

忧遁草枝叶的化学成分及体外抗肿瘤活性研究^Δ

黄茂莘^{1*}, 蔡杨靖¹, 刘寿柏², 蔡彩虹², 王 军², 王 炜¹, 陈 玲¹, 韩鹏定¹, 曾艳波^{2#} (1. 海南省农垦总医院药学部, 海口 570311; 2. 中国热带农业科学院热带生物技术研究所/海南省黎药资源天然产物研究与利用重点实验室, 海口 571101)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)07-0895-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.07.09

摘 要 目的: 研究忧遁草枝叶的化学成分, 并初步考察其体外抗肿瘤活性。方法: 采用多种柱色谱技术对忧遁草 95% 乙醇提取物的乙酸乙酯、正丁醇部位进行分离、纯化, 根据理化性质和波谱数据分析、鉴定化合物结构。采用 MTT 法测定鉴定出的化合物对人肝癌 BEL-7402 细胞、人胃癌 SGC-7901 细胞和人慢性髓原白血病 K562 细胞的体外抑制活性。结果: 从忧遁草枝叶中分离鉴定出 8 个化合物, 分别为羽扇豆醇(1)、对香豆酸甲酯(2)、1-*O*-acyl-3-*O*-(β -*D*-galactopyranosyl)-sn-glycerol(3)、(6*R*, 10*R*)-6, 10, 14-trimethyl-2-pentadecanone(4)、邻苯二甲酸二(2-乙基-己基)酯(5)、 α -*D*-甲基半乳糖苷(6)、 β -*D*-甲基葡萄糖苷(7)、9-hydroxy-megastigma-4, 7-dien-3-one-9-*O*- β -*D*-glucopyranoside(8); 化合物 1 对人肝癌 BEL-7402 细胞具有弱的生长抑制作用(半数抑制浓度为 42.5 μ mol/L), 尚未发现其他 7 种化合物对上述 3 种肿瘤细胞有抑制作用。结论: 化合物 2~8 为首次从忧遁草枝叶中分离得到, 羽扇豆醇具有弱的抗人肝癌 BEL-7402 细胞的活性, 该研究为忧遁草的质量评价奠定了一定的基础。

关键词 忧遁草; 枝叶; 化学成分; 鉴定; 抗肿瘤; 体外

拓展, 取得了较为满意的临床效果。

本研究结果表明, 将红梔骨科洗剂的剂型改为凝胶膏后对家兔皮肤无明显刺激性, 安全性较好; 而由 NP-800、甘羟铝、甘油、酒石酸、EDTA-Na、聚维酮 K90 等辅料制成的空白基质对家兔皮肤也无明显刺激性, 可见无论含药凝胶膏还是空白基质均较安全可靠, 这也充分证实了这一剂型的可行性。但是, 红梔骨通凝胶膏剂应用于临床的安全性如何有待进一步研究证实。此外, 凝胶膏剂安全性的评价主要包括感官评测和仪器评测。感官评测有一定的现实运用意义, 且简单易行, 但由于影响因素较多, 客观性不强, 且个体差异较大, 容易造成结果判断有误。因此, 开发和使用仪器对中药凝胶膏剂进行更客观的评价是下一步工作的重点。

2015 年版《中国药典》(四部)对凝胶膏剂的其他质量标准作出了规定, 其检查项包括外观、含膏量、赋形性、黏附性和微生物限度。本课题组前期对这些指标均进行了检测, 发现红梔骨通凝胶膏均符合 2015 年版《中国药典》(四部)要求, 但这些检查项目尚有不足, 并不完善, 增加凝胶膏剂刺激性评价有利于凝胶膏剂质量的提高。然而 2015 年版《中国药典》(四部)对凝胶膏剂的综合评价仍不够详细, 如对实验仪器和影响因素等未作出详细说明, 某些指标也无具体限度的规定, 尚无科学合理的标准可循, 测得结果重复性差且没有可比性。因此, 建立完整的综合测评方法、设置科学的评分指标、制

定完善的质量评价标准对凝胶膏剂的发展有着十分重要的意义。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[S]. 2015 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 22.

[2] 崔玮. 壳聚糖/聚乙烯醇复合水凝胶的制备及药物释放研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2008: 25.

[3] 广东省卫生厅. 中医院制剂标准[M]. 广州: 广东人民出版社, 2011: 123.

[4] 彭伟文, 王珠强, 吴飞. 相关药物巴布剂的药效学及毒理学研究近况[J]. 中国药房, 2016, 27(19): 2711-2714.

[5] 国家食品药品监督管理局. 中药、天然药物刺激性和溶血性研究技术指导原则[S]. 北京: 军事医学科学出版社, 2005: 2.

[6] 杨基森. 巴布剂[M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2005: 247.

[7] 林静, 胡程萍, 刘杰书, 等. 地木耳乳膏皮肤安全性实验研究[J]. 湖北民族学院学报(医学版), 2016, 33(1): 53-55.

[8] 单珍珠, 周留勇, 尤建良, 等. 复脉膏外敷的安全性及对兔耳缘化疗性静脉炎的影响[J]. 河北中医, 2015, 37(10): 1515-1518.

[9] 刘元瑞, 葛海生, 赵康虎, 等. 克癣净乳膏外用安全性评价实验研究[J]. 武警后勤学院学报(医学版), 2014(7): 589-591.

[10] 陈小平, 王志旺, 刘彩民, 等. 荣骨定痛膏皮肤刺激性与皮肤过敏性实验研究[J]. 甘肃中医学院学报, 2015(3): 7-9.

[11] 刘聪敏, 白洁, 杜守颖, 等. 止痛凝胶膏剂的制备及体外释放考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(15): 5-9.

[12] 张成桂, 何苗, 巫秀美, 等. 国内凝胶膏剂的专利分析[J]. 大理学院学报, 2012, 11(9): 11-15.

^Δ 基金项目: 海南省卫生和计划生育委员会 2014 年度普通医学科研项目(No.14A210221)

* 副主任药师。研究方向: 医院药学。电话: 0898-66808275。E-mail: wnhuangmx@163.com

通信作者: 副研究员, 博士。研究方向: 天然产物化学。电话: 0898-66968571。E-mail: zengyanbo@itbb.org.cn

(收稿日期: 2016-07-22 修回日期: 2017-01-06)
(编辑: 刘明伟)

Study on the Chemical Constituents of *Clinacanthus nutans* Branches and Leaves and Its Anti-tumor Activity *in vitro*

HUANG Maoxin¹, CAI Yangjing¹, LIU Shoubai², CAI Caihong², WANG Jun², WANG Wei¹, CHEN Ling¹, HAN Pengding¹, ZENG Yanbo² (1. Dept. of Pharmacy, Hainan Nongken General Hospital, Haikou 570311, China; 2. Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences/Hainan Key Laboratory for Research and Development of Natural Products from Li Folk Medicine, Haikou 571101, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the chemical constituents of *Clinacanthus nutans* branches and leaves and its anti-tumor activity *in vitro*. METHODS: Varied chromatographic techniques were conducted to separate and purify the ethyl acetate and butanol parts of 95% ethanol extracts of *C. nutans*, the chemical structures were analyzed and identified according to physicochemical property and spectral data. MTT method was used to determine the inhibitory activity of identified compounds on human liver cancer BEL-7402 cell lines, gastric cancer SGC-7901 cell lines and chronic myelogenous leukemia K562 cell lines *in vitro*. RESULTS: Eight compounds isolated from *C. nutans* branches and leaves were identified as lupeol (1), methyl *p*-coumarate (2), 1-*O*-acyl-3-*O*-(β -*D*-galactopyranosyl)-sn-glycerol (3), (6*R*, 10*R*)-6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone (4), 1,2-benzenedicarboxylic acid bis(2-ethylhexyl) ester (5), methyl α -*D*-galactopyranoside (6), methyl β -*D*-glucopyranoside (7), 9-hydroxy-megastigma-4,7-dien-3-one-9-*O*- β -*D*-glucopyranoside (8). Compound 1 had weak growth inhibition effect on human liver cancer BEL-7402 cell (half inhibitory concentration was 42.5 μ mol/L), the other 7 compounds had not been found to inhibit the above 3 tumor cell lines. CONCLUSIONS: Compounds 2-8 are all isolated from *C. nutans* branches and leaves for the first time, while lupeol has weak growth inhibition effect on human liver cancer BEL-7402 cell. The study has laid the foundation for the quality evaluation of *C. nutans*.

KEYWORDS *Clinacanthus nutans*; Braches and leaves; Chemical constituents; Identification; Anti-tumor; *in vitro*

忧遁草 [*Clinacanthus nutans* (Burm.f.) Lindau] 是爵床科鳄嘴花属植物, 别名鳄嘴花、扭序花、竹节黄、小接骨、沙巴蛇草、柔刺草等, 广泛分布于华南热带至中南半岛、马来半岛、爪哇和加里曼丹^[1]。在祖国传统医学中, 忧遁草全株入药, 具有调经、消肿、祛瘀、止痛、接骨之功效^[2], 但是忧遁草的药用价值一直未受到重视。近年来有报道称忧遁草可用于末期淋巴瘤的治疗, 其药用价值由此受到医药学科工作者的关注, 进而业界对其展开了一系列的研究^[3]。为充分挖掘海南产忧遁草资源的药用价值, 合理利用该植物资源, 本研究拟对海南产忧遁草枝叶95%乙醇提取物的乙酸乙酯、正丁醇萃取部位的化学成分进行研究, 并初步考察其体外抗肿瘤活性, 以为寻找新的生物活性成分提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

Brucker AV-500 型超导核磁共振仪、Autospec-3000 型质谱仪 (德国布鲁克公司); ELX-800 型酶标仪 (美国宝特公司); IMF-2 型倒置显微镜 (日本奥林巴斯公司)。

1.2 试剂与色谱材料

GF254 高效薄层板和柱层析用硅胶 (200~300、60~80 目) 均购自青岛海洋化工厂; 羟丙基葡聚糖凝胶 (Sephadex LH-20) 和反相 C₁₈ 柱 (美国 Merck 公司); 三菱凝胶吸附树脂 (MCI GEL CHP20P, 日本三菱化学公司); 二甲基亚砜 (DMSO, 广东西陇化工股份有限公司); MTT 和 RMPI 1640 培养基 (美国 Sigma 公司); 小牛血清 (美国 HyClone 公司); MEM 培养基和磷酸盐缓冲溶液 (PBS, 北京欣经科生物技术有限公司); 所有试剂均为分

析纯。

1.3 药材

忧遁草枝叶于 2015 年 10 月采自海南省五指山市, 由中国热带农业科学院热带生物技术研究所代正福研究员鉴定为爵床科鳄嘴花属植物忧遁草 [*Clinacanthus nutans* (Burm.f.) Lindau] 的枝叶。

1.4 细胞

人肝癌 BEL-7402 细胞、人胃癌 SGC-7901 细胞和人慢性髓原白血病 K562 细胞均购于中国科学院上海生命科学研究院细胞库。

2 方法与结果

2.1 提取与分离

称取忧遁草新鲜枝叶 3.0 kg, 切碎, 室温下用 95% 乙醇冷浸提取 3 次, 每次 7 d; 过滤, 合并 3 次滤液后经真空减压浓缩得粗浸膏, 将其分散于水中成悬浊液; 依次用乙酸乙酯、正丁醇萃取, 分别得乙酸乙酯萃取物 22.8 g、正丁醇萃取物 10.6 g。乙酸乙酯萃取物经 MCI 柱, 以 30%~100% 甲醇-水梯度洗脱, 分段收集得到 11 个流分 (Fr.1~Fr.11); 然后 Fr.1 (631.0 mg) 经 Sephadex LH-20 柱 [氯仿-甲醇 (1:1), *V/V*, 下同], 得到 Fr.1A、Fr.1B; Fr.1A (33.5 mg) 经硅胶色谱柱 [氯仿-甲醇 (4:1)], 得到化合物 6 (4.7 mg); Fr.3 (480.0 mg) 经 Sephadex LH-20 柱 (甲醇), 得到 Fr.3A~Fr.3C; Fr.3C (71.0 mg) 通过硅胶色谱柱 [石油醚-乙酸乙酯 (15:1)], 得到化合物 2 (9.4 mg); Fr.10 (7.9 g) 经 Sephadex LH-20 柱 (甲醇), 得到 Fr.10A~Fr.10D; Fr.10D (1.08 g) 再经 Sephadex LH-20 柱 [氯仿-甲醇 (1:1)], 得到 Fr.10D1~Fr.10D3; Fr.10D1 经硅胶柱色

谱[石油醚-氯仿(10:1)],得到化合物4(8.0 mg)和Fr.10D1A~Fr.10D1D;Fr.10D1C(26.0 mg)经硅胶色谱柱,得到化合物5(6.7 mg);Fr.10D1B(1.2 g)经硅胶色谱柱分离纯化得到化合物1(3.2 mg)和化合物3(1.7 mg)。正丁醇萃取物(10.6 g)经上述色谱技术分离得到化合物7(7.2 mg)和化合物8(2.1 mg)。

2.2 结构鉴定

化合物1:白色粉末,熔点(mp)为215~216℃,分子式为 $C_{30}H_{50}O$;ESI-MS m/z : 449 $[M+Na]^+$; 1H -NMR($CDCl_3$, 500 MHz) δ : 4.68(1H, s, H-29), 4.56(1H, s, H-29), 3.18(1H, dd, $J=11.4, 4.9$ Hz, H-3), 2.37(1H, td, $J=11.1, 5.8$ Hz, H-19), 1.91(1H, m, H-21), 1.68(3H, s, H-30), 1.03(3H, s, H-26), 0.96(3H, s, H-23), 0.94(3H, s, H-27), 0.82(3H, s, H-25), 0.78(3H, s, H-28), 0.76(3H, s, H-24); ^{13}C -NMR($CDCl_3$, 125 MHz) δ : 38.8(C-1), 27.6(C-2), 79.1(C-3), 39.0(C-4), 55.4(C-5), 18.5(C-6), 34.4(C-7), 41.0(C-8), 50.6(C-9), 37.3(C-10), 21.1(C-11), 25.3(C-12), 38.2(C-13), 43.0(C-14), 27.6(C-15), 35.7(C-16), 43.1(C-17), 48.4(C-18), 48.1(C-19), 151.1(C-20), 30.0(C-21), 40.1(C-22), 28.1(C-23), 15.5(C-24), 16.3(C-25), 16.1(C-26), 14.7(C-27), 18.2(C-28), 109.5(C-29), 19.5(C-30)。以上波谱数据与文献[4]报道基本一致,故可鉴定化合物1为羽扇豆醇。

化合物2:白色粉末,mp为216~220℃,分子式为 $C_{10}H_{10}O_3$;ESI-MS m/z : 201 $[M+Na]^+$; 1H -NMR($CDCl_3$, 500 MHz) δ : 7.60(2H, d, $J=8.6$ Hz, H-2, 6), 6.88(1H, d, $J=12.7$ Hz, H-7), 6.80(2H, d, $J=8.6$ Hz, H-3, 5), 5.83(1H, d, $J=12.7$ Hz, H-8), 3.74(3H, s, OCH_3); ^{13}C -NMR($CDCl_3$, 125 MHz) δ : 127.2(C-1), 115.3(C-2), 130.2(C-3), 157.2(C-4), 130.2(C-5), 115.3(C-6), 167.6(C-7), 116.4(C-8), 144.4(C-9), 51.6($-OCH_3$)。以上波谱数据与文献[5]报道基本一致,故可鉴定化合物2为对香豆酸甲酯。

化合物3:白色粉末,分子式为 $C_{25}H_{46}O_9$;ESI-MS m/z : 515 $[M+Na]^+$; 1H -NMR(CD_3OD , 500 MHz) δ : 4.17(1H, d, $J=7.5$ Hz, H-3), 4.08(2H, dd, $J=11.5, 6.5$ Hz, H-1), 3.94(1H, m, H-2), 3.70(2H, dd, $J=11.0, 5.0$ Hz, H-3), 1.25(24H, brs, H-4'~H-15'), 1.57(2H, m, H-3'), 2.30(2H, t, $J=7.5$ Hz, H-2'), 0.85(3H, t, $J=7.0$ Hz, H-16'); ^{13}C -NMR(CD_3OD , 125 MHz) δ : 66.6(C-1), 70.3(C-2), 71.9(C-3), 175.5(C-1'), 34.9(C-2'), 26.0(C-3'), 30.0~30.8(C-4'~C-13'), 33.0(C-14'), 23.7(C-15'), 14.4(C-16'), 105.3(C-1''), 72.6(C-2''), 74.8(C-3''), 69.6(C-4''), 76.7(C-5''), 62.5(C-6'')。以上波谱数据与文献[6]报道基本一致,故可鉴定化合物3为1-*O*-acyl-3-*O*-(β -*D*-galactopyranosyl)-sn-glycerol。

化合物4:无色油状物,分子式为 $C_{18}H_{36}O$;ESI-MS m/z : 291 $[M+Na]^+$; 1H -NMR(500 MHz, $CDCl_3$) δ : 2.40

(2H, m), 2.13(3H, s, H-1), 0.86(6H, d, $J=6.5$ Hz, H-15, 18), 0.85(3H, d, $J=6.6$ Hz), 0.83(3H, d, $J=6.8$ Hz), 1.60~1.00(19H, m); ^{13}C -NMR(125 MHz, $CDCl_3$) δ : 30.0(C-1), 209.7(C-2), 44.3(C-3), 21.6(C-4), 36.6(C-5), 32.8(C-6), 37.4(C-7), 24.6(C-8), 37.4(C-9), 32.9(C-10), 37.5(C-11), 24.9(C-12), 39.5(C-13), 28.1(C-14), 22.8(C-15), 19.7(C-16), 19.9(C-17), 22.7(C-18)。以上波谱数据与文献[7]报道基本一致,故可鉴定化合物4为(6*R*, 10*R*)-6, 10, 14-trimethyl-2-pentadecanone。

化合物5:无色油状物,分子式为 $C_{24}H_{38}O_4$;ESI-MS m/z : 413 $[M+Na]^+$; 1H -NMR($CDCl_3$, 500 MHz) δ : 7.71(2H, dd, $J=3.5, 5.6$ Hz, H-3, 6), 7.53(2H, dd, $J=3.5, 5.6$ Hz, H-4, 5), 4.22(2H, t, $J=6.0$ Hz, H-1'), 1.68(2H, m, H-2'), 1.42(2H, m, H-1''), 1.36(2H, m, H-3'), 1.32(2H, m, H-4'), 1.30(2H, m, H-5'), 0.92(3H, t, $J=7.4$ Hz, H-2''), 0.89(3H, t, $J=7.3$ Hz, H-6'); ^{13}C -NMR(125 MHz, $CDCl_3$) δ : 167.9(C-1, 8), 132.6(C-2, 7), 128.9(C-3, 6), 131.0(C-4, 5), 68.3(C-1'), 38.9(C-2'), 30.5(C-3'), 29.1(C-4'), 23.1(C-5'), 14.2(C-6'), 23.9(C-1''), 11.1(C-2'')。以上波谱数据与文献[8]报道基本一致,故可鉴定化合物5为邻苯二甲酸二-(2-乙基-己基)酯。

化合物6:白色固体,分子式为 $C_7H_{14}O_6$;ESI-MS m/z : 217 $[M+Na]^+$; 1H -NMR(CD_3OD , 500 MHz) δ : 4.69(1H, d, $J=3.7$ Hz, H-1), 3.86(1H, d, $J=2.5$ Hz, H-2a), 3.69(1H, m, H-2b), 3.64~3.72(4H, m), 3.31(3H, s, $-OCH_3$); ^{13}C -NMR(125 MHz, $CDCl_3$) δ : 101.5(C-1), 72.3(C-2), 71.5(C-3), 71.0(C-4), 70.2(C-5), 62.8(C-6), 55.6($-OCH_3$)。以上波谱数据与文献[9]报道基本一致,故可鉴定化合物6为 α -*D*-甲基半乳糖苷。

化合物7:白色固体,分子式为 $C_7H_{14}O_6$;ESI-MS m/z : 217 $[M+Na]^+$; 1H -NMR(CD_3OD , 500 MHz) δ : 4.15(1H, d, $J=7.8$ Hz, H-1), 3.85(1H, dd, $J=11.9, 1.4$ Hz, H-6a), 3.66(1H, dd, $J=11.9, 5.3$ Hz, H-6b), 3.51(3H, s, $-OCH_3$), 3.33(1H, t, $J=9.0$ Hz, H-3), 3.30(1H, m, H-4), 3.30(1H, m, H-5), 3.14(1H, dd, $J=7.9, 9.0$ Hz, H-2); ^{13}C -NMR(125 MHz, $CDCl_3$) δ : 105.4(C-1), 75.0(C-2), 78.0(C-3), 71.6(C-4), 77.9(C-5), 62.7(C-6), 57.3($-OCH_3$)。以上波谱数据与文献[10]报道基本一致,故可鉴定化合物7为 β -*D*-甲基葡萄糖苷。

化合物8:白色胶状物,分子式为 $C_{19}H_{30}O_7$;ESI-MS m/z : 393 $[M+Na]^+$; 1H -NMR(500 MHz, CD_3OD) δ : 5.91(1H, s, H-4), 5.77(1H, dd, $J=15.4, 9.3$ Hz, H-7), 5.61(1H, dd, $J=15.4, 7.5$ Hz, H-8), 4.50(1H, m, H-9), 4.31(1H, d, $J=7.8$ Hz, H-1'), 3.87(1H, dd, $J=11.9, 2.2$ Hz, H-6' α), 3.65(1H, dd, $J=11.9, 6.2$ Hz, H-6' β), 3.30~3.15(4H, m, H-2'~5'), 2.72(1H, d, $J=9.2$ Hz, H-6),

2.50(1H, d, $J=16.9$ Hz, H-2), 2.08(1H, d, $J=16.9$ Hz, H-2), 2.00(3H, s, H-13), 1.31(3H, d, $J=6.4$ Hz, H-10), 1.05(3H, s, H-11), 1.01(3H, s, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 202.1(C-3), 165.8(C-5), 137.0(C-8), 131.2(C-7), 126.2(C-4), 101.2(C-1'), 78.4(C-3'), 78.2(C-5'), 75.0(C-2'), 74.8(C-9), 71.7(C-4'), 62.8(C-6'), 56.9(C-6), 37.2(C-1), 28.0(C-12), 27.4(C-11), 23.9(C-13), 22.2(C-10)。以上数据与文献[11]报道基本一致,故可鉴定化合物8为 9-hydroxy-megastigma-4, 7-dien-3-one-9- O - β -D-glucopyranoside。

2.3 抗肿瘤活性考察

采用MTT法^[12]进行测定。将肿瘤细胞分别培养于含有10%小牛血清的RPMI 1640完全培养基中,于含5% CO_2 、湿度 $>90\%$ 、 37°C 恒温箱中培养,贴壁细胞用0.25%的胰酶消化。同时,设置阴性对照组(溶剂DMSO)、阳性对照组(紫杉醇)和6个质量浓度的待测样品组(0.003 125、0.006 25、0.012 5、0.025、0.05、0.1 $\mu\text{g/mL}$, 化合物1~8),各3份。选取对数生长期的细胞,用RPMI 1640完全培养基制成单细胞悬浮液,用血球计数板计数,调整细胞密度为50 000个/ mL ,接种90 μL 于96孔平底细胞培养板中,置于含5% CO_2 、湿度 $>90\%$ 、 37°C 恒温箱中培养。在K562细胞中直接加入待测样品10 μL , BEL-7402和SGC-7901细胞培养24 h后加入待测样品10 μL ,继续培养72 h后取出,置于倒置显微镜下观察每孔细胞的生长形态。然后每孔加入5 mg/mL 的MTT溶液(溶于PBS)15 μL , 37°C 反应4 h后,吸去上清液,再向各孔加入100 μL DMSO,充分溶解。将96孔平底细胞培养板置于酶标仪上,于490 nm波长处测量各孔的光密度,计算生长抑制率[生长抑制率($\%$)=(1-给药组光密度平均值/阴性对照组光密度平均值) $\times 100\%$]。以待测样品质量浓度(x , $\mu\text{g/mL}$)为横坐标、细胞生长抑制率(y , $\%$)为纵坐标,利用Origin 8.0软件拟合抑制率曲线图,抑制率为50%时的样品浓度,即为细胞毒活性的半数抑制浓度(IC_{50})值。活性测试结果表明,化合物1对人肝癌BEL-7402细胞有弱的生长抑制活性,其 IC_{50} 值为42.5 $\mu\text{mol/L}$ (阳性对照组为5.72 $\mu\text{mol/L}$),其余7种化合物对3种细胞均未见抑制作用。

3 讨论

目前,忧遁草中已报道的化合物结构类型丰富,包括三萜类^[13]、甾醇类^[13]、黄酮碳苷^[14]、含硫糖苷类^[15]等,这些化学成分大部分已被现代药理实验研究证实具有抗肿瘤作用^[16-17]。本研究利用多种柱色谱技术,从海南产忧遁草乙醇提取物的乙酸乙酯萃取部位分离得到6个化合物、正丁醇萃取部位分离得到2个化合物,其中化合物2~8为首次从该植物中分离得到。体外抗肿瘤活性试验结果表明,化合物1对人肝癌BEL-7402细胞有弱的生长抑制活性,其他化合物对除上述3种之外的肿瘤细胞有无抑制作用有待进一步研究证实。本研究丰富了忧

遁草化学成分的多样性,为忧遁草的质量评价奠定了一定的基础。

参考文献

- [1] 中国植物志编委会.中国植物志:第70卷[M].北京:科学出版社,2002:252-252.
- [2] 广东植物研究所.海南植物志:第3卷[M].北京:科学出版社,1974:566-566.
- [3] 王贤儿,钟希文,张文霞,等.基于忧遁草化学成分研究分析其抗肿瘤作用[J].中国药房,2013,24(43):4104-4107.
- [4] 罗永明,刘爱华,余邦伟,等.中药草珊瑚的化学成分研究[J].中国药理学杂志,2005,40(17):1296-1298.
- [5] 屠鹏飞,吴卫中,郑俊华.太白米的酚酸类成分研究[J].药学学报,1999,34(1):39-42.
- [6] Gerasimenko NI, Logvinov SV, Busarova NG, et al. Structure and biological activity of several classes of compounds from the brown alga *sargassum pallidum*[J]. *Chemistry of Natural Compounds*, 2013, 49(5): 927-929.
- [7] 高原,杨婉秋,王飞,等.化感植物向日葵叶化学成分的研究[J].西北植物学报,2007,27(3):532-536.
- [8] 王元国,崔承彬,韩冰,等.光叶合欢中生物碱类和邻苯二甲酸二酯类抗癌活性成分[J].中国药物化学杂志,2005,15(2):65-69.
- [9] 关放,王军宪,杨云.美观马先蒿化学成分的研究[J].中药材,2004,27(12):920-921.
- [10] Speranza G, Manitto P, Monti D, et al. Studies on aloe, Part 10. Feroxins A and B, two O-glucosylated 1-methyltertrals from cape aloe[J]. *J Nat Prod*, 1992, 55(6): 723-729.
- [11] 肖世基,郭大乐,何达海,等.猕猴桃藤山柳化学成分研究[J].中草药,2016,47(3):383-387.
- [12] Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays[J]. *J Immunol M*, 1983, 65(1/2): 55-63.
- [13] 易博,徐文彤,邓盾,等.鳄嘴花叶氨基酸和微量元素分析及其化学成分研究[J].解放军药理学学报,2012,28(5): 396-399.
- [14] Teshima KI, Kaneko T, Ohtani K, et al. C-Glycosyl flavones from *Clinacanthus nutans*[J]. *Nat Med*, 1997, 51(6):557-557.
- [15] Teshima KI, Kaneko T, Ohtani K, et al. Sulfur-containing glucosides from *Clinacanthus nutans*[J]. *Phytochemistry*, 1998, 48(5):831-835.
- [16] 张琳,张有成.三萜类化合物羽扇豆醇的抗肿瘤作用[J].国际肿瘤学杂志,2012,39(2):113-116.
- [17] Pacifico S, Scognamiglio M, D'Abrosca B, et al. Spectroscopic characterization and antiproliferative activity on HepG2 human hepatoblastoma cells of flavonoid C-glycosides from *Petrorhagia velutina*[J]. *J Nat Prod*, 2010, 73(12):1973-1978.

(收稿日期:2016-11-16 修回日期:2017-01-10)

(编辑:刘明伟)