

·天然药物化学·

中药中的细胞毒活性成分

李廷利 洪永福

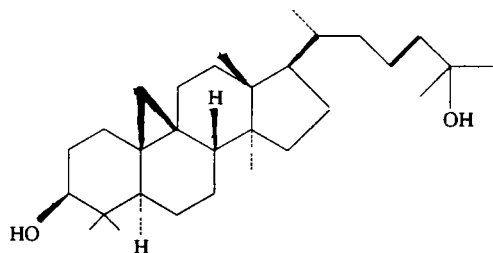
(第二军医大学药学院中西药研究室 上海 200433)

天然产物中具有细胞毒活性成分往往提示它具有治疗某种疾病的作用,如抗肿瘤,抗病毒性肝炎,抗艾滋病等活性成分。以细胞毒性试验初步筛选中草药中的活性成分,对进一步的药理活性探讨,寻找新药很有意义。中草药中具有细胞毒活性的化学成分类型很广,如挥发油,生物碱,萜类,内酯等。作用机理、途径也不尽相同。文献中报道很多,我们将选择常用中药中这方面的工作近况,作一介绍,以利参考。

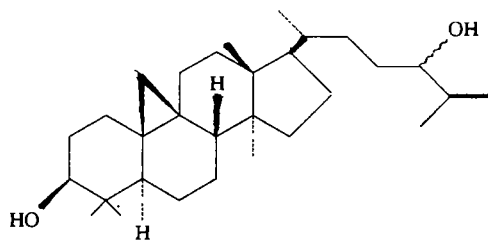
一、一品红叶中有细胞毒性的三萜类化合物

几个世纪以来,天然产品用于疾病治疗已成为药物治疗的一个重要组成部分。多种人工栽培的大戟属植物用于治疗癌症、肿瘤和疣也有多年历史。

本文报道了从一品红(*Euphorbia pulcherrima*)叶中分离出的两种立体异构的环三萜烯 9, 19-环-羊毛甾-23-烯-3 β , 25-二醇(1)和 9, 19-环-羊毛甾-25-烯-3 β , 24-二醇(2)(结构如下图)。也介绍了以环阿屯醇为前体的半合成。两种物质对培养的 Ehrlich 腹水瘤细胞表现重要的抑制作用,但其在植物中含量很少(约 0.05%),因此需另找资源。



1



2

从鼠乳癌细胞中分离到 Ehrlich 腹水瘤细胞,采取混悬培养,细胞密度达到 2×10^5 个/mL 时再培养,加入 1 和 2, 分别进行培养,结束后,细胞计数以评价细胞毒性。

风干的一品红叶粉碎后室温用石油醚渗漉,提取液浓缩后,用甲苯溶解,过滤后用低压柱层析(MPLC)分离。分别用甲苯 2L、甲苯 2L、甲苯 + 5% 乙酸乙酯 4L、甲苯 + 7% 乙酸乙酯 4L、和各 1L 10%、12.5%、15%、20%、40% 乙酸乙酯的甲苯溶液,各收集 250ml 流份。用混悬培养的细胞监测有细胞毒性的流份,得到三个有细胞毒性流份 A、B、C。

活性流份用离心加速层析进一步纯化,己烷-乙酸乙酯(6:1)洗脱,收集 10~15ml 流份 15 个,用 HPLC 监测,并进行细胞毒性试验。

A 中有 4 个有显著活性的流份,活性最强的流份在 HPTLC 显示一个点,用 $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, IR, EI-MS 鉴定为 9, 19-环-羊毛甾-25-烯-3 β , 24-二醇(2)。同法, C 中为 9, 19-环-羊毛甾-23-烯-3 β , 25-二醇(1), 而 B 中则含 1, 2 两种物质。

环阿屯醇用 LiAlH_4 的乙醚液还原后,得环阿屯醇的 α -和 β -差向异构体,快速柱层析(Flash chromatography)得到纯化的 β -异构体。环阿屯醇与定量的吡啶和乙酸酐反应,

生成环阿屯醇乙酸酯,快速柱层析可得到纯化。产品溶于含血卟啉的吡啶液,室温水浴,通入 O_2 , 浸入一 250W 高压汞灯照射, TLC 监测反应进度,原料消失时停止反应,蒸去溶剂,加入乙醚溶解。分批加入 $LiAlH_4$ 还原,振摇后连续加入水及 $NaOH$ 溶液,剧烈振摇,过滤蒸下溶剂,快速柱层析可分离出 1 和 2 两个化合物。

细胞毒性试验中,两种三萜烯类物质 1 和 2 都有明显抑制细胞的作用。2 的 IC_{50} 约为 $7.5\mu M$, IC_{90} 约为 $13.5\mu M$ 。1 的活性为前者的一半,1 的乙酰化物不改变活性,而 2 乙酰化后则失去活性。

实验发现,2 的细胞毒性作用是不可逆的。胆固醇和甲瓦龙酸也不影响两种环阿屯醇衍生物的细胞毒活性。

结果显示,从一品红中分离出的这两种立体异构的三萜烯物质对 Ehrlich 腹水瘤细胞具有细胞毒性作用,与 2 乙酰化后失去活性相反,1 乙酰化后并不改变活性,可以看出 3-OH 并不是必需基团。2 的作用不可逆且不为胆固醇和甲瓦龙酸所逆转,这说明该物质最主要的作用不是作用于 HMG-CoA 还原酶,这与 Defay et al. 的报道相反。Defay 曾发现 2 对人淋巴细胞的 HMG-CoA 还原酶 100% 抑制。

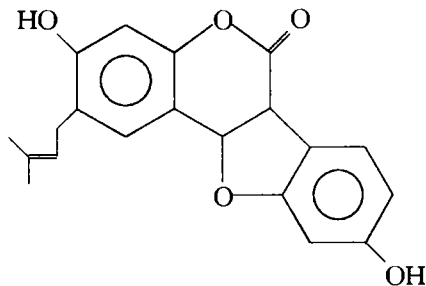
环阿屯醇被鉴定为一品红汁液中最主要的三萜烯醇,它是 1 和 2 的前体,却不具有细胞毒性作用。目前,进一步阐明 9,19-环-羊毛甾-25-烯-3 β ,24-二醇引起细胞毒性的机理的研究仍在进行之中^[1]。

二、补骨脂中补骨脂内酯的细胞毒作用

补骨脂内酯,是一种从补骨脂种子中分离出的具有细胞毒性作用的考迈斯坦(Coumestan)衍生物,对胃癌细胞 SNU-1 和 SNU-2 的 IC_{50} 和 IC_{90} 是 53 和 $203\mu g/ml$ 。

从市场购得的干燥补骨脂种子,经鉴定为 *Psoralea corylifolia*。用甲醇提取浓缩后,提取物用水和甲醇(9:1)混悬后,依次用正己烷、二氯甲烷、乙酸乙酯、丁醇提取,对每一个组分用 MTT 法分析,发现二氯甲烷部分显示对胃癌细胞有强的细胞毒性作用。

二氯甲烷部分提取物采用硅胶柱层析分离,以二氯甲烷和甲醇(10:0~5:5)梯度洗脱。有活性的洗脱液组分在硅胶柱上再次纯化,己烷:乙酸乙酯(10:1.6)洗脱。活性组分再用甲醇重结晶,得到产物为无色粉末,得率 0.019%。经熔点、EI-MS、 1H -NMR、 ^{13}C -NMR、UV 和 IR 鉴定为 3,9-二羟-2-苯考迈斯坦。结构见下图。



选择对抗癌剂比较敏感的胃癌细胞 SNU-1 和 SNU-16,用 MTT 分析法测定所得化合物的细胞毒性作用,结果,其 IC_{50} 值分别为 $53\mu g/ml$ 和 $203\mu g/ml$,可见补骨脂内酯有一定的细胞毒性作用^[2]。

参考文献

- [1] L. Smith - kielland 等, *Planta Med.* 1996;62(4):32
 [2] Yang, y. m., 等, *Planta Med.* 1996, 62(4):352