

# 明党参根皮中 5 种呋喃香豆素类成分的体外抗肿瘤活性

王萌, 陈建伟\*, 李祥

(南京中医药大学药学院, 南京 210046)

**[摘要]** 目的: 研究明党参根皮中异欧前胡素、欧前胡素、花椒毒酚、珊瑚菜内酯、5-羟基-8-甲氧基补骨脂素 5 种呋喃香豆素类成分的体外活性。方法: 选取人肝癌细胞株 SMMC-7721, HepG2, 人肺癌细胞株 A-549, 人胃癌细胞株 MKN-45, 人宫颈癌细胞株 HeLa, 人乳腺癌细胞株 MCF-7, MDA-MB-2317 种肿瘤细胞。以  $5 \times 10^4$  个/mL 的细胞密度接种于 96 孔板, 给予不同浓度的药物后培养 72 h, 采用 MTT 法观察 5 种成分对各细胞活性的影响。结果: 5 种呋喃香豆素对 7 种肿瘤细胞均表现出不同程度的增殖抑制作用,  $IC_{50}$  在  $0.30 \sim 17.23 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  之间, 其中异欧前胡素效果最显著,  $IC_{50}$  从  $0.39 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  到  $4.11 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。结论: 明党参根皮中 5 种呋喃香豆素类成分具有明显的抗肿瘤活性。

**[关键词]** 明党参根皮; 呋喃香豆素; 肿瘤细胞; 抑制作用

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)06-0203-03

## Study on Antitumor Activity of Five Furanocoumarins from the Root Bark of *Changium myrnioides* in vitro

WANG Meng, CHEN Jian-wei\*, LI Xiang

(College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the *in vitro* activity of five furanocoumarins from the root bark of *Changium myrnioides* Wolff. isoimperatorin, imperatorin, xanthotoxol, phellopterin and 5-hydroxyl-8-methoxy-psoralen. **Method:** The antitumor effect against human liver cancer (SMMC-7721 and HepG2), human lung cancer (A549), human gastric cancer (MKN-45), human uterine cervix cancer (Hela) and human breast cancer

**[收稿日期]** 20110924(001)

**[基金项目]** 江苏高校优秀学科建设工程项目; 高等学校博士学科点专项科研基金(200803150009); 江苏省自然科学基金项目(BK2003107)

**[第一作者]** 王萌, 硕士研究生, 从事中药资源化学与利用研究, Tel: 13851845199, E-mail: wmax199@126.com

**[通讯作者]** \* 陈建伟, 教授, 博士生导师, 从事中药品质评价与中药生物技术研究, Tel: 025-85811695, E-mail: chenjw695@126.com

有效部位的药理筛选是本实验创新之处, 有学者将这种思路和方法应用于鼠尾藻多酚抗凝血活性物质筛选<sup>[6]</sup>。通过不同截留相对分子质量的超滤膜将中药(复方)的化学成分截留成不同相对分子质量组段, 通过相关药理实验筛选得到活性组段, 进一步耦合其他分离纯化手段得到相关部位再进行活性筛选, 这样得到的有效部位群能更好的符合中医传统用药中的多成分多靶点、组方配伍、综合调节的特色, 具有一定的借鉴和推广作用。

- [2] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 261, 300.
- [3] 汤杰, 施春阳, 徐晗, 等. 板蓝根抑菌抗炎活性部位的评价 [J]. 中国医院药学杂志, 2003, 23(6): 327.
- [4] 高欣, 董堃瑾, 金鑫, 等. 板蓝根抗炎活性部位筛选的初步研究 [J]. 武警医学院学报, 2010, 19(9): 709.
- [5] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1664.
- [6] 魏玉西, 李敬, 汪靖超. 鼠尾藻多酚及其各组分的抗凝血活性筛选 [J]. 中国生化药物杂志, 2007, 28(4): 227.

### [参考文献]

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2010: 191.

[责任编辑 聂淑琴]

(MCF-7 and MDA-MB-231) was observed by MTT. **Result:** Five furanocoumarins had different inhibition on seven kinds of tumors.  $IC_{50}$  was from  $0.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  to  $17.23 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , especially isoimperatorin was most significantly effective.  $IC_{50}$  was from  $0.39 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  to  $4.11 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . **Conclusion:** These five furanocoumarins have obvious antitumor effect.

[**Key words**] root bark of *Changium smyrnioides*; furanocoumarin; tumor; inhibition

明党参是我国著名的特产药用植物之一,其刮去外皮的根为名贵药材,收载于《中国药典》,具有补气生津、润肺化痰、平肝和胃、消肿解毒的功效<sup>[1]</sup>。由于其野生资源逐年减少,1984 年被列为国家珍稀濒危保护植物<sup>[2]</sup>。目前国内外对明党参根、茎叶、果实的研究已有文献报道<sup>[3-5]</sup>,但对其加工废弃的根皮的研究尚未见报道。前期本课题组从明党参中分离得到呋喃香豆素类成分,并对其进行组织积累分布规律研究,发现其在根皮部的含量最高<sup>[6]</sup>。本课题首次从明党参根皮中分离并鉴定出异欧前胡素(isoimperatorin, 1)、欧前胡素(imperatorin, 2)、花椒毒酚(xanthotoxol, 3)、珊瑚菜内酯(phellopterin, 4)、5-羟基-8-甲氧基补骨脂素(5-hydroxyl-8-methoxy-psoralen, 5),5 种呋喃香豆素类成分(图 1)。为进一步探讨明党参根皮的药理活性,开发其药用价值,本文对这 5 种呋喃香豆素类成分进行体外抗肿瘤活性研究,从而对明党参废弃根皮的综合开发利用提供科学依据。

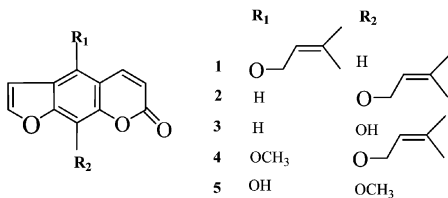


图 1 5 种呋喃香豆素结构式

### 1 材料

**1.1 药材** 明党参根皮样品:取明党参鲜品(采自江苏省句容市天王乡红山,经本校中药鉴定学教研室陈建伟教授鉴定为伞形科植物明党参 *Changium smyrnioides* Wolff 的新鲜根),置沸水中烫煮 3 ~ 5 min,捞出,冷水浸后,用竹片刮取外皮,晒干即得。

**1.2 细胞株** 人肝癌细胞株 SMMC-7721, HepG2, 人肺癌细胞株 A-549, 人胃癌细胞株 MKN-45, 人宫颈癌细胞株 Hela, 人乳腺癌细胞株 MCF-7, MDA-MB-231, 均为本校基础医学院保存细胞株。

**1.3 仪器与试剂** 超净工作台(苏州净化),倒置生物显微镜(日本 Olympus),酶标仪(美国 Beckman),CO<sub>2</sub> 孵育箱(日本 SANYO),DMEM 培养

基(美国 Gibco),新生牛血清(NBS,杭州四季青),双抗:青-链霉素(美国 Amresco),胰蛋白酶(美国 Gibco),磷酸盐缓冲液(PBS,自制),二甲基亚砜(DMSO,美国 Amresco),四甲基偶氮唑(MTT,美国 Biosharp),5-氟尿嘧啶(5-Fu,四川康益),柱层析硅胶(100 ~ 200 目,200 ~ 300 目)为青岛海洋化工厂产品,其他试剂均为分析纯。

### 2 方法

**2.1 供试样品的制备** 称取明党参干燥根皮 3 kg(研碎),萃取条件:温度 40 °C,压强 20 MPa,时间 3 h。夹带剂:95%乙醇,得到黏稠油状超临界流体提取液,室温下挥去乙醇,得提取物 321 g,加石油醚溶解,拌入硅胶(100 ~ 200 目)300 g,60 °C 吹干,以硅胶(200 ~ 300 目)进行常压柱层析,湿法装柱,依次用石油醚及不同比例的石油醚-乙酸乙酯,乙酸乙酯-甲醇混合溶剂梯度洗脱,每 500 mL 为一份,配合硅胶 G 薄层板或硅胶 G 高效薄层板薄层层析,观察荧光斑点或喷以 10% 硫酸乙醇液显色或置于碘蒸气缸中显色,相同流份合并。经过反复纯化、重结晶,分别得到化合物异欧前胡素、欧前胡素、花椒毒酚、珊瑚菜内酯、5-羟基-8-甲氧基补骨脂素。上述成分均经<sup>1</sup>H-NMR,<sup>13</sup>C-NMR,EI-MS 等方法确定结构。

5 种呋喃香豆素用超纯水配置成终质量浓度分别为 33.33,8.33,2.08,0.52,0.13,0.03 mg·L<sup>-1</sup> 的一系列溶液(DMSO 助溶)。阳性对照药为 5-Fu,配置成一系列相应浓度的溶液。

**2.2 细胞培养方法**<sup>[7]</sup> 细胞培养于含 10% 新生牛血清,1 × 10<sup>5</sup> U·L<sup>-1</sup> 青霉素,100 mg·L<sup>-1</sup> 链霉素的 DMEM 培养液内,37 °C 和 5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度培养箱内培养。3 ~ 4 d 传代 1 次。

**2.3 MTT 法测定细胞增殖的抑制率**<sup>[8]</sup> 将细胞培养至对数生长期和 80% 融合度后,以 0.25% 胰酶溶液消化,用含 10% 新生牛血清的相应培养液制成单细胞悬液,进行细胞计数后,将细胞密度调整为 5 × 10<sup>4</sup> 个/mL。以每孔 100 μL 的体积接种于 96 孔板,培养 24 h。将已贴壁的细胞分为 3 组:细胞对照组、实验药物组、阳性对照组。实验组加入不同浓度的药物,每孔 20 μL,细胞对照组加入等体积的超纯水

代替药物,阳性对照组加入等体积不同浓度的5-Fu代替药物。每个浓度设6个复孔,同时设空白对照组(仅加DMEM培养液,不含细胞),培养72 h。每孔加入 $5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  MTT溶液 $10\text{ }\mu\text{L}$ , $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 继续孵育4 h,弃去上清液,每孔加入 $150\text{ }\mu\text{L}$  DMSO,用涡旋振荡器振荡摇匀后,用酶标仪在 $490\text{ nm}$ 波长处测定各孔吸光度(A),并计算细胞增殖抑制率和药物半数抑制浓度( $\text{IC}_{50}$ )。 $\text{IC}_{50}$ 用Logit法计算。实验重复3次。

$$\text{抑制率} = (\text{细胞对照组} A - \text{实验药物组} A) / (\text{细胞对照组} A - \text{空白对照组} A) \times 100\%$$

### 3 结果

5种呋喃香豆素类成分对7种肿瘤细胞均表现出不同程度的增殖抑制作用, $\text{IC}_{50}$ 在 $0.30\sim 17.23\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,如表1所示。异欧前胡素、欧前胡素、花椒毒酚、珊瑚菜内酯对7种肿瘤细胞的生长有明显的抑制作用, $\text{IC}_{50}$ 均在 $10.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下,其中异欧前胡素效果最显著, $\text{IC}_{50}$ 从 $0.39\sim 4.11\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。5-羟

基-8-甲氧基补骨脂素对肿瘤细胞有较高的选择性,对SMMC-7721和A-549效果不明显,但是能够有效抑制其他肿瘤细胞的增殖。5种呋喃香豆素类成分均对HepG2作用最明显, $\text{IC}_{50}$ 均小于 $2.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

### 4 讨论

现代药理研究证明,呋喃香豆素具有抗病毒、抗菌、抗寄生虫、抗炎、抗氧化、抗光敏等多种药理活性。目前临床应用的甲氧沙林就是呋喃香豆素类药物的典型代表<sup>[9]</sup>。随着世界各国对呋喃香豆素类化合物研究的深入,其临床应用价值会更受关注。本研究首次从珍稀植物明党参根皮中分离得到5种呋喃香豆素类成分,并对其进行体外活性研究,发现它们均能不同程度地抑制肿瘤细胞生长,其中异欧前胡素效果最显著。本研究提示明党参加工废弃的根皮具有重要的药用价值和资源综合利用的前景,有必要对明党参根皮进行进一步体内抗肿瘤药理实验,验证其体内抗肿瘤活性。

表1 5种呋喃香豆素对肿瘤细胞株的 $\text{IC}_{50}$

$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

细胞株	$\text{IC}_{50}$					
	异欧前胡素	欧前胡素	花椒毒酚	珊瑚菜内酯	5-羟基-8-甲氧基补骨脂素	5-Fu
SMMC-7721	4.11	2.51	1.62	3.23	12.09	0.02
HepG2	0.84	1.06	1.36	1.72	0.30	0.01
A-549	2.38	2.18	6.72	9.94	17.23	0.32
MKN-45	2.31	1.60	6.85	8.85	1.75	0.11
Hela	1.72	5.38	3.72	3.37	0.49	0.14
MCF-7	0.39	0.58	4.21	5.99	2.25	0.22
MDA-MB-231	3.51	3.32	7.39	1.17	1.22	0.48

### [参考文献]

[1] 中国药典.一部[S].2011:195.  
 [2] 傅立国.中国植物红皮书-稀有濒危植物[M].北京:科学出版社,1991:532.  
 [3] 任东春,钱士辉,杨念云,等.明党参化学成分研究[J].中药材,2008,31(1):47.  
 [4] 陈建伟,李祥,武露凌,等.中国珍稀植物明党参嫩茎叶挥发油化学成分研究[J].天然产物研究与开发,2000,12(3):48.  
 [5] 顾源远,陈建伟,李祥,等.明党参果实超临界萃取部位化学成分研究[J].中华中医药学刊,2010,28

(1):75.

[6] 段志富,陈建伟,李祥,等.明党参不同部位珊瑚菜内酯的含量比较研究[J].中成药,2008,30(12):1851.  
 [7] 唐勇,何薇,王玉芝,等.鸡血藤黄酮类组分抗肿瘤活性研究[J].中国实验方剂学杂志,2007,13(2):51.  
 [8] 许金鹏,张慧慧,李朝品,等.原卟啉钠体外对人肝癌细胞株SMMC-7721细胞的抑制作用[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(18):152.  
 [9] 韩莎,杨尚军,白少岩.呋喃香豆素药理活性研究进展[J].齐鲁药事,2009,28(3):173.

[责任编辑 聂淑琴]