谱柱:15 m×0.25 mm,0.33 μm 的 SE-30 弹性石英毛细管柱。柱温:初温 60 °C,恒温 3 min,以 10 °C/min 升温速率升至 280 °C,保持 5 min。载气:He;柱前压:60 kPa;分流比:70:1;进样量:0.5 μL。

1.3.2 MS 条件:EI 离子源;电子能量 70 eV。扫描范围:29~400 amu。四极杆温度:150 °C。离子源温度:230 °C。倍增器电压:2 000 V。GC-MS 接口温度:280 °C。载气为氮气,进样量 1 μL,不分流,溶剂延迟 3 min。程序升温:60 °C 恒温 2 min,6.0 °C/min 升温,至 100 °C 恒温 3 min 后,5 °C/min 升温,至 180 °C 后,程度升温 15.0 °C/min 至 250 °C,

2 数据与结果

用以上方法分离得到的喜树果脂肪酸总离子流

色谱图,共分离出 19 个组分。各峰对应的质谱图经计算机检索确定物质,用归一化法测定它们的相对量,结果如表 1。在所鉴定的脂肪酸成分中,亚麻酸 (29.432%) 的量最高,其次是油酸 (27.974%)、亚油酸 (21.143%)、棕榈酸 (14.593%),这 4 种酸占了总量的 93.13%,是主要成分,其中不饱和脂肪酸物质占总量的 81.47%,*n*-3 系多不饱和脂肪酸亚麻酸占总量的 30.81%。

表 1 喜树果脂肪酸组成及质量分数

Table 1 Identified chemical components of extracted fatty acid in *C. acuminata* fruit

序号	化合物名称	质量分数/%
1	月桂酸甲酯	0.536 6
2	壬二酸甲酯	0.790 9
3	豆蔻酸甲酯	0.963 0
4	壬烯酸甲酯	0.043 9
5	棕榈酸甲酯	14.593 2
6	十七烷酸甲酯	0.175 5
7	硬脂酸甲酯	0.919 9
8	油酸甲酯	27.974 7
9	亚油酸甲酯	21.643 3
10	亚麻酸甲酯	29.432 1
11	二十碳一烯酸甲酯	1.117 7
12	未鉴定出	0.065 4
13	未鉴定出	0.197 9
14	花生四烯酸甲酯	0.148 5
15	山萘酸甲酯	0.194 5
16	芥子酸甲酯	0.373 1
17	未鉴定出	0.016 6
18	二十二碳四烯酸甲酯	0.256 4
19	二十四碳烯酸甲酯	0.571 4

3 结论

近年来的研究结果提示,*n*-3 系多不饱和脂肪酸可能通过改变肿瘤细胞膜磷脂的组成,间接改变细胞内酯第二信使的产生,抑制 *n*-6 脂肪酸在体内的代谢;同时改变了细胞表面的抗原性,使肿瘤细胞丧失免疫逃逸机制;并使化疗药物易于在肿瘤细胞内聚集,起到化疗增敏作用,进而抑制肿瘤细胞增殖从而预防肿瘤发生,抑制肿瘤生长^[3~5]。因而确认喜树果中含有如此高比例的不饱和脂肪酸,尤其是 *n*-3 系不饱和脂肪酸,为喜树的综合利用研究提供了可靠的理论依据,使喜树有望开发为多种抗癌药物的提取基源,使我国这一特有的抗癌药源资源获得充分利用。

References:

- [1] Hu J R. Study on the property of *Camptotheca acuminata* seed oil and its composition of fatty acid [J]. *J China Agric Univ* (中国农业大学学报), 2003, 8(5): 30-32.
- [2] Wu H Q. Analysis of fatty acids in eel-bone by GC/MS [J]. *J Inst Anal* (分析测试学报), 1995, 14(5): 28.
- [3] Griffiths F C, Niwayama S, Ramsay C A, et al. Molecular recognition of angiogenesis inhibitors fumagillin and ovalicin

- by methionine aminopeptidase 2 [J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 1998, 195(26): 15183-15188.
- [4] Huang Y C, Jessup J M, Forse R A, et al. *n*-3 Fatty acids decrease colonic epithelial cell proliferation in high-risk bowel mucosa [J]. *Lipids*, 1996, 31(Suppl): 5313-5317.

- [5] Zheng S H, Zhang K E. Study on anti-tumor activity composition of *Rabdosia serra* Maxim. [A]. *Dissertation of Master Degree of Guangdong Engineering university* (广东工业大学硕士学位论文) [D]. Guangzhou: Guangdong Engineering University, 2002.

香加皮的抗肿瘤活性成分研究(I)

陈书红^{1,2}, 杨峻山^{1*}, 任凤芝², 刘刚泰², 张 静³, 单保恩³, 李 宁²

(1. 中国医学科学院 中国协和医科大学药用植物研究所, 北京 100094; 2. 华北制药集团新药研究开发中心 天然药物室, 河北 石家庄 050015; 3. 河北医科大学第四医院 科研中心, 河北 石家庄 050011)

香加皮为萝藦科植物杠柳 *Periploca sepium* Bunge 的干燥根皮, 主要分布于我国北部, 有祛风湿、强筋骨的功效, 日本对其抗肿瘤 S_{180} 作用进行过一些研究, 显示其有一定的抗肿瘤 S_{180} 效果, 本实验对其化学成分及体外抗肿瘤活性进行了深入研究, 从根皮中分离鉴定了 4 个化合物, 分别鉴定为 α -香树脂醇乙酸酯 (α -amyrinacetate, I)、羽扇豆醇乙酸酯 (lupeol acetate, II)、东莨菪内酯 (scopoletin, III)、杠柳苷元 (periplogenin, IV), 其中化合物 III 为首次从本植物中分出。药理实验表明化合物 IV 对细胞株 MCF-7 有很强的抑制作用。

1 仪器与材料

INVOA 500 型核磁共振波谱仪 (Volian); ZMD Micromass 型质谱仪 (Micromass 公司); 柱色谱硅胶 (青岛海洋化工厂); 薄层色谱用硅胶板及色谱纯甲醇 (Merk 公司); 显色剂为 15% 硫酸-乙醇溶液。其余试剂均为分析纯。HPLC 为 waters 996 型仪, C_{18} 柱 (Phenomenex, 250 mm $\times$ 21.2 mm, 10 μ m)。CO₂ 恒温细胞培养箱 (美国 SHELLAN 公司), PR-MI-1640 培养液 (Gibco 公司), MTT (Sigma 公司)。香加皮购于河北省中医院中药房, 经河北医科大学药学院聂凤提教授鉴定。

2 提取与分离

干燥的香加皮药材 5 kg, 用 80% 乙醇回流提取 2 次, 每次 3 h, 合并提取液, 减压回收溶剂得浓缩液, 加水稀释一倍, 分别用石油醚、乙醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取, 醋酸乙酯部分经硅胶柱色谱, 氯仿-甲醇洗脱, 共分成 9 个流份, 流份 1、2、3 分别再经硅胶柱色谱得到化合物 I ~ III, 流份 5 经硅胶柱色谱以

及 HPLC 得到化合物 IV。

3 结构鉴定

化合物 I: 白色针晶, 5 mg, 分子式 $C_{32}H_{52}O_2$, 1H -NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ : 5.12 (1H, t, J = 3.5 Hz, H-12); 4.51 (1H, dd, J = 10.0, 6.0 Hz, H-3), 2.05 (3H, s, $COCH_3$), 1.06, 1.01, 0.97, 0.92, 0.88, 0.87, 0.80, 0.79 (各 3H, $CH_3 \times 8$)。 ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ : 171.03 (C=O), 139.61 (C-13), 124.30 (C-12), 80.95 (C-3), 59.04 (C-18), 55.24 (C-5), 47.63 (C-9), 42.06 (C-14), 41.52 (C-22), 40.01 (C-8), 39.64 (C-19), 39.60 (C-20), 38.44 (C-1), 37.70 (C-4), 36.78 (C-10), 33.74 (C-17), 32.84 (C-7), 31.23 (C-21), 28.74 (C-15), 28.08 (C-23), 28.08 (C-28), 26.59 (C-16), 23.59 (C-2), 23.36 (C-11), 23.22 (C-27), 21.40 (C-30), 21.33 (OCH_3), 18.23 (C-6), 17.50 (C-29), 16.85 (C-24), 16.73 (C-26), 15.74 (C-25) 并且与文献^[1,2]对照一致, 确定化合物 I 为 α -香树脂醇乙酸酯。

化合物 II: 白色针晶, 4 mg, 分子式 $C_{32}H_{52}O_2$, 1H -NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ : 4.69 (1H, d, J = 1.5 Hz, 烯氢), 4.57 (1H, dd, J = 2.5, 1.5 Hz, 烯氢), 4.46 (1H, dd, J = 11.0, 5.5 Hz, H-3), 2.04 (3H, s, $COCH_3$), 1.68 (3H, s, 烯甲基)。 ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ : 170.50 (C=O), 150.98 (C-20), 109.34 (C-29), 80.98 (C-3), 55.37 (C-5), 50.33 (C-9), 48.27 (C-18), 48.00 (C-19), 42.99 (C-17), 42.81 (C-14), 40.84 (C-8), 39.99 (C-22), 38.37 (C-1), 38.02 (C-13), 37.79 (C-4), 37.07 (C-10), 35.56 (C-16), 34.19 (C-7), 29.82 (C-21),

收稿日期: 2005-08-17

作者简介: 陈书红 (1977-), 女, 河北人, 硕士在读, 主要从事植物药开发。

* 通讯作者 杨峻山 Tel: (010) 62899707 Fax: (010) 62898425 E-mail: jsyang2005@yahoo.com.cn