

金花茶体外抗肿瘤活性及物质基础的初步研究

韦锦斌¹, 农彩丽², 苏志恒¹, 陈永欣¹, 吕淑娟¹, 潘宇政^{3*}

(1. 广西医科大学药学院, 南宁 530021; 2. 南宁市第二人民医院, 南宁 530031;
3. 广西医科大学第一附属医院, 南宁 530021)

[摘要] 目的: 观察金花茶3种不同萃取部位对5种不同人肿瘤细胞株体外增殖的作用, 寻找其活性部位及物质基础。方法: 采用噻唑蓝染色法(MTT法), 检测金花茶不同萃取部位体外对人胃腺癌细胞株(SGC-7901)、人大细胞肺癌细胞株(H460)、人肝癌细胞株(SMMC-7721和BEL-7404)、人高分化鼻咽癌细胞株(CNE-1)作用48 h后的增殖抑制率, 并计算相应的半数生长抑制浓度(IC₅₀), 其中, 细胞密度分别为: SGC-7901(7 × 10⁴/mL), H460(4 × 10⁴/mL), SMMC-7721(6 × 10⁴/mL), BEL-7404(6 × 10⁴/mL), CNE-1(4 × 10⁴/mL), 不同提取部位的浓度分别为: 正丁醇层(50, 100, 150, 200 mg·L⁻¹)、乙酸乙酯层(50, 100, 200, 300 mg·L⁻¹)、水层(25, 50, 75, 100, 150 mg·L⁻¹); 采用液质联用方法初步分析水层萃取部分的可能活性成分。结果: 金花茶正丁醇、乙酸乙酯、水层部位对5种肿瘤均有抑制作用(P < 0.05 或 P < 0.01), 且呈现一定的浓度依赖性, 各部分对5种肿瘤细胞的抑制作用强弱为: 水层 > 正丁醇层 > 乙酸乙酯层, 水层部位对上述5种细胞株的IC₅₀分别为: 81.72, 73.47, 95.98, 73.41, 61.25 mg·L⁻¹; 水层萃取部分检测到的物质有24个, 初步鉴定了其中的11个成分[分别为: (1R, 3R, 4R, 5R)-1, 3, 4, 5-tetrahydrocyclohexanecarboxylic acid; daucic acid; 二羟基-6-甲氧基-四氢-2H-吡喃-3-氧基-四氢-2H-吡喃-3, 4, 5-三醇; coumaroylquinic acid; 1, 3, 4-tri-O-acetyl-α-D-fructofuranosyl, 3, 6-tri-O-acetyl-α-D-glucopyranoside; 2S, 3aR, 4'S, 5'S, 6R, 6'R, 7R, 7aS)-6, 6'-bis[(acetyloxy)methyl]tetrahydro-4H, 4'H-spiro[1, 3-dioxolo[4, 5-c]pyran-2, 3'-pyran]-3a, 4', 5', 7(6H)-tetrayl tetraacetate; (2S, 3R, 4R, 5R, 6S)-2-(2S, 3R, 4S, 5S, 6R)-4, 5-二羟基-2-(5-羟基-7-甲氧基-2-(4-甲氧苯基)-4-羰基-4H-色烯-6-基)-6-(羟甲基)-四氢-2H-吡喃-3-氧基-4, 5-二羟基-6-甲基-四氢-2H-吡喃-3-基乙酸酯; vitexin-7-glucoside; luteolin-7-diglucoside; 7-O-β-D-glucopyranosyl-kaempferol-3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside; ilexside II], 同时表征了另外13个未鉴定成分的质谱信息。结论: 金花茶不同萃取部位体外实验有抗肿瘤活性, 水层部分可能是金花茶抗肿瘤作用的主要活性部位; 需要进一步对水层部分的这些可能活性物质进行分离纯化鉴定以及定量分析。

[关键词] 金花茶; 体外抗肿瘤作用; 液质联用; 物质基础

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)10-0169-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014100169

[收稿日期] 20130904(020)

[基金项目] 广西壮族自治区卫生厅中医药科技专项课题(GZKZ10-102); 广西科技基础条件平台建设项目(10-108-19); 广西医科大学博士启动基金资助(02305207004)

[第一作者] 韦锦斌, 博士, 副教授, 研究生导师, 从事肿瘤药理学研究, Tel: 13907860983, E-mail: jbw@ sina. cn

[通讯作者] * 潘宇政, 硕士, 副主任医师, 研究生导师, 从事中西医结合免疫学研究, Tel: 13517712291 E-mail: pyz79298@ sina. com

[8] Nakagami Y, Ohori M, Sakamoto N, et al. Safety and efficacy of docetaxel, estramustine phosphate and hydrocortisone in hormone-refractory prostate cancer patients[J]. Int J Urol, 2010, 17(7):629.

[9] Jeong J B, Choi J, Lou Z, et al. Patchouli alcohol, an essential oil of Pogostemon cablin, exhibits anti-tumorigenic activity in human colorectal cancer cells [J]. Int Immunopharmacol, 2013, 16(2):184.

[10] Kim S H, Bommareddy A, Singh S V, et al. Garlic constituent diallyl trisulfide suppresses x-linked inhibitor of apoptosis protein in prostate cancer cells in culture and *in vivo*[J]. Cancer Prev Res, 2011, 4(6):897.

[11] Eminel S, Klettner A, Roemer L, et al. JNK2 translocates to the mitochondria and mediates cytochrome C release in PC12 cells in response to 6-hydroxydopamine [J]. J Biol Chem, 2004, 279(53):55385.

[12] Yagihashi A, Asanuma K, Tsuji N, et al. Detection of anti-livin antibody in gastrointestinal cancer patients [J]. Clin Chem, 2003, 49(7):1206.

[13] Kasof G M, Gomes B C. Livin, a novel inhibitor of apoptosis protein family member [J]. J Biol Chem, 2001, 276(5):3238.

[责任编辑] 聂淑琴

Studies on Antitumor Effects of *Camellia chrysantha* *in vitro* and its Material Basis

WEI Jin-bin¹, NONG Cai-li², SU Zhi-heng¹, CHEN Yong-xin¹, LV Shu-juan¹, PAN Yu-zheng^{3*}

(1. Pharmaceutical College of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China;

2. Nanning Second People's Hospital, Nanning 530031, China;

3. The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the inhibitory effects of different extractive fractions from *Camellia chrysantha* on five different kinds of malignant tumor cell lines, and evaluate the antitumor effects *in vitro* and its material basis of the effects. **Method:** MTT assay was adopted to detect the inhabitation of different extractive fractions from *C. chrysantha* with five different kinds of malignant tumor cell lines *in vitro* and IC₅₀ values were calculated, respectively. The UPLC-LTQ-Orbitrap MS/MS was used to analyse its possible components. **Result:** The different extractive fractions from *C. chrysantha* had antitumor effects on SGC-7901, H460, SMMC-7721, BEL-7404, CNE-1, they inhibited cell proliferation in a dose dependent manner. The sequence of their inhabitation intensity was: water-soluble part > n-butyl alcohol part > ethyl acetate part, and the IC₅₀ of water-soluble part on the five different kinds cell lines was 81.72, 73.47, 95.98, 73.41, 61.25 mg · L⁻¹, respectively; 24 components were investigated, 11 of them were tentatively identified, and 13 of them were characterized by their mass spectra information. **Conclusion:** Different extractive fractions from *C. chrysantha* can inhibit the proliferation of SMMC-7721, BEL-7404, CNE-1, SGC-7901 and H460 *in vitro*, the water-soluble part is considered as antitumor active part of *C. chrysantha*; but which component exactly contribute to the antitumor effect remains to be further confirmed.

[Key words] *Camellia chrysantha*; antitumor *in vitro*; UPLC-LTQ-Orbitrap MS/MS assay; material basis of effects

金花茶属山茶花科、山茶属、金花茶组植物,20世纪60年代初在我国广西首次被发现,主要分布于我国广西南部 and 西南部的亚热带南缘和热带北缘地区^[1]。金花茶素有“茶族皇后”、“植物大熊猫”之称,被列为世界二级珍稀保护植物,是我国8个珍稀的一级保护植物品种之首^[2-3],其花和叶为壮族民间用药,主要用于治疗咽喉炎、痢疾、高血压、预防肿瘤、便血、月经不调等^[4]。研究表明,金花茶叶含有多种茶多酚、茶多糖、皂苷、黄酮类等,且富含天然有机锗、硒、锰、铜、钒、锌等微量元素^[5]。研究发现,金花茶具有一定的抗肿瘤、抗氧化、清除自由基、降血脂等作用^[6-8]。关于金花茶抗肿瘤作用的一些研究报道集中在体外实验,且为粗提物,其活性成分目前尚不清楚,为了进一步寻找金花茶抗肿瘤的活性部位,本实验考察金花茶茶叶不同萃取部位在体外对5种不同人肿瘤细胞株人胃腺癌细胞株(SGC-7901)、人大细胞肺癌细胞株(H460)、人肝癌细胞株(SMMC-7721和BEL-7404)、人高分化鼻咽癌细胞株(CNE-1)的作用

以及采用液质联用初步分析其作用的化学基础。

1 材料

1.1 药材 金花茶 *Camellia chrysantha* (Hu) Tuyama 茶叶由广西桂人堂金花茶产业集团鉴定并提供,金花茶叶不同萃取部位干燥粉末由广西医科大学药理学教研室制备。

1.2 细胞株 人胃腺癌细胞株(SGC-7901)、人大细胞肺癌细胞株(H460)、人肝癌细胞株(SMMC-7721和BEL-7404)、人高分化鼻咽癌细胞株(CNE-1)均由广西医科大学医学科学实验中心提供。

1.3 试剂 RPMI-1640 培养基(HyClone 公司,批号 NXE0625),二甲基亚砷(DMSO,批号 302A032),四甲基噻唑蓝(MTT,批号 M8180),胰蛋白酶消化液(批号 20110824),青链霉素混合液(批号 20110726),均为 Solarbio 公司。色谱乙腈,胎牛血清(HyClone 公司,批号 NWL0504)。

1.4 仪器 CO₂ 培养箱, Multiskan MK3 型酶标仪(均为美国 Thermo Forma 公司),倒置显微镜(日本

Olympus 公司)。

2 方法

2.1 样品的提取分离及供试液的制备 金花茶叶经粉碎成粗粉,75%乙醇浸泡24 h后回流提取,滤渣经75%乙醇再回流,合并滤液,减压回收乙醇,分别用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取。合并各萃取液,各相分别浓缩干燥,得到乙酸乙酯、正丁醇和水层的各部位粗粉。

各萃取部位药液的配制方法和溶剂组成:分别精确称取3个萃取部位的粉末适量,用DMSO溶解,使各部位的母液质量浓度分别为:正丁醇部位母液为 $50\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,乙酸乙酯部位为 $100\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,水层部位为 $75\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,完全溶解后超净台内无菌过滤,用前用含10%血清的培养基稀释至所需浓度,逐级稀释时用DMSO平衡,使各浓度的药液含有相同体积分数的DMSO。MTT溶液用磷酸盐缓冲液(PBS)配制成质量浓度 $5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,无菌过滤后分装。

2.2 细胞培养与传代 上述4种肿瘤细胞均培养于RPMI-1640(含10%胎牛血清和 $100\text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 青霉素和 $100\text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 链霉素)培养基中,在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 5% CO_2 培养箱中培养,待细胞长满80%时用0.25%胰酶消化传代,2~3 d传代1次,种板前1 d均更换新的培养基。

2.3 MTT法考察金花茶不同萃取部位对4种肿瘤细胞株增殖的抑制作用^[9-11] 取对数生长期的细胞,经0.25%胰酶消化后用培养基调整细胞密度至 $5\sim 7\times 10^4/\text{mL}$ (CNE-1和H460细胞密度为 $4\times 10^4/\text{mL}$),每孔 $100\text{ }\mu\text{L}$ 接种于96孔板中。培养箱中培养24 h后小心吸出孔内培养液,加入 $200\text{ }\mu\text{L}$ 各组药液。实验组:金花茶各萃取部位不同浓度药液;对照组:含有与各给药组同样浓度DMSO的培养基。上述各组均设4个复孔,且各组均设3个空白对照孔(只含培养基不含细胞)。细胞给药后继续培养48 h,小心吸去上清,每孔加入 $100\text{ }\mu\text{L}$ 无血清培养基的同时加入 $5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的MTT溶液 $20\text{ }\mu\text{L}$ 。继续培养4 h,取出96孔板,小心吸出孔内培养基,每孔加入 $100\text{ }\mu\text{L}$ DMSO,酶标仪上震荡10 min使结晶完全溶解,492 nm波长下测定各孔吸光度(A)。分别计算各部分药物对5种细胞的生长抑制率。

$$\text{肿瘤细胞抑制率} = (1 - \text{给药组平均} A / \text{对照组平均} A) \times 100\%$$

(上述A = 各组A - 各空白对照组A)

2.4 统计学处理 所有实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。以SPSS 13.0统计软件分析,计算半数抑制浓度

(IC_{50}),两组间的均数比较采用t检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2.5 液质联用进行初步分析^[12] 质谱条件:检测模式负离子扫描,扫描分辨率30 000,扫描范围 m/z 100~1 500,多级扫描模式Dependent scan。

液相色谱条件:固定相Waters BEH C_{18} Column (2.1 mm \times 50 mm, 1.7 μm);流动相乙腈与水梯度洗脱,洗脱程序如表1所示。

表1 流动相梯度洗脱

时间/min	乙腈/%	水/%
0	5	95
2	5	95
5	10	90
25	95	5

3 结果

3.1 金花茶不同萃取部位对5种肿瘤细胞增殖的抑制作用 MTT结果显示,用金花茶不同萃取部位分别处理SGC-7901, H460, SMMC-7721, BEL-7404, CNE-1细胞后,各萃取部位对上述肿瘤细胞均有不同程度的增殖抑制作用,且作用呈一定的剂量-效应关系,各萃取部位的增殖抑制活性有明显差别,以水相部位对上述5种肿瘤细胞的细胞增殖抑制作用最强,其次是正丁醇部位,最后是乙酸乙酯部位。而各萃取部位对不同细胞的敏感性各有不同,正丁醇部位对5种肿瘤细胞抑制作用的强弱为:CNE-1 > BEL-7404 > H460 > SMMC-7721 > SGC-7901;乙酸乙酯部位的为:CNE-1 > SMMC-7721 > SGC-7901 > H460 > BEL-7404;水层部位的为:CNE-1 > BEL-7404 \geq H460 > SGC-7901 > SMMC-7721。由此可知,金花茶3个萃取成分对CNE-1最为敏感。经统计软件分析,金花茶各萃取部位对上述5种肿瘤细胞的抑制作用及相应的 IC_{50} ,见表2~4。

3.2 液质联用对水层中可能存在的物质进行初步分析 体外抗肿瘤细胞的实验结果显示,在相同的实验条件下,水层部位与其他提取部位相比,表现出良好的细胞增殖抑制作用,因此采用液质联用方法对水层部位可能含有的化学成分进行初步分析。

经超高效液相色谱分离、高分辨质谱检测,金花茶水层提取物中有24个离子强度较大的色谱峰被检测到(图1),对这些峰进行二级质谱的分析以进一步解析该24个色谱峰的结构组成。结合高分辨质谱测得精确相对分子质量计算分子式、对试验数据进行分析,限定相对偏差范围为5 mmu,对相应

表 2 金花茶各萃取部位对 SGC-7901 和 H460 细胞增殖的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量 /mg·L ⁻¹	SGC-7901			H460		
		A	抑制率/%	IC ₅₀ /mg·L ⁻¹	A	抑制率/%	IC ₅₀ /mg·L ⁻¹
对照	0.40% DMSO	1.300 ± 0.034	-		1.847 ± 0.043	-	
正丁醇部位	200	0.454 ± 0.023 ³⁾	65.25	170.97	0.019 ± 0.002 ³⁾	98.97	130.79
	150	0.832 ± 0.097 ²⁾	36.26		0.613 ± 0.072 ²⁾	66.81	
	100	1.046 ± 0.045 ²⁾	19.83		1.552 ± 0.038 ¹⁾	15.96	
	50	1.267 ± 0.062	2.95		1.825 ± 0.016	1.16	
对照	0.30% DMSO	1.269 ± 0.038	-		1.812 ± 0.063	-	
乙酸乙酯部位	300	0.565 ± 0.092 ³⁾	55.49	245.87	0.745 ± 0.016 ²⁾	58.88	256.14
	200	0.716 ± 0.064 ³⁾	43.61		1.168 ± 0.015 ²⁾	35.55	
	100	0.979 ± 0.094 ²⁾	22.88		1.554 ± 0.054 ¹⁾	14.23	
	50	1.190 ± 0.090	6.27		1.779 ± 0.035	1.86	
对照	0.20% DMSO	0.789 ± 0.022	-		1.143 ± 0.019	-	
水层部位	150	0.056 ± 0.008 ³⁾	92.91	81.72	0.016 ± 0.001 ³⁾	98.59	73.47
	100	0.195 ± 0.076 ²⁾	75.32		0.074 ± 0.063 ²⁾	93.49	
	75	0.490 ± 0.045 ¹⁾	37.91		0.521 ± 0.018 ²⁾	54.47	
	50	0.646 ± 0.028 ¹⁾	18.19		1.070 ± 0.032	6.42	
	25	0.752 ± 0.006	4.68		1.109 ± 0.002	2.97	

注:与对照组比较¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01, ³⁾ P < 0.001(表 2 ~ 3 同)。

表 3 金花茶各萃取部位对 SMMC-7721 和 BEL-7404 细胞增殖的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/mg·L ⁻¹	SMMC-7721			BEL-7404		
		A	抑制率/%	IC ₅₀ /mg·L ⁻¹	A	抑制率/%	IC ₅₀ /mg·L ⁻¹
对照	0.40% DMSO	0.965 ± 0.044	-		0.970 ± 0.083	-	
正丁醇部位	200	0.218 ± 0.006 ²⁾	77.39	154.2	0.017 ± 0.003 ²⁾	98.23	128.6
	150	0.491 ± 0.027 ²⁾	49.14		0.175 ± 0.022 ²⁾	81.91	
	100	0.837 ± 0.051	13.21		0.775 ± 0.102	20.13	
	50	0.935 ± 0.011	3.08		0.844 ± 0.109	12.94	
对照	0.30% DMSO	1.033 ± 0.050	-		0.837 ± 0.018	-	
乙酸乙酯部位	300	0.278 ± 0.008 ²⁾	73.06	191.04	0.384 ± 0.069 ¹⁾	54.13	290.65
	200	0.469 ± 0.006 ²⁾	54.57		0.573 ± 0.075 ¹⁾	31.52	
	100	0.852 ± 0.022 ¹⁾	17.52		0.617 ± 0.064 ¹⁾	26.35	
	50	1.012 ± 0.003	1.99		0.779 ± 0.010	6.98	
对照	0.20% DMSO	1.120 ± 0.004	-		1.098 ± 0.013	-	
水层部位	150	0.087 ± 0.005 ³⁾	92.19	95.98	0.013 ± 0.001 ³⁾	98.78	73.41
	100	0.327 ± 0.093 ²⁾	70.79		0.036 ± 0.009 ³⁾	96.75	
	75	0.898 ± 0.067 ¹⁾	19.87		0.535 ± 0.028 ²⁾	51.31	
	50	0.983 ± 0.098	12.23		1.050 ± 0.026	4.45	
	25	0.994 ± 0.089	11.31		1.089 ± 0.005	0.83	

分子式进行数据库检索(中科院上海有机所中药化学成分数据库),推测对应分子可能的结构,见表 5。

4 讨论

本实验采用 MTT 法观察金花茶各萃取部位对人肿瘤细胞 SGC-7901, H460, SMMC-7721, BEL-

表4 金花茶各萃取部位对 CNE-1 细胞增殖的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/mg·L ⁻¹	CNE-1		
		A	抑制率/%	IC ₅₀ /mg·L ⁻¹
对照	0.40% DMSO	1.601 ± 0.050	-	
正丁醇部位	200	0.012 ± 0.002 ³⁾	99.22	107.97
	150	0.157 ± 0.057 ²⁾	90.22	
	100	0.931 ± 0.029 ¹⁾	41.89	
	50	1.509 ± 0.023	6.7	
对照	0.30% DMSO	1.380 ± 0.033	-	
乙酸乙酯部位	300	0.059 ± 0.004 ³⁾	95.74	161.66
	200	0.494 ± 0.010 ²⁾	64.24	
	100	1.181 ± 0.037 ¹⁾	14.47	
	50	1.375 ± 0.015	0.4	
对照	0.2% DMSO	1.383 ± 0.051	-	
水层部位	150	0.016 ± 0.005 ³⁾	98.84	61.25
	100	0.028 ± 0.002 ³⁾	97.99	
	75	0.175 ± 0.019 ²⁾	87.33	
	50	1.167 ± 0.033 ¹⁾	15.64	
	25	1.375 ± 0.010	0.59	

表5 超高效液相色谱高分辨质谱联用分析色谱峰结构相关信息

No	t _R /min	m/z ([M-H] ⁻)	二级质谱主要离子 m/z([M-H] ⁻)	分子式	相对偏差 /mmu	名称
1	2.67	191.06	191.056 4	C ₇ H ₁₂ O ₆	1.365	(1R,3R,4R,5R)-1,3,4,5-tetrahydrocyclohexanecarboxylic acid
2	3.09	203.02	97.030 0, 141.019 7	C ₇ H ₈ O ₇	1.391	daucic acid
3	4.1	295.1	101.024 9,143.035 4	C ₁₁ H ₂₀ O ₉	1.281	二羟基-6-甲氧基-四氢-2H-吡喃-3-氧基-四氢-2H-吡喃-3,4,5-三醇
4	4.63	395.03	241.002 6	C ₉ H ₁₆ O ₁₇	-1.016	未知
5	5.08	395.03	241.002 5	C ₉ H ₁₆ O ₁₇	-1.076	未知
6	6.79	409.04	241.002 4	C ₉ H ₁₈ O ₁₇	-1.136	未知
7	8.04	439.06	241.002 4	C ₁₁ H ₂₀ O ₁₈	-1.171	未知
8	10.11	675.19	501.140 4,327.087 4	C ₃₂ H ₃₆ O ₁₆	1.398	未知
9	11.12	675.19	501.140 5,327.087 4	C ₃₂ H ₃₆ O ₁₆	1.578	未知
10	11.56	675.19	501.140 4,327.087 4	C ₃₂ H ₃₆ O ₁₆	1.338	未知
11	11.84	337.09	163.040 3	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	1.256	coumaroylquinic acid
12	12.59	675.19	501.140 6,327.087 5	C ₃₂ H ₃₆ O ₁₆	1.338	未知
13	13.00	675.19	501.140 4,327.087 4	C ₃₂ H ₃₆ O ₁₆	1.398	未知
14	14.24	675.19	501.140 2,327.087 2	C ₃₂ H ₃₆ O ₁₆	1.407	未知
15	14.93	593.17	447.114 5	C ₂₄ H ₃₄ O ₁₇	1.563	1,3,4-tri-O-acetyl- α -D-fructofuranosyl, 3,6-tri-O-acetyl- α -D-glucopyranoside
16a	15.54	575.16	413.108 9	C ₂₄ H ₃₂ O ₁₆	1.508	2S,3aR,4'S,5'S,6R,6'R,7R,7aS)-6,6'-bis [(acetyloxy) methyl] tetrahydro-4H,4'H-spiro [1,3-dioxolo [4,5-c] pyran-2,3'-pyran] -3a,4',5',7(6H)-tetrayl tetraacetate
16b	15.54	363.07	241.002 4	C ₁₀ H ₂₀ O ₁₄	-1.192	未知

续表 5

No	t_R /min	m/z ($[M-H]^-$)	二级质谱主要离子 m/z ($[M-H]^-$)	分子式	相对偏差 /mmu	名称
17	16.16	647.2	601.155 8	$C_{31}H_{36}O_{15}$	1.563	(2S,3R,4R,5R,6S)-2-(2S,3R,4S,5S,6R)-4,5-二羟基-2-(5-羟基-7-甲氧基-2-(4-甲氧苯基)-4-羰基-4H-色烯-6-基)-6-(羟甲基)-四氢-2H-吡喃-3-氧基)-4,5-二羟基-6-甲基-四氢-2H-吡喃-3-基乙酸酯
18	17.31	593.15	473.109 4	$C_{27}H_{30}O_{15}$	1.453	vitexin-7-glucoside
19	18.06	423.06	225.007 5	$C_{11}H_{20}O_{17}$	-1.066	未知
20	20.3	511.06	431.098 1,341.066 5	$C_{17}H_{20}O_{18}$	-1.081	未知
21	22.14	511.06	431.098 4	$C_{17}H_{20}O_{18}$	-0.901	未知
22	23.57	609.15	301.035 5	$C_{27}H_{30}O_{16}$	1.538	luteolin-7-diglucoside
23	25.14	755.2	285.040 6	$C_{33}H_{40}O_{20}$	1.549	7-O-β-D-glucopyranosyl-kaempferol-3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside
24	29.5	943.49	763.427 3,811.448 5	$C_{47}H_{76}O_{19}$	0.832	Ilexside II

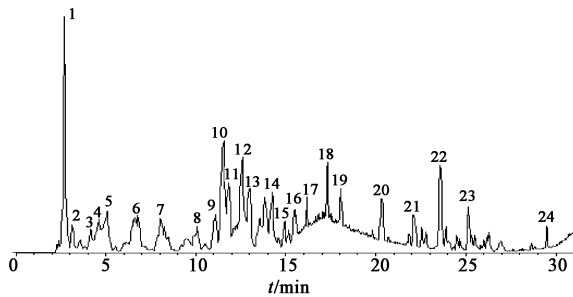


图 1 金花茶水层液质联用分析总离子流

[参考文献]

[1] 梁盛业,陆敏珠.中国金花茶栽培与开发利用[M].北京:中国林业出版社,2005;1.

[2] 傅立国.中国植物红皮书——稀有濒危植物(第一册)[M].北京:科学出版社,1992;525.

[3] Hisae Oku, Yuko Ogawa, Emiko Iwaoka, et al. Preventive effects of the extract of Kinka-cha, a folk tea, on a rat model of metabolic syndrome [J]. J Nat Med, 2011, 65 (3/4); 610.

[4] 黄燮才.金花茶开发利用概况及前景预测[J].中国中医药信息杂志,1994,1(6):10.

[5] 秦小明,宁恩创,李建强.金花茶食品资源的开发利用[J].广西热带农业,2005(3):20.

[6] 李翠云,段小娴,苏建家,等.金花茶对二乙基亚硝胺致大鼠肝癌前病变及肝癌细胞株作用的影响[J].广西医科大学学报,2007,24(5):660.

[7] 宁恩创,熊燕,韦璐,等.金花茶黄酮的分离及体外抗氧化活性研究[J].广西轻工业,2011,27(3):1.

[8] 黄永林,陈月圆,文永新,等.不同溶剂提取及初步纯化的金花茶叶提取物降血脂功能实验研究[J].时珍国医国药,2009,20(4):776.

[9] 司徒镇强,吴军正.细胞培养[M].修订版.西安:世界图书出版公司,2005;250.

[10] 陈俊,唐安洲,谢貌.苦参碱改构体 X 对人鼻咽癌 CNE1 细胞的凋亡诱导作用[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(17):266.

[11] 赵晶丽,史琳.银杏叶提取物对乳腺癌 MCF-7 细胞增殖凋亡及 Caspase-3 表达的影响[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(17):262.

[12] 甘盛,韩婷,刘华钢.液相色谱质谱串联法测定血清内消丸中马兜铃酸 A 含量[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(16):163.

[责任编辑 聂淑琴]

7404, CNE-1 的抑制作用,旨在寻找金花茶抗肿瘤的药理活性部位,为进一步的活性物质的追踪和分离提供理论和数据支持。结果显示金花茶各萃取部位在体外对 5 种肿瘤细胞均有不同程度的抑制作用,且呈剂量依赖关系;各萃取部位抗肿瘤活性有明显差别,依据各成分对不同细胞的 IC_{50} 可初步认为,金花茶各萃取成分对 CNE-1 细胞的选择作用最强,说明金花茶 3 个萃取成分对 5 种肿瘤细胞的抑制增殖作用有一定的选择性;而实验中各萃取部位对 5 种肿瘤细胞的细胞增殖抑制活性表现为:水相部位 > 正丁醇部位 > 乙酸乙酯部位。

实验还运用超高效液相色谱和高分辨质谱联用,对金花茶水层萃取部位的化学组成进行了初步分析,经过二级图谱解析及检索相关数据库,初步表征了其中的 24 个化学成分,初步鉴定了其中的 11 种成分;13 个物质虽未能初步鉴定,但亦对其分子量及分子式进行了初步的表征。该部分实验采用的液质联用方法旨在快速表征由多组分构成的复杂化学体系,能降低传统分离过程的盲目性,有助于提高活性化合物发现的效率。