

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201910013

林琰, 王爱琴, 吕华伟, 等. 麻疯树种子二萜类化学成分的研究 [J]. 广西植物, 2021, 41(7): 1090–1096.

LIN Y, WANG AQ, LÜ HW, et al. Diterpenes from seeds of *Jatropha curcas* [J]. *Guihaia*, 2021, 41(7): 1090–1096.

# 麻疯树种子二萜类化学成分的研究

林 琰<sup>1</sup>, 王爱琴<sup>2</sup>, 吕华伟<sup>3</sup>, 张宏建<sup>4\*</sup>

(1. 浙江省立同德医院 药学部, 杭州 310012; 2. 杭州市中医院 药剂科, 杭州 310007; 3. 浙江工业大学 药学院, 杭州 310014; 4. 浙江省中医药研究院 药用资源研究中心, 杭州 310007)

**摘要:** 为深入了解麻疯树种子的化学成分,有必要对其具有生物活性的二萜类成分进行研究。该研究利用正相硅胶、ODS、制备液相等色谱分离方法,从麻疯树种子的乙醇提取物中共分离得到了6个二萜类化合物,并采用荧光偏振技术对化合物进行蛋白激酶C(PKC)抑制活性的测定。结果表明:根据化合物的理化性质、MS和NMR,并参考相关文献,这6个二萜类化合物分别鉴定为 $3\beta$ -acetoxy-12-methoxy-13-methyl-podocarpa-8,11,13-trien-7-one (**1**)、4-epi-dehydroabietic acid (**2**)、 $3\beta$ -hydroxy-19-*O*-acetyl-pimara-8(**9**)、15-dien-7-one (**3**)、Jatrophodione A (**4**)、14-*O*-acetyl-5,6-epoxy-(14*E*)-jatrogrossidentadion (**5**)、2-Hydroxy jatrophone (**6**)。其中,化合物**2**、**3**、**6**均为首次从该植物中分离得到,且化合物**2**对PKC $\beta$ 具有一定的抑制作用。

**关键词:** 麻疯树, 种子, 化学成分, 二萜, PKC $\beta$  抑制剂

中图分类号: Q946.91 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2021)07-1090-07

## Diterpenes from seeds of *Jatropha curcas*

LIN Yan<sup>1</sup>, WANG Aiqin<sup>2</sup>, LÜ Huawei<sup>3</sup>, ZHANG Hongjian<sup>4\*</sup>

(1. Department of Pharmacy, Tongde Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou 310012, China; 2. Department of Pharmacy, Hangzhou Hospital of Traditional Chinese Medical, Hangzhou 310007, China; 3. College of Pharmaceutical Science, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China; 4. Center for Medicinal Resources Research, Zhejiang Academy of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310007, China)

**Abstract:** In order to learn more about the chemical composition of *Jatropha curcas* seeds, the diterpenes from *J. curcas* seeds and their protein kinase C (PKC) inhibition activities was necessary to study. The compounds were isolated by silica gel, ODS and preparation HPLC. Six diterpenes were isolated from ethanol extraction of *J. curcas* seeds. The structures were identified as  $3\beta$ -acetoxy-12-methoxy-13-methyl-podocarpa-8, 11, 13-trien-7-one (**1**), 4-epi-dehydroabietic acid (**2**),  $3\beta$ -hydroxy-19-*O*-acetyl-pimara-8(**9**), 15-dien-7-one (**3**), Jatrophodione A (**4**), 14-*O*-acetyl-5,6-epoxy-(14*E*)-jatrogrossidentadion (**5**), 2-Hydroxy jatrophone (**6**) by physicochemical properties, MS, NMR and some reported data. Compounds **2**, **3** and **6** were isolated from *J. curcas* for the first time, and compound **2** showed inhibitory effect on PKC $\beta$ .

**Key words:** *Jatropha curcas*, seed, chemical constituents, diterpene, PKC $\beta$  inhibitor

收稿日期: 2020-02-05

基金项目: 浙江省科技计划项目(2016C31001); 浙江省中医药科技计划项目(2016ZQ001); 国家自然科学基金(81603255) [Supported by Zhejiang Science and Technology Program (2016C31001); Zhejiang Traditional Chinese Medicine Science and Technology Project (2016ZQ001); National Natural Science Foundation of China (81603255)].

作者简介: 林琰(1988-), 硕士, 主管中药师, 主要从事中药资源研究, (E-mail) linyan3827@163.com。

\*通信作者: 张宏建, 博士, 副研究员, 主要从事天然产物化学研究, (E-mail) jian871211@sina.com。

麻疯树 (*Jatropha curcas*) 为大戟科 (Euphorbiaceae) 麻疯树属 (*Jatropha*) 植物, 全株可入药, 主要用于体外性用药 (如关节挫伤、皮肤瘙痒和湿疹等) (江苏新医学学院, 2003)。麻疯树在我国广东、广西、云南等地均有分布, 近年来还进行了大量的人工种植和生物能源开发应用研究 (余德才和吴军, 2016)。麻疯树枝叶、根茎等部位的化学成分及活性萜类成分已有大量研究报道 (Igbiosa et al., 2011; Liu et al., 2015; Othman et al., 2015)。其中, 麻疯树中含有的二萜类成分, 主要包括巴豆烷、蓖麻烯和千金二萜烷等多种类型的二萜化合物都表现出较好的生物活性而吸引了众多科学家的目光 (Abdelgadir et al., 2013)。来源于麻疯树植物的麻疯树酚酮 (Theoduloz et al., 2009)、Curcusone B (Muangman et al., 2005)、麻疯树三酮及相关衍生物 (Torrance et al., 1976) 等先后发现对胃癌细胞、膀胱癌细胞和白血病细胞等多种肿瘤细胞都有很好的抑制作用。因此, 有望从麻疯树中发现更多具有高效低毒的抗肿瘤成分及相关先导化合物。

麻疯树种油可用作泻药和治疗皮肤病, 近代研究发现其具有显著的抗癌活性, 以及在生物能源和病虫害防治等方面都具有潜在的应用价值, 受到人们的广泛关注 (Openshaw, 2000)。目前, 针对麻疯树种子的化学成分研究主要集中在其挥发性成分, 包括脂肪酸、蛋白质等 (陈元雄等, 2006; 陈鹏等, 2007; 万辉等, 2010; 田庆, 2011)。但是对麻疯树种子中非挥发性成分, 特别是具有生物活性的二萜类成分的研究却少见报道 (Roach et al., 2012)。因此, 为深入了解麻疯树种子的化学成分, 进一步挖掘该植物的药用价值, 有必要开展麻疯树种子中具有生物活性的二萜类化学成分研究。

本研究选用麻疯树种子为材料, 对其中的二萜成分进行提取、分离和结构鉴定, 从其乙醇提取物中共分离鉴定了 6 个二萜类化合物, 其中化合物 **2**、**3**、**6** 均为首次从该植物中分离得到。通过建立的 PKC $\beta$  抑制剂高通量筛选模型对鉴定的化合物进行 PKC $\beta$  抑制活性测试, 发现化合物 **2** 对 PKC $\beta$  具有一定的抑制作用, 揭示该植物具有潜在的抗肿瘤活性。本研究结果进一步丰富了麻疯树种子的化学成分, 为该资源后续的开发与利用提供了科学基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料、试剂和仪器

1.1.1 材料 材料于 2016 年 10 月采自江苏沐阳, 经浙江省中医药研究院浦锦宝研究员鉴定为麻疯树 (*Jatropha curcas*) 的种子, 标本 (标本号为 ZHJ-20161001) 保存于浙江省中药新药研发重点实验室。麻疯树种子经过粉碎, 过 20 目筛, 得种仁粉末。

1.1.2 试剂 蛋白激酶 C 试剂盒 (南京卡米洛生物工程有限公司)、DMSO、MgCl<sub>2</sub>、CaCl<sub>2</sub> (国药集团化学试剂有限公司)、石油醚、乙酸乙酯、二氯甲烷、甲醇 (分析级和色谱级)、乙腈 (分析级和色谱级)、95% 乙醇 (成都市科隆化学品有限公司) 等。

1.1.3 仪器 NMR 谱由 Bruker AV-500MHz 核磁共振光谱仪测定, 以 TMS 作为内标; ESI-MS 由 Waters 质谱仪测定; 高效液相色谱采用 Agilent 1260 系统 (美国 Agilent 公司); 制备液相色谱采用 Waters 系统 (美国 Waters 公司); 硅胶和薄层色谱硅胶 (青岛海洋化工厂); 反相材料为 YMS RP-18 (日本 YMS 公司); Epoch 微孔板分光光度计 (美国伯腾仪器有限公司); 漩涡混合器 (美国 Vortex-Genie 2); 万分之一电子天平 (德国赛多利斯公司); 黑色 96 孔板 (美国赛默飞公司); 5810R 高速冷冻离心机 (德国艾本德公司)。

### 1.2 方法

1.2.1 提取与分离 取 5 kg 粉碎后备用的种仁, 用 95% 的乙醇 20 L 回流提取 3 次, 减压过滤, 浓缩滤液, 得麻疯树种油浸膏 (326 g), 为棕黄色油状液体。加蒸馏水混悬, 依次用石油醚、乙酸乙酯、甲醇萃取, 得到石油醚部位 (220 g)、乙酸乙酯部位 (38 g)、甲醇部位 (60 g)。取乙酸乙酯部位用二氯甲烷溶解, 进行正相硅胶柱层析分离, 二氯甲烷-甲醇 (100 : 0, 100 : 1, 10 : 1, 5 : 1, 2 : 1) 为流动相梯度洗脱, 经薄层检查, 合并相同流份, 浓缩得到 A-D 四个组分。其中 C 组分 (6.3 g) 经 ODS 中压柱色谱 (15% ~ 60% 乙腈/水) 得 C1-C4 组分, C2 组分经制备液相 (32% 乙腈/水) 分离得到化合物 **1** (15 mg); C3 组分经制备液相 (32% 乙腈/水) 分离得到化合物 **2** (8 mg) 和 **3** (13 mg)。D 组分 (10.0 g) 经 ODS 中压柱色谱 (15% ~ 50% 乙腈/水) 得 D1-D5 组分, D3 组分经制备液相 (30%

乙腈/水)分离得到化合物 **4**(12 mg)、**5**(10 mg)和 **6**(13 mg)。

**1.2.2 PKC 活性筛选** 根据试剂盒使用方法说明和文献报道(李礼,2009),取 PKC $\beta$  酶 16 pg  $\cdot$   $\mu$ L<sup>-1</sup> 2  $\mu$ L,ATP 20  $\mu$ mol,PKC 底物 0.2  $\mu$ mol 与不同浓度的化合物 **1-6**(4、8、16、32、64、128  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup>) 混合,同时设定对照,使反应体系终体积为 50  $\mu$ L,避光反应 90 min。取 50  $\mu$ L 反应终止液加入激酶反应体系终止反应,将孔中液体混合均匀,密封避光,室温孵育 1 h,在激发光 483 nm 和发射光 536 nm 波长下,检测各孔的偏振值(mp)。

PKC $\beta$  抑制率(%) = (药物处理组 mp - 无酶对照组 mp) / (无抗体对照组 mp - 无酶对照组 mp)  $\times$  100。

## 2 结构鉴定

化合物 **1** 白色粉末,ESI-MS  $m/z$ : 343.2 [M-H]<sup>-</sup>,分子式 C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>O<sub>4</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.81 (1H, s, H-14), 6.68 (1H, s, H-11), 4.57 (1H, dd,  $J$  = 11.5, 4.0 Hz, H-3), 3.88 (3H, s, OMe), 2.86 (1H, m, H-6), 2.43 (1H, m, H-1), 2.19 (1H, s, H-15), 2.08 (3H, s, OAc), 1.96 (1H, m, H-2), 1.94 (1H, dd,  $J$  = 11.5, 4.0 Hz, H-5), 1.84 (1H, m, H-2), 1.81 (1H, m, H-1), 1.26 (3H, s, H-20), 1.04 (3H, s, H-18), 0.94 (3H, s, H-19)。<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  201.2 (C, C-7), 166.2 (C, C-12), 160.6 (C, C-13), 133.5 (CH, C-14), 128.0 (C, C-8), 124.5 (C, C-9), 104.4 (CH, C-11), 83.4 (CH, C-3), 58.8 (CH<sub>3</sub>, OMe), 52.9 (CH, C-5), 42.4 (C, C-10), 39.9 (C, C-4), 39.7 (CH<sub>2</sub>, C-1), 38.7 (CH<sub>2</sub>, C-6), 32.4 (CH<sub>3</sub>, C-18), 24.4 (CH<sub>2</sub>, C-2), 25.0 (CH<sub>3</sub>, C-20), 23.1 (CH<sub>3</sub>, OAc), 17.4 (CH<sub>3</sub>, C-19), 17.3 (CH<sub>3</sub>, C-15)。经鉴定化合物 **1** 为 3 $\beta$ -acetoxy-12-methoxy-13-methyl-podocarpa-8, 11, 13-trien-7-one (Devappa et al., 2011)。

化合物 **2** 无色油状物,ESI-MS  $m/z$ : 301.1 [M+H]<sup>+</sup>,分子式 C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>2</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.16 (1H, d,  $J$  = 8.2 Hz, H-11), 7.00 (1H, dd,  $J$  = 8.2, 1.5 Hz, H-12), 6.88 (1H, d,  $J$  = 1.5 Hz, H-14), 2.91 (1H, m, H-7), 2.80

(1H, m, H-15), 2.31 (1H, d,  $J$  = 13.0 Hz, H-1), 2.24 (1H, d,  $J$  = 13.0 Hz, H-5), 1.86 (1H, m, H-6), 1.76 (1H, m, H-3), 1.75 (1H, m, H-2), 1.54 (1H, dd,  $J$  = 12.0, 6.0 Hz, H-6), 1.29 (3H, s, H-19), 1.26 (3H, s, H-20), 1.22 (3H, d,  $J$  = 7.0 Hz, H-16), 1.22 (3H, d,  $J$  = 7.0 Hz, H-17)。<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  186.4 (C, COOH), 149.7 (C, C-9), 147.4 (C, C-13), 137.5 (C, C-8), 130.3 (CH, C-14), 127.1 (CH, C-11), 126.0 (CH, C-12), 50.9 (C, C-4), 45.2 (CH, C-5), 39.9 (CH<sub>2</sub>, C-1), 38.0 (C, C-10), 37.6 (CH, C-15), 37.2 (CH<sub>2</sub>, C-3), 33.2 (CH<sub>2</sub>, C-7), 25.2 (CH<sub>3</sub>, C-20), 26.4 (CH<sub>3</sub>, C-16), 28.0 (CH<sub>3</sub>, C-17), 25.4 (CH<sub>2</sub>, C-6), 19.6 (CH<sub>2</sub>, C-2), 17.6 (CH<sub>3</sub>, C-19)。经鉴定化合物 **2** 为 4-epi-dehydroabietic acid(Chamy et al., 1987)。

化合物 **3** 无色胶状物,ESI-MS  $m/z$ : 359.4 [M-H]<sup>-</sup>,分子式 C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>O<sub>4</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  5.66 (1H, m, H-15), 4.93 (1H, dd,  $J$  = 11.0, 1.5 Hz, H-16), 4.83 (1H, dd,  $J$  = 11.0, 1.5 Hz, H-16), 4.41 (1H, d,  $J$  = 12.0 Hz, H-19), 4.23 (1H, d,  $J$  = 12.0 Hz, H-19), 3.35 (1H, m, H-3), 2.63 (1H, m, H-6), 2.53 (1H, m, H-6), 2.38 (1H, m, H-14), 2.18 (1H, m, H-11), 2.08 (3H, s, OMe), 2.00 (1H, m, H-11), 2.00 (1H, m, H-14), 1.92 (1H, m, H-1), 1.85 (1H, m, H-2), 1.73 (1H, dd,  $J$  = 14.0, 4.0 Hz, H-5), 1.62 (3H, s, H-12), 1.36 (3H, m, H-2), 1.28 (3H, m, H-12), 1.15 (3H, s, H-18), 1.11 (3H, s, H-20), 1.02 (3H, s, H-17)。<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  203.3 (C, C-7), 173.8 (C, OAc), 165.9 (C, C-9), 146.2 (CH, C-15), 131.3 (C, C-8), 113.9 (CH<sub>2</sub>, C-16), 79.6 (CH, C-3), 66.4 (CH<sub>2</sub>, C-19), 53.1 (CH, C-5), 44.0 (C, C-10), 43.9 (C, C-4), 39.5 (CH<sub>2</sub>, C-6), 37.2 (CH<sub>2</sub>, C-1), 37.1 (CH<sub>2</sub>, C-12), 37.1 (CH<sub>2</sub>, C-14), 36.2 (C, C-13), 32.6 (CH<sub>3</sub>, C-17), 30.0 (CH<sub>2</sub>, C-2), 23.4 (CH<sub>2</sub>, C-11), 22.7 (CH<sub>3</sub>, C-18), 22.9 (CH<sub>3</sub>, OAc)。经鉴定化合物 **3** 为 3 $\beta$ -hydroxy-19-*O*-acetyl-pimara-8 (9),15-dien-7-one(Sutthivaiyakit et al., 2001)。

化合物 **4** 无色油状物,ESI-MS  $m/z$ : 353.2 [M-H]<sup>-</sup>,分子式 C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>O<sub>4</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz,

CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.20 (1H, br s, H-1), 6.52 (1H, s, H-5), 2.61 (1H, d,  $J = 6.5$  Hz, H-12), 1.94~2.05 (1H, m, H-8), 1.62~1.70 (1H, m, H-8), 1.92 (3H, s, H-16), 1.58 (3H, s, H-20), 1.35~1.45 (1H, m, H-7), 0.98~1.08 (1H, m, H-7), 1.13~1.17 (1H, m, H-11), 1.11 (3H, s, H-17), 1.11 (3H, s, H-19), 0.95 (3H, s, H-18), 0.74~0.78 (1H, m, H-9)。<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  209.4 (C, C-14), 195.3 (C, C-3), 155.8 (CH, C-1), 151.4 (CH, C-5), 145.9 (C, C-2), 131.5 (C, C-4), 86.6 (C, C-13), 82.7 (C, C-15), 45.9 (CH, C-12), 42.3 (CH<sub>2</sub>, C-7), 40.2 (C, C-6), 32.7 (CH<sub>3</sub>, C-20), 29.2 (CH<sub>3</sub>, C-19), 23.5 (CH, C-11), 22.4 (CH<sub>3</sub>, C-17), 21.5 (CH, C-9), 20.3 (CH<sub>2</sub>, C-8), 18.4 (C, C-10), 17.9 (CH<sub>3</sub>, C-18), 13.6 (CH<sub>3</sub>, C-16)。经鉴定化合物 **4** 为 Jatrophodione A (Xu et al., 2011)。

化合物 **5** 无色胶状物, ESI-MS  $m/z$ : 359.3 [M+H]<sup>+</sup>, 分子式 C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.35 (1H, br s, H-1), 2.90 (1H, d,  $J = 12.5$  Hz, H-5), 2.79 (1H, d,  $J = 12.5$  Hz, H-4), 2.50 (1H, m, H-13), 2.29 (2H, m, H-7), 2.24 (3H, s, OAc), 1.90 (1H, s, H-16), 1.75 (1H, m, H-12), 1.73 (1H, m, H-8), 1.41 (3H, s, H-17), 1.19 (2H, m, H-7), 1.08 (1H, m, H-12), 1.02 (3H, d,  $J = 7.0$  Hz, H-20), 1.00 (3H, s, H-18), 0.98 (1H, m, H-8), 0.87 (3H, s, H-19), 0.52 (1H, m, H-11), 0.11 (1H, m, H-9)。<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  204.9 (C, C-3), 150.6 (CH, C-1), 150.2 (C, C-14), 145.2 (C, C-2), 125.9 (C, C-15), 65.7 (CH, C-5), 61.1 (C, C-6), 45.1 (CH, C-4), 40.8 (CH<sub>2</sub>, C-7), 39.5 (CH, C-13), 29.0 (CH<sub>3</sub>, C-18), 33.2 (CH<sub>2</sub>, C-12), 32.1 (CH, C-9), 28.6 (CH<sub>3</sub>, C-17), 22.6 (CH<sub>3</sub>, OAc), 21.6 (CH<sub>2</sub>, C-8), 21.1 (CH, C-11), 20.7 (C, C-10), 19.6 (CH<sub>3</sub>, C-20), 19.3 (CH<sub>3</sub>, C-19), 12.1 (CH<sub>3</sub>, C-16)。经鉴定化合物 **5** 为 14-*O*-acetyl-5, 6-epoxy-(14*E*)-jatrogrossidentadion (Ravindranath et al., 2004)。

化合物 **6** 无色胶状物, ESI-MS  $m/z$ : 329.2 [M+H]<sup>+</sup>, 分子式 C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>4</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  6.44 (1H, d,  $J = 16.0$  Hz, H-9), 5.98

(1H, d,  $J = 16.0$  Hz, H-8), 5.82 (1H, m, H-3), 5.72 (1H, m, H-5), 2.85 (2H, d,  $J = 15.0$  Hz, H-11), 2.41 (2H, d,  $J = 15.0$  Hz, H-11), 2.33 (1H, d,  $J = 15.0$  Hz, H-1), 1.99 (1H, d,  $J = 14.0$  Hz, H-1), 1.85 (3H, s, H-17), 1.70 (3H, s, H-20), 1.39 (3H, s, H-16), 1.32 (3H, s, H-19), 1.21 (3H, s, H-18)。<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_c$  207.0 (C, C-14), 202.2 (C, C-7), 185.2 (C, C-12), 162.9 (CH, C-9), 146.8 (CH, C-5), 146.4 (C, C-6), 143.4 (C, C-4), 130.6 (CH, C-8), 126.4 (CH, C-3), 115.1 (C, C-13), 100.4 (C, C-15), 81.2 (C, C-2), 50.1 (CH<sub>2</sub>, C-1), 44.0 (CH<sub>2</sub>, C-11), 39.6 (C, C-10), 32.9 (CH<sub>3</sub>, C-18), 31.5 (CH<sub>3</sub>, C-19), 26.4 (CH<sub>3</sub>, C-16), 21.8 (CH<sub>3</sub>, C-17), 10.3 (CH<sub>3</sub>, C-20)。经鉴定化合物 **6** 为 2-Hydroxy jatrophone (Lenfeld & Motl, 1986)。

### 3 活性测试

使用荧光偏振技术对麻疯树中分离鉴定的 6 个二萜化合物进行 PKC $\beta$  抑制活性筛选, 将 PKC $\beta$  酶 16 pg  $\cdot$   $\mu$ L<sup>-1</sup>、ATP 20  $\mu$ mol、PKC 底物 200  $\mu$ mol, 与不同浓度的化合物 (4、8、16、32、64、128  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup>) 混合, 反应 90 min 后, 与等体积反应终止液混合孵育 60 min, 使用 483 nm 激发光和 536 nm 发射光检测 mp 值。结果显示, 化合物 **2** 对 PKC $\beta$  具有一定的抑制作用 (图 2 和图 3), 进一步测定其 IC<sub>50</sub> 值约为 128  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup>, 其余化合物均不显示抑制活性。

### 4 讨论与结论

目前从麻疯树植物中已分离得到二萜、三萜、黄酮等多种活性成分, 尤其是具有抗肿瘤活性的二萜引起人们的高度关注 (Devappa et al., 2011)。对该植物中二萜类活性成分的深入研究, 不仅对于开发天然来源的抗肿瘤药物具有重大价值, 而且对于开发高效低毒的药物具有重要的指导意义。由于麻疯树种子中的二萜所具有的极性和分子量都极其相近, 常规的分离纯化手段很难达到理想的分离效果, 对该类成分的研究提出了一定的挑战。

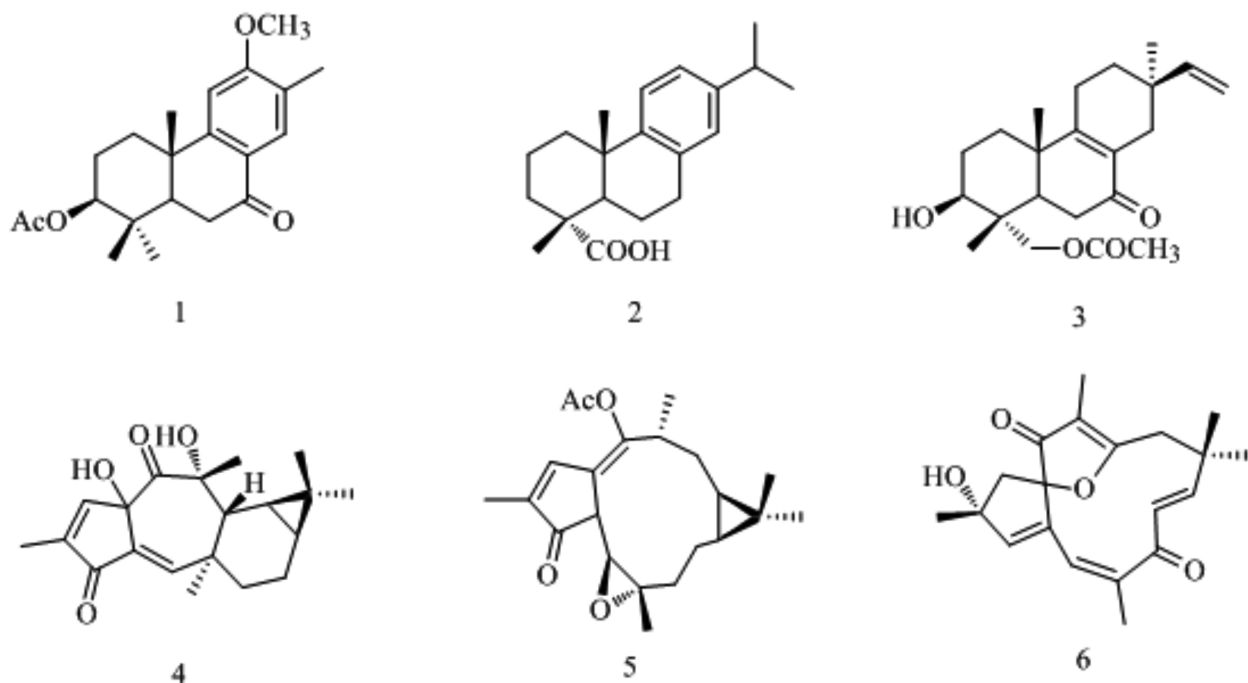
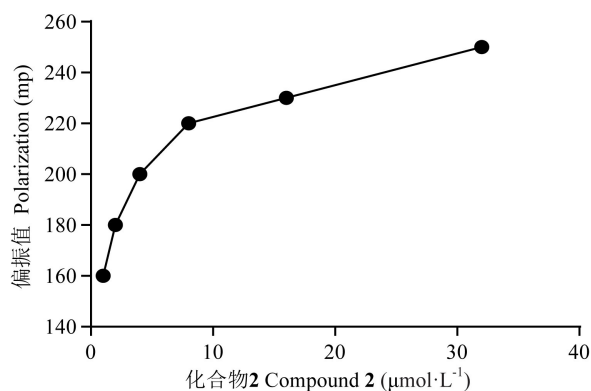
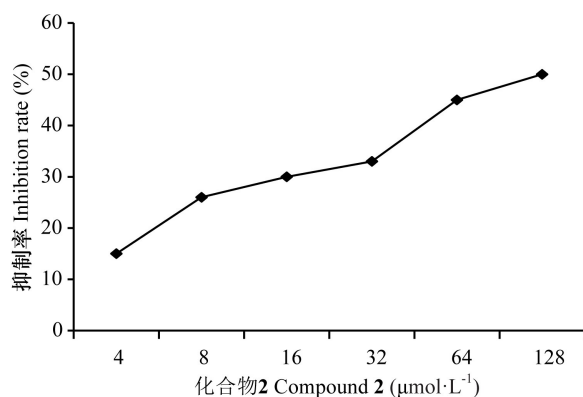


图 1 化合物 1-6 结构

Fig. 1 Structures of compounds 1-6

图 2 不同浓度化合物 2 对 PKC $\beta$  的偏振值Fig. 2 Polarization (mp) of compound 2 to PKC $\beta$  with different concentrations图 3 不同浓度化合物 2 对 PKC $\beta$  的抑制作用Fig. 3 Inhibition of compound 2 to PKC $\beta$  in the presence of different concentrations

在本研究中,我们主要运用 HPLC-DAD 对分离的目标化合物进行分析追踪,并且运用制备液相对目标化合物进行定向分离纯化,从而达到预期目标。根据以上方法,我们对麻疯树种子的二萜类化学成分进行了初步研究,从麻疯树种子乙醇提取物的乙酸乙酯部位中共分离得到 6 个二萜类化合物,分别属于松香烷型、罗汉松烷型、假白

榄酮和瑞香烷型二萜,但未发现传统报道的巴豆烷型二萜和二萜与长链脂肪酸成酯类化合物 (Roach et al., 2012; Li et al., 2016)。这可能是选择的研究部位为乙酸乙酯部位,而佛波醇酯不在该极性段,具体的原因需要进一步分析研究。多种二萜结构类型的发现说明麻疯树中可能具有多种二萜成分的生物合成途径。简单推测二萜生物

合成途径可以发现,这些二萜类化合物可以由焦磷酸香叶基香叶酯(GGPP)衍生而来。其中,假白榄酮和瑞香烷型二萜是由 GGPP 衍生成前体 casbane 烷型二萜再进一步环合而成。但是前体化合物在本植物中的含量较低,在本研究中并没有发现 casbane 烷型二萜。因此,在今后的研究中,可以根据推测的生物合成途径,进一步关注和发现更多来源于麻疯树并通过 casbane 烷型二萜衍生而成的二萜成分。

此外,PKC 是存在于细胞浆内由钙激活的磷脂依赖性丝氨酸、苏氨酸蛋白激酶,可以催化蛋白质分子的丝氨酸、苏氨酸发生磷酸化,从而影响细胞生长、增殖和分化。PKC 的活化和肿瘤的发生发展具有密切的联系,普遍认为通过抑制 PKC 活性可以抑制肿瘤细胞,从而发挥抗肿瘤作用(Koivunen et al., 2006; Wu et al., 2016)。因此,为了进一步研究化合物的生物活性,本研究通过建立的 PKC $\beta$  抑制剂高通量筛选模型对鉴定的化合物进行 PKC $\beta$  抑制活性筛选。结果显示化合物 2 对 PKC $\beta$  具有一定的抑制作用,进一步验证和说明了松香烷型二萜树脂酸(如松香酸、脱氢松香酸等)具有抗肿瘤活性的可能作用机制(杨念云等, 2016),并为麻疯树中二萜与抗肿瘤活性研究提供线索。但是具体的作用机制还有待通过细胞或者动物实验进行验证。

## 参考文献:

- ABDELGADIR HA, VAN SJ, 2013. Ethnobotany, ethnopharmacology and toxicity of *Jatropha curcas* L. (*Euphorbiaceae*): A review [J]. S Afr J Bot, 88: 204-218.
- CHAMY MC, PIOVANO M, GAMBARO V, et al., 1987. Dehydroabietane diterpenoids from *Calceolaria ascendens* [J]. Phytochemistry, 26(6): 1763-1765.
- CHEN P, JIANG WD, LIU YY, et al., 2007. Main physical chemistry characteristics and fatty acid composition of three plant oils and their bio-diesel fuels [J]. Guihaia, 27(3): 448-452. [陈鹏, 蒋卫东, 刘颖颖, 等, 2007. 三种植物油及其生物柴油中脂肪酸组成的比较研究 [J]. 广西植物, 27(3): 448-452.]
- CHEN YX, MAO ZQ, WU ZB, et al., 2006. Comprehensive exploitation and utilization of *Jatropha* oil plants [J]. Chin Oil Fat, 31(3): 63-65. [陈元雄, 毛宗强, 吴宗斌, 等, 2006. 麻疯果油料的综合开发利用 [J]. 中国油脂, 31(3): 63-65.]
- DEVAPPA RK, MAKKAR HP, BECKER K, 2011. *Jatropha diterpenes*: A review [J]. J Am Oil Chem Soc, 88(3): 301-322.
- IGBINOSA OO, IGBINOSA IH, CHIGOR VN, et al., 2011. Polyphenolic contents and antioxidant potential of stem bark extracts from *Jatropha curcas* (Linn) [J]. Int J Mol Sci, 12(5): 2958-2971.
- Jiangsu Xinyi College, 2003. Chinese dictionary of herbal medicine [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press: 2227. [江苏新医学学院, 2003. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海人民出版社: 2227.]
- KOIVUNEN J, AALTONEN V, PELTONEN J, 2006. Protein kinase C (PKC) family in cancer progression [J]. Cancer Lett, 235(1): 1-10.
- LENFELD J, MOTL O, 1986. Anti-inflammatory activity of *Conyza canadensis* [J]. Plant Med, 52(5): 430-431.
- LI CH, NG AL, XIE LF, et al., 2016. Engineering low phorbol ester *Jatropha curcas* seed by intercepting casbene biosynthesis [J]. Plant Cell Rep, 35(1): 103-114.
- LI L, 2009. Establishment of a model for screening of protein kinase C inhibitor and the screening, evaluation of the active compound [D]. Qingdao: Ocean University of China. [李礼, 2009. 靶向蛋白激酶 C 抑制剂筛选模型的建立及化合物的筛选与评价 [D]. 青岛: 中国海洋大学.]
- LIU JQ, YANG YF, XIA JJ, et al., 2015. Cytotoxic diterpenoids from *Jatropha curcas* cv. nigroviensrugosus CY Yang Roots [J]. Phytochemistry, 117: 462-468.
- MUANGMAN S, THIPPORNWONG M, TOHTONG R, 2005. Anti-metastatic effects of curcusone B, a diterpene from *Jatropha curcas* [J]. In Vivo, 19(1): 265-268.
- OPENSHAW K, 2000. A review of *Jatropha curcas*: an oil plant unfulfilled promise [J]. Biom Bioen, 19: 1-15.
- OTHTMAN AR, ABDULLAH N, AHMAD S, et al., 2015. Elucidation of *in-vitro* anti-inflammatory bioactive compounds isolated from *Jatropha curcas* L. plant root [J]. BMC Complement Altern Med, 15(1): 11-14.
- RAVINDRANATH N, REDDY MR, RAMESH C, et al., 2004. New lathyrane and podocarpane diterpenoids from *Jatropha curcas* [J]. Chem Pharm Bull, 52(5): 608-611.
- ROACH JS, DEVAPPA RK, MAKKAR HPS, et al., 2012. Isolation, stability and bioactivity of *Jatropha curcas* phorbol esters [J]. Fitoterapia, 83(3): 586-592.
- SUTTHIVAIYAKIT S, NAREEBOON P, RUANGRANGSI N, et al., 2001. Labdane and pimarane diterpenes from *Croton joufra* [J]. Phytochemistry, 56(8): 811-814.
- THEODULOZ C, RODRIGUEZ JA, PERTINO M, et al., 2009. Antiproliferative activity of the diterpenes jatrophone and jatropholone and their derivatives [J]. Plant Med, 75(14): 1520-1522.

- TIAN Q, 2011. The study of the chemical components of the *Jatropha curcas* L. seeds [D]. Haikou: Hainan University. [田庆, 2011. 麻疯树种子的化学成分研究 [D]. 海口: 海南大学.]
- TORRANCE SJ, WIEDHOPF RM, COLE JR, et al., 1976. Antitumor agents from *Jatropha macrorhiza* (*Euphorbiaceae*). II. Isolation and characterization of jatrophatrione [J]. *J Org Chem*, 41(10): 1855-1857.
- WAN H, XIA H, DING DH, et al., 2010. Extraction of *Jatropha curcas* seed protein [J]. *Chin Oil Fat*, 35(3): 28-31. [万辉, 夏辉, 丁丹华, 等, 2010. 麻疯树籽蛋白提取工艺的研究 [J]. *中国油脂*, 35(3): 28-31.]
- WU J, LIU SY, FAN ZJ, et al., 2016. A novel and selective inhibitor of PKC  $\zeta$  potently inhibits human breast cancer metastasis *in vitro* and in mice [J]. *Tumor Biol*, 37(6): 8391-8401.
- XU JJ, FAN JT, ZENG GZ, et al., 2011. A new tetracyclic diterpene from *Jatropha curcas* [J]. *Helv Chim Acta*, 94(5): 842-846.
- YANG NY, ZHOU H, CHEN XZ, 2016. Preventive effect of rosin against skin cancer of mice [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 33(8): 997-1000. [杨念云, 周红, 陈秀珍, 2016. 松香对小鼠皮肤癌的防治作用 [J]. *中国现代应用药学*, 33(8): 997-1000.]
- YU DC, WU J, 2016. High efficient cutting seedlings technology of *Jatropha curcas* (a biomass energy tree) [J]. *Mod Agric Sci Tech*, (10): 141-142. [余德才, 吴军, 2016. 生物质能源树种麻疯树的高效扦插育苗技术 [J]. *现代农业科技*, (10): 141-142.]

(责任编辑 何永艳)