

油茶蒲提取物抑制前列腺增生活性化合物的分离与鉴定

周琛媛, 董柳青, 赵波, 吴晓琴, 张英*, 沈建福*

浙江大学生物系统工程与食品科学学院, 杭州 310058

摘要: 为了探究油茶蒲提取物中对前列腺增生具有抑制作用的天然活性化合物, 本研究采用高效制备液相 (preparative HPLC) 从油茶蒲聚酰胺组分中分离得到抑制前列腺增生 (benign prostatic hyperplasia, BPH) 的活性化合物。运用质谱 (Mass Spectrometer, MS) 和核磁共振技术 (Nuclear magnetic resonance, NMR) 对其化学结构进行鉴定, 并采用 MTT 法检测各化合物对人前列腺增生细胞 BPH-1 增殖的抑制作用。结果表明: 纯化组分 F1、F2 和 F3 对 BPH-1 细胞增殖均具有较强抑制作用, 低剂量 (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 时抑制率分别为 30.31%、43.26% 和 29.00%, 抑制效果均优于阳性对照非那雄胺 (26.50%)。经化学结构鉴定确定 F1、F2 和 F3 分别为棕榈酸双内酯、3-*O*-没食子酰基-4,6-[(*S*)-六羟基联苯二酰基]-(α/β)-D-吡喃葡萄糖和 3,4,6-三-*O*-没食子酰基-(α/β)-D-葡萄糖。本研究可为开发改善前列腺疾病的天然产物提供理论参考与物质基础。

关键词: 油茶蒲; 聚酰胺组分; 制备液相; 结构鉴定; 人前列腺增生细胞

中图分类号: R284.1; R965.1

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.4.003

Isolation and Identification of Active Compounds on Benign Prostate Hyperplasia from *Oiltea camellia* Extract

ZHOU Chen-yuan, DONG Liu-qing, ZHAO Bo, WU Xiao-qin, ZHANG Ying*, SHEN Jian-fu*

College of Biosystems Engineering and Food Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China

Abstract: In order to investigate bioactive constituents with inhibiting effect on benign prostatic hyperplasia from *Oiltea camellia*, preparative high-performance liquid chromatography (preparative HPLC) was adopted to isolate key bioactive compounds from polyamide fraction of *O. camellia* extracts (OCE). The chemical structures of those compounds were identified using mass spectrometer (MS) and nuclear magnetic resonance (NMR) analyses. In addition, its growth inhibitory activity against BPH-1 cells was detected by MTT assay. The results indicated that F1, F2 and F3, as main active substances in Fr8, showed stronger inhibitory effect on BPH-1 cells at low doses (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) than that of positive control finasteride (26.50%), with the inhibition rates of 30.31%, 43.26% and 29.00%, respectively. F1, F2 and F3 were identified as valoneic acid dilactone, 3-*O*-galloyl-4,6-[(*S*)-hexahydroxydiphenoyl]-(α/β)-D-glucopyranose and 3,4,6-tri-*O*-galloyl-(α/β)-D-glucose, respectively. This study provided theoretical reference and material foundation for the development of natural products on the improvement of prostate disease.

Key words: *Oiltea camellia*; polyamide fraction; preparative high-performance liquid chromatography; structural identification; BPH-1 cell

油茶 (*Camellia oleifera* Abel.) 是我国的特色油料作物, 又称茶油树或茶子树, 属于茶科, 是一种常绿小乔木。我国的油茶资源丰富, 国务院批准《全国油茶产业发展规划 (2009-2020)》大力推动油茶产业的发展^[1], 油茶产业已经成为农业增收的主要产业之一。油茶蒲是油茶果实的皮, 占油茶果的质量约 2/3, 通常作为油茶加工过程的副产物被丢弃,

造成资源的极大浪费^[2]。而油茶蒲含有大量的多酚、皂苷、多糖等^[3]具有生物学活性的物质, 具有抗氧化、清除亚硝酸盐、抗肿瘤、降血糖、减肥降脂、改善前列腺疾病等^[4-6]生物活性, 生物学功效和药用价值亟待开发。

良性前列腺增生 (benign prostatic hyperplasia, BPH) 是一种多发于老年男性的进展性疾病, 60 岁男性的发病率达到 50%^[7], 并随着年龄的增长发病率急剧增加, 严重影响老年男性患者的生活质量。前期课题组动物实验证明, 油茶蒲提取物 (*Oiltea ca-*

mellia extracts, OCE) 具有改善前列腺增生的功能^[8], 后续的研究发现 OCE 可以有效抑制 5 α -还原酶活性^[9], 而 5 α -还原酶在 BPH 发病中起关键作用^[10]。郑茜茜^[11]通过聚酰胺薄层层析技术有效得到高 5 α -还原酶抑制活性的聚酰胺组分, 使 OCE 中抑制 5 α -还原酶活性成分得到有效富集, 也为分离 OCE 中关键化合物奠定基础。沈骏^[12]继续研究了 6 个聚酰胺组分对人前列腺增生细胞 BPH-1 细胞增殖、凋亡的影响, 结合体外 5 α -还原酶抑制模型和 BPH-1 细胞抑制模型两种评价体系, 筛选出改善前列腺增生的有效聚酰胺组分进行进一步的分离。

高效制备液相色谱 (preparative high-performance liquid chromatography, preparative HPLC) 制备液相色谱分离效率较高, 可用于分离热稳定性较差的黄酮、苷类、有机酸类、生物碱类等天然产物活性成分的分离纯化^[13]。为了探明 OCE 改善前列腺疾病功能的物质基础, 本实验从油茶蒲聚酰胺组分抑制 BPH-1 细胞增殖的角度, 采用超高效液相色谱-三重四级杆飞行时间质谱 (LC/Q-TOF/MS) 和核磁共振技术对高效制备液相色谱分离得到化合物进行分子结构鉴定, 为开发改善前列腺疾病的天然产物提供理论依据。

1 仪器与材料

1.1 实验仪器

FB124 自动内校电子分析天平 (上海舜宇恒平科学仪器有限公司); Primaide 高效液相色谱仪 (日立高新技术公司); C18HCE 分析型色谱柱 (4.6 \times 250 mm, 10 μ m) (北京华谱新创科技有限公司); LC6000 型高效制备色谱仪 (含两台 P6000 高压输液泵、UV6000 型紫外/可见光检测器); TRL-0.5 通用型冻干机 (大连双瑞科技有限公司); Waters 超高效液相色谱仪; Triple TOFTM5600⁺ 高分辨质谱仪 (美国 AB Sciex 公司); 资生堂 (中国) CAPCELL PAK C18 MG II 分析型色谱柱 (4.6 mmL \times 250 mm, 5 μ m); Bruker 600 MHz 超导核磁共振光谱仪; Forma 3111 型 CO₂ 细胞培养箱 (美国 Thermo 公司); BIO-RAD 680 酶标仪 (美国 BIO-RAD 公司)。

1.2 实验材料

油茶蒲提取物 OCE、聚酰胺组分 Fr8 参照沈骏^[14]方法经提取分离得到; 良性前列腺增生细胞 BPH-1 (长沙赢润生物技术有限公司); RPMI1640 培养基、胰酶 trypsin (美国 GIBCO 公司); 新生牛血清

(杭州四季青生物工程有限公司); PBS 缓冲液、噻唑蓝 (MTT) (Sigma 公司); 其他试剂均为国产分析纯或色谱纯。

2 实验方法

2.1 聚酰胺组分 Fr8 的纯化

2.1.1 固相萃取 (SPE) 技术除杂

取一定量 Fr8 样品, 溶于 40 mL 40% 甲醇水, 待用。称取 10 g 60 μ m C18HCE 填料, 装入 50 mL 柱管, 填实, 先用 50 mL 甲醇活化, 再用 50 mL 0.1% 甲酸水平衡。将 40 mL Fr8 样品倒入 SPE 柱, 控制流速, 收集流出液, 标记为 Fr8-C18HCE-SY; 随后依次用 30 mL 10% 甲醇水, 30 mL 30% 甲醇水, 30 mL 50% 甲醇水和 30 mL 纯甲醇洗脱, 分别标记为 Fr8-C18HCE-10%, Fr8-C18HCE-30%, Fr8-C18HCE-50%, Fr8-C18HCE-100%。

2.1.2 分析液相条件

聚酰胺组分 Fr8 用蒸馏水配成 1 mg/mL 溶液, 色谱柱: C18HCE 分析型色谱柱 (4.6 \times 250 mm, 10 μ m); 柱温: 25 $^{\circ}$ C; 进样量: 10 μ L; 流速: 0.6 mL/min; 检测波长 254 nm; 流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 0.1% 甲酸水溶液; 梯度条件: 0 ~ 30 min, 0% ~ 15% A; 30 ~ 40 min, 15% ~ 30% A; 40 ~ 50 min, 30% ~ 90% A。

2.1.3 制备液相条件

制备柱: C18HCE (10 μ m, DAC50 mm, 300 g 填料); 柱温: 25 $^{\circ}$ C; 进样量: 10 mL; 流速: 70.0 mL/min; 检测波长 254 nm; 流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 0.1% 甲酸水溶液; 梯度条件与液相分析梯度条件相同。

2.2 活性成分的结构鉴定

2.2.1 质谱分析

采用负离子扫描模式检测; 质谱扫描范围: m/z 100 ~ 1500; 雾化气: 50 psi; 干燥气: 50 psi; 气帘气 (N₂): 35 psi; 进样量 5 μ L, 流速 0.2 mL/min; 检测器 254 nm。最大允许误差设置为 ± 5 ppm。离子源温度: 550 $^{\circ}$ C; 离子源电压: 4500 V; 一级扫描: 去簇电压: 100 V; 碰撞能量: 10V; 二级扫描: 使用 TOF/MS ~ Product Ion ~ IDA 模式采集质谱数据, 碰撞能量为 -20、-40 和 -60 V; 离子释放延迟 67; 离子释放宽度 25。进样前, 用 AB Sciex 公司自动校正系统做质量轴校正, 使质量轴误差小于 2 ppm。

2.2.2 核磁共振分析

样品用氘代 DMSO 溶解, 在室温下用瑞士 Bruker

er 公司的 AVANCE III 型核磁共振光谱仪,做氢谱、碳谱和 HMBC 谱分析。

2.3 对人前列腺增生细胞 BPH-1 的增殖抑制作用

参照沈骏^[14]的方法并作适当修改,取对数生长期的 BPH-1 细胞,用 0.25% 胰酶消化后,计数,调整细胞浓度为 1×10^6 个/mL,接种 100 μ L 细胞悬浮液于 96 孔培养板,在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱培养 24h 使细胞贴壁。更换培养液,每孔加入含试样的培养液 100 μ L。设置空白组、非那雄胺阳性对照组和样品组(Fr8、F1、F2、F3),每组 6 个复孔,培养 48 h。设置非那雄胺阳性对照组和样品组的浓度分别为 25、50、100、200 μ g/mL。终止反应前 4 h,每孔加入 5 g/L MTT 20 μ L 继续培养 4 h,吸掉孔内培养液,每孔加入 DMSO 150 μ L,振荡 10 min 使紫色结晶完全溶解后,在 570 nm 测定吸光度(A),并计算细胞生长抑制率(IR),抑制率公式如下。

$$\text{细胞存活率}(\%) = A_1/A_0 \times 100$$

$$\text{IR}(\%) = (A_0 - A_1)/A_0 \times 100$$

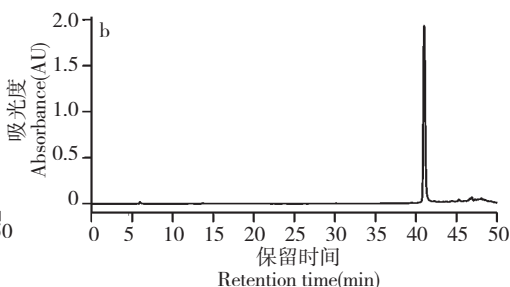
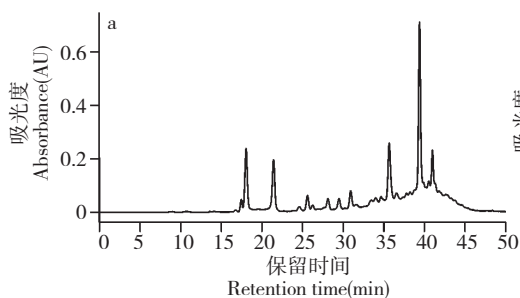


图1 Fr8(a)和F1(b)的HPLC色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of Fr8(a) and F1(b)

3.1.2 液相分析结果

3.1.2.1 制备液相

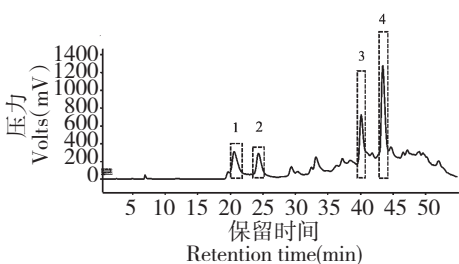


图2 Fr8制备型HPLC色谱图

Fig. 2 preparative HPLC chromatogram of Fr8

对除杂后的 Fr8 组分按照 2.1.3 的方法进行制备,其结果如图 2 所示。按图中标示色谱峰 1~8 进行收集。将收集到的各色谱峰进行按 2.1.2 的方法

式中: A_1 为实验组吸光度; A_0 为空白组的吸光度。

2.4 统计学分析

实验结果数据均采用 SPSS 20.0 软件分析,组间比较采用单因素方差(ANOVA)分析,以 $P < 0.05$ 为具有统计学差异。

3 实验结果

3.1 聚酰胺组分 Fr8 的纯化

3.1.1 SPE 除杂结果

经检验,目标成分主要集中在 Fr8-C18HCE-SY 和 Fr8-C18HCE-10% 两个馏分中,合并这两个馏分除去甲醇后,没有样品析出,说明经过 SPE 处理除去大部分极性较弱的成分后,样品成分得到了简化,且溶解度得到了大大改善。另外,Fr8-C18HCE-100% 洗脱直接得到了一个色谱纯度较高的样品,标记为 F1。Fr8 和 F1 的 HPLC 图谱如图 1 所示。

进行液相分析。

3.1.2.2 分析液相

经制备液相得到的 1~4 号峰经液相分析,由图 3 可知,1~4 号分离度较好的色谱峰都在制备收集过程中分成多个色谱峰,并且 1 和 2、3 和 4 的主要两个峰出峰时间相同。合并成分相同的色谱峰,标记 1 和 2 号为 F2,3 和 4 号为 F3。将合并后的在 30 $^{\circ}$ C 旋蒸除掉乙腈,分别上柱进行再次浓缩制备,重复 1.3.3 步骤。分别收集 F2 和 F3 中两个主峰后重复 2.1.2 液相分析,发现 F2 和 F3 中两个色谱峰虽然分开收集,但再次使用相同的色谱条件分析也是两个成分相同的色谱峰,更进一步证实 F2 和 F3 中的这两个化合物是互变异构体,它们之间虽然能实现分离,但会相互转化。

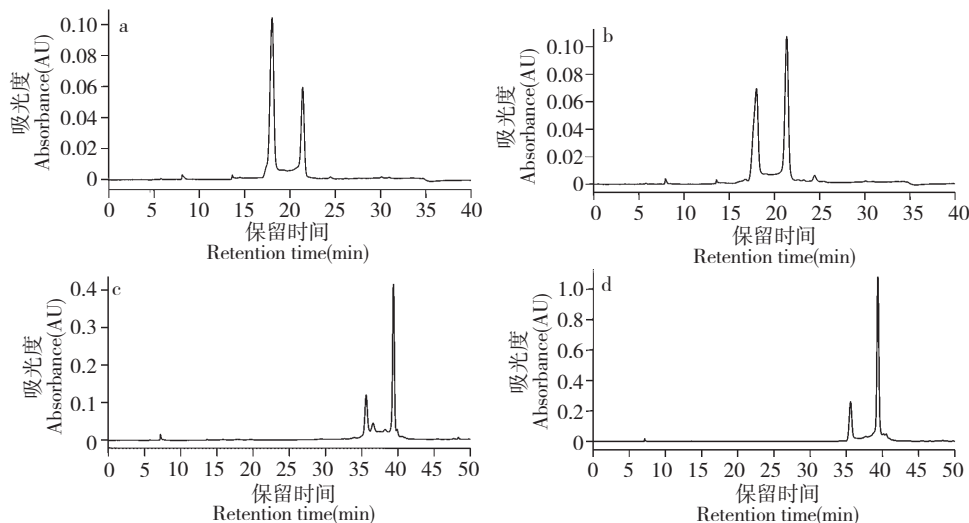


图3 1号(a)、2号(b)、3号(c)、4号(d)的HPLC色谱图

Fig. 3 HPLC chromatograms of 1(a), 2(b), 3(c) and 4(d)

3.2 结构鉴定结果

F1, 褐色粉末, 易溶于甲醇、丙酮, 不溶于水; LC/Q-TOF/MS $[M-H]^-$ m/z 469.0052, 分子式为 $C_{21}H_{10}O_{13}$, 不饱和度为 17。 1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz) δ ppm: 7.49 (H-4, s), 6.98 (H-6', s), 6.96 (H-9, s); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz) δ ppm: 166.3 (C-7'), 159.6 (C-10), 159.5 (C-5), 149.9 (C-8), 149.0 (C-3), 143.3 (C-5'), 140.0 (C-7), 140.0 (C-2), 139.5 (C-3'), 139.5 (C-2'), 137.1 (C-1a), 136.6 (C-6a), 135.6 (C-4'), 115.1 (C-1'), 114.3 (C-9b), 112.4 (C-4b), 110.8 (C-4), 108.7 (C-6'), 108.7 (C-9), 108.5 (C-4a), 108.5 (C-9a)。 1H NMR 谱仅在低场区 δ H 6.95、6.98 和 7.49 显示 3 个质子单峰信号, 提示分子应为共轭芳香体系。 ^{13}C NMR 谱显示 21 个碳信号, 包括 1 个羧基 166.3 (C-7'), 和两个内酯羰基 159.6、159.5 (C-10, C-5), 其余碳信号均位于 δ C 100 ~ 150 之间, 为系列芳香碳信号。根据以上特征, 可初步推测该化合物为含有 3 个没食子酰基片段的多酚类成分。进一步分析其 HMBC 谱, 由 H-4/C-5、H-9/C-10 和 H-6'/C-7' 的相关, 表明 3 个芳香质子信号分别属于 3 个没食子酰基。由 112.4 (C-4b, s) 和 114.3 (C-9b, s) 的化学位移值, 可推测 C-4b 和 C-9b 通过 C-C 键直接相连, 由 149.9 (C-8, s) 和 139.5 (C-2', s) 的化学位移可推测 C-8 和 C-2' 通过 O 原子相连。综上, 与参考文献^[15]比较, 确定该化合物为椴木酸双内酯 (valoneic acid dilactone)。其结构式见图 4。

F2, 浅棕色粉末, 易溶于水; LC/Q-TOF/MS $[M-$

$H]^-$ m/z 633.0737, 分子式为 $C_{27}H_{22}O_{18}$, 不饱和度为 17。该化合物的 1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz) 和 ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz) 谱数据均成对出现, 结合其分子式表明该化合物为一对同分异构体。 1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz) δ ppm: α -D-吡喃葡萄糖异构体: 6.38 (H-3, s), 6.27 (H-12, s), 6.87 (H-3', s), 6.87 (H-7', s), 5.07 (H-1'', m), 3.63 (H-2'', m), 5.32 (H-3'', t, $J = 9.9$ Hz), 4.71 (H-4'', t, $J = 9.9$ Hz), 4.41 (H-5'', d, $J = 9.9, 6.6$ Hz), 5.05 (H-6'', overlapped), 3.70 (H-6'', overlapped); β -D-吡喃葡萄糖异构体: 6.37 (H-3, s), 6.25 (H-12, s), 6.86 (H-3', s), 6.86 (H-7', s), 4.55 (H-1'', m), 3.32 (H-2'', overlapped), 5.16 (H-3'', t, $J = 9.9$ Hz), 4.71 (H-4'', t, $J = 9.9$ Hz), 4.07 (H-5'', d, $J = 9.9, 6.4$ Hz), 5.02 (H-6'', overlapped), 3.76 (H-6'', overlapped); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz) δ ppm: 167.6 (C-1), 115.4 (C-2), 105.7 (C-3), 144.3 (C-4), 144.2 (C-5), 124.0 (C-6), 135.1 (C-7), 135.2 (C-8), 124.1 (C-9), 144.6 (C-10), 144.5 (C-11), 105.4 (C-12), 115.1 (C-13), 166.9 (C-14), 165.7 (C-1'), 119.4 (C-2'), 108.9 (C-3'), 145.2 (C-4'), 138.3 (C-5'), 145.2 (C-6'), 108.9 (C-7'), 92.5 (C-1''), 70.3 (C-2''), 72.8 (C-3''), 70.5 (C-4''), 65.8 (C-5''), 62.8 (C-6''); β : ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz) δ ppm: 167.6 (C-1), 115.4 (C-2), 105.6 (C-3), 144.5 (C-4), 144.2 (C-5), 124.5 (C-6), 135.1 (C-7), 135.2 (C-8), 124.5 (C-9), 144.2 (C-10), 144.5 (C-11), 105.4 (C-12), 115.1 (C-13), 166.9 (C-14),

165.6 (C-1'), 119.3 (C-2'), 108.9 (C-3'), 145.2 (C-4'), 138.3 (C-5'), 145.2 (C-6'), 108.9 (C-7'), 97.6 (C-1''), 73.1 (C-2''), 74.6 (C-3''), 70.4 (C-4''), 70.0 (C-5''), 62.8 (C-6''). 综合核磁数据分析并结合参考文献^[16,17]中的图谱数据,该化合物的结构得以确定为3-O-没食子酰基-4,6-[(S)-六羟基联苯二酰基]- β -D-吡喃葡萄糖。由于该化合物中葡萄糖的C-1''位为游离羟基,溶液中存在 α/β 的互变异构,即3-O-没食子酰基-4,6-[(S)-六羟基联苯二酰基]- α -D-吡喃葡萄糖,不能分离,故H和C谱数据均成对出现,为{3-O-galloyl-4,6-[(S)-hexahydroxydiphenyl]- α/β -D-glucopyranose},其结构式见图4。

F3,浅棕色粉末,易溶于水;LC/Q-TOF/MS [M-H]⁻ *m/z* 635.0883,据此计算其分子式为C₂₇H₂₄O₁₈,不饱和度为16。¹H NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz) δ ppm: 5.27 (H-1, m), 3.65 (H-2, m), 5.58 (H-3, m), 4.86 (H-4, m), 4.11 (H-5, m), 4.38 (H-6, m), 6.92 (H-2', s, H-6'), 6.88 (H-2'', s, H-6''), 7.00 (H-2''', s, H-6'''); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 150 MHz) δ ppm: 89.8 (C-1), 68.6 (C-2), 72.4 (C-3), 72.2 (C-4), 69.7 (C-5), 63.6 (C-6), 119.8 (C-1'), 109.2 (C-2'), 145.8 (C-3'), 138.8 (C-4'), 145.8 (C-5'), 109.2 (C-6'), 165.8 (C-7'), 119.0 (C-1''), 109.3 (C-2''), 145.9 (C-3''), 139.3 (C-4''), 145.9 (C-5''), 109.3 (C-6''), 165.7 (C-7''), 119.7 (C-1'''), 109.1

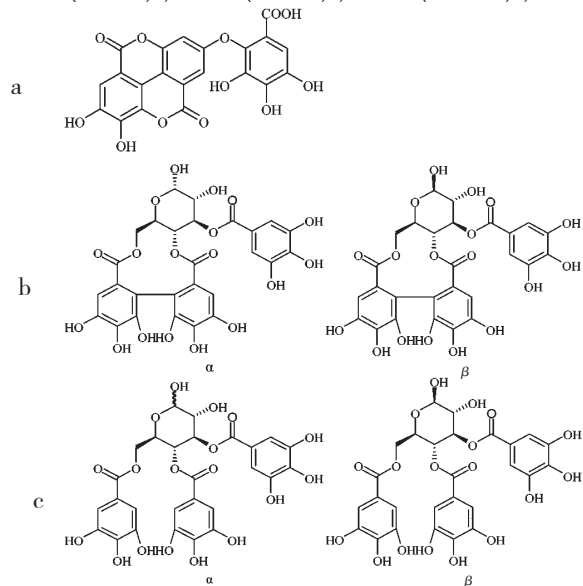


图4 油茶蒲特征性成分 F1 (a)、F2 (b) 及 F3 (c) 的化学结构

Fig. 4 Chemical structure of characteristic compositions

F1 (a), F2 (b) and F3 (c) isolated from *O. camellia* extracts

(C-2'''), 146.1 (C-3'''), 139.0 (C-4'''), 146.1 (C-5'''), 109.1 (C-6'''), 166.2 (C-7'''). 结合参考文献^[18]中的图谱数据,该化合物的结构确定为3,4,6-三-O-没食子酰基-D-葡萄糖。因葡萄糖的C-1位具有游离羟基,在溶液中存在 α/β 的互变异构,即3,4,6-三-O-没食子酰基-(α/β)-D-葡萄糖(3,4,6-tri-O-galloyl-D-glucose),因此该化合物是以一对互变异构体的形式分离得到。其结构式见图4。

3.3 F1 ~ F3 的 BPH-1 细胞增殖的抑制作用

不同浓度下阳性对照非那雄胺、Fr8、F1、F2 及 F3 对 BPH-1 细胞增殖的抑制率如图 5 所示。

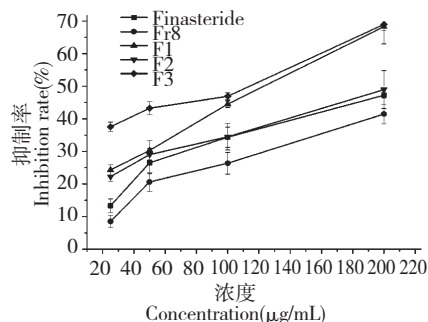


图5 油茶蒲活性成分对 BPH-1 细胞增殖 48 h 的抑制率 (%)

Fig. 5 Inhibitory effect of Fr8 and its' fraction on BPH-1 cells growth in 48 h (%)

根据图 5 结果显示,在一定浓度范围内,各组分对 BPH-1 细胞增殖的抑制作用呈剂量依赖性。与非那雄胺相比,在浓度低于 50 μ g/mL 时,F1、F2 和 F3 对 BPH-1 细胞增殖有很强的抑制活性,除 Fr8 外,其余组分的抑制率均显著高于非那雄胺。Fr8 及其制备组分在实验浓度范围内对细胞增殖的抑制率与浓度均呈正相关,在给药浓度大于 50 μ g/mL 时,F2 的抑制率与非那雄胺相当,F1 和 F3 的抑制活性显著高于非那雄胺和组分 Fr8。当组分浓度为 200 μ g/mL 时,F1、F3 对 BPH-1 细胞增殖很强的抑制活性,分别为 68.26% 和 68.95%。即 F1、F2 和 F3 均为抑制前列腺增生的活性化合物。

4 结论与讨论

随着高效制备液相色谱在天然产物分离中的成熟运用,本研究采用高效制备液相色谱对油茶蒲聚酰胺组分活性单体化合物的分离与结构鉴定。固相萃取(SPE)技术对聚酰胺粗组分 Fr8 进行纯化后,Fr8 经制备液相分离得到 3 个组分 F1-F3。经液相分析后发现 F2 和 F3 为两对同分异构。制备得到的 3 个组分中 F1、F3 抑制率最强,在浓度时 100 μ g/

mL时,抑制率分别是44.50%和46.90%,F2的抑制率34.49%与非那雄胺34.37%相当。

选择F1、F2和F3进行结构鉴定,通过质谱和核磁共振等手段结合文献确定其化学结构。F1为橡胶烷双内酯,Hirano Y等^[19]研究表明其对5 α -还原酶的抑制作用显著,这与本研究中对BPH-1细胞的作用结果一致,表明该物质对改善前列腺增生作用明显。F2和F3溶液中存在 α/β 的互变异构,F2为3-O-没食子酰基-4,6-[(S)-六羟基联苯二酰基]-(α/β)-D-吡喃葡萄糖,曾在胡桃种子和丁香叶子中分离得到,具有很好的抗氧化^[20]和潜在的降低低密度脂蛋白水平的作用^[21];F3为3,4,6-三-O-没食子酰基-(α/β)-D-葡萄糖,清除自由基和抗氧化能力强^[22,23];这三种物质均是首次在油茶中分离得到。这些物质改善前列腺增生的作用机理值得进一步研究,为开发改善良性前列腺增生的天然产物提供理论依据。

参考文献

- 1 Wang B(王斌). Present situation and development countermeasures of camellia oil industry in China. *Chin Forest Sci Tech* (林业科技开发), 2011, 25(2): 11-15.
- 2 Zhou W(周薇). The prospect of comprehensive utilization of camellia. *Chin Rur Sci Tech* (中国农村科技), 2006, 10: 21-23.
- 3 Chen YQ(陈亚琪). Studies on antioxidant and anticancer activities of extract from the fruit shell of *camellia oleifera* Abel. Hangzhou: Zhejiang University(浙江大学), MSc. 2010.
- 4 Chen QP(陈秋平). Effects of functional factors in the hull of *Camellia oleifera* Abel. on obesity and dyslipidemia. Hangzhou: Zhejiang University(浙江大学), PhD. 2011.
- 5 Chen QP, Luo XW, Ma XF, et al. Fatty acid synthase inhibitors separated from *Oiltea camellia* by High-Speed Counter-Current Chromatography. *J Food Sci*, 2011, 76: C750-C754.
- 6 Li LM(李利敏). Studies on the bioactive compounds and antioxidant activities of extract from the fruit shell eight kinds of *Camellia*. Hangzhou: Zhejiang University(浙江大学), MSc. 2011.
- 7 Al-Khalil S, Boothe D, Durdin T, et al. Interactions between benign prostatic hyperplasia (BPH) and prostate cancer in large prostates: a retrospective data review. *Int Urol Nephrol*, 2016, 48(1): 91-97.
- 8 Luo XW(罗晓伟). The effects of ethanol extracts from fruit shell of *Camellia oleifera* Abel on inhibiting 5 α -reductase and preventing prostate diseases. Hangzhou: Zhejiang University(浙江大学), MSc. 2011.
- 9 Zheng XX(郑茜茜). The separation of active constituents

from shell of *Oiltea camellia* and its inhibition on benign prostate hyperplasia. Hangzhou: Zhejiang University(浙江大学), MSc. 2014.

- 10 Titus MA, Li Y, Kozyreva OG, et al. 5 α -reductase type 3 enzyme in benign and malignant prostate. *Prostate*, 2014, 74: 235-249.
- 11 Zheng XX(郑茜茜), Xia BN(夏博能), Shen J(沈骏), et al. Separation of 5 α -reductase inhibitor from *Oiltea camellia* extracts by polyamide chromatography. *Food Sci* (食品科学), 2014, 13: 20-25.
- 12 Shen J(沈骏), Zheng XX(郑茜茜), Wu XQ(吴晓琴), et al. Effect of *Oiltea camellia* extract on BPH-1 cells. *Mod Food Sci Tech*, 2015, 7: 6-11.
- 13 Chen YY(陈鸳谊), Li XN(李行诺), Zhang CP(张翠萍), et al. Application of high performance preparative chromatography to the separation of natural products. *Pro Pharm Sci*, 2010, 34(8): 337-343.
- 14 Shen J(沈骏). Effect of 5 α -reductase inhibitors purified from shell of *oiltea Camellia* on BPH-1 cells. Hangzhou: Zhejiang University(浙江大学), MSc. 2015.
- 15 Barakat HH, Hussein SAM, Marzouk MS, et al. Polyphenolic metabolites of *Epilobium hirsutum*. *Phytochemistry*, 1997, 46: 935-941.
- 16 Lee SH, Tanaka T, Nonaka G, et al. Hydrolysable tannins from *Euphorbia thymifolia*. *Phytochemistry*, 1990, 29: 3621-3625.
- 17 Wang KJ, Zhang YJ, Yang CR. New phenolic constituents from *Balanophora polyandra* with radical-scavenging activity. *Chem Biodivers*, 2006, 3: 1317-1324.
- 18 Lee SH, Tanaka T, Nonaka G, et al. Alloose gallates from *Euphorbia fischeriana*. *Phytochemistry*, 1991, 30: 1251-1253.
- 19 Hirano Y, Kondo R, Sakai K. 5 α -Reductase inhibitory tannin-related compounds isolated from *Shorea laevifolia*. *J Wood Sci*, 2003, 49: 339-343.
- 20 Ito H, Okuda T, Fukuda T, et al. Two novel dicarboxylic acid derivatives and a new dimeric hydrolyzable tannin from walnuts. *J Agric Food Chem*, 2007, 55: 672-679.
- 21 Chang JJ, Chen TH, Chan P, et al. The in vitro inhibitory effect of tannin derivatives on 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase on Vero cells. *Pharmacology*, 2001, 62: 224-228.
- 22 Hong CYE, Wang CP, Huang SS, et al. The inhibitory effect of tannins on lipid peroxidation of rat heart mitochondria. *J Pharm Pharmacol*, 1995, 47: 138-142.
- 23 Pfundstein B, El Desouky SK, Hull WE, et al. Polyphenolic compounds in the fruits of Egyptian medicinal plants (*Terminalia bellerica*, *Terminalia chebula* and *Terminalia horrida*): characterization, quantitation and determination of antioxidant capacities. *Phytochemistry*, 2010, 71: 1132-1148.