

文章编号: 1005 - 0108 (2009) 02 - 0130 - 05

五柱五桠果的化学成分及其体外抗肿瘤抗缺氧活性

李霞¹, 李长伟¹, 崔承彬¹, 李明明², 范明²

(1. 军事医学科学院 毒物药物研究所, 北京 100850; 2. 军事医学科学院 基础医学研究所, 北京 100850)

摘要:目的 研究五柱五桠果的化学成分及其抗肿瘤抗缺氧活性。方法 利用各种色谱技术分离化学成分, 根据理化性质与光谱数据鉴定结构, 利用 MTT 法测试抗肿瘤活性。结果 从五柱五桠果果实中分离鉴定了白桦酸 (1)、白桦醇 (2)、羽扇豆醇 (3)、谷甾醇 (4)、没食子酸 (5)、没食子酸乙酯 (6)、原儿茶酸 (7)、原儿茶酸甲酯 (8)。化合物 1、2、3、5 和 6 对 K562 细胞增殖有抑制活性, 其中 1、2、5 的作用较强, IC_{50} 分别为 $31 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $29 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $23 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 3 和 6 次之, 在 $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度下增殖抑制率分别为 26.1% 和 31.3%。化合物 5 和 6 在无细胞毒的浓度下对 ECV 304 细胞的缺氧损伤有保护作用。结论 化合物 1~8 系首次从该植物分离得到, 其中 1、2、3、5 和 6 为该植物生物活性成分的首例报道。

关键词: 分离鉴定; 三萜; 酚酸; 抗肿瘤活性; 抗缺氧活性; 五柱五桠果
中图分类号: R914 文献标志码: A

Chemical constituents of *Dillenia kerrii* and their activities on antitumor and anti-hypoxia in vitro

LIXia¹, LIChangwei¹, CUICHengbin¹, LIMingming², FANMing²

(1. Beijing Institute of Pharmacology and Toxicology, Beijing 100850, China;

2. Beijing Institute of Basic Medical Sciences, Beijing 100850, China)

Abstract: **Aim** To investigate chemical constituents of *Dillenia kerrii* and evaluate their antitumor and anti-hypoxia activities. **Methods** Chemical constituents were isolated by combination of various column and thin-layer chromatography and the compounds obtained were identified by spectroscopic methods. The antitumor and anti-hypoxia activities were assayed by the MTT method using K562 and anoxic ECV 304 cells respectively. **Results** Compounds 1 - 8 were isolated from the fruits of *Dillenia kerrii* and they were identified as betulinic acid (1), betulinol (2), lupeol (3), -sitosterol (4), gallic acid (5), ethyl gallate (6), protocatechuic acid (7) and protocatechuic acid methyl ester (8), respectively. Compounds 1, 2, 3, 5 and 6 inhibited the proliferation of K562 cells with IC_{50} values of $31 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (1), $29 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (2) and $23 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (5), and inhibition rates of 26.1% (3) and 31.3% (6) at $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively. Compounds 5 and 6 also showed the anti-hypoxia effect at the concentration ($50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) with no cytotoxicity on anoxic ECV 304 cells. **Conclusion** Compounds 1 - 8 were isolated from *Dillenia kerrii* for the first time. Compounds 1, 2, 3, 5 and 6 provide the first example of bioactive constituents of *D. kerrii*.

Key words: isolation and identification; triterpene; phenolic; antitumor activity; anti-hypoxia activity; *Dillenia kerrii*

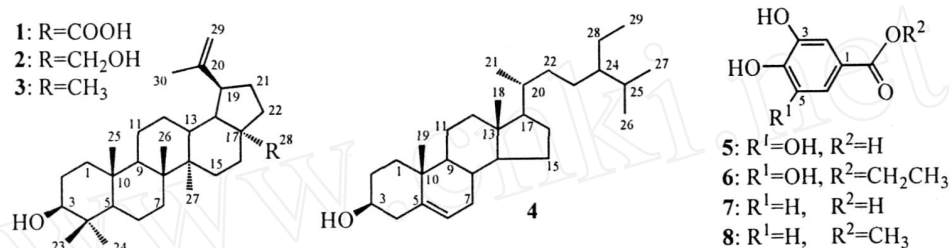
收稿日期: 2008 - 05 - 23

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目 (2006CB504100&1998051113); 国家自然科学基金项目 (39825126)

作者简介: 李霞 (1977 -), 女 (汉族), 山西晋中人, 博士研究生, E-mail: happybetty_lx@163.com; 崔承彬 (1956 -), 男, 吉林通化人, 教授, 博士生导师, Tel: (010) 66932693, E-mail: cuicb@sohu.com, cuicb@126.com.

五柱五桠果 *Dillenia kerrii* Craib 系五桠果科 (*Dilleniaceae*) 五桠果属^[1]植物,其果实的含水乙醇提取物有较强的细胞凋亡诱导和细胞周期 G2/M 期抑制活性^[2-3],但该植物化学成分及其生物活性未见文献报道。鉴于此,本文作者对其果实

化学成分进行了研究,从中分离鉴定了白桦酸 (1)、白桦醇 (2)、羽扇豆醇 (3)、谷甾醇 (4)、没食子酸 (5)、没食子酸乙酯 (6)、原儿茶酸 (7)、原儿茶酸甲酯 (8)等 8 个化合物,并对 1~8 的抗肿瘤活性和 4~8 的抗缺氧活性进行了初步测试评价。



1 仪器与材料

熔点用北京天地宇科技有限责任公司 X-4 型精密显微熔点测定仪测定,温度未校正。质谱用美国 AB 公司 API-3000 质谱仪测定。NMR 用日本电子 JNM-GX400 核磁共振仪测定,以内标 TMS 为基准标定化学位移。薄层色谱采用烟台市化学工业研究所产硅胶 GF₂₅₄ 薄层板 (20 cm × 10 cm × 0.25 mm) 或薄层硅胶 GF₂₅₄ (青岛海洋化工集团公司) 自制板 (2.5 cm × 7.5 cm 或 20 cm × 20 cm),斑点采用 254 nm 或 365 nm 紫外线照射,以体积分数 10% 硫酸水溶液或硫酸铈钼酸铵试剂喷洒加热或喷洒三氯化铁试剂显色检测。柱色谱采用 40~50 μm 硅胶 60H (青岛海洋化工集团公司)、71~154 μm 聚酰胺 (浙江省台州市路桥四甲生化塑料厂)、Sephadex LH-20 (Pharmacia) 等填料。抗肿瘤与抗缺氧活性采用美国 MD 公司 Versa max 型酶标仪测试。

五柱五桠果果实于 1998 年 8~9 月间采自云南勐腊地区,由沈阳药科大学孙启时教授采集并鉴定种属。原植物标本现存于沈阳药科大学。

2 提取分离

将五柱五桠果干燥果实 5 kg 粉碎后用体积分数为 85% 的乙醇室温浸提,每次用 50 L 浸泡 7 d,共提 3 次,合并浸提液,减压浓缩至不含乙醇 (约 4 L),依次用同体积氯仿、乙酸乙酯、正丁醇各萃取 4 次,得到氯仿萃取物 (146 g)、乙酸乙酯萃取物 (45 g)、正丁醇萃取物 (405 g) 及水层残留物。鉴于 4 个萃取物中只有氯仿和乙酸乙酯萃取物有抗肿瘤活性 (100 μg · mL⁻¹ 对 K562 细胞的抑制率分别为 38.5% 和 29.3%),本文对这两个萃

取物进行了进一步分离。

2.1 氯仿萃取物的分离

氯仿萃取物 (60 g) 用氯仿溶解并加适量硅胶吸附干燥,干法上减压硅胶柱,用石油醚 (bp 60~90) 氯仿-甲醇混合溶剂梯度洗脱,结合薄层检测结果合并浓缩洗脱液,得到 6 个组分: Fr-1 (2 g)、Fr-2 (19.4 g)、Fr-3 (14.5 g)、Fr-4 (3.1 g)、Fr-5 (10.4 g)、Fr-6 (2.1 g)。

Fr-2 (19.4 g) 用适量氯仿溶解,加适量硅胶吸附干燥,干法上减压硅胶柱,用石油醚 (bp 60~90) 氯仿混合溶剂梯度洗脱,结合薄层检测结果合并浓缩洗脱液,得到 5 个组分: Fr-2-1 (2.3 g)、Fr-2-2 (4.6 g)、Fr-2-3 (2.7 g)、Fr-2-4 (1.5 g)、Fr-2-5 (1.8 g)。组分 Fr-2-4 (1.5 g) 用适量氯仿-甲醇 (体积比为 1:1) 溶解,上 Sephadex LH-20 柱,用相同溶液洗脱并根据薄层检测结果收集合并含化合物 3 的组分,从氯仿-甲醇中重结晶得到化合物 3 (23 mg)。

Fr-3 (14.5 g) 用适量氯仿-甲醇 (体积比为 2:1) 溶解,上 Sephadex LH-20 柱,用相同溶液洗脱并根据薄层检测结果合并浓缩,按洗脱先后顺序得 6 个组分: Fr-3-1 (2 g)、Fr-3-2 (2.1 g)、Fr-3-3 (3 g)、Fr-3-4 (2.5 g)、Fr-3-5 (2.8 g)、Fr-3-6 (1.3 g)。组分 Fr-3-1 (2 g) 在室温放置过程中从氯仿-甲醇混合液中析出结晶,过滤粗结晶,从氯仿-甲醇中重结晶得到化合物 4 (30 mg)。组分 Fr-3-3 (3 g) 用适量氯仿溶解并加 12 g 硅胶吸附干燥,湿法上硅胶常压柱,氯仿-甲醇混合溶剂梯度洗脱,结合薄层检测结果合并浓缩洗脱液,得到 5 个组分: Fr-3-3-1 (119 mg)、Fr-3-3-2 (2.1 g)、Fr-3-3-3 (53 mg)、Fr-3-3-4 (44 mg) 和 Fr-3-3-5 (352 mg)。Fr-3-3-1 (119 mg) 用适量氯仿溶解

并加 1 g 硅胶吸附干燥,湿法上硅胶常压柱,用石油醚 (bp 60 ~ 90) 氯仿-乙酸乙酯 (体积比为 15 : 3 : 1) 单一混合溶剂洗脱,经薄层检测收集含化合物 2 的组分,减压浓缩并经甲醇重结晶得化合物 2 (28 mg)。Fr-3-3-2 (2.1 g) 用适量氯仿-甲醇 (体积比为 1 : 1) 溶解,上 Sephadex LH-20 柱,用相同溶液洗脱并根据薄层检测结果合并浓缩,按洗脱先后顺序分为 5 个组分: Fr-3-3-2-1 (260 mg)、Fr-3-3-2-2 (1.3 g)、Fr-3-3-2-3 (150 mg)、Fr-3-3-2-4 (170 mg) 和 Fr-3-3-2-5 (60 mg)。Fr-3-3-2-3 (150 mg) 用同一根 Sephadex LH-20 柱同法再次色谱分离,收集含化合物 1 的组分,在氯仿-甲醇中重结晶,得到化合物 1 (25 mg)。

Fr-4 (3.1 g) 用适量氯仿-甲醇 (体积比为 1 : 1) 溶解,上 Sephadex LH-20 柱,用相同溶液洗脱并根据薄层检测结果合并浓缩,按洗脱先后顺序分为 4 个组分: Fr-4-1 (270 mg)、Fr-4-2 (2.5 g)、Fr-4-3 (129 mg) 和 Fr-4-4 (38 mg)。组分 Fr-4-2 (2.5 g) 用适量氯仿溶解,加 7.5 g 硅胶吸附干燥,干法上减压硅胶柱,用氯仿-甲醇混合溶剂梯度洗脱,收集洗脱液并根据薄层检测结果合并浓缩,得到 4 个组分: Fr-4-2-1 (334 mg)、Fr-4-2-2 (370 mg)、Fr-4-2-3 (617 mg) 和 Fr-4-2-4 (1.1 g)。组分 Fr-4-2-2 (370 mg) 经硅胶制备薄层色谱和 Sephadex LH-20 柱色谱分离,收集含化合物 8 的组分,从甲醇中重结晶得到化合物 8 (12 mg)。

2.2 乙酸乙酯萃取物的分离

乙酸乙酯萃取物 (40 g) 用适量甲醇溶解并加 60 g 聚酰胺吸附干燥,干法上聚酰胺减压柱,用乙酸乙酯-甲醇混合溶剂梯度洗脱,根据薄层检测结果合并浓缩洗脱液,共得到 8 个组分: Fr-1 (2.33 g)、Fr-2 (0.53 g)、Fr-3 (7.3 g)、Fr-4 (2.7 g)、Fr-5 (3.7 g)、Fr-6 (4.7 g)、Fr-7 (2.1 g) 和 Fr-8 (1.2 g)。

Fr-3 (7.30 g) 用适量甲醇溶解并加 15 g 聚酰胺吸附干燥,湿法上常压聚酰胺柱,用氯仿-甲醇混合溶剂梯度洗脱,得到 6 个组分: Fr-3-1 (1.3 g)、Fr-3-2 (1.9 g)、Fr-3-3 (700 mg)、Fr-3-4 (670 mg)、Fr-3-5 (570 mg) 和 Fr-3-6 (1.9 g)。

组分 Fr-3-3 (700 mg) 用适量甲醇溶解并加 2 g 聚酰胺吸附干燥,湿法上聚酰胺常压柱,用乙酸乙酯-甲醇混合溶剂洗脱,根据薄层检测结果合并浓缩洗脱液,得到含化合物 7 的组分 (103 mg),该组分经硅胶薄层色谱、Sephadex

LH-20 柱色谱分离以及重结晶得到化合物 7 (30 mg)。

组分 Fr-3-5 (570 mg) 用适量氯仿-甲醇溶解,上 Sephadex LH-20 柱,用相同溶液洗脱,根据薄层检测结果合并浓缩洗脱液,按洗脱先后顺序得到 5 个组分: Fr-3-5-1 (107 mg)、Fr-3-5-2 (90 mg)、Fr-3-5-3 (116 mg)、Fr-3-5-4 (150 mg) 和 Fr-3-5-5 (87 mg)。组分 Fr-3-5-4 (150 mg) 上 Sephadex LH-20 柱,收集合并含化合物 6 的组分,经甲醇重结晶得化合物 6 (23 mg)。

组分 Fr-3-6 (1.9 g) 用适量氯仿-甲醇溶解,上 Sephadex LH-20 柱,用相同溶液洗脱并根据薄层检测结果合并浓缩,按洗脱先后顺序分为 2 个组分: Fr-3-6-1 (1 g) 和 Fr-3-6-2 (0.9 g)。组分 Fr-3-6-2 再经 Sephadex LH-20 柱分离,收集含化合物 5 的组分,甲醇重结晶得化合物 5 (40 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 白色针状结晶 (氯仿-甲醇), mp 280 ~ 282 , 正离子 ESIMS m/z : 479 $[M + Na]^+$ 、495 $[M + K]^+$; 负离子 ESIMS m/z : 455 $[M - H]^-$ 。 1H -NMR (C_5D_5N , 400 MHz) : 4.93 (1H, br s, Hb-29)、4.76 (1H, br s, Ha-29)、3.53 (1H, m, H-5)、3.45 (1H, t, $J = 15.2$ Hz, H-3)、1.78 (3H, s, 23- CH_3)、1.22 (3H, s, 24- CH_3)、1.05 (3H, s, 30- CH_3)、1.04 (3H, s, 26- CH_3)、1.00 (3H, s, 25- CH_3)、0.80 (3H, s, 27- CH_3)。 ^{13}C -NMR (C_5D_5N , 100 MHz) : 178.9 (C-28)、151.3 (C-20)、110.0 (C-29)、78.1 (C-3)、56.7 (C-17)、55.9 (C-5)、50.9 (C-9)、49.8 (C-19)、47.8 (C-18)、42.9 (C-14)、41.1 (C-8)、39.6 (C-4)、39.3 (C-1)、38.6 (C-13)、37.6 (C-22)、37.5 (C-10)、34.8 (C-7)、32.9 (C-16)、31.2 (C-15)、30.0 (C-21)、28.7 (C-23)、28.3 (C-2)、26.1 (C-12)、21.2 (C-11)、19.4 (C-30)、18.8 (C-6)、16.4 (C-24)、16.4 (C-25)、16.4 (C-26)、14.9 (C-27)。以上数据与白桦酸^[4] (betulinic acid) 的文献数据相符,故鉴定 1 为白桦酸。

化合物 2: 白色针状结晶 (甲醇), mp 262 ~ 265 , 负离子 ESIMS m/z : 477 $[M + Cl]^-$ 。 1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) : 4.61 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, Hb-29)、4.51 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, Ha-29)、3.73 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, Hb-28)、3.26 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, Ha-28)、3.13 (1H, dd, $J = 11.2$,

5.2 Hz, H-3)、1.61 (3H, s, 30-CH₃)、0.95 (3H, s, 27-CH₃)、0.91 (3H, s, 26-CH₃)、0.90 (3H, s, 25-CH₃)、0.75 (3H, s, 24-CH₃)、0.69 (3H, s, 23-CH₃)。¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) : 151.5 (C-20)、109.7 (C-29)、78.9 (C-3)、60.5 (C-28)、55.2 (C-5)、50.3 (C-9)、48.7 (C-19)、47.7 (C-17)、47.7 (C-18)、42.7 (C-14)、40.8 (C-8)、38.8 (C-4)、38.6 (C-1)、37.2 (C-10)、37.1 (C-13)、34.2 (C-7)、33.9 (C-22)、29.7 (C-21)、29.4 (C-16)、28.0 (C-23)、27.3 (C-2)、27.0 (C-15)、25.1 (C-12)、20.8 (C-11)、19.0 (C-30)、18.2 (C-6)、16.1 (C-25)、15.9 (C-26)、15.3 (C-24)、14.7 (C-27)。以上数据与白桦醇^[5] (betulinol) 的文献数据一致,故鉴定 2 为白桦醇。

化合物 3:白色粉末, mp 262 ~ 265 ,正离子 ESIMS m/z: 427[M + H]⁺、466[M + K]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) : 4.68 (1H, d, J = 2.2 Hz, Hb-29)、4.57 (1H, dd, J = 2.2, 1.4 Hz, Ha-29)、3.19 (1H, dd, J = 11.2, 5.0 Hz, H-3)、1.68 (3H, s, 30-CH₃)、1.03 (3H, s, 26-CH₃)、0.98 (3H, s, 23-CH₃)、0.97 (3H, s, 27-CH₃)、0.83 (3H, s, 25-CH₃)、0.79 (3H, s, 28-CH₃)、0.76 (3H, s, 24-CH₃)。¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) : 151.0 (C-20)、109.3 (C-29)、79.0 (C-3)、55.3 (C-5)、50.4 (C-9)、48.3 (C-18)、48.0 (C-19)、43.0 (C-17)、42.8 (C-14)、40.8 (C-8)、40.0 (C-22)、38.8 (C-4)、38.7 (C-1)、38.0 (C-13)、37.2 (C-10)、35.6 (C-16)、34.3 (C-7)、29.8 (C-21)、28.0 (C-23)、27.4 (C-2)、27.4 (C-15)、25.1 (C-12)、20.9 (C-11)、19.3 (C-30)、18.3 (C-6)、18.0 (C-28)、16.1 (C-25)、16.0 (C-26)、15.4 (C-24)、14.5 (C-27)。以上数据与羽扇豆醇^[6] (lupeol) 的文献数据相符,故鉴定 3 为羽扇豆醇。

化合物 4:白色针状结晶(氯仿-甲醇), mp 137 ~ 138 。¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) : 5.35 (1H, d, J = 4.0 Hz, H-6)、3.53 (1H, m, H-3)、2.50 ~ 1.10 (m)、1.01 (3H, s, CH₃)、0.92 (3H, d, J = 6.4 Hz, CH₃)、0.84 (3H, m, CH₃)、0.82 (3H, m, CH₃)、0.80 (3H, m, CH₃)、0.68 (3H, s, CH₃)。¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) : 140.7、121.7、71.8、56.7、56.0、50.1、45.7、42.2、42.2、39.7、37.2、36.5、36.1、33.9、31.8、31.8、31.6、29.0、28.2、26.0、24.3、23.0、21.0、19.8、19.4、19.0、18.7、12.0、11.8。以上数据与 谷甾

醇^[7] (-sitosterol) 的文献数据一致,故鉴定 4 为谷甾醇。

化合物 5:无色片状晶体(甲醇), mp 236 ~ 238 。与 FeCl₃ 试剂反应呈深蓝色。负离子 ESIMS m/z: 169[M - H]⁻、205[M + Cl]⁻。¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) : 7.05 (2H, s, H-2, 6)。¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz) : 170.3 (C = O)、146.1 (C-3, 5)、139.3 (C-4)、121.8 (C-1)、110.0 (C-2, 6)。上述数据与没食子酸^[8] (gallic acid) 的文献数据相符,故鉴定 5 为没食子酸。

化合物 6:白色针状结晶(甲醇), mp 136 ~ 138 。正离子 ESIMS m/z: 221[M + Na]⁺;负离子 ESIMS m/z: 197[M - H]⁻。¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) : 7.02 (2H, s, H-2, 6)、4.24 (2H, q, J = 7.2 Hz, OCH₂)、1.32 (3H, t, J = 7.2 Hz, CH₃)。¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz) : 168.6 (C = O)、146.5 (C-3)、146.5 (C-5)、139.7 (C-4)、121.7 (C-1)、110.0 (C-2)、110.0 (C-6)、61.7 (-OCH₂)、14.7 (-CH₃)。以上数据与没食子酸乙酯^[8] (ethyl gallate) 的文献数据一致,故鉴定 6 为没食子酸乙酯。

化合物 7:白色针状结晶(甲醇), mp 202 ~ 205 。薄层斑点与溴酚蓝试剂反应呈黄色,提示结构中存在羧基;与 FeCl₃ 试剂反应阳性,示有酚羟基。正离子 ESIMS m/z: 177[M + Na]⁺;负离子 ESIMS m/z: 153[M - H]⁻、189[M + Cl]⁻。¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) : 7.44 (1H, br s, H-2)、7.43 (1H, dd, J = 7.6, 2.4 Hz, H-6)、6.80 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-5)。¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz) : 170.4 (C = O)、151.6 (C-4)、146.1 (C-3)、124.0 (C-1)、123.2 (C-6)、117.8 (C-2)、115.8 (C-5)。以上数据与原儿茶酸^[9] (protocatechuic acid) 的文献数据一致,故鉴定 7 为原儿茶酸。

化合物 8:无色片状结晶(甲醇), mp 183 ~ 185 。薄层斑点与溴酚蓝试剂反应呈黄色,提示结构中存在羧基;与 FeCl₃ 试剂反应阳性,示有酚羟基。正离子 ESIMS m/z: 191[M + Na]⁺;负离子 ESIMS m/z: 167[M - H]⁻、203[M + Cl]⁻。¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) : 7.56 (1H, br s, H-2)、7.54 (1H, dd, J = 8.4, 2.0 Hz, H-6)、6.82 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5)、3.88 (3H, s, OCH₃)。¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz) : 170.5 (C = O)、

151.9 (C-4)、148.1 (C-3)、124.7 (C-1)、123.2 (C-6)、115.2 (C-2)、113.3 (C-5)、55.8 (OCH₃)。以上数据与原儿茶酸甲酯^[10] (protocatechuic acid methyl ester) 的文献数据相符,故鉴定 8 为原儿茶酸甲酯。

4 生物活性测试

抗肿瘤活性采用文献 [11] 所述 MTT 法,用人慢性髓性白血病 K562 细胞进行测试。抗缺氧活性按文献 [12] 所述 MTT 法,采用人脐带静脉内皮 ECV 304 细胞缺氧损伤模型测试。

抗肿瘤活性测试结果表明:化合物 1、2、3、5 和 6 有抑制 K562 细胞增殖的作用。其中 1、2、5 作用较强, IC₅₀ 分别为 31、29、23 μg·mL⁻¹; 3 和 6 次之,在 100 μg·mL⁻¹ 浓度下对 K562 细胞增殖的抑制率分别为 26.1% 和 31.3%。而化合物 4、7 和 8 在测试浓度范围内未检测到有抗肿瘤活性。

利用 ECV 304 细胞缺氧损伤模型,测试了化合物 4~8 的体外抗缺氧活性,结果表明化合物 5 和 6 对 ECV 304 细胞的缺氧损伤有保护作用。这两个化合物在无细胞毒作用的 50 μg·mL⁻¹ 浓度下使 ECV 304 细胞的存活率分别达 (39.6 ± 0.5)% (5) 和 (60.2 ± 0.8)% (6),而缺氧损伤组的存活率仅为 (22.6 ± 0.1)%,与缺氧损伤组统计比较均有显著性差异 (P < 0.001)。

5 结论

本文在确定氯仿和乙酸乙酯萃取物具有抗肿瘤活性的基础上,从五柱五桠果果实的两个活性部位分离鉴定了 8 个化合物,并通过活性测试初步证明 1、2、3、5 和 6 为抗肿瘤活性成分。其中白桦酸 (1) 含量较高,虽然精制获取的纯品数量较少,但从 60 g 氯仿萃取物中得到粗品 2.8 g,收率达 0.14%,活性测试结果也与文献 [13] 中白桦酸抑制黑色素瘤细胞的活性吻合,表明 1 为五柱五桠果果实的主要抗肿瘤活性成分。此外,在体外抗缺氧活性测试中,5 和 6 还显示出对 ECV 304 细胞缺氧损伤的保护作用。本文报道的化合物

6~8 为首次从该属植物分离得到,其余均为首次从该植物分离得到,其中 1、2、3、5 和 6 为该植物生物活性成分的首例报道。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1984: 190 - 195.
- [2] 李长伟. 南酸枣抗肿瘤活性成分的研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2005.
- [3] 汪斌. 包疮叶的化学成分及其抗肿瘤活性研究 [D]. 天津: 天津大学, 2006.
- [4] 戴胜军, 于德泉. 烈香杜鹃中的三萜类化合物 [J]. 中国天然药物, 2005, 3 (6): 347 - 349.
- [5] 郭夫江, 林绥, 李援朝. 鹅掌藤中三萜类化合物的分离与鉴定 [J]. 中国药物化学杂志, 2005, 15 (5): 294 - 296.
- [6] 何峰, 潘勤, 闵知大. 酸枣仁中的一种新羽扇豆烷型三萜 [J]. 中草药, 2006, 37 (2): 168 - 171.
- [7] 李玉林, 王洪伦, 索有瑞. 尖苞雪莲的化学成分 [J]. 西北植物学报, 2004, 24 (7): 1292 - 1294.
- [8] 黄文强, 施敏峰, 宋晓平, 等. 使君子化学成分研究 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2006, 34 (4): 79 - 82.
- [9] 陶晨, 杨小生, 罗载刚, 等. 乌蕨中抑菌活性成分核磁共振波谱分析 [J]. 贵阳医学院学报, 2004, 29 (6): 495 - 496.
- [10] 漆树华, 吴大刚, 马云保, 等. 毛叶楠臭春的化学成分 [J]. 中草药, 2003, 34 (7): 590 - 592.
- [11] 王海燕, 蔡兵, 崔承彬, 等. 蔓荆子活性成分 vitexicapin 诱导 K562 细胞凋亡的机制 [J]. 药学报, 2005, 40 (1): 27 - 31.
- [12] 李长伟, 崔承彬, 蔡冰, 等. 南酸枣的黄烷类成分及其体外抗肿瘤与抗缺氧活性 [J]. 中国药物化学杂志, 2009, 19 (1): 48 - 51, 64.
- [13] PISHA E, CHAI H, LEE I S, et al Discovery of betulinic acid as a selective inhibitor of human melanoma that functions by induction of apoptosis [J]. Nat Med, 1995, 1 (10): 1046 - 1051.