

【基础研究】

曾被收入《中国药典》。香茶菜属中一些植物具有清热解毒、活血化淤、抗菌消炎、降血压、抗肿瘤等功效,可用于防治肿瘤和治疗肝炎、高血压等疾病^[24]。河南的冬凌草和毛叶香茶菜也具有明显的抗癌活性,已作为市售抗菌、消炎和抗癌药物使用。一些化学和药学工作者对香茶菜属植物进行了系列的植物化学和药理学研究,发现香茶菜属植物富含对映-贝壳杉烷类二萜化合物^[56],其中有的化合物,如冬凌草甲素有很好的抗癌活性^[78]。为进一步研究香茶

菜属植物的化学成分和抗癌活性,作者采集了分布于河南的毛叶香茶菜、显脉香茶菜、溪黄草、蓝鄂香茶菜和冬凌草 5 种植物,从中分离得到 13 种对映-贝壳杉烷类二萜化合物,并对其进行了细胞毒活性测试,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 毛叶香茶菜、显脉香茶菜和溪黄草等 3 种药材采集于河南桐柏县淮源镇白云山;蓝鄂香茶菜和冬凌草采集于河南辉县南寨镇秋沟,植物标本由河南农业大学朱长山教授鉴定。

1.2 仪器与试剂 Brucker AM-400 型超导核磁波谱仪(德国 Brucker 公司),Q-TOF6540 高分辨质谱仪(美国安捷伦公司),Nicolet 170 SX FT-IR 红外光谱仪(美国 Nicolet 公司),X-4 数字显示显微熔点仪(北京光电设备厂),SpectraMax Paradigm 酶标仪(美国 Molecular Devices 公司),RSBiotech CO₂ 培养箱(美国 GalaxyS 公司),MLS-3780 高压灭菌锅(美国 Thermo 公司),柱层析用硅胶(200~300 目)及薄层层析(thin layer chromatography, TLC)用硅胶 GF254(10~40 μm)(青岛海洋化工厂);所用试剂均为分析纯。

1.3 提取与分离 分别采集上述 5 种植物叶子 10 kg,阴干后粉碎,用丙酮:水(7:3, v/v)室温浸泡提取 4 次,每次 6 d,提取液减压浓缩,水液用乙酸乙酯萃取 6 次,将乙酸乙酯层减压浓缩后获得浸膏。然后以氯仿/甲醇(1:0, 30:1, 20:1, 15:1, 10:1, 5:1, 3:1, 1:1, 0:1, v/v)为洗脱剂梯度洗脱,进行硅胶柱色谱分析。根据 TLC 检测,将柱层析收集到的浓缩物分为若干部分。然后再次用硅胶柱层析,分别用石油醚/丙酮、氯仿/丙酮、氯仿/异丙醇、氯仿/甲醇等系统重复梯度洗脱,必要时进行重结晶,分别得到各个纯净的二萜化合物。

1.4 结构鉴定 将从植物中分离所得的各个化合物,通过化学方法及红外光谱(infrared spectrum, IR)、质谱(mass spectrum, MS)、核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)等现代波谱方法确定化合物结构。

1.5 化合物细胞毒活性检测 将 4×10⁷ L⁻¹的细胞加到 96 孔板中,每孔 100 μL,培养 24 h,加入不同浓度的药物[用二甲亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)助溶,DMSO 在培养体系中的终浓度<0.5 g·L⁻¹],阳性对照孔每孔加入不同浓度的丝裂霉素,每个浓度各设 5 个平行。继续培养 48 h 后,每孔内分别加入 500 g·L⁻¹ 三氯乙酸(trichloroacetic acid, TCA)液

25 μL(TCA 终浓度为 100 g·L⁻¹)固定,4℃放置 1 h。倒掉固定液,小孔用去离子水洗 5 遍,空气干燥。每孔加 100 μL 磺酰罗丹明 B(sulforhodamine B, SRB)液,室温放置 10 min。用 10 g·L⁻¹ 醋酸液洗 5 遍,除去未与蛋白结合的 SRB,空气干燥。结合的 SRB 用 150 μL 10 mmol·L⁻¹ 非缓冲的三羟甲基氨基甲烷(Tris, pH 10.5)液溶解,在酶标仪上测出 A₅₁₅。细胞存活率(%)=(实验组 A₅₁₅-加药前 A₅₁₅)/(对照组 A₅₁₅-加药前 A₅₁₅)×100%。

采用 SRB 方法^[9],将香茶菜属植物中分离得到的部分二萜化合物对白血病细胞(HL60)、人肝癌细胞(Bel-7402)、卵巢癌细胞(HO-8910)、人肝癌细胞(SMMC-7721)、人宫颈癌细胞(HeLa)、人食管癌细胞(EC-1)、人脑星形胶质母细胞瘤(U87MG)、人肺癌细胞(A549)、人乳腺癌细胞(MCF-7)、人慢性髓原白血病细胞(K562)等的抑制活性进行测试。

2 结果

2.1 化合物结构及波谱数据 从香茶菜叶中分离得到了 13 种对映-贝壳杉烷类二萜化合物,通过化学方法及 IR、MS、NMR 等现代波谱方法确定化合物 1~13 的结构,结果见图 1。化合物波谱数据如下。

化合物 1:白色粉末,分子式 C₂₀H₂₈O₆; m. p. 252~254℃; [α]_D¹⁷-100(c 1.0, C₅H₅N); IR(ν_{max}^{KBr}, cm⁻¹): 3 330, 1 705, 1 640; ¹³C-NMR(100 MHz, C₅D₅N, δ, ppm) δ: 74.5(C-1), 27.5(C-2), 39.0(C-3), 24.3(C-4), 60.9(C-5), 73.4(C-6), 95.8(C-7), 60.2(C-8), 57.7(C-9), 42.8(C-10), 63.1(C-11), 28.5(C-12), 35.0(C-13), 39.8(C-14), 210.9(C-15), 153.9(C-16), 115.9(C-17), 33.1(C-18), 22.6(C-19), 64.6(C-20)。

化合物 2:白色粉末,分子式 C₂₀H₂₈O₆; m. p. 250~252℃; [α]_D²¹-81.3(c 0.20, C₅H₅N); IR(ν_{max}^{KBr}, cm⁻¹): 3 600~3 050, 1 702, 1 642; ¹H-NMR(400 MHz, C₅D₅N, δ, ppm, TMS): 5.13, 4.32(2×H, Abd, J=11.0, H-20), 4.50(1H, m, H-11), 4.28(1H, H-6), 3.84(1H, dd, J=10.0, 6.0, H-1), 1.34(3H, s, Me-18), 1.24(3H, s, Me-19); ¹³C-NMR(100 MHz, C₅D₅N, δ, ppm): 75.3(C-1), 29.4(C-2), 39.3(C-3), 34.0(C-4), 61.4(C-5), 73.4(C-6), 96.3(C-7), 59.9(C-8), 55.0(C-9), 43.0(C-10), 67.0(C-11), 39.3(C-12), 34.8(C-13), 27.1(C-14), 211.0(C-15), 154.4(C-16), 115.3(C-17), 33.8(C-18), 22.5(C-19), 65.7(C-20)。

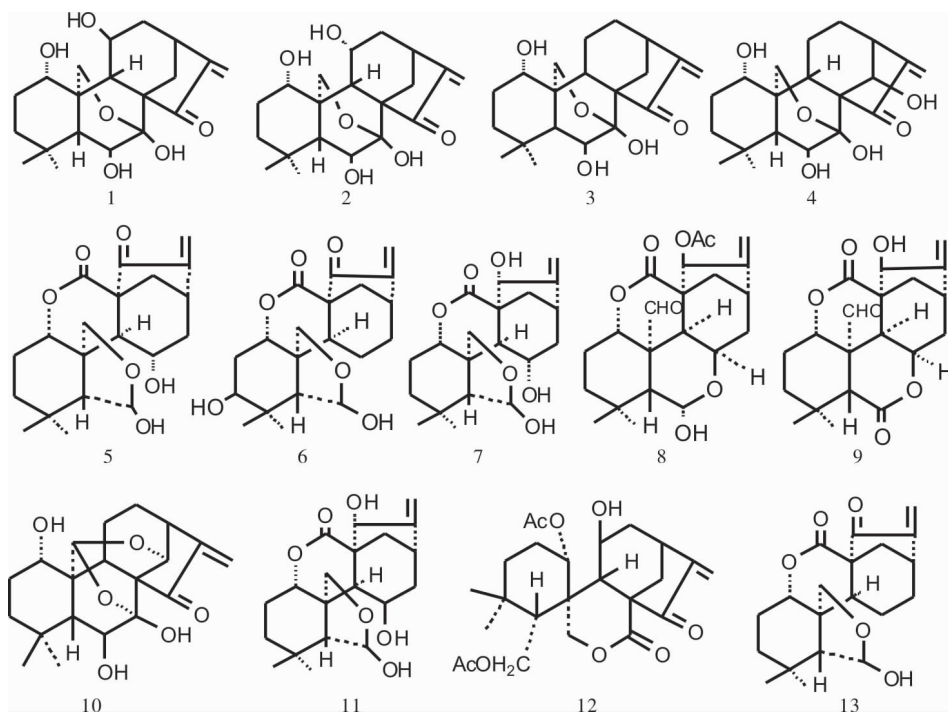


图1 化合物1~13的结构式

Fig.1 Structures of compounds 1-13

化合物 3: 无色针状晶体 (MeOH), 分子式 $C_{20}H_{28}O_5$; m. p. 266 ~ 268 °C; $[\alpha]_D^{20} - 79.7$ (c 0.35, C_5H_5N); IR (ν_{max}^{KBr}, cm^{-1}): 3 463, 3 233, 2 930, 1 702, 1 640, 1 453, 1 333, 1 275, 1 193, 1 061; 1H -NMR (400 MHz, C_5D_5N , δ , ppm, TMS): 5.95, 5.61 ($2 \times 1H$, s, H-17), 4.75, 4.34 ($2 \times 1H$, Abd, $J = 10.0$ Hz, H-20), 4.25 (1H, dd, H-6 α), 3.65 (1H, dd, $J = 7.5$ Hz, H-1), 2.89 (1H, m, H-13 α), 1.48 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, H-5), 1.26, 1.10 ($2 \times 3H$, s, Me-18, 19); ^{13}C -NMR (100 MHz, C_5D_5N , δ , ppm): 73.3 (C-1), 30.4 (C-2), 39.1 (C-3), 34.0 (C-4), 61.3 (C-5), 74.8 (C-6), 95.8 (C-7), 60.5 (C-8), 52.0 (C-9), 41.7 (C-10), 20.2 (C-11), 30.1 (C-12), 35.1 (C-13), 26.4 (C-14), 210.9 (C-15), 154.3 (C-16), 115.7 (C-17), 33.2 (C-18), 22.1 (C-19), 63.7 (C-20).

化合物 4: 无色块状结晶 (Me₂CO), 分子式 $C_{20}H_{28}O_6$; m. p. 248 ~ 250 °C; $[\alpha]_D^{17} - 46$ (c 1.0, C_5H_5N); IR (ν_{max}^{KBr}, cm^{-1}): 3 400, 3 200, 1 705, 1 645; 1H -NMR (400 MHz, C_5D_5N , δ , ppm, TMS): 6.31 (1H, s, H-17a), 5.53 (1H, s, H-17b), 5.35 (1H, s, H-14), 4.78, 4.42 ($2 \times 1H$, Abd, $J = 8.8$ Hz, H-20), 4.29 (1H, dd, $J = 10.0, 7.0$ Hz, H-6), 3.65 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-1), 1.20, 1.13 ($2 \times 3H$, s, Me-18, 19); ^{13}C -NMR (100 MHz, C_5D_5N , δ , ppm): 74.8 (C-1), 30.5 (C-2), 39.3 (C-3), 34.0 (C-4), 60.5 (C-5), 73.5 (C-6), 98.4 (C-7), 62.9 (C-8), 54.1 (C-9), 41.7 (C-10), 20.3

(C-11), 30.9 (C-12), 43.9 (C-13), 73.1 (C-14), 209.2 (C-15), 153.4 (C-16), 119.0 (C-17), 33.3 (C-18), 22.2 (C-19), 64.0 (C-20).

化合物 5: 无色块状结晶 (Me₂CO), 分子式 $C_{20}H_{26}O_6$; m. p. 245 ~ 248 °C; $[\alpha]_D^{27} - 200$ (c 0.027, C_5H_5N); IR (ν_{max}^{KBr}, cm^{-1}): 3 250, 1 750, 1 715, 1 640, 1 045; 1H -NMR (400 MHz, C_5D_5N , δ , ppm, TMS): 9.08 (1H, brs, OH-6 β), 7.21 (1H, brs, OH-11 α), 5.98, 5.35 ($2 \times 1H$, s, H-17), 5.75 (1H, s, H-6), 4.93 (1H, dd, $J = 11.8, 6.8$ Hz, H-1 β), 4.56 (1H, m, H-11 β), 4.42, 4.30 ($2 \times 1H$, Abd, $J = 10.0$ Hz, H-20), 3.25 (1H, s, H-5), 2.74 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-9), 0.96 (3H, s, Me-18), 0.96 (3H, s, Me-19); ^{13}C -NMR (100 MHz, C_5D_5N , δ , ppm): 76.8 (C-1), 24.1 (C-2), 36.9 (C-3), 31.6 (C-4), 52.4 (C-5), 102.1 (C-6), 171.0 (C-7), 56.6 (C-8), 53.9 (C-9), 51.1 (C-10), 63.3 (C-11), 41.5 (C-12), 35.3 (C-13), 33.0 (C-14), 200.6 (C-15), 151.0 (C-16), 117.7 (C-17), 33.6 (C-18), 23.0 (C-19), 73.7 (C-20).

化合物 6: 无色块状结晶 (Me₂CO), 分子式 $C_{20}H_{26}O_6$; m. p. 297 ~ 299 °C; $[\alpha]_D^{10} - 131.3$ (c 1.0, C_5H_5N); 1H -NMR (400 MHz, C_5D_5N , δ , ppm, TMS): 5.98, 5.31 ($2 \times 1H$, d, H-17), 5.90 (1H, s, H-6), 5.43 (1H, dd, H-1), 4.48 (2H, ABd, H-20), 1.32 (3H, s, Me-18), 1.04 (3H, s, Me-19); ^{13}C -NMR (100 MHz, C_5D_5N , δ , ppm): 75.0 (C-1), 30.9 (C-

2), 74.0 (C-3), 35.9 (C-4), 51.1 (C-5), 102.4 (C-6), 172.2 (C-7), 57.0 (C-8), 46.6 (C-9), 50.1 (C-10), 19.8 (C-11), 32.8 (C-12), 35.3 (C-13), 29.6 (C-14), 200.8 (C-15), 151.4 (C-16), 117.4 (C-17), 28.3 (C-18), 23.2 (C-19), 74.4 (C-20)。

化合物 7: 无色块状结晶 (Me_2CO), 分子式 $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_6$; m. p. 236 ~ 238 °C; IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$, cm^{-1}): 3 420, 3 230, 1 705, 1 040; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ , ppm, TMS): 5.73 (1H, s, H-6), 5.57, 5.22 (2 \times 1H, brs, H-17), 5.50 (1H, s, H-15), 4.84 (1H, dd, H-1), 4.54, 4.19 (2 \times 1H, Abd, $J = 8.5$ Hz, H-20), 4.43 (1H, H-11), 3.60 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-9), 3.17 (1H, s, H-5), 1.00 (3H, s, Me-18), 0.98 (3H, s, Me-19); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ , ppm): 77.6 (C-1), 24.4 (C-2), 37.3 (C-3), 31.7 (C-4), 54.4 (C-5), 102.3 (C-6), 175.6 (C-7), 53.5 (C-8), 46.4 (C-9), 51.1 (C-10), 63.2 (C-11), 45.6 (C-12), 37.2 (C-13), 34.5 (C-14), 76.5 (C-15), 158.3 (C-16), 108.6 (C-17), 33.2 (C-18), 23.2 (C-19), 73.3 (C-20)。

化合物 8: 无色晶体 (Me_2CO), 分子式 $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_7$; m. p. 281 ~ 283 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 173.1$ (c 0.54, Me_2CO); HR-ESI-MS: m/z 427.173 3 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3 516, 2 987, 2 967, 2 940, 2 874, 1 743, 1 715, 1 700, 1 660, 1 373, 1 181, 919 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ , ppm, TMS): 10.68 (1H, s, H-20), 6.66 (1H, s, H-15), 5.85 (1H, s, H-6), 5.11, 5.03 (2 \times 1H, brs, H-1), 4.55 (1H, dd, $J = 4.0$, 6.8 Hz, H-1), 4.29 (2H, dt, $J = 8.8, 11.2$ Hz, H-11), 3.27 (1H, d, $J = 11.6$ Hz, H-9), 2.78 (1H, m, H-13), 1.96 (3H, s, H-22), 1.91 (1H, s, H-5), 1.71, 1.99 (2H, m, H-2), 1.67, 2.71 (2H, m, 12-H), 1.42, 2.77 (2H, m, H-3), 1.14, 2.21 (2H, d, $J = 12.0$ Hz, 14-H), 1.15 (3H, s, H-19), 0.95 (3H, s, H-18); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ , ppm): 77.4 (C-1), 25.8 (C-2), 40.7 (C-3), 33.5 (C-4), 50.1 (C-5), 92.3 (C-6), 172.1 (C-7), 48.7 (C-8), 35.0 (C-9), 50.6 (C-10), 62.6 (C-11), 39.5 (C-12), 37.7 (C-13), 32.3 (C-14), 80.8 (C-15), 153.7 (C-16), 111.0 (C-17), 30.3 (C-18), 22.1 (C-19), 202.8 (C-20), 169.9 (C-21), 20.5 (C-22)。

化合物 9: 无色针晶 (Me_2CO), 分子式 $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_6$; m. p. 260 ~ 262 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{23} - 135.7$ (c 0.28, Me_2CO); HR-ESI-MS: m/z 383.147 3 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3 375, 1 754, 1 720, 1 700, 1 365, 1 320, 1 077, 898 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ , ppm, TMS): 10.07 (1H, s, H-20), 5.47 (1H, s, H-15),

5.20, 5.44 (2 \times 1H, brs, H-17), 5.02 (1H, dt, $J = 8.8, 11.2$ Hz, H-11), 4.70 (1H, dd, $J = 3.2, 11.2$ Hz, H-1), 3.14 (1H, d, $J = 11.6$ Hz, H-9), 2.84 (1H, s, H-5), 2.81 (1H, m, H-13), 2.01, 2.36 (2H, m, H-2), 1.82, 2.10 (2H, m, 14-H), 1.43 (2H, m, H-3), 1.14 (3H, s, H-19), 1.07 (3H, s, H-18); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ , ppm): 76.8 (C-1), 25.1 (C-2), 39.6 (C-3), 33.0 (C-4), 50.8 (C-5), 169.7 (C-6), 173.7 (C-7), 50.8 (C-8), 38.9 (C-9), 50.4 (C-10), 70.2 (C-11), 37.7 (C-12), 37.2 (C-13), 32.0 (C-14), 81.6 (C-15), 157.3 (C-16), 110.6 (C-17), 22.2 (C-18), 30.2 (C-19), 199.5 (C-20)。

化合物 10: 无色晶体 (MeOH), 分子式 $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_6$; m. p. 235.5 ~ 238.0 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{17} - 118$ (c 0.1, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$); IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$, cm^{-1}): 3 392, 1 735, 1 650, 1 083, 1 062; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ , ppm): 6.17, 5.30 (2 \times 1H, s, H-17), 5.85 (1H, s, H-20), 4.94 (1H, d, 6.1, H-14), 4.15 (1H, s, H-6), 3.80 (1H, dd, 5.6, 10.0, H-1), 3.18 (1H, m, H-13), 2.88 (1H, d, 7.6, H-9), 1.59 (1H, s, H-5), 0.91, 0.87 (2 \times 3H, s, Me-18, 19); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ , ppm): 72.0 (C-1), 30.2 (C-2), 39.9 (C-3), 33.5 (C-4), 63.2 (C-5), 72.9 (C-6), 101.7 (C-7), 57.6 (C-8), 45.6 (C-9), 48.7 (C-10), 19.9 (C-11), 26.7 (C-12), 41.0 (C-13), 69.8 (C-14), 200.3 (C-15), 150.1 (C-16), 117.9 (C-17), 30.9 (C-18), 23.0 (C-19), 97.2 (C-20)。

化合物 11: 无色块状晶体 (MeOH), 分子式 $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_6$; m. p. 278 ~ 280 °C; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ , ppm): 8.24 (1H, br s, OH-6), 6.06, 5.35 (2 \times 1H, s, H2-17), 5.79 (1H, s, H-6), 5.70 (1H, t, 9.0, H-1), 5.05 (1H, m, H-11), 4.54, 4.22 (2 \times 1H, s, H-20), 3.78 (1H, d, 11.5, H-14), 3.20 (1H, m, H-13), 3.07 (1H, s, H-5), 1.01 (6H, s, 2 \times Me); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ , ppm): 78.8 (C-1), 24.2 (C-2), 37.5 (C-3), 31.6 (C-4), 55.7 (C-5), 102.1 (C-6), 171.6 (C-7), 56.3 (C-8), 48.7 (C-9), 50.0 (C-10), 66.5 (C-11), 41.5 (C-12), 35.6 (C-13), 34.2 (C-14), 201.0 (C-15), 151.3 (C-16), 117.2 (C-17), 33.4 (C-18), 23.5 (C-19), 74.1 (C-20)。

化合物 12: 无色块状结晶 (MeOH), 分子式 $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_8$; m. p. 182 ~ 184 °C; EI-MS: m/z 448.211 8 $[\text{M}]^+$; $[\alpha]_{\text{D}}^{17} - 130.6$ (c 2.20, $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$); IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$, cm^{-1}): 3 450, 1 740, 1 720, 1 640, 1 235, 1 054, 875; $^1\text{H-NMR}$ (60 MHz, CDCl_3 , δ , ppm, TMS): 6.10, 5.60 (2 \times 1H, s, H-17), 5.12 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-

1), 4.88, 4.30 (2 × 1H, ABd, $J = 12.0$ Hz, H-20), 4.25 (2H, m, H-6), 4.00 (1H, m, H-11), 3.10 (1H, dd, $J = 10.0, 4.0$ Hz, H-13), 2.27 (1H, m, H-5), 2.68 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-9 β), 2.04 (6H, s, 2OAc), 1.04 (6H, s, 2Me); $^{13}\text{C-NMR}$ (15 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 76.2 (C-1), 24.0 (C-2), 39.5 (C-3), 34.1 (C-4), 48.6 (C-5), 62.3 (C-6), 170.7 (C-7), 57.6 (C-8), 45.3 (C-9), 44.4 (C-10), 65.9 (C-11), 41.5 (C-12), 33.9 (C-13), 29.5 (C-14), 199.0 (C-15), 149.1 (C-16), 119.7 (C-17), 33.9 (C-18), 24.0 (C-19), 66.5 (C-20), 169.7 (OAc), 167.0 (OAc), 21.4 (OAc), 21.4 (OAc)。

化合物 13: 无色针状结晶 (Me_2CO), 分子式 $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_5$; m. p. 271 ~ 273 $^{\circ}\text{C}$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 6.07, 5.50 (2 × 1H, s, H-17), 5.33 (1H, s, H-6), 4.39 (1H, dd, $J = 11.6, 5.9$ Hz, H-1), 4.05, 3.98 (2 × 1H, Abd, $J = 9.4$ Hz, H-20), 2.53 (1H, dd, $J = 13.0, 5.4$ Hz, H-9), 1.93 (1H, s, H-5), 1.03 (3H, s, Me-18), 0.96 (3H, s, Me-19); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ , ppm): 76.5 (C-1), 23.4 (C-2), 37.2 (C-3), 33.0 (C-4), 53.8 (C-5), 101.4 (C-6), 171.8 (C-7), 56.1 (C-8), 45.4 (C-9), 49.7 (C-10), 19.7 (C-11), 35.4 (C-12), 35.0 (C-13), 29.3 (C-14), 199.9 (C-15), 150.1 (C-16), 118.0 (C-17), 33.1 (C-18), 23.4 (C-19), 74.0 (C-20)。

2.2 化合物对 HL-60、Bel-7402 和 HO-8910 细胞的抑制活性 结果见表 1。化合物 2、3、5、6、11、13 等 6 种化合物对人白血病细胞 (HL-60) 有很好的细胞毒活性, 半抑制浓度 (half maximal inhibitory concentration, IC_{50}) 分别为 0.26、0.55、0.57、2.07、2.08、8.25 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 化合物 3、13 对人肝癌细胞 (Bel-7402) 有较好的抑制活性, IC_{50} 分别为 1.45 和 3.57 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 且对卵巢癌细胞 (HO-8910) 也有抑制作用。

表 3 化合物对 EC-1、MCF-7、K562、A549 和 U87MG 细胞的抑制活性

Tab.3 Inhibition activity of compounds on EC-1, MCF-7, K562, A549 and U87 cell lines ($\bar{x} \pm s$)

化合物	$\text{IC}_{50}/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$				
	EC-1	MCF-7	K562	A549	U87MG
5-氟尿嘧啶	5.90 ± 0.49	21.08 ± 1.07	108.66 ± 5.76	120.36 ± 3.79	28.41 ± 4.55
4	66.25 ± 3.17	40.78 ± 3.26	9.78 ± 1.78	188.75 ± 6.52	80.79 ± 3.40
8	678.19 ± 39.25	563.90 ± 47.38	238.16 ± 15.07	784.39 ± 25.97	487.25 ± 9.01
9	37.69 ± 3.62	79.62 ± 6.33	197.35 ± 2.10	62.13 ± 39.06	180.09 ± 11.44
10	43.87 ± 3.05	16.85 ± 2.63	5.12 ± 0.46	73.33 ± 5.84	32.19 ± 4.07

3 讨论

本研究对分布于河南的 5 种香茶菜属植物的主要化学成分及部分单体化合物的抗肿瘤活性进行了

表 1 化合物对 HL-60、Bel-7402 和 HO-8910 细胞的抑制活性
Tab.1 Inhibition activity of compounds on HL-60, Bel-7402 and HO-8910 cell lines ($\bar{x} \pm s$)

化合物	$\text{IC}_{50}/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$		
	HL-60	Bel-7402	HO-8910
丝裂霉素	0.56 ± 0.17	1.85 ± 0.53	1.11 ± 0.64
1	11.46 ± 3.29	58.53 ± 2.00	145.44 ± 7.54
2	0.55 ± 0.52	23.69 ± 2.74	48.87 ± 4.50
3	0.26 ± 0.10	1.45 ± 0.25	7.67 ± 0.24
5	2.08 ± 0.51	17.64 ± 0.07	40.76 ± 5.15
6	8.25 ± 0.82	21.59 ± 0.79	41.26 ± 3.76
7	26.44 ± 1.99	39.68 ± 5.64	59.90 ± 1.69
11	2.07 ± 0.32	10.42 ± 3.23	14.02 ± 1.64
13	0.57 ± 0.12	3.57 ± 0.26	4.01 ± 0.67

2.3 化合物对 SMMC-7721 和 HeLa 细胞的抑制活性 结果见表 2。化合物 3、13 不仅对人肝癌细胞 (SMMC-7721) 有较好的抑制作用 (IC_{50} 分别为 1.47、3.57 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 而且对人宫颈癌细胞 (HeLa) 也有一定的抑制作用 (IC_{50} 分别为 7.65 和 4.01 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。

表 2 化合物对 SMMC-7721 和 HeLa 细胞的抑制活性

Tab.2 Inhibition activity of compounds on SMMC-7721 and HeLa cell lines ($\bar{x} \pm s$)

化合物	$\text{IC}_{50}/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	
	SMMC-7721	HeLa
丝裂霉素	1.85 ± 0.53	1.11 ± 0.64
1	58.55 ± 2.06	145.48 ± 7.56
2	23.69 ± 2.74	48.87 ± 4.50
3	1.47 ± 0.28	7.65 ± 0.23
4	19.33 ± 3.14	37.59 ± 2.00
5	17.64 ± 0.07	40.76 ± 5.15
6	21.57 ± 0.76	41.25 ± 3.77
7	39.68 ± 5.64	59.90 ± 1.69
8	289.22 ± 2.23	365.17 ± 13.48
9	313.13 ± 2.64	80.07 ± 6.32
10	26.02 ± 0.54	28.14 ± 1.05
11	25.95 ± 1.43	12.64 ± 2.66
12	39.68 ± 5.64	59.90 ± 1.69
13	3.57 ± 0.26	4.01 ± 0.67

2.4 化合物对 EC-1、MCF-7、K562、A549 和 U87MG 细胞的抑制活性 结果见表 3。化合物 4、10 对人慢性髓原白血病 (K562) 细胞有抑制作用, IC_{50} 分别为 5.12 和 9.78 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 而对其他 4 种细胞抑制作用不明显或无抑制作用。

系统的研究, 结果表明, 分布于河南的香茶菜与我国其他地区的香茶菜化学成分类似, 但具体到不同植物其化合物也有差别, 主要为对映-贝壳杉烷型二萜化合物。除此之外, 还有少量的黄酮、三萜、甾体等

化合物。本研究对香茶菜属植物中分离得到的 13 种对映-贝壳杉烷类二萜化合物对 10 种肿瘤细胞株进行了抑制活性试验,结果表明多种二萜化合物对不同的肿瘤细胞有细胞毒活性,特别是化合物 3、13 对多种肿瘤细胞的增殖均有较好的抑制作用,此结果为寻找来源于天然植物的抗肿瘤前体药物奠定实验基础,可重点进行抗肿瘤作用机制研究。

对映-贝壳杉烷类二萜化合物大多极性较小,水溶性差,生物利用度较低,因此,一些化学和药物研究工作者在原有基础上,进行了一些结构修饰工作。从上述抗肿瘤活性试验结果可以看出,对肿瘤细胞具有较好抑制作用的贝壳杉烷类二萜化合物,在结构上都含有一个 α -亚甲基环戊酮部分。如果对结构其他部位进行修饰改造,一些化合物照样具有抗肿瘤活性,且有的活性还得以提高^[10],但如果使这些化合物 α -亚甲基环戊酮部分的烯键或羰基变为单键,或打断五元环,则细胞毒活性完全丧失。说明从构效关系来讲, α -亚甲基环戊酮为化合物的活性部位,在结构修饰改造中必须保留此结构骨架不变。通过本研究可以发现,贝壳杉烷类二萜化合物在抗癌药物研发中是不容忽视的一类化合物,经过进一步结构修饰改造,增加生物利用度,可能是潜在的抗肿瘤药物。

参考文献:

[1] 周文兰,李水福. 香茶菜类药的研发[J]. 中国药业,2010,19(6):58-59.

[2] 梁会娟,刘伟,周楠茜,等. 蓝萼香茶菜化学成分与生物活性研究[J]. 新乡医学院学报,2014,31(3):161-165.

[3] 陆玲娜,冯丽倩,吕亚萍,等. 大萼香茶菜甲素 A 通过抑制蛋白酶体诱导多发性骨髓瘤细胞株 U266 凋亡[J]. 中国实验血液学杂志,2013,21(6):1486-1491.

[4] 张积霞,陈正跃,王永学,等. 大叶香茶菜化学成分研究[J]. 新乡医学院学报,2006,23(1):16-18.

[5] SUN H D,HUANG S X,HAN Q B. Diterpenoids from *Isodon* species and their biological activities [J]. *Nat Prod Rep*,2006,23(5):673-698.

[6] LIU H M,YAN X B,KIUCHI F,*et al.* A new diterpeneglycoside from *Rabdosiarubescens*[J]. *Chem Phar Bull*,2000,48(1):148-149.

[7] 左海军,李丹,吴斌,等. 冬凌草的化学成分及其抗肿瘤活性[J]. 沈阳药科大学学报,2005,22(4):258-262.

[8] 刘淑云,谭英姿,范明松,等. 冬凌草甲素研究进展[J]. 中国当代医药,2012,19(13):17-20.

[9] SKEHAN P,STORENG R,SCUDIERO D,*et al.* New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening[J]. *J Natl Cancer Inst*,1990,82(13):1107-1112.

[10] 刘洪川,金永生,陈海生. 冬凌草甲素的结构修饰研究进展[J]. 药学实践杂志,2016,34(2):114-115,134.

(本文编辑:徐刚珍 英文编辑:孟 月)

(上接第 1021 页)

[2] 赵显国,王峥涛,马继元,等. 中药山紫苑类研究[J]. 中草药,1999,30(1):35-36.

[3] 张达治,余国奠,张勉,等. 橐吾属植物药用研究概况[J]. 中国野生植物资源,2003,22(2):4-6.

[4] 韩江伟,杨夏,周燕,等. 橐吾属植物化学成分及药理作用研究进展[J]. 蒙医药论坛,2010,32(2):214-218.

[5] PRICE P,MCMILLAN T J. Use of the tetrazolium assay in measuring the response of human tumor cells to ionizing radiation[J]. *Cancer Res*,1990,50(5):1392-1397.

[6] ACLINOU P,BENKOUIDER A,MASSIOT G,*et al.* Eremophilanolides from *hertia cheirifolia* [J]. *Phytochemistry*,1991,30(6):2083-2084.

[7] XUE H Q,MA X M,XING X L,*et al.* Eremophilane sesquiterpene

lactones from *Ligularia intermedia* nakai of Shanxi[J]. *Chem Nat Comp*,2007,43(6):746-748.

[8] ZHAO Y,JIA Z J,PENG H R,*et al.* Eight new eremophilane derivatives from the roots of *Ligularia Przewalskii*[J]. *J Nat Prod*,1995,58(9):1358-1364.

[9] 李俊平,王彩芳,刘婷,等. 河南蹄叶橐吾根的化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发,2011,23(6):1014-1016.

[10] 王岩,许文林. 豆甾醇、 β -谷甾醇及其酯化产物的分析测定[D]. 扬州:扬州大学,2007.

[11] 任茜茜,周慧超,贺爽,等. 蓝萼香茶菜化学成分及抗肿瘤活性研究[J]. 新乡医学院学报,2016,33(4):261-266.

[12] 王淑英,岳永德. 牡竹属竹叶化学成分研究[D]. 北京:中国林业科学研究院,2013.

(本文编辑:徐刚珍 英文编辑:孟 月)