

# 药用拟层孔菌子实体提取物的抗肿瘤活性研究

池梦怡, 贾力耕, 包海鹰\*

(吉林农业大学 中药材学院, 长春 130118)

**[摘要]** **目的:**测定药用拟层孔菌子实体的石油醚粗提取物、乙酸乙酯粗提取物和甲醇粗提取物的总三萜及总甾醇含量;研究 3 种粗提取物及从乙酸乙酯粗提取物中分离得到的三萜类单体化合物的体内抗肿瘤活性。探讨其抗肿瘤活性与总三萜和总甾醇含量的关系。**方法:**通过分光光度法测定 3 种粗提取物的总三萜和总甾醇含量。通过 H22 荷瘤小鼠移植模型的体内抗肿瘤实验,观察该真菌子实体的石油醚提取物、乙酸乙酯提取物、甲醇提取物及三萜类单体化合物的抗肿瘤活性进行评价。**结果:**乙酸乙酯粗提取物中总三萜含量和总甾醇含量最高,石油醚次之。从乙酸乙酯层分离得到 5 个单体化合物:去氢齿孔酮酸,3-酮基-去氢硫色多孔菌酸,去氢齿孔酸,阿里红酸 A 和阿里红酸 C。在体内实验中,乙酸乙酯层抑瘤率效果最佳,当浓度达到 1 000 mg·kg<sup>-1</sup> 时抑瘤率为 64.65%,与阳性药 5-氟尿嘧啶(5-Fu)的抑瘤率(59.98%)接近,并且免疫器官指数均有一定的变化。单体化合物 2(3-酮基-去氢硫色多孔菌酸)抑瘤率为 75.13%,与阳性药物 CTX(81.76%)抑瘤率接近,比阳性药 5-Fu 高。其余 4 种单体化合物也有一定作用效果。**结论:**乙酸乙酯提取物及这 5 种单体化合物能有效抑制肿瘤的生长,并且对机体的免疫力有较好的促进作用,该 5 种单体化合物是药用拟层孔菌子实体的抗肿瘤活性成分,药用拟层孔菌的抗肿瘤活性成分可能是三萜类化合物。

**[关键词]** 药用拟层孔菌;总三萜;体内抗肿瘤;抑瘤率

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)02-0126-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.2016020126

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20151210.1444.024.html>

**[网络出版时间]** 2015-12-10 14:44

## Anti-tumor Activity of Extracts from Fruiting Body of *Fomitopsis officinalis*

CHI Meng-yi, JIA Li-geng, BAO Hai-ying\*

(College of Chinese Medicine Materials of Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

**[Abstract]** **Objective:** To determine the total triterpenes and total sterol content in petroleum ether extract, EtOAc extract, and MeOH extract of the fruiting body of *Fomitopsis officinalis*, and study the anti-tumor activity of three kinds of crude extracts and triterpene monomer compounds isolated from EtOAc extract, and explore the relationship between its anti-tumor activity and the content of total triterpenes and total sterol content. **Method:** Total terpene and sterol content in three crude extracts was determined by spectrophotometric method. Based on the *in vivo* anti-tumor experiment in H22 tumor-burdened transplantation mice models, the petroleum ether extract, EtOAc extract, and MeOH extract of the fruiting body as well as triterpene monomer compounds were observed and evaluated for anti-tumor activity. **Result:** The total triterpenes and total sterol content is the highest in EtOAc extract, followed by petroleum ether extract. Five monomer compounds were isolated and obtained from EtOAc extract; dehydroeburonic acid, 3-keto-dehydrosulphurenic acid, dehydroeburicoic acid, fomlactone A and fomlactone C. In the *in vivo* experiment, EtOAc fraction has the best anti-tumor activity, and when its concentration reached 1 000 mg·kg<sup>-1</sup>, its anti-tumor rate was 64.65%, closed to the positive drug 5-fluorouracil (anti-tumor

**[收稿日期]** 20150204(009)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(31270088)

**[第一作者]** 池梦怡, 硕士, 从事菌物研究工作, Tel:15948329270, E-mail:chimengyi@qq.com

**[通讯作者]** \*包海鹰, 博士, 教授, 从事中药学及菌物学工作, Tel:13644413168, E-mail:baohaiying2008@126.com

rate of 59.98% ), and the immune organ indexes also had some changes. The anti-tumor rate of compound **2** (3-keto-dehydrosulfurenic acid) was 75.13% , closed to the positive drug CTX ( anti-tumor rate of 81.76% ) , higher than positive drug 5-Fu. The other four kinds of monomer compounds all had a certain effect on the tumor.

**Conclusion:** EtOAc extract and five monomer compounds can effectively inhibit tumor growth, and can improve the body's immune system. These five monomer compounds are the effective anti-tumor ingredients of the fruiting body of *F. officinalis*, and the active anti-tumor ingredient may be triterpene compounds in *F. officinalis*.

[ **Key words** ] *Fomitopsis officinalis*; total triterpenes; anti-tumor activity *in vivo*; anti-tumor rate

药用拟层孔菌又叫苦白蹄,在新疆被称为“阿里红”。其拉丁学名为 *Fomitopsis officinalis* (Vill. ex Fr.) Bondartsev & Singer, 属非褶菌目、多孔菌科、拟层孔菌属。文献报道,药用拟层孔菌具有抗肿瘤<sup>[1-2]</sup>、清除自由基<sup>[3]</sup>及增强免疫<sup>[4]</sup>等作用。现已报道的关于药用拟层孔菌的实验研究多为其提取工艺和抗氧化功能,但在国内外关于药用拟层孔菌子实体提取物的抗肿瘤实验详细报道较少。本研究旨在前人研究工作的基础上,结合体内抗 H22 荷瘤鼠实体瘤实验对其子实体的各种提取物开展抗肿瘤活性实验研究。

## 1 材料

**1.1 动物及细胞株** 无特定病原体级 (SPF 级) 雌性昆明种小鼠,合格证号 SCXK (吉) 2011-0003, 110 只,体重为 18~22 g,购自吉林大学实验动物中心,每个受试药组及模型组均 10 只;瘤株为小鼠肝癌 H22 腹水瘤,购自吉林省肿瘤医院。

**1.2 药物及试剂** 药用拟层孔菌子实体采自内蒙古阿尔山,由吉林农业大学菌物研究所图力古尔教授鉴定为 *Fomitopsis officinalis*。受试药物(粗提物)为药用拟层孔菌 *F. officinalis* 子实体石油醚、乙酸乙酯和甲醇提取物,三者剂量均设 1 000 mg·kg<sup>-1</sup> 和 500 mg·kg<sup>-1</sup> 2 种。受试药物(单体)为从乙酸乙酯粗提物中分离纯化出的 5 种单体化合物:化合物 **1** 和化合物 **2** 设为 6 mg·kg<sup>-1</sup> 和 3 mg·kg<sup>-1</sup> 2 种;化合物 **3**, 化合物 **4** 及化合物 **5** 三者剂量均设 15, 7.5 mg·kg<sup>-1</sup> 2 种。生理盐水阳性药为环磷酰胺 (CTX, 20 mg·kg<sup>-1</sup>, 山西普德药业有限公司,批号 12061525), 5-氟尿嘧啶 (20 mg·kg<sup>-1</sup>, 购于吉林省肿瘤医院,批号 201207206), 模型组药为生理盐水 (0.02 mL·g<sup>-1</sup>) (长春豪邦药业有限公司,批号 20120801)。小鼠白细胞介素-2 (IL-2) 试剂盒 (美国 R&G 公司,批号 1208170410)。

对照品 3-酮基-去氢硫色多孔菌酸及麦角甾醇均为自制,经<sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR 及高效液相检测,纯度达 97% 以上。

**1.3 仪器** DT200 型电子计数天平 (金羊天平仪器厂), XDS-1B 型显微镜 (重庆光学仪器厂), 美国 Multiskan FC 型酶标仪 (Multiskan), ST40 型离心机 (美国 Thermo Sorvall 公司), AU220 型电子分析天平 (日本岛津公司), Synergy HT 型多功能酶标仪 (美国 Bio-Tek 公司)。

## 2 方法

**2.1 提取分离** 干燥的药用拟层孔菌子实体,粉碎成粗粉,用连续回流提取器,采取梯度提取的方法,依次用石油醚 30℃, 乙酸乙酯 60℃, 甲醇 60℃ 回流提取 3 次,每次 8 h, 合并提取液,减压浓缩,分别得到药用拟层孔菌石油醚层提取物、乙酸乙酯层提取物、甲醇层提取物。乙酸乙酯提取物经硅胶柱吸附,流动相为石油醚-丙酮 (150:1~1:1) 进行梯度洗脱,得到化合物 **1** (5:1, 9 mg/1 000 g) 以及 1-1, 1-2, 1-3, 1-4, 1-5 5 个组分; 1-3 (25:1) 经硅胶柱吸附,以三氯甲烷-甲醇 (100:1-10:1) 溶剂洗脱得到 2-1, 2-2, 2-3, 2-4, 2-5 5 个组分; 组分 2-3 经硅胶柱吸附,三氯甲烷-甲醇 (150:1-80:1), 得化合物 **2** (三氯甲烷-甲醇 150:1, 336 mg·kg<sup>-1</sup>) 和 3-1, 3-1 以三氯甲烷-甲醇 (1:1) 经凝胶反复洗脱后,经三氯甲烷、甲醇反复重结晶得到化合物 **3** (125 mg·kg<sup>-1</sup>); 组分 2-4 经硅胶柱吸附,以三氯甲烷-甲醇 (150:1) 溶剂洗脱得到 3-2 经凝胶柱分离,以三氯甲烷-甲醇 (1:1) 溶剂洗脱后,经三氯甲烷、甲醇反复重结晶后得到化合物 **4** (136 mg·kg<sup>-1</sup>); 组分 1~4 经 2 次硅胶柱吸附 (三氯甲烷-甲醇 75~50:1), 以三氯甲烷-甲醇 (1:1) 为流动相使用凝胶柱纯化,经三氯甲烷、甲醇反复重结晶后得到化合物 **5** (219 mg·kg<sup>-1</sup>)。经鉴定化合物 **1** 为去氢齿孔酮酸、化合物 **2** 为 3-酮基-去氢硫色多孔菌酸、化合物 **3** 是去氢齿孔酸、化合物 **4** 是阿里红酸 A、化合物 **5** 为阿里红酸 C。这 5 个化合物的结构式见图 1。

**2.2 粗提物总三萜及总皂苷含量测定**

**2.2.1 总三萜的测定**<sup>[5]</sup> 对照品溶液的制备:精密称取干燥恒重的 3-酮基-去氢硫色多孔菌酸对照

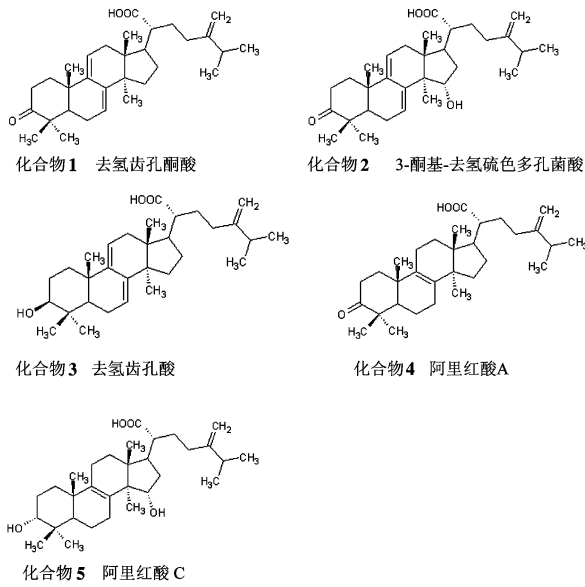


图 1 药用拟层孔菌提取分离的 5 种化合物

Fig. 1 Five compounds of extraction and separation from *Fomitopsis officinalis* ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

品适量, 加甲醇制成  $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的对照品溶液。供试品溶液的制备: 取药用拟层孔菌子实体石油醚提取物粉末、乙酸乙酯提取物粉末、甲醇提取物粉末各 40 mg, 分别溶于 25 mL 甲醇中。标准曲线的制备: 精密吸取对照品溶液 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 各精密加入 5% 香草醛-冰醋酸 0.5 mL, 高氯酸 1.0 mL, 混匀, 密塞, 置  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  水浴中恒温加热 25 min, 取出, 立即置冰水浴中冷却, 加入冰醋酸稀释至刻度, 摇匀。以相应试剂为空白, 在 554 nm 波长处测吸光度  $A$ , 以  $A$  为纵坐标, 质量浓度 ( $C$ ) 为横坐标, 绘制标准曲线。标准曲线方程为  $A = 1.5100C + 0.0651$ ,  $r = 0.9960$ , 线性关系良好。

**2.2.2 总甾醇的测定**<sup>[6]</sup> 对照品溶液的制备: 精密称取干燥恒重的麦角甾醇对照品适量, 加三氯甲烷制成  $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的对照品溶液。供试品溶液的制备: 取药用拟层孔菌子实体石油醚提取物粉末、乙酸乙酯提取物粉末、甲醇提取物粉末各 40 mg, 分别溶于 25 mL 三氯甲烷中。标准曲线的制备: 精密吸取对照品溶液 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 各精密加入 5% 香草醛-冰醋酸 0.5 mL, 高氯

酸 1.0 mL, 混匀, 密塞, 置  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  水浴中恒温加热 30 min, 取出, 立即置冰水浴中冷却, 加入冰醋酸稀释至刻度, 摇匀。以相应试剂为空白, 在 542 nm 波长处测  $A$ , 以  $A$  为纵坐标,  $C$  为横坐标, 绘制标准曲线。标准曲线方程为  $A = 42.250C + 0.0407$ ,  $r = 0.9987$ , 线性关系良好。

**2.3 体内抗肿瘤活性研究**<sup>[7]</sup> 接种: 将接种 7 d 且生长良好的腹水型小鼠脱颈椎处死后, 注射 5 mL 生理盐水于腹腔中, 将腹腔瘤液与生理盐水混合均匀, 然后无菌抽取腹水, 将此腹水用生理盐水稀释制成密度为  $1 \times 10^6/\text{mL}$  的细胞悬液。将细胞悬液按 0.1 mL 每只小鼠注射于 100 只小鼠左下腹股沟处。

**2.4 分组及给药方法** 将接种瘤细胞后的 100 只小鼠随机分为 10 组, 每组 10 只, 分别为环磷酰胺组、模型组和实验组; 除以上 10 组外, 再设立 1 组未接种瘤细胞的小鼠作为正常组, 正常组不给药。接种 24 h 后对小鼠给药: 环磷酰胺组按  $0.02 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  腹腔注射环磷酰胺 ( $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 隔天给药; 模型组每天按  $0.02 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$  灌胃给生理盐水, 其余 5 组均按每天  $0.02 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  灌胃给药, 连续给药 10 d 后禁食 24 h。第 11 天将小鼠脱颈椎处死, 解剖, 取胸腺、脾脏、瘤块, 分别称重并记录, 计算胸腺指数、脾指数、各组平均瘤重及抑瘤率。IL-2 含量计算 使用标准曲线绘制软件 (Curve Expert 1.3) 依对照品  $A$  值绘出标准曲线。并由标准曲线计算各样品的 IL-2 含量。

$$\text{肿瘤抑制率} = (\text{模型组平均瘤重} - \text{给药组平均瘤重}) / \text{模型组平均瘤重} \times 100\%$$

$$\text{脏器指数} = \text{脏器质量}(\text{mg}) / \text{体重}(\text{g})$$

**2.5 统计学分析** 采用统计软件 SPSS 18.0 进行分析, 实验结果均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 单因素方差分析和  $t$  检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 粗提物总三萜总甾醇含量** 三萜类成分含量最高的为乙酸乙酯粗提物, 可达 53.64%; 石油醚提取物中也含有较多的三萜类成分, 含量为 31.69%; 而甲醇提取物中三萜类成分较少, 仅含有 10.33%。3 种提取物中甾醇类成分含量均很少, 乙酸乙酯粗提物含量最高, 为 1.38%。见表 1。

表 1 药用拟层孔菌各粗提物总三萜及总甾醇含量

Table 1 Total triterpenes and total sterol content of crude extract in *Fomitopsis officinalis*

组别	总三萜质量分数/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	三萜类成分/%	总甾醇质量分数/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	甾醇类成分/%
石油醚提取物	0.633 7	31.69	0.021 5	1.08
乙酸乙酯提取物	1.072 8	53.64	0.027 6	1.38
甲醇提取物	0.206 6	10.33	0.008 7	0.44

注: 质量浓度为  $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$

**3.2 对 H22 荷瘤小鼠的抑瘤率及免疫器官的影响** 除甲醇高剂量组外各层提取物对肿瘤均具有一定的抑制作用,乙酸乙酯层抑瘤率效果最佳,其高剂量组(1 000 mg·kg<sup>-1</sup>)抑瘤率达 64.65%,与阳性药 5-氟尿嘧啶的抑瘤率(59.98%)接近。荷瘤小鼠与正常小鼠相比较脾脏指数、胸腺指数均明显升高;经药物作用后,各给药组小鼠与模型组小鼠相较脾脏指数和胸腺指数呈不同程度的降低和增高。脾脏指数:正常组和乙酸乙酯低剂量组的脾脏指数、胸腺指数均低于模型组( $P < 0.01$ );石油醚低剂量组和甲醇低剂量组脾脏指数、胸腺指数低于模型组( $P < 0.05$ );CTX 组和各层高剂量组与模型组相比无差异;模型组和 CTX 组的脾脏指数高于正常组( $P < 0.01$ )。化合物 1,2,3 的高剂量组及化合物 5,对肿瘤均具有一定的抑制作用(抑瘤率 > 30%)。化合

物 5 抑瘤效果最佳;化合物 2 高剂量组次之,与阳性药 CTX(81.76%)抑瘤率接近,高于阳性药 5-氟尿嘧啶抑瘤率(59.98%)。各化合物作用效果由大到小为:化合物 5 > 化合物 2 > 化合物 3 > 化合物 1 > 化合物 4。对比各化合物的结构,推测 15 位及 3 位的 -OH 为活性基团,化学结构中 2 个位置均有 -OH 基团的化合物作用效果最好,其作用效果由大到小的顺序为:15-OH,3-OH > 15-OH > 3-OH;通过对比化合物 1 和化合物 4 的结构,推测共轭双键数也是影响化合物作用效果的因素之一。造成这种结果的原因可能是由于结构中存在的亲水性基团或共轭基团有利于其被机体吸收。与模型组比较,各药物作用后,除化合物 1 低剂量组、化合物 2 低剂量组和化合物 4 低剂量组外,脾指数均有所下降;与正常组相较,化合物 2,5 高剂量组可使胸腺指数有所增大。见表 2。

表 2 药用拟层孔菌提取物对 H22 荷瘤小鼠的抑瘤率及免疫器官的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 2 Effects of *Fomitopsis officinalis* on inhibitory rate and immune organs in H22 hepatoma-bearing mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	瘤重/g	抑瘤率/%	胸腺指数/mg·kg <sup>-1</sup>	脾指数/mg·kg <sup>-1</sup>
正常	-	-	-	3.96 ± 0.89	4.12 ± 0.78 <sup>2)</sup>
模型	-	1.08 ± 0.57	-	5.20 ± 0.60	6.22 ± 0.84 <sup>3)</sup>
CTX	20	0.20 ± 0.07 <sup>2)</sup>	81.76	4.01 ± 0.84	6.02 ± 1.66
5-氟尿嘧啶	20	0.44 ± 0.20 <sup>2)</sup>	59.98	4.17 ± 0.99	5.28 ± 0.54
石油醚层	1 000	0.38 ± 0.44	51.38	2.61 ± 1.40 <sup>2)</sup>	5.19 ± 0.74
	500	0.46 ± 0.30	41.13	1.32 ± 0.76 <sup>2)</sup>	4.45 ± 2.12 <sup>1)</sup>
乙酸乙酯层	1 000	0.38 ± 0.18 <sup>2)</sup>	64.65	3.76 ± 1.48	5.12 ± 1.80
	500	0.50 ± 0.34 <sup>1)</sup>	54.14	3.09 ± 0.57	4.42 ± 0.73 <sup>2)</sup>
甲醇层	1 000	0.37 ± 0.18	53.20	1.97 ± 1.32 <sup>2)</sup>	5.34 ± 1.70
	500	0.60 ± 0.30 <sup>1)</sup>	23.78	2.51 ± 1.47 <sup>2)</sup>	4.36 ± 0.79 <sup>2)</sup>
化合物 1	6	0.54 ± 0.04 <sup>2)</sup>	47.73	3.12 ± 1.12 <sup>2)</sup>	4.85 ± 0.79
	3	0.82 ± 0.02	24.85	3.24 ± 0.37 <sup>1)</sup>	6.24 ± 1.58
化合物 2	6	0.34 ± 0.24 <sup>2)</sup>	68.58	4.01 ± 0.48	5.00 ± 0.86
	3	0.80 ± 0.72	25.83	3.24 ± 0.61 <sup>1)</sup>	6.89 ± 1.00
化合物 3	15	0.50 ± 0.23 <sup>2)</sup>	53.58	3.14 ± 0.70 <sup>2)</sup>	5.82 ± 1.10
	7.5	0.83 ± 0.77	22.96	3.07 ± 0.83 <sup>2)</sup>	4.80 ± 0.84 <sup>1)</sup>
化合物 4	15	0.99 ± 0.62	8.19	3.74 ± 0.66	5.27 ± 1.49
	7.5	0.93 ± 0.84	13.90	2.84 ± 0.85 <sup>2)</sup>	7.41 ± 2.39 <sup>2)</sup>
化合物 5	15	0.27 ± 0.19 <sup>2)</sup>	75.13	4.04 ± 0.68	4.44 ± 1.20 <sup>1)</sup>
	7.5	0.45 ± 0.19 <sup>2)</sup>	58.39	3.07 ± 0.97 <sup>2)</sup>	5.74 ± 1.56

注:与模型组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ ;与正常组比较<sup>3)</sup> $P < 0.01$ (表 3 同)。

**3.3 对 H22 荷瘤小鼠血清中 IL-2 的影响** 与模型组比较,正常和化合物 2 具有极显著性差异( $P < 0.01$ ),其余均无差异;与正常相比较,除 CTX 组和化合物 1 及化合物 3 低剂量组外均有极显著性差异

( $P < 0.01$ )。对比各化合物结构,推测 15 位 -OH 为促进 IL-2 合成的活性基团,对比化合物 5,化合物 4 及化合物 3 的结构,推测 3 位 -OH 以及 8,9 位双键也具有一定促进 IL-2 合成作用。见表 3。

表 3 药用拟层孔菌提取物对 H22 荷瘤小鼠血清中 IL-2 的影响  
( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 3 Effects of *Fomitopsis officinalis* on IL-2 in H22 hepatoma-bearing mice serum ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	A	IL-2/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
正常	-	0.41 ± 0.03	30.12
模型	-	0.56 ± 0.03	41.96 <sup>3)</sup>
CTX	20	0.54 ± 0.06	36.73
5-Fu	20	0.59 ± 0.02	47.40
化合物 1	6	0.61 ± 0.02	51.04
	3	0.52 ± 0.03	37.54
化合物 2	6	0.74 ± 0.01	63.34 <sup>2)</sup>
	3	0.68 ± 0.02	56.60
化合物 3	15	0.64 ± 0.03	53.38
	7.5	0.52 ± 0.03	39.96
化合物 4	15	0.67 ± 0.02	56.15
	7.5	0.68 ± 0.02	57.63
化合物 5	15	0.68 ± 0.03	57.24
	7.5	0.63 ± 0.01	52.06

#### 4 讨论

本文采用不同极性试剂依次对药用拟层孔菌子实体进行提取后,得到石油醚粗提物、乙酸乙酯粗提物、甲醇粗提物,并对乙酸乙酯粗提物进行进一步的提取分离以得到单体化合物。对 3 种粗提物采用分光光度法测得其总三萜含量及总甾醇含量。结果表明,总三萜含量最高的为乙酸乙酯粗提物,含量由大到小依次为:乙酸乙酯粗提物(53.64%) > 石油醚粗提物(31.69%) > 甲醇粗提物(10.33%)。3 种提取物中甾醇类成分含量均很少,其中乙酸乙酯粗提物含量最高(1.38%)。

通过体内抗 H22 荷瘤鼠实体瘤实验对从药用拟层孔菌中分离出的 3 种粗提物(石油醚提取物、乙酸乙酯提取物和甲醇提取物)以及 5 种单体化合物(去氢齿孔酮酸,3-酮基-去氢硫色多孔菌酸,去氢齿孔酸,阿里红酸 A,阿里红酸 C)进行抗肿瘤活性研究。结果表明,各层提取物及各单体化合物对肿瘤均具有一定的抑制作用,抑瘤率均大于 30%。其中,粗提物中乙酸乙酯层抑瘤效果最佳,其高剂量组(1 000 mg·kg<sup>-1</sup>)抑瘤率高达 64.65%,与阳性药 5-Fu 的抑瘤率(59.98%)接近;乙酸乙酯层低剂量组(500 mg·kg<sup>-1</sup>)亦有较好的抑制作用,其抑制率为 54.14%。

本实验使用的单体化合物均来自于乙酸乙酯

层,均为羊毛甾烷型四环三萜。在单体化合物中,阿里红酸 C 高剂量组抑瘤率效果最佳,其高剂量组(15 mg·kg<sup>-1</sup>)抑制率为 75.13%,与阳性药 CTX 的抑瘤率(81.76%)接近,较阳性药物 5-Fu(59.98%)高,其低剂量(7.5 mg·kg<sup>-1</sup>)亦有较好的肿瘤抑制率,抑瘤率高达 58.39%,与阳性药 5-Fu(59.98%)接近。各单体体内抑瘤率从高到低顺序为:阿里红酸 C、3-酮基-去氢硫色多孔菌酸、去氢齿孔酮酸、去氢齿孔酸和阿里红酸 A,其中阿里红酸 A 抗肿瘤作用不明显。

IL-2 的抗肿瘤效应主要是通过诱导和激活免疫活性细胞 NK,CTL,LAK 等产生杀肿瘤效应的,恶性肿瘤病人体内的 IL-2 水平低,以此为基础的免疫活性细胞不能被诱导和增殖,造成免疫监视功能低下,肿瘤细胞得以逃逸<sup>[6]</sup>。故血液中含有较高的 IL-2 含量,表明机体具有一定的对抗肿瘤细胞能力。本文以小鼠脾脏指数、胸腺指数和 IL-2 含量等作为免疫指标对这些活性组分及单体化合物进行研究并讨论其对免疫系统的影响。胸腺和脾脏为机体主要免疫器官,胸腺指数和脾指数升高说明 T 和 B 细胞数目增加,免疫作用增加。IL-2 对肿瘤细胞无直接细胞毒作用,通过调节机体的免疫系统发挥抗肿瘤效应<sup>[7-9]</sup>。与模型组比较,药用拟层孔菌各层提取物均可使免疫器官指数有所改变,还可不同程度的升高肿瘤小鼠的 IL-2 水平。各层提取物给药组与正常组相较,脾指数有不同程度的升高,而胸腺指数有所下降,说明各层提取物可增加 B 淋巴细胞转化率,提高体液免疫反应。与正常组比较,4 种单体化合物均可使脾指数增加;与正常组相较,化合物 2,5 高剂量组可使胸腺指数有所增大。实验结果说明给药组小鼠 B 细胞转化率有所增加,体液免疫反应得到提高,化合物 2,5 高剂量可使 T 细胞转化率增大,细胞免疫得到增强。由此说明,这 4 种单体化合物不但能有效抑制肿瘤的生长,而且对机体的免疫力有较好的促进作用。进而证明这 4 种单体化合物为药用拟层孔菌中的有效抗肿瘤活性成分。

本文结合实验结果对供试样品进行了简单的构效关系讨论。实验所用单体化合物均为羊毛甾烷型四环三萜类化合物,推测 15 位及 3 位的-OH 为活性基团,化学结构中两个位置均有-OH 基团的化合物作用效果最好,其作用效果由大到小的顺序为:15-OH,3-OH > 15-OH > 3-OH;通过对比各化合物结构,推测共轭双键数也是影响化合物作用效果的因素之一。造成这种结果的原因可能是由于结构中存在的

亲水性基团或共轭基团有利于其被机体吸收。

经综合分析确定乙酸乙酯层粗提物为药用拟层孔菌有效组分,从药用拟层孔菌乙酸乙酯提取物中得到的这4种单体化合物为药用拟层孔菌中的有效抗肿瘤活性成分。药用拟层孔菌子实体的抗肿瘤活性成分为三萜类成分。

[参考文献]

[1] 郭淑英,冯波,孙雪松,等. 阿里红多糖的提取工艺研究及抗肿瘤作用初探[J]. 中国卫生检验杂志,2010,20(9):2191-2194.

[2] 吴霞. 维吾尔药阿里红、阿育魏实的化学成分及生物活性研究[D]. 北京:北京协和医院中国医学科学院,2005.

[3] 依巴代提·托乎提,依努尔·吐尔逊,苏巴提·吐尔地,等. 阿里红多糖对氧自由基的清除作用[J]. 新疆医科大学学报,2006,29(1):15-18.

[4] 丛媛媛,阿地力·阿不力孜,帕丽达·阿不力孜,等. 维吾尔药阿里红多糖的提取及免疫活性研究[J]. 中国现代应用药学,2010,27(7):269-271.

[5] 吴霞,徐硕,罗容,等. 阿里红中总三萜酸及去氢硫色多孔菌酸的测定[J]. 中草药,2010,41(9):

1546-1548.

[6] 盛卫国,叶剑锋,徐勇,等. 紫外-可见分光光度法测定普乐安片中总甾醇含量[J]. 中国医药导报,2012,23(9):8-13.

[7] 石利春. 刺榆不同部位质量评价及药理活性研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学,2011.

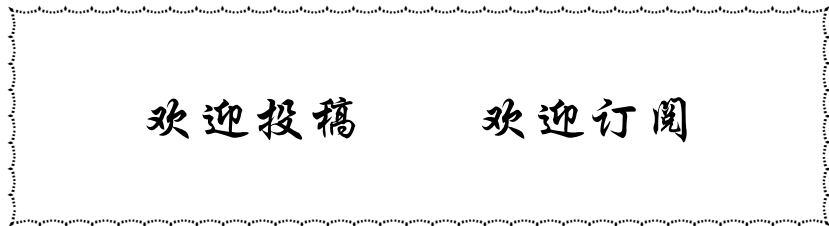
[8] 赵定亮,单凤平. 白细胞介素-2最新研究进展[J]. 微生物学杂志,2013,33(4):77-83.

[9] Kim H P, Kim B G, Lettero J, et al. Smad-dependent cooperativeregulation of interleukin 2 receptoralpha chain gene expression by T cell receptor and transforming growth factorbeta [J]. Biological Chemistry, 2005, 280:34042-34047.

[10] Long M, Adler A J. Cutting edge: Paracrine, but not autocrine, IL-2 signaling is sustained during early antiviral CD4 T cell response[J]. Immuno,2006,177:4257-4261.

[11] Zorn E, Nelson E A, Mohseni M, et al. IL-2 regulates FOXP3 expression in human CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells through a STAT-dependentmechanism and induces the expansion of these cells *in vivo* [J]. Blood, 2006, 108:1571-1579.

[责任编辑 周冰冰]



欢迎投稿

欢迎订阅