

- 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 howel 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

万方数据

27.94 (C-23), 27.42 (C-15), 25.08 (C-12), 23.70 (C-2), 21.33 (-OCH₃), 20.93 (C-11), 19.28 (C-30), 18.19 (C-6), 17.99 (C-28), 16.49 (C-24), 16.18 (C-25), 15.96 (C-26), 14.50 (C-27) 并且与文献对照一致^[1], 确定化合物 I 为羽扇豆醇乙酸酯。

化合物 II: 淡黄色针状结晶, 7 mg, 分子式 C₁₀H₈O₄, ESI(+): 193. ¹H-NMR 与 ¹³C-NMR 光谱数据与文献对照一致^[2], 确定化合物 II 为东莨菪内酯。

化合物 N: 白色粉末, 18 mg, 分子式 C₂₃H₃₄O₅, ESI(+): 391. ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 5.88 (1H, s, H-22), 4.99 (1H, d, J=18 Hz, H-21), 4.82 (1H, d, J=18 Hz, H-21), 4.18 (1H, br. s, H-3), 2.79 (1H, q, J=6, 14 Hz, H-17), 0.94 (3H, s, CH₃-19), 0.88 (3H, s, CH₃-18). ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ: 174.62 (C-23), 174.60 (C-20), 117.66 (C-22), 85.0 (C-14), 74.62 (C-5), 73.47 (C-21), 67.96 (C-3), 50.61 (C-17), 49.45 (C-13), 40.73 (C-8), 40.63 (C-10), 39.95 (C-12), 38.94 (C-9), 36.78 (C-4), 35.12 (C-6), 32.95 (C-15), 27.85 (C-2), 26.77 (C-16), 24.77 (C-1), 23.68 (C-7), 21.46 (C-11), 16.69 (C-19), 15.69 (C-18) 与文献对照一致^[4], 确定化合物 N 为杠柳苷元。

4 对人乳腺癌细胞 MCF-7 的抑制作用

采用体外抑瘤实验研究了这4个化合物对

MCF-7 肿瘤细胞增殖的抑制作用。结果见表1。化合物 N 对肿瘤细胞 MCF-7 的增殖有非常强的抑制作用, 其 IC₅₀ 为 (1.006 ± 0.013) μg/mL (远小于顺铂相应的 IC₅₀ 值)。

表1 I~IV 对人乳腺癌细胞 MCF-7 的增殖抑制作用

Table 1 Inhibitory effect of compounds I—IV on MCF-7 cells proliferation

质量浓度/(μg · mL ⁻¹)	抑瘤率/%			
	I	II	III	IV
40	—	11.2	3.9	88.3
20	—	6.7	10.9	87.1
10	—	8.8	1.1	85.2
5	—	11.4	5.3	82.1
2.5	—	1.8	15.2	83.0
1.25	—	—	—	59.1
0.625	—	—	—	36.1
0.312 5	—	—	—	5.3

References:

- [1] Guo H L, Zhou J Y. Study on the chemical constituents of *Periploca calophylla* [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2003, 38(7): 497-499.
- [2] Yu D Q, Yang J S. *Handbook of Analytical Chemistry: NMR Analysis* (分析化学手册·核磁共振波谱分析) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 1999.
- [3] Chen D C. *Handbook on Chemical Reference Substance of Traditional Chinese Medicine* (中药化学对照品工作手册) [M]. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science and Technology Publishing House, 2000.
- [4] Itokawa H, Xu J P, Takeya K. Studies on chemical constituents of antitumor fraction from *Periploca sepium* Bge. 1 [J]. *Chem Pharm Bull*, 1978, 35(11): 4524-4529.
- [5] (上接第 491 页)
- [10] Xie D Y, Ye H C, Li G F. The progress of *Artemisia annua* research — the application of biotechnology and prospects [J]. *Chin Bull Bot* (植物学通报), 1995, 12(4): 28-31.
- [11] Zhao P J, Gang F Y, Zhu N, et al. Studies on tissue culture of *Cynanchum otophyllum* and calli chemical constituents [J]. *Chin Bull Bot* (植物学通报), 2003, 20(5): 565-571.
- [12] Fen Y, Xue Q Z. Progress in micropropagation of disease-free ginger [J]. *Chin Bull Bot* (植物学通报), 2002, 19(4): 439-443.
- [13] Xue P S, Luan Y S, Liu J W, et al. Study on production of virus-free bulblets by adventitious bud culture in *Lilium spp.* [J]. *Chin Bull Bot* (植物学通报), 2003, 20(3): 313-318.
- [14] Xu M S, Huang L Q, Chen M L, et al. Effect of factors on callus biomass and synthetic mass of hypericin in *Hypericum perforatum* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2003, 28(10): 921-923.
- [15] Zhao D X, Li M Y. Effects of media on the production of flavonoids by suspension cultures of *Saussurea medusa* [J]. *Chin J Biotechnol* (生物工程学报), 2000, 16(1): 99-102.
- [16] Chen Y Z, Lu C F. Freezing tolerance of calli and suspension cell cultures in alpine plant *Saussurea medusa* Maxim. [J]. *Chin Bull Bot* (植物学通报), 2002, 19(2): 219-223.
- [17] Cao Y L, Xu X M, Song Y X, et al. Establishment of high efficient regeneration system from protoplast of *Lycium barbarum* L. [J]. *Chin Bull Bot* (植物学通报), 2001, 18(5): 605-614.
- [18] Dai J G, Zhu W H, Wu Y Q, et al. Studies in single cell cloning of *Ginkgo biloba* L. [J]. *Chin J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2000, 25(10): 593-596.
- [19] Zhao K, Zhou D P, Ping W X, et al. Study on the mutagenesis of taxol-producing fungus *nodulisporium sylviforme* protoplast [J]. *China Biotechnol* (中国生物工程杂志), 2004, 24(9): 63-68.
- [20] Yan H Y, Cao R Q. Relationship between cell developmental stage and shikonin formation in cell culture of *Lithospermum erythrorhizon* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(3): 264-266.
- [21] Hu P, Yuan Y J. Effect of elicitor and precursors on cell culture of *Taxus* [J]. *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志), 2002, 33(5): 223-225.
- [22] Wang Y D, Lu M, Yuan Y J. Cell metabolism of *Taxus chinensis* var. *mairii* in suspension cultures treated with methyl jasmonate [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(1): 27-30.
- [23] Liu J, Ding J Y, Zhou Q Y, et al. Studies on influence of fungal elicitor on hairy root of *Panax ginseng* biosynthesis ginseng saponin and biomass [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2004, 29(4): 302-304.
- [24] Yang S H, Liu X F, Guo D A, et al. Effect of phytohormones and elicitors on growth and anthraquinone production of *Cassia obtusifolia* hairy roots [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(5): 752-756.
- [25] Ye Min, Dai J G, Guo D A. Biotransformation of cantharidin by cell suspension cultures of *Platycodon grandiflorus* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(10): 869-871.
- [26] Luo J P, Cha X Q, Jiang S T. Suspension culture of protoplast-like bodies from the endangered medicinal plant *Dendrobium huoshanense* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2003, 28(7): 611-614.
- [27] Li C D, Hu T Q, Sheng C Z, et al. Studies on active constituents obtained from medicinal plants by cell culture [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(7): Attach 7-10.
- [28] Xing J M, Zhao D X, Li M Y, et al. Advances in the production of flavonoids by plant cell cultures [J]. *Prog Biotechnol* (生物工程进展), 2001, 21(1): 47-50.