

• 化学成分 •

狭基线纹香茶菜水溶性成分及其抗肿瘤活性研究

唐海明¹, 陈建南^{1,2}, 徐香琴¹, 赖小平^{1,2}, 黄松^{1,2*}

1. 广州中医药大学 新药开发研究中心, 广东 广州 510006

2. 广州中医药大学中医药数理工程研究院, 广东 东莞 523808

摘要: 目的 研究狭基线纹香茶菜 *Isodon lophanthoides* var. *gerardianus* 的水溶性成分及其抗肿瘤活性。方法 采用大孔吸附树脂 D-101、ODS、Sephadex LH-20 等色谱技术和重结晶进行分离纯化, 通过 ESI-MS、¹H-NMR、¹³C-NMR 等现代波谱技术进行结构鉴定; 以 HepG2 为供试细胞株, 采用 MTT 法对化合物进行体外抗肿瘤活性研究。结果 从狭基线纹香茶菜水提液中分离得到 12 个水溶性化合物, 分别鉴定为新西兰牡荆苷 II (1)、新西兰牡荆苷 III (2)、异夏佛塔苷 (3)、夏佛塔苷 (4)、牡荆苷 (5)、芹菜素-6, 8-二-C- α -L-吡喃阿拉伯糖苷 (6)、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷 (7)、芹菜素-6-C- β -L-吡喃阿拉伯糖-8-C- α -L-吡喃阿拉伯糖苷 (8)、芹菜素-6-C- β -D-木糖-8-C- α -L-阿拉伯糖苷 (9)、咖啡酸 (10)、迷迭香酸 (11)、芦丁 (12)。结论 化合物 1~9 为首次从香茶菜属植物中分离得到; 其中化合物 1、6、11 对 HepG2 细胞有较好的抑制作用。

关键词: 狭基线纹香茶菜; 新西兰牡荆苷 II; 新西兰牡荆苷 III; 异夏佛塔苷; 夏佛塔苷; 迷迭香酸

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)22-3219-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.22.002

Water-soluble constituents from *Isodon lophanthoides* var. *gerardianus* and their antitumor activitiesTANG Hai-ming¹, CHEN Jian-nan^{1,2}, XU Xiang-qin¹, LAI Xiao-ping^{1,2}, HUANG Song^{1,2}

1. New Drug Research & Development Center, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China

2. Dongguan Institution for Mathematics and Theoretics Engineering Research, Guangzhou University of Chinese Medicine, Dongguan 523808, China

Abstract: Objective To investigate the water-soluble constituents of *Isodon lophanthoides* var. *gerardianus*. **Methods** Compounds were isolated and purified by D-101, Sephadex LH-20, and ODS column chromatographies. The chemical structures were elucidated on the basis of spectral data and physicochemical properties. **Results** Twelve compounds were isolated and identified as vitexin II (1), vicenin III (2), isoschaftoside (3), schaftoside (4), vitexin (5), 6, 8-di-C- α -L-arabinosylapigenin (6), apigenin-7-O-glucuronide (7), apigenin 6-C- β -L-arabinosyl-8-C- α -L-arabinopyranoside (8), apigenin 6-C- β -D-xylopyranosyl-8-C- α -L-arabinopyranoside (9), caffeic acid (10), rosmarinic (11), and rutin (12). **Conclusion** Compounds 1—9 are separated from *I. lophanthoides* var. *gerardianus* for the first time, and constituents of the water-soluble parts of *I. lophanthoides* var. *gerardianus* are studied systematically for the first time. Compounds 1, 6, and 11 exert antiproliferative effects on HepG2 cells.

Key words: *Isodon lophanthoides* var. *gerardianus* (Benth.) H. Hara; vitexin II; vicenin III; isoschaftoside; schaftoside; rosmarinic

狭基线纹香茶菜 *Isodon lophanthoides* var. *gerardianus* (Benth.) H. Hara 为唇形科香茶菜属植物, 是中药溪黄草广东地区的主流品种, 具有清利湿热、退黄利胆、凉血散瘀的功效, 民间常用于治疗急性黄疸型肝炎、急性胆囊炎、咽喉炎、跌打瘀肿等疾病^[1], 为消炎利胆片、胆石通胶囊以及复方

胆通胶囊的主要组方药材之一。近年来在化学和药理学领域对香茶菜属植物进行了大量的研究。大量药理实验表明狭基线纹香茶菜的水提液具有良好的抗炎、抗肿瘤、保肝活性, 显示良好的开发前景^[2-4]。但狭基线纹香茶菜水溶性部位提出的报道虽较多, 药效物质基础不够明确, 有待进一步深入研究。此

收稿日期: 2014-08-15

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2012BAI29B00)

作者简介: 唐海明 (1988—), 男, 硕士生, 主要从事中药新药筛选与研究。Tel: 15088068915 E-mail: thm1835@qq.com

*通信作者 黄松 (1973—), 男, 研究员, 主要从事中药新药开发。Tel: 13668987309 E-mail: huangnn421@163.com

外,溪黄草被载入《中国药典》2010年版,溪黄草各品种来源成分差异及药理药效差异尚不明确,质量标准缺乏,与其化学成分研究滞后有一定的关系。为进一步明确狭基线纹香茶菜的活性成分,本实验对狭基线纹香茶菜水溶性成分进行了研究,从中分离得到12个化合物,分别鉴定为新西兰牡荆苷 II (vicenin II, **1**)、新西兰牡荆苷 III (vicenin III, **2**)、异夏佛塔苷 (isoschaftoside, **3**)、夏佛塔苷 (schaftoside, **4**)、牡荆苷 (vitexin, **5**)、芹菜素-6,8-二-C- α -L-吡喃阿拉伯糖苷 (**6**, 8-di-C- α -L-arabinosylapigenin, **6**)、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷 (apigenin-7-O-glucuronide, **7**)、芹菜素-6-C- β -L-吡喃阿拉伯糖-8-C- α -L-吡喃阿拉伯糖苷 (apigenin 6-C- β -L-arabinopyranoside-8-C- α -L-arabinopyranoside, **8**)、芹菜素-6-C- β -D-木糖-8-C- α -L-阿拉伯糖苷 (apigenin 6-C- β -D-xylopyranosyl-8-C- α -L-arabinopyranoside, **9**)、咖啡酸 (caffeic acid, **10**)、迷迭香酸 (rosmarinic, **11**)、芦丁 (rutin, **12**)。化合物**1**~**9**为首次从香茶菜属植物中分离得到,对各水溶性化合物进行抗肿瘤活性初步筛选,其中化合物**1**、**6**、**11**对HepG2细胞有较好的抑制作用。

1 仪器与材料

LCQ Deca XP 液-质联用仪;Bruker AVANCE III HD 500 超导脉冲傅里叶变换核磁共振谱仪 Shimadzu LC-8A 型制备液相 (手动进样, SPD-20A 检测器, N2000 工作站); Shimadzu PRC-ODS 制备柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 7 μ m); Shimadzu 高效液相色谱仪 (LC-20AT 泵; SIL-20A 自动进样器; SPD-20A 二极管阵列检测器); Thermo Hypersil Gold C₁₈ 色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); CP225D 十万分之一电子天平 (德国 Sartorius 公司); BP110S 万分之一天平 (德国 Sartorius 公司); KQ3200DE 医用数控超声清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); ODS-A (50 μ m, YMC); Sephadex LH-20 (General Electric Company); D-101 大孔吸附树脂 (安徽三星树脂科技有限公司); 80~100 目聚酰胺色谱粉 (台州路桥四甲生化塑料厂)。

狭基线纹香茶菜 2012 年 10 月采于广东饶平基地,由广州中医药大学新药开发研究中心陈建南研究员鉴定为香茶菜属植物狭基线纹香茶菜 *Isodon lophanthoides* var. *gerardianus* (Benth.) H. Hara 地上部分,标本 (20121022) 保存于广州中医药大学新药开发研究中心。

2 提取与分离

取狭基线纹香茶菜干燥药材 (7 kg), 水煎提 3 次, 每次 1.5 h, 趁热滤过, 合并滤液, 将滤液浓缩至小体积, 然后过 D-101 大孔吸附树脂, 水洗至颜色较淡, 95%乙醇洗脱, 收集 95%乙醇洗脱液, 减压浓缩至无醇味, 加水稀释, 依次用石油醚、醋酸乙酯充分萃取, 将剩下的水液减压回收除去少量的有机溶剂, 加水稀释混匀, 过 D-101 大孔树脂, 依次用水、95%乙醇洗脱, 收集 95%乙醇洗脱液, 浓缩回收乙醇, 加水稀释, 过聚酰胺 (80~100 目) 色谱, 依次用水及 10%、30%、50%乙醇洗脱, 分别得到 4 部分溶剂的洗脱液。

水洗脱液 (A) 减压浓缩至小体积, 过 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱, 甲醇-水 (1:1) 等度洗脱, 得到色素层和黄酮层, 黄酮层减压浓缩至小体积, 过 ODS, 甲醇-水 (20:80 $\rightarrow$ 25:75 $\rightarrow$ 30:70 $\rightarrow$ 40:60 $\rightarrow$ 50:50) 梯度洗脱, 合并相同组分, 反复过 ODS 进一步纯化, 重结晶, 分离得化合物 **1** (88.2 mg)、**2** (16.3 mg)、**3** (125.6 mg)、**4** (98.1 mg)、**5** (24.9 mg)。同样的, 10%乙醇洗脱液 (B) 过 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱和反复过 ODS, 分离得化合物 **6** (36.5 mg)、**7** (16.8 mg)、**8** (14.3 mg), 30%乙醇洗脱液 (C) 分离得化合物 **9** (12.0 mg)、**10** (8.3 mg)。

醋酸乙酯萃取层, 回收醋酸乙酯, 加水, 超声, 80 $^{\circ}$ C 水浴加热溶解, 过 D-101 大孔吸附树脂, 依次用水、30%乙醇洗脱, 收集 30%乙醇洗脱液, 回收乙醇, 过 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱, 甲醇-水 (1:1) 洗脱, 得色素层和药液层 (E), E 部位回收甲醇, 过 ODS, 甲醇-水 (20:80 $\rightarrow$ 25:75 $\rightarrow$ 30:70 $\rightarrow$ 40:60 $\rightarrow$ 50:50) 梯度洗脱, 合并相同组分, 反复过 ODS 进一步纯化, 得化合物 **11** (20.1 mg)、**12** (10.6 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 淡黄色粉末。三氯化铁反应呈阳性, 提示有酚羟基, 薄层色谱, 喷 10% AlCl₃ 乙醇溶液, 365 nm 紫外灯下检查, 亮黄色斑点, 可能为黄酮。UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 271, 334。ESI-MS m/z : 593 [M-H]⁻, 473 [M-H-120]⁻, 503 [M-H-90]⁻。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 13.76 (1H, s, 5-OH), 8.03 (2H, d, *J* = 7.2 Hz, H-2', 6'), 6.92 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-3', 5'), 6.81 (1H, s, H-3)。¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) 数据见表 1。上述数据与文献报道基本一致^[4], 故鉴定化合物 **1** 为新西兰牡荆苷 II。

化合物 **2**: 淡黄色粉末, 常温下可在水中析出

絮状沉淀。三氯化铁反应呈阳性,提示有酚羟基,薄层色谱,喷 10% AlCl_3 乙醇溶液,365 nm 紫外灯下检查,亮黄色斑点,推测为黄酮。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 271, 334。ESI-MS m/z : 563 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 473 $[\text{M}-\text{H}-90]^-$, 443 $[\text{M}-\text{H}-120]^-$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 13.76 (1H, s, 5-OH), 7.96 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2', 6'), 6.96 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3', 5'), 6.79 (1H, s, H-3)。 ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 数据见表 1。上述数据与文献报道基本一致^[4],故鉴定化合物 2 为新西兰牡荆苷 III。

化合物 3: 黄色粉末,溶于热水,三氯化铁反应呈阳性,提示有酚羟基,聚酰胺薄层,喷 10% AlCl_3 乙醇溶液,365 nm 紫外灯下检查,亮黄色斑点,推测为黄酮。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 271, 336。ESI-MS m/z : 563 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 503 $[\text{M}-\text{H}-60]^-$, 473 $[\text{M}-\text{H}-90]^-$, 443 $[\text{M}-\text{H}-120]^-$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 13.67 (1H, s, 5-OH), 8.03 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2', 6'), 6.90 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3', 5'), δ 6.81 (1H, s,

H-3)。 ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 数据见表 1。上述数据与文献报道基本一致^[5],故鉴定化合物 3 为异夏佛塔苷。

化合物 4: 黄色粉末,三氯化铁反应呈阳性,提示含有酚羟基,聚酰胺薄层,喷 10% AlCl_3 乙醇溶液,365 nm 紫外灯下检查,亮黄色斑点,推测为黄酮。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 271, 336。ESI-MS m/z : 563 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 503 $[\text{M}-\text{H}-60]^-$, 473 $[\text{M}-\text{H}-90]^-$, 443 $[\text{M}-\text{H}-120]^-$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 13.82 (1H, s, 5-OH), 8.11 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2', 6'), 6.91 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3', 5'), 6.82 (1H, s, H-3)。 ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 数据见表 1。上述数据与文献报道基本一致^[4-5],故鉴定化合物 4 为夏佛塔苷。

化合物 5: 黄色粉末,三氯化铁反应呈阳性,提示含有酚羟基,聚酰胺薄层,喷 10% AlCl_3 乙醇溶液,365 nm 紫外灯下检查,亮黄色斑点,推测为黄酮。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 268, 336。ESI-MS m/z : 431 $[\text{M}-$

表 1 化合物 1~9 的 ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 数据

Table 1 ^{13}C -NMR data of aglycone moieties in compounds 1—9 (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)

碳位	1	2	3	4	5	6	7	8	9
2	164.0	163.9	164.0	163.9	163.9	164.2	164.2	164.2	163.7
3	102.6	102.6	102.6	102.3	102.5	102.2	102.9	101.8	102.4
4	182.3	182.3	182.3	182.3	182.2	182.3	181.9	182.2	182.2
5	158.6	159.1	158.2	159.5	160.4	158.7	161.7	157.4	160.1
6	107.6	108.0	108.1	108.4	98.2	108.4	99.5	106.9	109.3
7	161.3	161.2	161.2	161.8	162.6	161.2	162.9	162.4	162.0
8	105.3	103.8	105.1	104.3	104.6	104.9	94.6	104.9	104.2
9	155.1	155.1	155.1	154.3	156.0	154.9	161.0	155.1	154.1
10	103.8	103.2	103.7	103.3	104.1	103.5	105.3	103.2	103.5
1'	121.5	121.6	121.6	121.2	121.6	121.1	120.6	121.0	121.3
2'	129.0	129.0	129.0	129.2	129.0	128.8	128.4	129.7	129.0
3'	116.0	115.9	115.9	116.0	115.8	116.0	116.0	116.0	116.0
4'	161.1	161.2	161.2	161.2	161.1	161.2	156.9	161.2	161.2
5'	115.9	115.8	115.9	116.0	115.8	116.0	116.0	116.0	116.0
6'	128.7	128.8	129.0	129.2	129.0	128.8	128.4	129.7	129.0
1''	74.1	73.6	74.2	73.5		74.8	99.5	70.8	74.0
2''	71.9	70.3	69.6	70.8		71.0	72.9	63.2	70.5
3''	78.9	78.8	73.8	78.7		74.7	74.3	71.9	79.2
4''	70.6	69.9	68.4	70.1		70.2	72.0	69.2	70.0
5''	81.9	81.1	70.1	81.4		71.1	76.3	66.6	70.0
6''	61.3	61.2		60.8			172.8		
1'''	73.4	74.9	73.3	75.0	78.7	74.1		74.6	75.2
2'''	71.0	71.3	70.9	68.8	73.4	69.0		68.1	69.6
3'''	77.9	78.6	78.9	74.5	71.0	75.0		75.1	74.0
4'''	69.1	71.0	70.6	68.8	70.5	68.6		69.9	68.6
5'''	80.9	69.6	81.9	70.8	81.9	72.5		71.3	70.3
6'''	59.9		61.2		61.3				

H]⁻, 373 [M-H-60]⁻, 341 [M-H-90]⁻, 311 [M-H-120]⁻。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 13.17 (1H, s, 5-OH), 10.82 (1H, s, 7-OH), 10.35 (1H, s, 4'-OH), 6.79 (1H, s, H-6), 8.03 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-2', 6'), 6.90 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-3', 5'), 6.28 (1H, s, H-3)。¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) 数据见表1。上述数据与文献报道基本一致^[6], 故鉴定化合物5为牡荆苷。

化合物6: 黄色粉末, 三氯化铁反应呈阳性, 提示含有酚羟基, 聚酰胺薄层, 喷10% AlCl₃乙醇溶液, 365 nm紫外灯下检查, 亮黄色斑点, 可能为黄酮。UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 271, 335。ESI-MS *m/z*: 533 [M-H]⁻, 443 [M-H+90]⁻, 383 [M-H-90-60]⁻。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 13.79 (1H, s, OH-5), 8.15 (2H, brs, H-2', 6'), 6.91 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.78 (1H, s, H-3)。¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) 数据见表1。上述数据与文献报道基本一致^[4], 故鉴定化合物6为芹菜素-6, 8-二-C-α-L-吡喃阿拉伯糖苷。

化合物7: 黄色粉末, 三氯化铁反应呈阳性, 提示含有酚羟基, 聚酰胺薄层, 喷10% AlCl₃乙醇溶液, 365 nm紫外灯下检查, 亮黄色斑点, 可能为黄酮。UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 268, 337。ESI-MS *m/z*: 445 [M-H]⁻, 361, 300, 269, 255, 201。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.98 (1H, s, 5-OH), 6.85 (2H, d, *J* = 8.2 Hz, H-2', 6'), 6.91 (2H, d, *J* = 8.2 Hz, H-3', 5'), 7.89 (2H, d, *J* = 2.1 Hz, H-6, 8), 6.42 (1H, s, H-3)。¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) 数据见表1。上述数据与文献报道基本一致^[7], 故鉴定化合物7为芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷。

化合物8: 黄色粉末, 三氯化铁反应呈阳性, 提示含有酚羟基, 聚酰胺薄层, 喷10% AlCl₃乙醇溶液, 365 nm紫外灯下检查, 亮黄色斑点, 推测为黄酮。UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 271, 335。ESI-MS: *m/z* 533 [M-H]⁻, 443 [M-H-90]⁻, 383 [M-H-90-60]⁻。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 14.00 (1H, s, OH-5), 10.03 (1H, s, H-4'), 10.14 (1H, s, H-7), 8.30 (2H, brs, H-2', 6'), 6.88 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-3', 5'), 6.84 (1H, s, H-3)。¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) 数据见表1。上述数据与文献报道基本一致^[8], 故鉴定化合物8为芹菜素-6-C-β-L-吡喃阿拉伯糖-8-C-α-L-吡喃阿拉伯糖苷。

化合物9: 黄色粉末, 三氯化铁反应呈阳性,

提示含有酚羟基, 聚酰胺薄层, 喷10% AlCl₃乙醇溶液, 365 nm紫外灯下检查, 亮黄色斑点, 推测为黄酮。UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 271, 337。ESI-MS *m/z*: 533 [M-H]⁻, 473 [M-H-60]⁻, 443 [M-H-90]⁻。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 13.79 (1H, s, OH-5), 8.15 (2H, brs, H-2', 6'), 6.91 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.78 (1H, s, H-3)。¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) 数据见表1。上述数据与文献报道基本一致^[4], 故鉴定化合物9为芹菜素-6-C-β-D-木糖-8-C-α-L-阿拉伯糖苷。

化合物10: 白色针晶(甲醇), 浓硫酸-香草醛显紫红色。UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 323。ESI-MS *m/z*: 179 [M-H]⁻, 163 [M-OH]⁻, 145, 135 [M-COOH]⁻。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.49 (1H, *J* = 15.8 Hz, H-7), 7.02 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-2), 6.94 (1H, dd, *J* = 8.5, 2.0 Hz, H-6), 6.77 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-5), 6.23 (1H, d, *J* = 15.8 Hz, H-8)。以上数据、UV及HPLC图谱与咖啡酸对照品比较基本一致, 故鉴定化合物10为咖啡酸。

化合物11: 黄色油状物, TLC对5%三氯化铁显蓝黑色。UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 329。UV及HPLC图谱与迷迭香酸对照品一致, 故鉴定化合物11为迷迭香酸。

化合物12: 黄色粉末, 盐酸镁粉反应呈阳性, Molish反应阳性。UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 255, 359。UV及HPLC图谱与芦丁对照品比较一致, 故鉴定化合物12为芦丁。

4 抗肿瘤活性测定

HepG2细胞使用RPMI 1640完全培养基培养, 10%胎牛血清, 1%抗生素(10 000 U/mL青霉素、10 000 U/mL链霉素), 在含5% CO₂孵箱中于37℃培养。细胞生长至80%时传代, 使细胞保持在对数生长期。取化合物1~12用RPMI 1640完全培养液配制成储备液。MTT用PBS液配成5 mg/mL的母液, 于4℃避光保存。将消化计数的单细胞悬液加入96孔板中, 细胞浓度为1.0×10⁵个/mL, 每孔加入单细胞悬液100 μL, 每组设6个复孔。培养24 h后弃去培养液, 分别加入200 μL下述各培养液: RPMI 1640培养液(阴性对照); 不同浓度的化合物培养液(终浓度分别为0.2、0.5、0.8、1.1、1.4、1.7、2.0、2.3 μmol/L)。给药48 h后, 弃去培养液, 每孔加入100 μL的MTT液, 继续培养4 h后弃去上清, 加入DMSO后震荡, 在酶标仪(Molecular Devices公司, Spectra Max190型)490 nm波长处读取吸光度(A)值。重复实验3次, 按公式计算各

组的生长抑制率(IR, $IR=1-A_{\text{药物组}}/A_{\text{对照组}}$)。用 SPSS 20.0 软件计算 IC_{50} 值。

5 结果及讨论

狭基线纹香茶菜水提液具有抗炎、保肝及抑制 HepG2 细胞增殖作用, 黄酮类及酚酸类均具有较强的抗炎活性。本实验从传统中医药水煎提液出发, 分离水溶性单体成分, 并首次研究狭基线纹香茶菜水溶性单体成分体外对肿瘤细胞 HepG2 增殖的抑制作用。结果显示化合物 **1**、**6**、**11** 对 HepG2 有较强的增殖抑制作用, IC_{50} 分别为 (2.14 ± 0.40) 、 (1.55 ± 0.47) 、 $(1.49 \pm 0.49) \mu\text{mol/L}$, 见图 1。

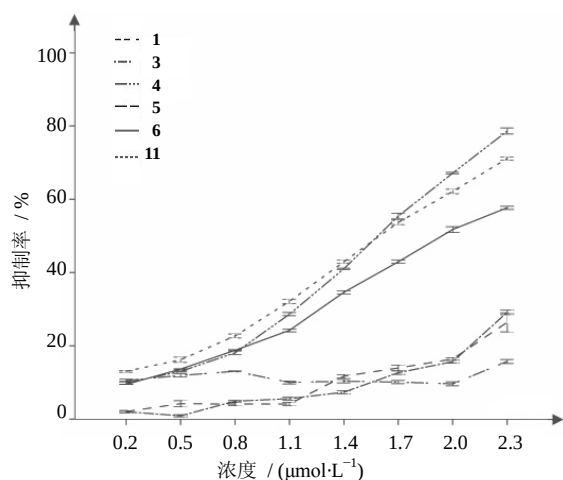


图 1 水溶性单体化合物对 HepG2 细胞增殖的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 1 Inhibitory effect of tested water-soluble compounds on proliferation of HepG2 cells ($\bar{x} \pm s, n=6$)

本实验通过对狭基线纹香茶菜水溶性成分分析, 发现其水溶性成分以水溶性黄酮苷和酚酸类为主, 尤其是水溶性黄酮碳苷类成分较多。近年来, 溪黄草资源的开发与利用越来越引起人们的重视。狭基线纹香茶菜水溶性总黄酮和总酚酸类有待进一步的药理药效研究。本实验揭示了狭基线纹香茶菜水溶性化学成分, 为抗肿瘤、抗炎、保肝等天然药物的开发及溪黄草资源的开发利用提供了新的线索。

参考文献

- [1] 广东省中药材标准 [S]. 2004.
- [2] 廖雪珍, 廖惠芳, 叶木荣, 等. 线纹香茶菜、狭基线纹香茶菜、溪黄草水提物抗炎、保肝作用初步研究 [J]. 中药材, 1996, 19(7): 363-365.
- [3] 侯少贞, 梁颖敏, 张洁, 等. 狭基线纹香茶菜保肝、利胆的实验研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2010, 21(6): 605-608.
- [4] Lin Y, Kong L. Studies on the chemical constituents of *Desmodium styracifolium* (Osbeck) Merr [J]. *Asian J Trad Med*, 2006, 1(1): 34-36.
- [5] Chen X, Nigel C V, Peter J H, et al. Flavone C-Glycosides from *Viola yedoensis* Makino [J]. *Chem Pharm Bull*, 2003, 51(10): 1204-1207.
- [6] Hu Y M, Ye W C, Li Q, et al. C-glycosylflavones from *Stellaria media* [J]. *Chin J Nat Med*, 2006, 4(6): 420-424.
- [7] 孙 赓. 撑篙竹竹叶化学成分及其生物活性的研究 [D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2010.
- [8] Dou H, Zhou Y, Chen C X, et al. Chemical constituents of the aerial parts of *Schnabelia tetradonta* [J]. *J Nat Prod*, 2002, 65(12): 1777-1781.