

DOI:10.3724/SP.J.1008.2011.00749

中药猫人参中的抗肿瘤活性成分

徐一新^{1,2}, 项昭保³, 陈晓晶², 陈海生^{1*}

1. 第二军医大学药学院天然药物化学教研室, 上海 200433

2. 上海健康职业技术学院生物医药系, 上海 200237

3. 重庆邮电大学生物信息学院, 重庆 400065

[摘要] **目的** 对中药猫人参(镊合猕猴桃 *Actinidia valvata* Dunn, 根)中的抗肿瘤活性成分进行研究。**方法** 运用多种色谱分离方法进行分离纯化, 通过¹HNMR、¹³CNMR、MS等波谱技术确定化合物的结构, 并采用MTT法测试了部分单体化合物的体外细胞毒活性。**结果** 分离并鉴定了11个化合物, 其中10个为三萜类化合物: 2 α , 3 α , 24-三羟基乌苏烷-12-烯-28-酸(1), 积雪草酸(2), 科罗索酸(3), 2 α , 3 α , 23, 24-四羟基乌苏烷-12-烯-28-酸(4), 2 α , 3 α , 24-三羟基乌苏烷-11-烯-13 β , 28-内酯(5), 2 α , 3 α , 24-三羟基齐墩果烷-12-烯-28-酸(6), 2 α , 3 α , 19 α , 24-四羟基乌苏烷-12-烯-28-酸(7), 2 α , 3 α , 24-三羟基乌苏烷-12, 20(30)-二烯-28-酸(8), 2 α , 3 β , 24-三羟基乌苏烷-12-烯-28-酸(9), 齐墩果酸(10); 1个植物甾醇: β -谷甾醇(11)。采用MTT法测试了化合物1、2、3、4、7对A549(人肺癌细胞)、LOVO(人结肠癌细胞)、HepG2(人肝癌细胞)等3种人肿瘤细胞株的体外细胞毒活性。**结论** 化合物3~8为首次从该植物中分离得到, 其中2、3对LOVO和HepG2细胞株有一定的抗肿瘤活性, 且随着单体化合物极性的增大, 细胞毒活性下降。

[关键词] 猕猴桃科; 猫人参; 镊合猕猴桃; 化学成分; 抗肿瘤药

[中图分类号] R 286.91 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2011)07-0749-05

Anti-tumor constituents from the roots of *Actinidia valvata*

XU Yi-xin^{1,2}, XIANG Zhao-bao³, CHEN Xiao-jing², CHEN Hai-sheng^{1*}

1. Department of Natural Medicinal, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

2. Department of Biomedicine and Drugs, Shanghai Health Vocational & Technical College, Shanghai 200237, China

3. College of Bio-information, Chongqing University of Posts and Telecommunications, Chongqing 400065, China

[Abstract] **Objective** To study the anti-tumor constituents from the roots of *Actinidia valvata* Dunn.. **Methods** Column chromatographic techniques were used to isolate and purify the chemical constituents of the plant and their structures were elucidated by spectroscopic analysis, including ¹HNMR, ¹³CNMR and MS. The cytotoxic activities of some individual compounds were examined by MTT assay. **Results** Ten triterpenoids; 2 α , 3 α , 24-trihydroxyurs-12-en-28-oic acid(1), asiatic acid(2), corosolic acid(3), 2 α , 3 α , 23, 24-tetrahydroxyurs-12-en-28-oic acid(4), 2 α , 3 α , 13 β , 24-tetrahydroxyurs-11-en-28-oic acid-13-lactone(5), 2 α , 3 α , 24-trihydroxyolean-12-en-28-oic acid(6), 2 α , 3 α , 19 α , 24-tetrahydroxyurs-12-en-28-oic acid(7), 2 α , 3 α , 24-trihydroxyurs-12, 20(30)-dien-28-oic acid(8), 2 α , 3 β , 24-trihydroxyurs-12-en-28-oic acid(9), and oleanolic acid(10), and one plant sterol β -sitosterol(11) were isolated from the CHCl₃ fraction of the roots of *Actinidia valvata* Dunn.. The cytotoxic activities of five compounds (1, 2, 3, 4, and 7) against A549, LOVO and HepG2 cell lines were evaluated. **Conclusion** Compounds 3-8 are isolated from this plant for the first time. Compounds 2 and 3 possess cytotoxic activity against LOVO and HepG2 cell lines, and the cytotoxic activity decreases with the increase of polarity of individual compound.

[Key words] Actinidiaceae; *Actinidia valvata*; *Actinidia valvata* Dunn.; chemical compounds; antineoplastic agents

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2011, 32(7): 749-753]

猫人参为镊合猕猴桃 *Actinidia valvata* Dunn. 的根, 系浙江民间常用草药^[1-2]。具有清热解毒、消肿疔的功效。主要用于治疗骨髓炎、疮疡脓肿、肝硬

化黄疸腹水、消化系统肿瘤等。根据浙江省肿瘤医院报道, 猫人参连续数年位居抗肿瘤配方中的前十名^[3]。为寻找抗肿瘤活性成分, 并为中药标准化提

[收稿日期] 2011-03-30

[接受日期] 2011-05-12

[基金项目] 上海市卫生局科研课题(2008051)。Supported by Research Project of Shanghai Municipal Health Bureau(2008051)。

[作者简介] 徐一新, 博士生。E-mail: xuyixin1968@163.com

* 通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-81871250, E-mail: haishengc@hotmail.com

供科学依据,本课题组对镊合猕猴桃根的化学成分进行了研究,分离并鉴定了11个单体化合物,其中化合物**3**~**8**为首次从该植物中分离得到,并采用MTT法测试了单体化合物**1**、**2**、**3**、**4**、**7**对A549(人肺癌细胞)、LOVO(人结肠癌细胞)、HepG2(人肝癌细胞)等3种人肿瘤细胞株的体外细胞毒活性。

1 仪器、试剂和药材

RY-2型熔点测定仪(温度未校正);Bruker DRX-600型和Bruker AV-400型核磁共振仪;AutospecPremier型和Q-T of micro spectrometer(Micromass, U. K.)型质谱仪;WellscanMK-2型全自动酶标仪(Labsystems生产);岛津LC-10AT液相色谱仪;SymmetryPrep RP-C₁₈制备色谱柱(7 μm, 7.8 mm×150 mm, Waters Co.);薄层色谱硅胶及柱色谱硅胶为青岛海洋化工厂生产;Sephadex LH-20为GE Healthcare Bio-Sciences AB(Sweden)公司产品;色谱溶剂系统为石油醚/乙酸乙酯(不同比例)、氯仿/甲醇(不同比例)、甲醇/水(不同比例),均为分析纯或色谱纯;提取用甲醇为工业级。

猫人参药材于2008年8月采自浙江省临安市洪岭乡,经第二军医大学药学院生药学教研室郑汉臣教授鉴定为猕猴桃科 Actinidiaceae 猕猴桃属 Actinidia 植物镊合猕猴桃 *Actinidia valvata* Dunn. 的根。样品保留于第二军医大学药学院天然药物化学教研室,标本号为CHS20080801。

细胞株 A549、LOVO、HepG2 由上海医药工业研究院药理研究室冻存和传代。

2 方法和结果

2.1 提取与分离 干燥的猫人参药材 20 kg,粉碎成粗粉,用甲醇渗漉3次,得到甲醇提取液,减压浓缩至浸膏,加水 500 ml 混悬,依次用氯仿、正丁醇萃取,各部位减压浓缩,干燥,氯仿萃取部位得 544 g,正丁醇萃取部位 361 g。采用 MTT 法,以 A549、LOVO 及 HepG2 为筛选指标进行细胞毒活性测定,结果表明:氯仿萃取部位有一定的细胞毒作用。取氯仿萃取物 200 g,用氯仿/甲醇混合溶剂溶解,加硅胶拌样,上样于硅胶(200~300 目)柱,以石油醚/乙酸乙酯(50:1~5:1)、氯仿/甲醇(30:1~5:1)洗脱,TLC 检查,合并得到 8 个流分(Fr. 1~8)。各流分分别通过硅胶、Sephadex LH-20、HPLC 进一步分离纯化,分得化合物**1**(65.4 mg)、**2**(35.2 mg)、**3**

(13.8 mg)、**4**(8.7 mg)、**5**(11.4 mg)、**6**(46.5 mg)、**7**(10.1 mg)、**8**(4.2 mg)、**9**(12.8 mg)、**10**(5.6 mg)、**11**(25.7 mg),化合物的结构式见图 1。

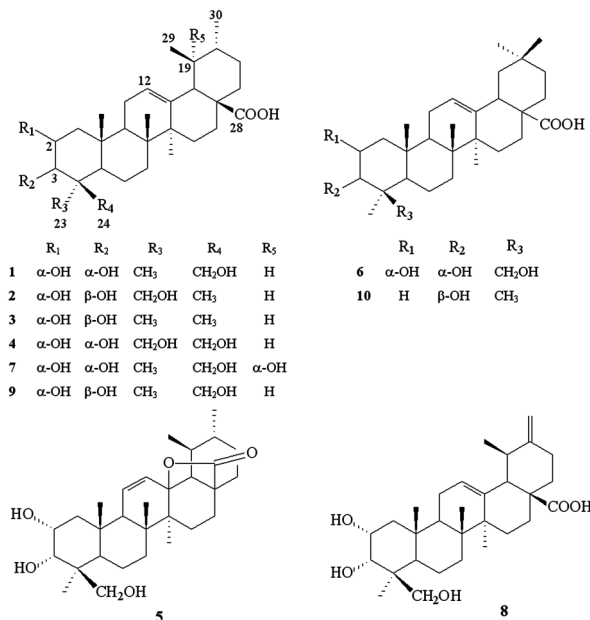


图 1 化合物 1~10 的结构式

Fig 1 Chemical structures of compounds 1-10

2.2 化合物结构鉴定

2.2.1 化合物 1 白色无定形粉末,溶于甲醇,Libermann-Buchard 反应阳性;m. p. 210~213℃(分解);ESI-MS m/z 511 $[M+Na]^+$ 、487 $[M-H]^-$,结合¹HNMR、¹³CNMR、DEPT 谱,推断化合物**1**的分子式为 C₃₀H₄₈O₅。¹HNMR (pyridine-*d*₅, 600 MHz) 5.43 (1H, br. s, 12-H), 4.56 (1H, d, $J=1.8$ Hz, 3β-H), 4.41 (1H, m, 2β-H), 4.08 (1H, d, $J=10.8$ Hz, 24-H), 3.78 (1H, d, $J=10.8$ Hz, 24-H), 2.59 (1H, d, $J=11.4$ Hz, 18-H), 1.65 (3H, s), 1.10 (3H, s), 1.00 (3H, s), 0.97 (3H, s), 0.94 (3H, d, $J=6.0$ Hz), 0.90 (3H, d, $J=6.0$ Hz)。¹³CNMR 的归属见表 1。与文献^[4]对照,确定化合物**1**为 2α, 3α, 24-三羟基乌苏烷-12-烯-28-酸(2α, 3α, 24-trihydroxyurs-12-en-28-oic acid)。

2.2.2 化合物 2 白色无定形粉末,溶于甲醇,Libermann-Buchard 反应阳性;m. p. 242~244℃。ESI-MS m/z 511 $[M+Na]^+$ 、999 $[2M+Na]^+$,结合¹HNMR、¹³CNMR、DEPT 谱,推断化合物**2**的分子式为 C₃₀H₄₈O₅;¹HNMR (pyridine-*d*₅, 600 MHz): 5.43 (1H, br. s, 12-H), 4.22 (1H, m, 2β-H), 4.21 (1H, m, 3α-H), 4.19 (1H, d, $J=10.8$ Hz, 23-H),

3.70(1H, d, $J=10.8$ Hz, 23-H), 2.58(1H, d, $J=11.4$ Hz, 18-H), 1.10(3H, s), 1.03(9H, br. s), 0.93(3H, d, $J=6.6$ Hz), 0.89(3H, d, $J=6.0$ Hz); $^{13}\text{CNMR}$ 的归属见表1。与文献^[4]对照, 确定化合物**2**为 $2\alpha, 3\beta, 23$ -三羟基乌苏烷-12-烯-28-酸($2\alpha, 3\beta, 23$ -trihydroxyurs-12-en-28-oic acid), 即积雪草酸(a-siatic acid)。

2.2.3 化合物**3** 白色无定形粉末, 溶于氯仿, Libermann-Buchard 反应阳性; m. p. 251~253°C; EI-MS m/z (%) 472($\text{M}^{+\cdot}$, 2), 454(1), 248(100), 203(92), 189(11), 133(36), 结合 $^1\text{HNMR}$ 、 $^{13}\text{CNMR}$ 、DEPT 谱, 推断化合物**3**的分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_4$; $^1\text{HNMR}$ (pyridine- d_5 , 600 MHz): 5.45(1H, br. s, 12-H), 4.06(1H, ddd, $J=7.2, 4.0$ Hz, 2β -H), 3.37(1H, d, $J=7.2$ Hz, 3α -H), 2.61(1H, d, $J=10.2$ Hz, 18-H), 1.26(3H, s), 1.20(3H, s), 1.06(3H, s), 1.03(3H, s), 0.99(3H, s), 0.98(3H, d, $J=6$ Hz), 0.95(3H, d, $J=6$ Hz); $^{13}\text{CNMR}$ 的归属见表1。与文献^[5-6]对照, 确定化合物**3**为 $2\alpha, 3\beta$ -二羟基乌苏烷-12-烯-28-酸($2\alpha, 3\beta$ -dihydroxyurs-12-en-28-oic acid), 即科罗索酸(corosolic acid)。

2.2.4 化合物**4** 白色无定形粉末, 溶于甲醇, Libermann-Buchard 反应阳性; ESI-MS m/z 527 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 、503 $[\text{M}-\text{H}]^-$, HRESI-MS m/z 527.334 5 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (计算值: $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_6\text{Na}$ 527.334 9), 结合 $^1\text{HNMR}$ 、 $^{13}\text{CNMR}$ 、DEPT 谱, 确定化合物**4**的分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_6$; $^1\text{HNMR}$ (pyridine- d_5 , 400 MHz): 4.89(1H, br. s, 3β -H), 4.41(1H, m, 2β -H), 4.02(1H, d, $J=10.8$ Hz, 23-H), 4.19(1H, d, $J=10.8$ Hz, 23-H), 4.40(1H, d, $J=10.8$ Hz, 24-H), 4.60(1H, d, $J=10.8$ Hz, 24-H), 2.61(1H, d, $J=11.4$ Hz, 18-H), 1.16(3H, s), 1.06(3H, s), 1.03(3H, s), 0.94(3H, d, $J=6.0$ Hz), 0.90(3H, d, $J=6.0$ Hz), 12-H 信号被水峰掩盖; $^{13}\text{CNMR}$ 的归属见表1。与文献^[7]对照, 确定化合物**4**为 $2\alpha, 3\alpha, 23, 24$ -四羟基乌苏烷-12-烯-28-酸($2\alpha, 3\alpha, 23, 24$ -tetrahydroxyurs-12-en-28-oic acid)。

2.2.5 化合物**5** 白色无定形粉末, 溶于甲醇, Libermann-Buchard 反应阳性; ESI-MS m/z 509 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 、525 $[\text{M}+\text{K}]^+$ 、995 $[\text{2M}+\text{Na}]^+$ 、1 011 $[\text{2M}+\text{K}]^+$ 、521 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$ 、531 $[\text{M}+\text{COOH}]$, 结合 $^1\text{HNMR}$ 、 $^{13}\text{CNMR}$ 、DEPT 谱, 推断化合物**5**的分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_5$; $^1\text{HNMR}$ (pyridine- d_5 , 400 MHz):

6.12(1H, d, $J=10.2$ Hz, 12-H), 5.62(1H, dd, $J=10.2, 3.0$ Hz, 11-H), 4.58(1H, br. s, 3β -H), 4.49(1H, dd, $J=2.4, 10.8$ Hz, 2β -H), 4.06(1H, d, $J=10.8$ Hz, 24-H), 3.85(1H, d, $J=10.8$ Hz, 24-H), 2.26(1H, br. s, 18-H), 1.65(3H, s), 1.18(3H, s), 1.04(3H, s), 1.02(3H, s), 0.93(3H, d, $J=6.6$ Hz), 0.80(3H, d, $J=6.6$ Hz); $^{13}\text{CNMR}$ 的归属见表1。与文献^[4-5]对照, 确定化合物**5**为 $2\alpha, 3\alpha, 24$ -三羟基乌苏烷-11-烯-28-酸-13 β , 28-内酯($2\alpha, 3\alpha, 13\beta, 24$ -tetrahydroxyurs-11-en-28-oic acid-13-lactone)。

2.2.6 化合物**6** 白色针状晶体(甲醇), Libermann-Buchard 反应阳性; m. p. 251~253°C; ESI-MS m/z 511 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 、999 $[\text{2M}+\text{Na}]^+$ 、487 $[\text{M}-\text{H}]^-$; 结合 $^1\text{HNMR}$ 、 $^{13}\text{CNMR}$ 、DEPT 谱, 推断化合物**6**的分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_5$; $^1\text{HNMR}$ (pyridine- d_5 , 600 MHz): 5.45(1H, d, $J=3.6$ Hz, 12-H), 4.57(1H, d, $J=2.4$ Hz, 3β -H), 4.43(1H, m, 2β -H), 4.09(1H, d, $J=10.8$ Hz, 24-H), 3.81(1H, d, $J=10.8$ Hz, 24-H), 3.26(1H, dd, $J=4.2, 14.4$ Hz, 18-H), 1.66(3H, s), 1.18(3H, s), 1.01(3H, s), 1.00(3H, s), 0.97(3H, s), 0.90(3H, s); $^{13}\text{CNMR}$ 的归属见表1。与文献^[4]对照, 确定化合物**6**为 $2\alpha, 3\alpha, 24$ -三羟基齐墩果烷-12-烯-28-酸($2\alpha, 3\alpha, 24$ -trihydroxyolean-12-en-28-oic acid)。

2.2.7 化合物**7** 白色无定形粉末, 溶于甲醇, Libermann-Buchard 反应阳性; m. p. 273~275°C; EI-MS m/z (%) 504($\text{M}^{+\cdot}$, 4), 146(100), 264(21), 248(61), 218(39), 219(35), 205(26), 203(45), 189(33), 133(54), 结合 $^1\text{HNMR}$ 、 $^{13}\text{CNMR}$ 、DEPT 谱, 推断化合物**7**的分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_6$; $^1\text{HNMR}$ (pyridine- d_5 , 600 MHz): 5.56(1H, br. s, 12-H), 4.56(1H, s, 3β -H), 4.42(1H, ddd, $J=11.4, 1.8$ Hz, 2β -H), 4.09(1H, d, $J=10.8$ Hz, 24-H), 3.80(1H, d, $J=10.8$ Hz, 24-H), 3.08(1H, m, 16-H), 3.01(1H, s, 18-H), 1.64(3H, s), 1.63(3H, s), 1.40(3H, s, 29- CH_3), 1.09(3H, d, $J=6.0$ Hz, 30- CH_3), 1.08(3H, s), 1.00(3H, s); $^{13}\text{CNMR}$ 的归属见表1。与文献^[8]对照, 确定化合物**7**为 $2\alpha, 3\alpha, 19\alpha, 24$ -四羟基乌苏烷-12-烯-28-酸($2\alpha, 3\alpha, 19\alpha, 24$ -tetrahydroxyurs-12-en-28-oic acid)。

2.2.8 化合物**8** 白色无定形粉末, 溶于甲醇, Libermann-Buchard 反应阳性; ESI-MS m/z 509 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 、485 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 、521 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$; 结合

¹HNMR、¹³CNMR、DEPT 谱,推断化合物 **8** 的分子式为 C₃₀H₄₆O₅; ¹HNMR(pyridine-*d*₅, 400 MHz): 5.46(1H, br. s, 12-H), 4.81(1H, s, 30-H)、4.76(1H, s, 30-H), 4.61(1H, br. s, 3β-H)、4.46(1H, m, 2β-H)、4.13(1H, d, *J*=11.3 Hz, 24-H)、3.83(1H, d, *J*=11.3 Hz, 24-H), 2.74(1H, d, *J*=11.4 Hz, 18-H), 1.70(3H, s), 1.13(3H, s), 1.10(3H, d, *J*=6.0 Hz, 29-CH₃), 1.02(3H, s), 1.01(3H, s); ¹³CNMR 的归属见表 1。与文献^[9]对照,确定化合物 **8** 为 2α, 3α, 24-三羟基乌苏烷-12, 20(30)-二烯-28-酸[2α, 3α, 24-trihydroxyurs-12, 20(30)-dien-28-oic acid]。

2.2.9 化合物 **9** 白色无定形粉末,溶于甲醇, Libermann-Buchard 反应阳性; ESI-MS *m/z* 511 [M+Na]⁺, 结合¹HNMR、¹³CNMR、DEPT 谱,推断化合物 **9** 的分子式为 C₃₀H₄₈O₅; ¹HNMR(pyridine-*d*₅, 600 MHz): 5.43(1H, t, *J*=3, 3.6 Hz, 12-H), 4.42(1H, d, *J*=10.8 Hz, 24-H), 4.28(1H, m, 2β-H), 3.69(1H, d, *J*=10.8 Hz, 24-H), 3.55(1H, d, *J*=9.0 Hz, 3α-H), 2.59(1H, d, *J*=11.4 Hz, 18-H), 1.57(3H, s), 1.17(3H, s), 0.98(3H, s), 0.94(3H, s), 0.95(3H, d, *J*=6.0 Hz), 0.92(3H, d, *J*=6.6 Hz); ¹³CNMR 的归属见表 1。与文献^[4-5]对照,确定化合物 **9** 为 2α, 3β, 24-三羟基乌苏烷-12-烯-28-酸(2α, 3β, 24-trihydroxyurs-12-en-28-oic acid)。

2.2.10 化合物 **10** 白色无定形粉末,溶于氯仿, Libermann-Buchard 反应阳性; *m. p.* 265~267℃; EI-MS *m/z*(%) 456(M⁺, 6), 392(4), 248(100),

233(6), 203(54), 189(22), 133(47), 结合¹HNMR、¹³CNMR、DEPT 谱,推断化合物 **10** 的分子式为 C₃₀H₄₈O₃; ¹HNMR(pyridine-*d*₅, 600 MHz): 5.48(1H, br. s, 12-H), 3.45(1H, t, *J*=3.6, 7.8 Hz, 3-H), 2.63(H, d, *J*=11.4 Hz, 18-H), 1.26(3H, s), 1.25(3H, s), 1.06(3H, s), 1.01(3H, s), 0.99(3H, s), 0.98(3H, s), 0.93(3H, s); ¹³CNMR 的归属见表 1。与文献^[4-5]对照,确定化合物 **10** 为齐墩果酸(oleanolic acid)。

2.2.11 化合物 **11** 白色针状结晶(石油醚); *m. p.* 137~139℃; EI-MS *m/z* 414[M]⁺, 396[M-H₂O], 381[M-CH₃]; TLC 与 β-谷甾醇对照品 R_f值相同; ¹HNMR 数据与对照品一致,确定化合物 **11** 为 β-谷甾醇(β-sitosterol)。

2.3 活性测定 采用 MTT 法^[10]测试了化合物 **1**、**2**、**3**、**4**、**7** 对 A549、LOVO、HepG2 等 3 种人肿瘤细胞株的体外细胞毒活性。实验方法如下:96 孔板每孔加入浓度为(4~5)×10⁴个/ml 的细胞悬液 100 μl(培养液为:RPMI 1640+15%小牛血清+双抗),置 37℃、5%CO₂ 培养箱内。24 h 后,加入样品液,10 μl/孔,设双复孔,37℃、5%CO₂ 作用 72 h。每孔加入 5 mg/ml 的 MTT 溶液 20 μl,作用 4 h 后加入溶解液,100 μl/孔,置培养箱内,溶解后用 MK-2 全自动酶标仪测 570 nm 处光密度(*D*)值。结果(表 2)显示:化合物 **2**、**3** 对 LOVO 细胞株和 HepG2 细胞株有一定的细胞毒活性,且随着单体化合物极性的增大,细胞毒活性下降,此结论与文献^[11]基本一致。

表 1 化合物 1~10 的碳谱数据(氘代吡啶)
Tab 1 ¹³CNMR data for 1-10 in pyridine-*d*₅

Position	1 ^a	2 ^a	3 ^b	4 ^b	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^b	9 ^a	10 ^a
1	43.1t	47.9t	48.1t	42.8t	43.0t	43.0t	43.1t	43.2t	47.9t	38.9t
2	66.2d	68.8d	68.7d	66.2d	66.0d	66.2d	66.2d	66.2d	68.6d	28.2t
3	74.2d	78.1d	84.0d	73.4d	74.3d	74.3d	74.2d	74.2d	85.3d	78.4d
4	45.1s	43.6s	40.0s	47.3s	45.2s	45.2s	45.1s	45.2s	43.9s	39.2s
5	49.4d	47.9d	56.0d	44.5d	48.8d	49.5d	49.5d	49.4d	56.4d	55.7d
6	18.8t	18.4t	19.0t	18.8t	18.4t	18.9t	19.0t	18.8t	19.2t	18.8t
7	33.9t	33.1t	33.6t	33.5t	31.9t	33.7t	34.0t	33.9t	33.8t	33.1t
8	40.1s	40.0s	40.2s	39.8s	42.2s	40.0s	40.6s	40.1s	39.9s	39.6s
9	48.1d	47.8d	48.2d	48.0d	60.5d	48.2d	47.9d	48.0d	48.1d	48.1d
10	38.5s	38.2s	38.6s	38.1s	42.3s	38.7s	38.6s	38.5s	38.2s	37.3s
11	23.8t	23.7t	23.9t	24.7t	129.4d	24.1t	24.3t	23.8t	23.9t	23.6t
12	125.5d	125.5d	125.7d	125.2d	133.7d	122.5d	128.0d	125.8d	125.4d	122.5d
13	139.2s	139.2s	139.4s	139.1s	89.4s	144.8s	139.9s	138.9s	139.2s	144.1s

(续下表)

(接上表)

Position	1 ^a	2 ^a	3 ^b	4 ^b	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^b	9 ^a	10 ^a
14	42.5s	42.5s	42.7s	42.3s	37.9s	42.2s	42.1s	42.5s	42.4s	42.1s
15	28.6t	28.6t	28.8t	29.8t	25.8t	28.3t	29.2t	28.5t	28.6t	28.2t
16	24.9t	24.8t	25.0t	28.4t	23.1t	23.7t	26.4t	24.8t	24.8t	23.9t
17	48.0s	48.0s	48.2s	47.9s	45.2s	46.6s	48.3s	48.2s	48.0s	46.7s
18	53.5d	53.4d	53.6d	53.4d	53.6d	42.0d	54.6d	55.6d	53.4d	41.8d
19	39.4d	39.4d	39.6d	39.2d	38.1d	46.4t	72.7s	37.7d	39.4d	46.3t
20	39.4d	39.3d	39.5d	39.2d	40.3d	30.9s	42.3d	153.8s	39.3d	31.0s
21	31.0t	31.0t	31.2t	30.9t	31.0t	34.2t	26.9t	32.7t	31.0t	34.2t
22	37.4t	37.4t	37.6t	37.3t	32.0t	33.2t	38.5t	39.6t	37.4t	33.2t
23	23.8q	66.3t	29.5q	63.9t	23.8q	23.7q	23.8q	23.6q	24.1q	28.5q
24	65.2t	14.4q	17.8q*	68.8t	64.8t	65.2t	65.2t	65.2t	65.6t	16.1q
25	17.1q*	17.5q*	17.1q*	16.8q*	16.0q*	17.4q*	17.2q*	17.2q*	17.3q	15.8q
26	17.3q*	17.5q*	17.5q*	17.2q*	17.9q*	17.1q*	17.1q*	17.3q*	17.3q	17.3q
27	23.7q	23.8q	24.0q	23.6q	19.1q [#]	26.1q	24.6q	23.5q	23.8q	26.2q
28	180.0s	179.9s	180.0s	180.0s	179.4s	180.2s	180.6s	179.3s	179.9s	180.2s
29	17.4q*	17.4q*	17.6q*	17.3q*	19.3q [#]	33.2q	27.1q	16.5q	17.5q	33.2q
30	21.3q	21.3q	21.5q	21.2q	19.6q [#]	23.8q	17.2q*	105.0t	21.3q	23.8q

^a: Tested by a Bruker DRX-600; ^b: Tested by a Bruker AV-400; *,[#]: Signals may be interchangeable within each column

表 2 单体化合物的体外细胞毒活性测定 (IC₅₀)
Tab 2 IC₅₀ of the anticancer potential of the compounds

[ρ _B /(μg·ml ⁻¹)]						
Cell	1	2	3	4	7	DOX
A549	34.6	34.7	34.6	>100	>100	0.72
LOVO	13.9	6.9 ^a	2.9 ^a	>100	>100	0.37
HepG2	34.5	33.1	9.2 ^a	>100	87.5	0.78

A549: Human pulmonic carcinoma; LOVO: Human colonic carcinoma; HepG2: Human hepatic carcinoma; ^a: Weakly active; DOX: Doxorubicin, positive control

3 讨 论

本研究从猫人参的氯仿萃取部位分离鉴定了 11 个化合物,其中,10 个为三萜类化合物,1 个为植物甾醇,6 个化合物(3~8)为首次从该植物中分离得到。同时,采用 MTT 法测试了 5 个单体化合物(1、2、3、4、7)对 A549、LOVO、HepG2 等 3 种人肿瘤细胞株的体外细胞毒活性。结果表明:积雪草酸(2)和科罗索酸(3)对 LOVO 和 HepG2 细胞株有一定的抗肿瘤活性,且随着单体化合物极性的增大,细胞毒活性下降。本实验为进一步研究猫人参的抗肿瘤活性成分奠定了物质基础。

[参 考 文 献]

[1] 浙江药用植物志编写组. 浙江药用植物志(下册)[M]. 杭州:浙江科学技术出版社,1980:284.

[2] 国家中医药管理局中华本草编委会. 中华本草 [M]. 3 卷. 上海:上海科学技术出版社,1999:548.

[3] 章红燕,芦柏震,侯桂兰. 我院四年间抗肿瘤中草药用药的调查分析[J]. 中国药业,2002,11:63.

[4] 方 琴,黄初升,陈希慧,刘红星,钟振国. 几种猕猴桃属植物中乌苏烷型三萜化合物的谱学研究[J]. 广西师范学院学报:自然科学版,2008,24:53-60.

[5] Mahato S B,Kundu A P. ¹³CNMR spectra of pentacyclic triterpenoids;a compilation and some salient features [J]. Phytochemistry,1994,37:1517-1575.

[6] 郭启雷,杨峻山. 掌叶覆盆子的化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2005,30:198-200.

[7] Sashida Y,Ogawa K, Mori N, Yamanouchi T. Triterpenoids from the fruit galls of *Actinidia polygama* [J]. Phytochemistry,1992,31:2801-2804.

[8] 张晓璐,彭树林,王明奎,丁立生. 藤山柳根茎中的三萜成分 [J]. 药学报,2001,36:910-912.

[9] Kojima H,Tominaga H. Pentacyclic triterpenoids from *Prunella vulgaris* [J]. Phytochemistry,1987,26:1107-1111.

[10] 王瑞雪,骆云鹏,韦 克,汤为学. MTT 法用于抗癌药物筛选的实验研究[J]. 重庆医科大学学报,1991,16:330-333.

[11] 楼丽君,吕定量,胡增仁,胡泽富,郑方平. 猕猴桃根抗肝癌的实验研究[J]. 中华中医药学刊,2009,27:1509-1511.

[本文编辑] 尹 茶