

## 白桦树羽扇豆烷型三萜类化合物与抑制 PTP1B 活性研究

李佳琳, 李娜, 张楠, 马坤, 邢姗姗, 崔龙\*

北华大学药学院, 吉林 132013

**摘要:** 蛋白酪氨酸磷酸酯酶 1B (Protein tyrosine phosphatase 1B; PTP1B) 在胰岛素信号传递过程中起负调控作用, 亦是研究治疗 2 型糖尿病的重要靶点。利用 PTP1B 生物活性导向分离方法, 从白桦树皮的正己烷提取物中分离得到 7 个羽扇豆烷型三萜类化合物。经过光谱分析和文献比较, 确定分离得到的 7 个化合物为: 羽扇烯酮 (1), 羽扇豆醇 (2), 桦木酸 (3), 白桦脂醛 (4), 白桦脂酸 (5), 算盘子酮醇 (6) 和白桦脂醇 (7)。其有效抑制 PTP1B 活性值 ( $IC_{50}$ ) 分别为:  $5.6 \pm 0.3 \mu\text{mol/L}$ ,  $4.1 \pm 0.2 \mu\text{mol/L}$ ,  $7.2 \pm 0.3 \mu\text{mol/L}$ ,  $12.6 \pm 0.4 \mu\text{mol/L}$ ,  $11.6 \pm 0.3 \mu\text{mol/L}$ ,  $9.6 \pm 0.4 \mu\text{mol/L}$  和  $13.6 \pm 0.5 \mu\text{mol/L}$ 。

**关键词:** 羽扇豆烷型三萜类; 糖尿病; 蛋白酪氨酸磷酸酯酶 1B; 白桦树

中图分类号: R932

文献标识码: A

Lupane-Terpenoids Isolated from *Betula platyphylla* Suk of Protein Tyrosine Phosphatase 1B Inhibitory Activity

LI Jia-lin, LI Na, ZHANG Nan, MA Kun, XING Shan-shan, CUI Long\*

College of Pharmacy, Beihua University, Jilin 132013, China

**Abstract:** Protein tyrosine phosphatase 1B plays an importance role in the negative regulation of insulin signaling, and thus considered as an attractive therapeutic target for diabetes. Bioassay guided fractionation of the hexane soluble extract of the seeds of *Betula platyphylla* Suk afforded seven protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) inhibitory Lupane-triterpenoids 1-7. Isolated compounds (1-7) were identified as lupenone (1), lupeol (2), betulinic acid (3), betulinaldehyde (4), betulini (5), glochidonol (6) and lup-20/29-ene-1 $\beta$ /3 $\beta$ -diol (7). Compounds 1-7 inhibited PTP1B activity in a dose dependent manner, displaying  $IC_{50}$  values of  $5.6 \pm 0.3 \mu\text{mol/L}$ ,  $4.1 \pm 0.2 \mu\text{mol/L}$ ,  $7.2 \pm 0.3 \mu\text{mol/L}$ ,  $12.6 \pm 0.4 \mu\text{mol/L}$ ,  $11.6 \pm 0.3 \mu\text{mol/L}$ ,  $9.6 \pm 0.4 \mu\text{mol/L}$  and  $13.6 \pm 0.5 \mu\text{mol/L}$  respectively.

**Key words:** Lupane-triterpenoids; diabetes; protein tyrosine phosphatase 1B; *Betula platyphylla* Suk

糖尿病中 90% 以上是 2 型糖尿病, 2 型糖尿病的特征是胰岛素敏感组织对胰岛素的抵抗。PTP1B 是 PTP 酶家族中的一员<sup>[1]</sup>, 它通过对胰岛素受体底物 (IRS) 的磷酸化作用, 负调控胰岛素信号的传递<sup>[2]</sup>。研究表明: 缺失 PTP1B 基因小鼠可以明显提高对胰岛素的敏感性, 同时降低肥胖症的患病率<sup>[3,4]</sup>。白桦树 (*Betula platyphylla* Suk) 为桦木科桦木属植物<sup>[5]</sup>, 在我国广泛分布于大、小兴安岭及长白山地区, 资源极为丰富, 但开发利用的甚少。现代药理学研究表明: 白桦有降血脂, 抗氧化, 抗肝炎, 抗艾滋病和增强免疫力等作用<sup>[6]</sup>。在抗肿瘤方面, 特别是针对黑色素瘤作用显著<sup>[7]</sup>。本研究主要报道

从白桦树皮提取物中筛选出能够有效抑制 PTP1B 活性的化合物, 并测试它们的有效抑制浓度。

## 1 仪器与材料

INO-VA-500 MHz 型 (TMS 为内标) 核磁共振仪 (美国 CIL 公司); QSTAR 质谱仪; ELISA 酶标仪 (美国); 柱色谱硅胶 (青岛海洋化工厂); 薄层色谱用高效硅胶板 (GF<sub>254</sub> 山东烟台芝罘化工厂); 所用试剂均为分析纯 (AR 级, 国药集团化学试剂有限公司)。

白桦树于 2010 年 9 月采自吉林省安图市长白山周边地区, 经延边大学李镐教授鉴定为 *Betula platyphylla* Suk。标本收藏于北华大学药学院药物化学实验室 (标号为: BH20100921)。

## 2 实验方法

收稿日期: 2013-06-27

接受日期: 2013-09-11

基金项目: 吉林省科技发展计划资助项目 (201205099)

\* 通讯作者 Tel: 86-018604498621; E-mail: cuilong71@163.com

## 2.1 提取分离方法

将干燥白桦树皮 9.0 kg 切碎成块状,用 100% 的甲醇 50 °C 加热回流提取 4 次,过滤、减压浓缩,得甲醇提取浸膏 1.8 kg。将甲醇浸膏加入适量水,摇匀成混悬液后,分别以二氯甲烷、正丁醇萃取三次。将二氯甲烷部分(120.0 g)进行硅胶柱层析(800.0 g,100~200 目)色谱,以正己烷-二氯甲烷(1:5)/二氯甲烷-甲醇(200:1)为流动相,梯度洗脱,得到 9 个分离组分 Fr. 1~Fr. 9。Fr. 2(2.4 g)进行硅胶柱层析色谱,以二氯甲烷:甲醇-100:1 为流动相重复洗脱,得到 9 个分离组分 Fr. 2.1~Fr. 2.9。将组分 Fr. 2.2 进一步进行硅胶柱层析色谱(流动相:二氯甲烷:甲醇-200:1),得到化合物 **1**(29.0 mg)和化合物 **3**(10 mg);Fr. 2.4(0.4 g)重复进行硅胶柱层析(二氯甲烷:甲醇-100:1),得到化合物 **4**(4.5 mg)和化合物 **5**(1.5 mg);Fr. 2.6(2.4 g)进行硅胶柱层析,用二氯甲烷:甲醇-20:1 反复洗脱,得到化合物 **2**(26.0 mg),化合物 **6**(39.0 mg)和化合物 **7**(10.0 mg)。

## 2.2 PTP1B, VHR, PP1 活性试验

PTP1B 活性的测定:96 孔板上加入样品、缓冲液(50 mmol/L 柠檬酸,pH 6.0,0.1 mmol/L NaCl,1 mmol/L EDTA,1 mmol/L DTT)、PTP1B(0.05~0.1 μg)、2 mmol/L *p* NPP(*p*-nitro-phenyl phosphate)、H<sub>2</sub>O,30 °C 下恒温反应 30 min 后,以 1 mmol/L NaOH 终结反应,利用酶标仪测定其在 405 nm 下吸光度的变化,并计算所得产物对硝基苯酚的含量。双特异性蛋白酪氨酸磷酸酶(Dual-specificity protein tyrosine phosphatase,DS-PTP)活性的测定:通过检测与人类有关的 VH1 蛋白质在大肠杆菌中的表达测定其脱磷酸作用能力。96 孔板上加入 VHR 酶,2 mmol/L *p*NPP 以及缓冲液(50 mmol/L 琥珀酸,pH 6.0,1 mmol/L EDTA,140 mmol/L NaCl,0.05% 吐温 20)。30 °C 下恒温反应 30 min 后,以 1 mmol/L NaOH 终结反应<sup>[16]</sup>,其产物检测方法同上,测定对硝基苯酚在 405 nm 处的吸收度变化。蛋白质丝氨酸/苏氨酸磷酸酶(protein serine threonine kinases 1, PPI)活性的测定:96 孔板上加入 PPI,缓冲液(50 mmol/L 氨丁三醇,pH 7.6,0.1% β-巯基乙醇,1 mmol/L EDTA,1 mmol/L MnCl<sub>2</sub> 和 20 mmol/L MgCl<sub>2</sub>),30 °C 下恒温反应 30 min 后,以 1 mmol/L NaOH 终结反应,其产物检测方法同上,测定对硝基苯酚在 405 nm 处的吸收度。

## 3 结构鉴定

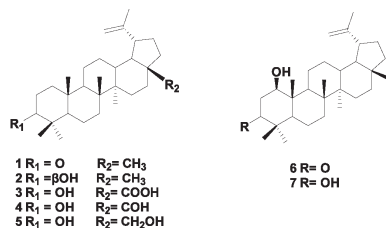


图 1 化合物 1~7 结构式

Fig. 1 The chemical structures of compounds 1 - 7

化合物 **1** 无色针状体;<sup>1</sup>H NMR(500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)δ:4.69(1H, m, H-29β), 4.57(1H, m, H-2a), 2.41(1H, m, H-19), 1.68, 1.07, 1.07, 1.02, 0.96, 0.93, 0.80(3H, s, 7 × CH<sub>3</sub>)。 <sup>13</sup>C NMR(125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)δ:39.6(C-1), 34.1(C-2), 217.9(C-3), 47.3(C-4), 55.0(C-5), 19.6(C-6), 33.6(C-7), 40.9(C-8), 49.8(C-9), 36.9(C-10), 21.5(C-11), 25.2(C-12), 38.2(C-13), 42.9(C-14), 27.4(C-15), 35.6(C-16), 42.9(C-17), 48.3(C-18), 47.9(C-19), 150.7(C-20), 29.9(C-21), 40.0(C-22), 26.6(C-23), 21.0(C-24), 15.8(C-25), 15.9(C-26), 14.4(C-27), 18.0(C-28), 109.2(C-29), 19.3(C-30)。根据文献<sup>[8]</sup>比较,化合物 **1** 确定为 Lupenone。

化合物 **2** 白色粉末;<sup>1</sup>H NMR(500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)δ:4.69(1H, dq, *J* = 0.4, 0.5 Hz, H-29β), 4.57(1H, m, H-29a), 3.18(1H, dd, *J* = 9.6, 6.2 Hz, H-3), 2.29(1H, m, H-19), 1.91(1H, m, H-21), 1.68, 1.03, 0.97, 0.94, 0.83, 0.79, 0.76(3H, s, 7 × CH<sub>3</sub>)。 <sup>13</sup>C NMR(125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)δ:38.6(C-1), 27.3(C-2), 78.9(C-3), 38.8(C-4), 55.2(C-5), 18.2(C-6), 34.2(C-7), 40.7(C-8), 50.3(C-9), 37.1(C-10), 20.9(C-11), 25.0(C-12), 38.0(C-13), 42.7(C-14), 27.4(C-15), 35.5(C-16), 42.9(C-17), 48.2(C-18), 47.9(C-19), 150.8(C-20), 29.8(C-21), 39.9(C-22), 27.9(C-23), 15.3(C-24), 16.1(C-25), 15.9(C-26), 14.5(C-27), 17.9(C-28), 109.3(C-29), 19.2(C-30)。根据文献<sup>[8]</sup>比较,化合物 **2** 确定为 Lupeol。

化合物 **3** 无色晶体;<sup>1</sup>H NMR(500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)δ:4.94(1H, s, H-29a), 4.76(1H, s, H-29b), 3.54(1H, td, *J* = 11.0, 5.1 Hz, H-19), 3.46(1H, t, *J* = 8.4 Hz, H-3), 2.72(1H, t, *J* = 11.2 Hz, H-15a),

2.63 (1H, d,  $J = 13.3$  Hz, H-13), 2.23 (1H, m, H-18), 1.93 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-16a), 1.88 (3H, m, H-1a, 12a, 22a), 1.79 (3H, s, H-29), 1.75 (1H, t,  $J = 11.3$  Hz, H-12b), 1.59 (1H, d,  $J = 4.4$  Hz, H-12b), 1.54 (4H, m, H-2a, 6a, 15b, 21a), 1.40 (5H, m, H-6b, 7b, 11a, 16b, 22b), 1.21 (3H, s, H-27), 1.20 (3H, m, H-9, 11b, 21b), 1.07 (1H, m, H-2b), 1.06 (3H, s, H-26), 1.05 (3H, s, H-23), 1.00 (3H, s, H-24), 0.82 (3H, s, H-25), 0.67 (1H, m, H-5)。<sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 40.4 (C-1), 29.2 (C-2), 79.0 (C-3), 40.2 (C-4), 56.8 (C-5), 19.7 (C-6), 35.8 (C-7), 42.0 (C-8), 51.9 (C-9), 38.5 (C-10), 22.1 (C-11), 27.0 (C-12), 39.5 (C-13), 43.8 (C-14), 32.1 (C-15), 33.8 (C-16), 57.5 (C-17), 48.7 (C-18), 50.9 (C-19), 152.2 (C-20), 31.2 (C-21), 38.4 (C-22), 29.6 (C-23), 29.8 (C-24), 17.2 (C-25), 17.3 (C-26), 15.8 (C-27), 179.7 (C-28), 110.8 (C-29), 20.4 (C-30)。根据文献<sup>[9]</sup>比较, 化合物**3**确定为 Betulinic acid。

**化合物 4** 无色针状体; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 4.76 (1H, d,  $J = 0.4$  Hz, H-29b), 4.65 (1H, d,  $J = 0.4$  Hz, H-29a), 3.17 (1H, dd,  $J = 9.5, 6.1$  Hz, H-3), 2.95 (ddd,  $J = 9.5, 6.0, 0.5$  Hz, H-19), 1.72 (3H, s, H-30), 0.96 (6H, s, H-26, 27), 0.93 (3H, s, H-23), 0.83 (3H, s, H-25), 0.76 (3H, s, H-24)。<sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 38.7 (C-1), 27.3 (C-2), 78.9 (C-3), 38.8 (C-4), 55.5 (C-5), 18.2 (C-6), 34.3 (C-7), 40.8 (C-8), 50.4 (C-9), 37.1 (C-10), 20.7 (C-11), 25.5 (C-12), 38.7 (C-13), 42.5 (C-14), 29.2 (C-15), 28.8 (C-16), 59.3 (C-17), 48.0 (C-18), 47.5 (C-19), 149.7 (C-20), 29.8 (C-21), 33.2 (C-22), 27.9 (C-23), 15.4 (C-24), 15.9 (C-25), 16.1 (C-26), 14.2 (C-27), 205.6 (C-28), 110.1 (C-29), 19.0 (C-30)。根据文献<sup>[10,11]</sup>比较, 化合物**4**确定为 Betulinaldehyde。

**化合物 5** 白色粉末; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 4.68, 4.58 (1H, m, H-29), 3.79, 3.33 (1H, d,  $J = 11.0$  Hz, H-28), 3.20 (1H, dd,  $J = 10.1, 4.7$  Hz, H-3), 1.65 (3H, s, H-30), 0.98 (3H, s, H-27), 0.97 (3H, s, H-26), 0.96 (3H, s, H-23), 0.82 (3H, s, H-25), 0.76 (3H, s, H-24)。<sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 38.6 (C-1), 27.3 (C-2), 78.9 (C-3), 38.8 (C-4), 55.2 (C-5), 18.3 (C-6), 34.2 (C-7), 40.8 (C-

8), 50.3 (C-9), 37.1 (C-10), 20.8 (C-11), 25.1 (C-12), 37.2 (C-13), 42.7 (C-14), 27.0 (C-15), 29.1 (C-16), 47.7 (C-17), 48.7 (C-18), 47.7 (C-19), 150.3 (C-20), 29.7 (C-21), 33.9 (C-22), 27.9 (C-23), 15.3 (C-24), 16.1 (C-25), 15.9 (C-26), 14.7 (C-27), 60.4 (C-28), 109.5 (C-29), 19.0 (C-30)。根据文献<sup>[10,12]</sup>比较, 化合物**5**确定为 Betulini。

**化合物 6** 无色针状体; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 4.68 (1H, brd,  $J = 2.2$  Hz, H-29a), 4.56 (1H, dd,  $J = 2.2, 1.4$  Hz, H-29b), 3.91 (1H, dd,  $J = 8.1, 3.4$  Hz, H-1), 3.01 (1H, dd,  $J = 14.4, 8.1$  Hz, H-2a), 2.39 (1H, ddd,  $J = 11.0, 11.0, 5.8$  Hz, H-19), 2.22 (1H, dd,  $J = 14.4, 3.5$  Hz, H-2b), 1.68 (3H, s, H-30), 1.06 (6H, s, H-24, H-26), 1.04 (3H, s, H-23), 0.98 (3H, s, H-27), 0.83 (3H, s, H-25), 0.80 (3H, s, H-28)。<sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 79.6 (C-1), 45.1 (C-2), 216.0 (C-3), 47.1 (C-4), 51.3 (C-5), 19.6 (C-6), 32.9 (C-7), 42.9 (C-8), 50.6 (C-9), 42.9 (C-10), 23.0 (C-11), 25.1 (C-12), 37.9 (C-13), 41.1 (C-14), 27.4 (C-15), 35.5 (C-16), 42.9 (C-17), 48.2 (C-18), 47.9 (C-19), 150.7 (C-20), 29.7 (C-21), 39.9 (C-22), 27.9 (C-23), 19.6 (C-24), 11.8 (C-25), 15.9 (C-26), 14.0 (C-27), 18.0 (C-28), 109.5 (C-29), 19.2 (C-30)。根据文献<sup>[13]</sup>比较, 化合物**6**确定为 Glochidonol。

**化合物 7** 白色粉末; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 4.68 (1H, dd,  $J = 2.4, 1.4$  Hz, H-29a), 4.55 (1H, dd,  $J = 2.4, 1.4$  Hz, H-29b), 3.43 (1H, dd,  $J = 12.0, 4.7$  Hz, H-1), 3.24 (1H, dd,  $J = 12.0, 4.4$  Hz, H-3), 2.37 (1H, ddd,  $J = 11.0, 11.0, 5.7$  Hz, H-19), 2.16 (1H, dq,  $J = 10.5, 2.5$  Hz, H-11), 1.67 (3H, s, H-30), 1.04 (3H, s, H-26), 0.95 (6H, s, H-24, 27), 0.90 (3H, s, H-25), 0.79 (3H, s, H-28), 0.75 (3H, s, H-23)。<sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 79.0 (C-1), 38.0 (C-2), 75.7 (C-3), 38.9 (C-4), 53.1 (C-5), 18.0 (C-6), 34.1 (C-7), 42.9 (C-8), 51.4 (C-9), 43.5 (C-10), 23.8 (C-11), 25.0 (C-12), 37.5 (C-13), 41.3 (C-14), 27.5 (C-15), 35.6 (C-16), 42.9 (C-17), 48.3 (C-18), 48.0 (C-19), 150.8 (C-20), 29.7 (C-21), 40.0 (C-22), 27.8 (C-23), 14.9 (C-24), 11.9 (C-25), 16.2 (C-26), 14.4 (C-27), 18.0 (C-28), 109.4 (C-29), 19.2 (C-30)。根据文献<sup>[13]</sup>比较, 化合物**7**确定为 Lup-20/29-ene-1 $\beta$ /3 $\beta$ -diol。

## 4 讨论

胰岛素受体底物的酪氨酸磷酸化水平由蛋白酪氨酸磷酸酯酶(Protein tyrosine phosphatase,PTP)和酪氨酸激酶(Protein tyrosine kinase,PTK)共同调控。其中 PTP1B 作为 PTPase 成员之一,对胰岛素信号的传递起负调控作用<sup>[1]</sup>。本研究以抑制 PTP1B 活性为导向,从白桦树皮中筛选出 7 个有效抑制 PTP1B 活性的羽扇豆烷型三萜类化合物。经与相关文献光谱数据比较,分别确定为 Lupenone (**1**), Lu-

peol (**2**), Betulinic acid (**3**), Betulinaldehyde (**4**), Betulini (**5**), Glochidonol (**6**) 和 Lup-20/29-ene-1 $\beta$ /3 $\beta$ -diol (**7**)。进一步通过体外 PTP1B 抑制活性检测(阳性对照品:RK-682)发现:化合物 **1** ~ **7** 对 PTP1B 选择性高,抑制作用显著,而对 VHR 和 PP1 的活性没有抑制作用,它们的 IC<sub>50</sub> 值见表 1。通过表 1 作者观察到,化合物 **1** 和 **2** 与其它化合物 (**3** ~ **7**) 比较,显示出较强的抑制 PTP1B 活性。其中化合物 **2** 表现出最强的抑制 PTP1B 活性,其 IC<sub>50</sub> 值小于对照品 RK-682 的 IC<sub>50</sub> 值。

表 1 化合物 1-7 抑制 PTP1B 活性数据

Table 1 Comparison of the inhibitory activity of the compounds 1-7 against PTP1B, VHR and PP1

化合物 Compounds	IC <sub>50</sub> (μmol/L)		
	PTP1B	VHR	PP1
Lupenone ( <b>1</b> )	5.6 ± 0.3	> 100	> 100
Lupeol ( <b>2</b> )	4.1 ± 0.2	> 100	> 100
Betulinic acid ( <b>3</b> )	7.2 ± 0.3	> 100	> 100
Betulinaldehyde ( <b>4</b> )	12.6 ± 0.4	> 100	> 100
Betulini ( <b>5</b> )	11.6 ± 0.3	> 100	> 100
Glochidonol ( <b>6</b> )	9.6 ± 0.4	> 100	> 100
Lup-20/29-ene-1 $\beta$ /3 $\beta$ -diol ( <b>7</b> )	13.6 ± 0.5	> 100	> 100
RK-682 <sup>a</sup>	4.6 ± 0.2	10.2 ± 1.5	NT <sup>b</sup>

<sup>a</sup>阳性对照品<sup>a</sup> Positive control.

<sup>b</sup>未测试<sup>b</sup> Not tested.

虽然现阶段已有大量设计和拓展合成 PTP1B 抑制剂的相关文献,但关于从植物中提取天然 PTP1B 抑制剂的研究较少。通过在众多中草药中寻找 PTP1B 抑制剂,作者发现白桦树皮的甲醇提取液显著抑制 PTP1B 的活性,并从中分离出 7 个有效抑制 PTP1B 活性的羽扇豆烷型三萜类化合物 **1** ~ **7**。本研究虽然没有对白桦树中羽扇豆烷三萜类化合物的构效关系进行深入研究,但为今后白桦树资源的合理开发,并进一步探索该类型化合物在细胞及动物体内的新降糖作用机制,以及寻找潜在的新型天然 PTP1B 抑制剂提供了基础理论依据。

**致谢:**本课题资金来源于吉林省科技发展计划资助项目(201205099),在此表示衷心的感谢。

### 参考文献

- Johnson TO, Ermolieff J, Jirousek MR, *et al.* Protein Tyrosine Phosphatase 1B Inhibitors for Diabetes. *Nat Rev Drug Discov*, 2002, 1: 696-709.
- Cui L, Na MK, Oh HC, *et al.* Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitors from *Morus* root bark. *Bioorg Med Chem Lett*,

2006, 16: 1426-1429.

- Ahmad F, Azevedo JJ, Cortright R, *et al.* Alterations in Skeletal Muscle Protein tyrosine Phosphatase Activity and Expression in Insulin resistant Human Obesity and Diabetes. *J Clin Invest*, 1997, 100: 449-458.
- Elchebly M, Payette P, Michaliszyn E, *et al.* Increased Insulin Sensitivity and Obesity Resistance in Mice Lacking the Protein Tyrosine Phosphatase 1B Gene. *Science*, 1999, 283: 1544-1548.
- Cho YJ, Huh JE, Kim DY, *et al.* Effect of *Betula platyphylla* var japonica on Proteoglycan Release, Type II Collagen Degradation, and Matrix Metalloproteinase Expression in Rabbit Articular Cartilage Explants. *Biol Pharm Bull*, 2006, 29: 1408-1413.
- Yin J, Ren CL, Zhan YG, *et al.* Distribution and expression characteristics of triterpenoids and OSC genes in white birch (*Betula Platyphylla* Suk). *Mol Biol Rep*, 2012, 39: 102-107.
- Pisha E, Chai H, Lee IS, *et al.* Discovery of betulinic acid as a selective inhibitor of human melanomathat function by induction of apoptosis. *Nat Med*, 1995, 1: 1046-1051.

(下转第 1406 页)