



蟾衣化学成分及体外抗肿瘤活性研究

高慧敏^{1,2}, 吴喜燕^{1,2}, 李宗云^{1,2}, 游云¹, 张毅¹, 王智民^{1,2*}

(1. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700;
2. 中药质量控制技术国家工程实验室, 北京 100700)

[摘要] **目的:**对源于蟾蜍的新资源蟾衣进行化学成分研究,并对蟾衣提取物及分离得到的主要化合物进行抗肿瘤活性评价。**方法:**蟾衣粗粉采用95%乙醇回流提取,提取物采用正相硅胶、反相硅胶和葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 柱色谱分离,结合结晶法对化合物进行纯化,通过波谱分析鉴定化合物的结构;采用 MTT 法对 95% 乙醇提取物及分离得到的主要化合物进行体外抗肿瘤活性评价。**结果:**从蟾衣 95% 乙醇提取物中分离鉴定了 8 个化合物,分别为棕榈酸胆甾烯酯(1),胆甾醇(2), $5\alpha,8\alpha$ -epidioxycholesta-6-en-3 β -ol(3),胆甾-5-烯-3 $\beta,7\beta$ -二醇(4),胆甾-7-烯-3 $\beta,5\alpha,6\beta$ -三醇(5),3-十八烷氧基-1,2-丙二醇(6), $\Delta^{4,5}(E),\Delta^{9,10}(Z)$ -鞘胺醇-正十五碳酸酰胺(7)和蟾蜍噻啉(8);抗肿瘤活性筛选表明,蟾衣 95% 乙醇提取物和分离得到的主要化合物对试验的细胞株均无抑制作用。**结论:**化合物 1~8 均为首次从蟾衣中分离得到,其中化合物 3,5~7 为首次从中华大蟾蜍和蟾蜍属中分离得到。

[关键词] 蟾衣;中华大蟾蜍;化学成分;抗肿瘤

蟾衣,又称蟾蛻,来源于蟾蜍科动物中华大蟾蜍自然蛻下的角质衣膜,为新近从民间发掘的蟾蜍药用资源^[1]。由于与常用中药蟾酥、蟾皮具有同源性,蟾衣在民间部分地区被号称用于多种癌症的治疗^[2-4]。近年来也有研究者对蟾衣提取物抑制 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性^[5],蟾衣粉降血糖^[6],抗 HIV-1^[7],蟾衣粉对小鼠体内 S180 肉瘤、H22 肝癌、Lewis 肺癌、HCA 肝腹水癌抑制作用等^[8]开展了不同的药理活性研究;观察了蟾衣粉对实验小鼠的营养作用并测定了蟾衣中氨基酸组成^[9]和酯蟾毒配基含量^[10-11],关于其化学成分的研究尚属空白。为了阐明蟾衣的化学组成,正确评价蟾衣资源潜在的药用价值和经济价值,本研究对蟾衣 95% 乙醇提取物进行了系统的化学成分研究,从中分离鉴定了 8 个化合物;并进行蟾衣 95% 乙醇提取物及其主要单体成分对肺癌 A549,肝癌 Bel7402,胃癌 HGC-27 和白血病细胞 HL-60 等细胞株的细胞毒活性筛选,结果表明均无抑制作用。

1 试药与仪器

核磁共振谱分别采用 JEOL Teol AL-500、Bruker AVANCE 600 核磁共振仪测定(TMS 内标),Trace MS(美国 Finnigan),FAB-MS 采用 Jabstec 型质谱仪测定(Micromass 公司),ODS(40~75 μ m,FU JI sily-sia chemical LTD.),葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 (GE Healthcare,Sweden),柱色谱和薄层色谱用硅胶为青岛海洋化工厂生产,所用试剂均为分析纯。

人肿瘤细胞株肺癌 A549、肝癌 Bel-7402 和白血病 HL-60 购于中国医学科学院北京协和细胞中心,人胃癌 HGC-27 细胞株购于中国科学院上海生命科学研究院。F12 培养基、DMEM 培养基和改良型 RPMI-1640 购于 HyClone 赛默飞世尔生物化学制品(北京)有限公司,胎牛血清 GIBCO 公司产品,MTT 和胰酶均为 Sigma 公司产品,磷酸缓冲盐溶液 M&C Gene Technology 公司产品,Bio-Rad Model 550 型酶标仪,三洋电机国际贸易有限公司 CO₂ 孵箱。

蟾衣采自江苏省南通地区,经作者鉴定为蟾蜍科动物中华大蟾蜍自然脱落的角质衣膜,标本(CY-20090223)存放于中国中医科学院中药研究所。

2 方法与结果

2.1 提取分离

干燥的蟾衣粗粉 10 kg,以 12,10 倍量 95% 乙醇回流提取 2 次,合并,减压回收溶剂,静置,析出沉淀,过滤,滤液浓缩得浸膏 54.9 g(Fr. A),沉淀部

[稿件编号] 20110303001

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30801512);国家“重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09301-005,2009ZX09308-003);中国中医科学院自选课题(ZO2073)

[通信作者] * 王智民, Tel/Fax: (010) 84014128, E-mail: zhmw123@263.net



分干燥得 229 g (Fr. B); 沉淀部分 (Fr. B) 经甲醇、氯仿反复溶解、滤过, 分为不溶物 (Fr. B-I) 和浸膏 (Fr. B-II) 2 部分。取 Fr. B-I 不溶物 1 g, 经硅胶柱色谱, 石油醚-乙酸乙酯 (4:1) 洗脱, 结合结晶法得化合物 **2** (8 mg); Fr. B-II 经硅胶柱色谱, 石油醚-乙酸乙酯 (25:1, 4:1, 1:1) 洗脱, 得化合物 **1** (117 mg) 和 **3** (52 mg); Fr. A 经硅胶柱色谱, 石油醚-丙酮 (4:1, 1:1)、氯仿-甲醇-水 (82:12:1) 和甲醇洗脱, 得流分 Fr. A-I, Fr. A-II, Fr. A-III, 流分 Fr. A-I 经硅胶柱色谱, 氯仿-乙酸乙酯 (1:1) 洗脱, 结合结晶法得化合物 **4** (5 mg), **6** (12 mg), **7** (5 mg), 流分 Fr. A-II 经硅胶柱色谱, Sephadex LH-20 纯化, 得化合物 **5** (35 mg), Fr. A-III 经硅胶柱色谱, Sephadex LH-20 纯化, 得化合物 **8** (5.7 mg)。

2.2 结构鉴定

化合物 **1** 白色粉末, 2% 浓硫酸香草醛显紫红色。EI-MS m/z 368 $[M - C_{16}H_{32}O_2]^+$ (100), 353, 255; 1H -NMR ($CDCl_3$, 500 Hz) δ : 5.37 (1H, br s, H-6), 4.61 (1H, H-3); ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ : 37.0 (C-1), 27.8 (C-2), 73.7 (C-3), 38.2 (C-4), 139.7 (C-5), 122.6 (C-6), 31.9 (C-7), 31.8 (C-8), 50.0 (C-9), 36.6 (C-10), 21.0 (C-11), 39.7 (C-12), 42.3 (C-13), 56.7 (C-14), 24.3 (C-15), 28.0 (C-16), 56.1 (C-17), 11.9 (C-18), 19.3 (C-19), 35.8 (C-20), 18.7 (C-21), 36.2 (C-22), 23.8 (C-23), 39.5 (C-24), 28.2 (C-25), 22.6 (C-26), 22.8 (C-27), 173.3 (C=O), 14.1 (CH₃), 34.7 (-CH₂COO⁻), 29.6 ~ 29.1 $[-(CH_2)_n-]$, 25.1, 22.7 (-CH₂CH₃)。以上数据与文献 [12] 基本一致, 化合物 **1** 鉴定为棕榈酸胆甾烯酯。

化合物 **2** 白色片状结晶 (石油醚), EI-MS m/z 386 (M^+), 368, 353, 301, 275。质谱数据与文献 [13] 胆甾醇基本一致, 化合物 **2** 鉴定为胆甾醇。

化合物 **3** 白色粉末, 50% 浓硫酸乙醇显绿色。EI-MS m/z 416 (M^+), 398 $[M - H_2O]^+$, 384, 365, 351, 325, 267, 249; 1H -NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ : 6.50 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-7), 6.23 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6), 4.01 (1H, m, H-3), 0.98 (3H, s, H-19), 0.88 (3H, s, H-18), 1.01 ~ 0.90 (9H, d, H-26, 27, 21); ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ : 34.7 (C-1), 30.1 (C-2), 66.4 (C-3), 36.9 (C-4), 82.1 (C-5), 135.4 (C-6), 130.8 (C-7), 79.4 (C-8), 51.1 (C-9),

36.9 (C-10), 20.6 (C-11), 39.4 (C-12), 44.7 (C-13), 51.6 (C-14), 23.4 (C-15), 28.2 (C-16), 56.4 (C-17), 12.6 (C-18), 18.2 (C-19), 35.2 (C-20), 18.6 (C-21), 35.9 (C-22), 23.8 (C-23), 39.4 (C-24), 28.0 (C-25), 22.5 (C-26), 22.8 (C-27)。以上数据与文献 [14-16], 基本一致, 化合物 **3** 鉴定为 $5\alpha, 8\alpha$ -epidioxycholesta-6-en- 3β -ol。

化合物 **4** 白色片状结晶, 50% 硫酸乙醇显蓝色。EI-MS m/z 402 (M^+), 384 $[M - H_2O]^+$, 367; 1H -NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ : 5.29 (1H, s, H-6), 3.85 (1H, d, H-7), 3.53 (1H, m, H-3), 1.04 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, d, H-21), 0.68 (3H, s, H-18); ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ : 36.9 (C-1), 31.5 (C-2), 71.4 (C-3), 41.7 (C-4), 143.4 (C-5), 125.4 (C-6), 73.3 (C-7), 48.2 (C-8), 40.9 (C-9), 36.4 (C-10), 21.1 (C-11), 39.4 (C-12), 42.9 (C-13), 55.4 (C-14), 26.4 (C-15), 28.5 (C-16), 55.9 (C-17), 11.8 (C-18), 19.1 (C-19), 35.7 (C-20), 18.8 (C-21), 36.2 (C-22), 23.8 (C-23), 39.5 (C-24), 28.0 (C-25), 22.5 (C-26), 22.8 (C-27)。以上数据与文献 [12] 一致, 化合物 **4** 鉴定为胆甾-5-烯- $3\beta, 7\beta$ -二醇。

化合物 **5** 白色粉末, 50% 硫酸乙醇显深蓝色。EI-MS m/z 402 $[M - H_2O]^+$, 384 $[M - 2H_2O]^+$, 366 $[M - 3H_2O]^+$, 351; 1H -NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ : 5.36 (1H, s, H-7), 4.08 (1H, m, H-3), 3.62 (1H, s, H-6), 1.09 (3H, s, H-19), 0.93 (3H, d, H-21), 0.85 (6H, d, H-26, 27), 0.60 (3H, s, H-18); ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ : 32.9 (C-1), 30.8 (C-2), 67.7 (C-3), 39.4 (C-4), 75.9 (C-5), 73.7 (C-6), 117.5 (C-7), 144.1 (C-8), 43.5 (C-9), 37.1 (C-10), 22.0 (C-11), 39.3 (C-12), 43.9 (C-13), 54.7 (C-14), 22.9 (C-15), 27.7 (C-16), 56.2 (C-17), 12.1 (C-18), 18.8 (C-19), 36.0 (C-20), 18.8 (C-21), 36.1 (C-22), 23.9 (C-23), 39.4 (C-24), 28.0 (C-25), 22.5 (C-26), 22.8 (C-27)。以上数据与文献 [17-18] 一致, 化合物 **5** 鉴定为胆甾-7-烯- $3\beta, 5\alpha, 6\beta$ -三醇。

化合物 **6** 白色粉末, 1H -NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ : 3.85 (1H, m, CH-OH), 3.71 (1H, dd, $J = 3.5, 11.5$ Hz), 3.65 (1H, q), 3.51 (2H, m), 3.46 (2H, m); ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ : 72.5 (CH₂), 71.9 (CH₂), 70.4 (CH), 64.3 (CH₂), 31.9, 29.7 (强), 29.6, 29.4, 29.3, 26.1, 22.7, 14.1



(CH₃)。以上数据与文献[19-20]一致,化合物**6**鉴定为鲨肝醇,即3-十八烷氧基-1,2-丙二醇。

化合物**7** 白色粉末, EI-MS m/z 521 (M^+), 520 [$M-H$]⁺, 504, 490, 281, 250; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ : 6.23 (1H, d, $J=7.2$ Hz), 5.78 (1H, dt, $J=15.6, 7.8$ Hz), 5.53 (1H, dd, $J=15.6, 7.2$ Hz), 5.34 (1H, t), 4.32 (1H, br. s), 3.95 (1H, dd, $J=11.4, 3.6$ Hz), 3.91 (1H, t), 3.71 (1H, dd, $J=11.4, 3.6$ Hz), 2.23 (2H, t, -CH₂-), 2.05 (4H, t, -CH₂-), 1.63 (2H, t, -CH₂-), 1.26 [-(CH₂)_n-], 0.88 (6H, t, 2 × CH₃); ¹³C-NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ : 173.9 (C=O), 134.3, 129.9, 128.8, 74.7, 62.5, 54.4, 36.8, 32.3, 31.9, 29.7 (强), 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 29.1, 27.2, 25.7, 22.7, 14.1 (CH₃)。以上数据与文献^[21] isisamide 一致, 化合物**7** 鉴定为 isisamide, 即 $\Delta^{4,5}$ (*E*), $\Delta^{9,10}$ (*Z*)-鞘胺醇-正十五碳酸酰胺。

化合物**8** 白色粉末, FAB-MS m/z 283 [$M+H$]⁺。 ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz) δ : 7.32 (1H, s, H-2), 3.25 (2H, t, $J=5.4$, H-3), 4.05 (2H, t, $J=5.4$, H-4), 7.44 (1H, d, $J=9.0$ Hz, H-7), 7.34 (1H, d, $J=9.0$ Hz, H-8), 11.35 (1H, br. s, H-1), 3.73 (6H, s, N(CH₃)₂); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 150 MHz) δ : 105.2 (C-1a), 113.9 (C-2), 18.7 (C-3), 68.3 (C-4), 125.4 (C-5a), 137.4 (C-6), 122.4 (C-7), 119.2 (C-8), 132.1 (C-1b), 120.7 (C-2a), 54.5 [N(CH₃)₂]。以上数据与文献[22]一致, 并与蟾蜍噻啉标准品共薄层展开, R_f 和显色斑点相同, 化合物**8** 鉴定为蟾蜍噻啉。

2.3 对不同肿瘤细胞株的活性

采用 MTT 法, 测试了蟾衣 95% 乙醇提取物 (Fr. A)、蟾衣 95% 乙醇提取物沉淀 (Fr. B) 和化合物**2**、**3** 和 **8** 在不同浓度下对肿瘤细胞株肺癌 A549, 肝癌 Bel-7402, 胃癌 HGC-27 和白血病细胞 HL-60 的抑制活性。实验选用蟾毒灵 (bufalin) 为阳性对照化合物, 含 0.1% DMSO 的培养液为空白对照, 受试样品以二甲基亚砜 (DMSO) 溶解, 终浓度分别为 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10, 20 mg · L⁻¹。实验具体操作参照文献方法^[23] 进行, 以抑制率为指标评价各受试样品的抗肿瘤活性。结果表明, 除阳性对照化合物蟾毒灵外, 各受试样品在不同浓度下对肿瘤细胞株肺癌 A549, 肝癌 Bel-7402, 胃癌 HGC-27 和白血病 HL-60 均未表现出抑制作用。

3 讨论

本研究首次针对源于蟾蜍的新资源——蟾衣开展了化学成分研究, 从其 95% 乙醇提取物中分离鉴定了 8 个化合物, 为蟾蜍资源的综合利用和开发提供了科学依据。尽管与蟾酥、蟾皮具有同源性, 但蟾衣与后两者相比, 化学组成差异显著。在蟾衣的乙醇提取物中, 主要为甾醇类成分, 特别是胆甾醇, 占据了总提物的绝大比例; 而蟾酥中富含的蟾毒配基类成分和蟾皮中富含的吲哚生物碱类和结合型蟾蜍毒素类成分, 在蟾衣中含量甚微, 甚至没有。比如分离得到的少量蟾蜍噻啉, 依据文献蟾皮中蟾蜍噻啉的检测方法^[24], 在蟾衣样品的 HPLC 图谱中未检测到, 只有加大取样量, 供试品溶液进行浓缩的情况下才能检测到蟾蜍噻啉的色谱峰。同样, 游离型蟾毒配基类成分含量甚微, 文献曾报道蟾衣中脂蟾毒配基的含量分别为 0.08 mg · g⁻¹^[10] 和 0.031 3 mg · g⁻¹^[11], 本实验基于 10 kg 蟾衣原料得到的乙醇提取物中未分离得到该类成分; 采取 HPLC-DAD-MS 对乙醇总提物进行检测, 基于在线紫外吸收波长和 MS 提供的准分子离子峰分析, 能够确认该类物质在乙醇总提物中存在, 但含量极低。此外, 基于蟾衣、蟾皮和蟾酥共薄层分析的结果, 过氧化胆甾醇 (化合物**3**) 为蟾衣中特有的成分, 这也间接说明, 蟾衣作为蟾蜍自然蜕下的角质衣膜, 所含主要化学成分多为机体新陈代谢产生的终产物。

实验选择蟾衣乙醇提取物 (Fr. A)、乙醇提取物中得到的大量沉淀 (Fr. B)、分离得到的主要成分胆甾醇、特有成分过氧化胆甾醇以及吲哚生物碱类成分蟾蜍噻啉对不同肿瘤细胞株的体外抑制活性筛选, 结果表明, 从总提物到单体成分, 在不同浓度下对受试肿瘤细胞株均未表现出抑制作用。这样的结果与最近文献报道的蟾衣干粉在动物体内具有明显的抗肿瘤效果^[8] 存在相当大的偏差。究其原因, 可能是体内外抗肿瘤模型的差异或者是不同瘤株的差异, 也可能是受试药物的不同 (蟾衣干粉和蟾衣乙醇提取物) 所致。但无论怎样, 蟾衣醇提取物对试验肿瘤细胞没有抑制作用的活性评价结果与其所含化学组成多为胆甾醇及其氧化产物是相符的; 结合文献报道蟾酥、蟾皮抗肿瘤活性成分为蟾毒配基或蟾蜍毒素类化合物^[25]。因此, 蟾衣是否具有直接抗肿瘤作用, 能否用于癌症疾病的防治值得深入研究。

[致谢] 提取分离用蟾衣样品由江苏南通地区蟾衣采



集者杨鸣泽提供;核磁数据由北京化工大学分析测试中心测试;质谱数据由协和药物研究所分析测试中心测试。

[参考文献]

[1] 缪珠雷,张康,柏巧明,等. 中华大蟾蜍新药部位——蟾蜍的来源、性状观察及本草考证[J]. 时珍国医国药,2006,17(11):2323.

[2] 梁光裕. 应用量子共振检测蟾蜍治疗恶性肿瘤的效果[J]. 中国医学研究与临床,2004,2(16):37.

[3] 梁光裕. 蟾蜍治疗恶性肿瘤临床研究初探[J]. 中国医学研究与临床,2005,3(4):24.

[4] 汤杰. 蟾衣浸出液灌注治疗慢性上颌窦炎的疗效[J]. 华北煤炭医学院学报,2010,12(2):198.

[5] 陈才法,缪进,李景辉,等. 蟾酥、蟾皮、蟾衣提取物对心肌细胞膜ATP酶的影响[J]. 四川动物,2008,27(3):393.

[6] 曹莉,茅彩萍,顾振伦. 蟾衣粉降血糖作用的实验研究[J]. 中国血液流变学杂志,2002,12(4):291.

[7] 陈建伟,李祥,许金国,等. 中药新资源蟾蜍抗HIV-1作用的实验研究[J]. 美中医学,2007,4(6):20.

[8] 缪珠雷,张康,杨鸣泽,等. 蟾蜍抗肿瘤及增强免疫效应研究[J]. 中国中药杂志,2010,35(2):211.

[9] 缪珠雷,张康,杨明泽,等. 蟾蜍的氨基酸分析及其对小鼠营养作用观察[J]. 食品科技,2010,35(4):71.

[10] 徐凌川. 蟾衣药材中的脂蟾毒配基含量测定[J]. 山东中医杂志,2008,27(9):624.

[11] 缪珠雷,张康,杨鸣泽,等. 蟾皮和蟾蜍脂蟾毒配基含量测定与比较[J]. 时珍国医国药,2010,22(4):879.

[12] 杨秀伟,白云鹏. 马鹿茸化学成分的研究[J]. 中草药,1994,25(5):229.

[13] 丛浦珠,苏克曼. 分析化学手册. 第9分册[M]. 2版. 北京:化学工业出版社,2000:832.

[14] Sheikh Y M, Djerassi C. Steroids from sponges [J]. Tetrahedron, 1974, 30: 4095.

[15] Gunatilaka A A L, Gopichand Y, Schmitz F J, et al. Minor and trace sterols in marine invertebrates. 26. isolation and structure elucidation of nine new 5 α ,8 α -epidioxy sterols from four marine organisms[J]. J Org Chem, 1981, 46: 3860.

[16] 肖定军,邓松之,吴厚铭. 南海海绵 *Gellius cymiformis* 化学成分的研究[J]. 天然产物研究与开发, 1999, 11(1): 6.

[17] Zipser B, Bradford J J, Hollingsworth R I. Cholesterol and its derivatives, are the principal steroids isolated from the leech species *Hirudo medicinalis* [J]. Comp Biochem Phys C, 1998, 120: 269.

[18] Musumeci D, Sica D. CH₃ReO₃-catalyzed oxidation of cholesta-5,7-dien-3 β -yl acetate with the urea-hydrogen peroxide adduct under various conditions. Synthesis of the natural epoxy sterol 9 α ,11 α -epoxy-5 α -cholest-7-en-3 β ,5,6 β -triol [J]. Steroids, 2002, 67: 661.

[19] 田春雷,邓松之,吴厚铭. 南海海绵 *Istrochota ridley* 化学成分的研究(一)[J]. 广州化学, 1998, 1: 36.

[20] 罗建荣,何江波,张敏,等. 药用昆虫蝎尾琵琶甲化学成分研究[J]. 中成药, 2010, 32(11): 2013.

[21] 邓松之,李凤英,谈燮峰. 南海柳珊瑚 *Isis* sp. 中的一个新神经酰胺[J]. 天然产物研究与开发, 1994, 6(1): 32.

[22] 杨立宏,金向群,张薇. 中华大蟾蜍皮化学成分研究[J]. 沈阳药科大学学报, 2000, 17(4): 292.

[23] 司徒镇强,吴军正. 细胞培养[M]. 西安:世界图书出版公司, 1996:200.

[24] 代丽萍,王智民,高慧敏,等. 蟾皮和华蟾素注射液中蟾蜍噁啉含量测定[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(3): 224.

[25] 江成亮,竺叶青. 蟾蜍抗肿瘤作用研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2000, 12(1): 67.

Chemical constituents from *Bufois periostracum* and their antitumor activity *in vitro*

GAO Huimin^{1,2}, WU Xiyan^{1,2}, LI Zongyun^{1,2}, YOU Yun¹, ZHANG Yi¹, WANG Zhimin^{1,2*}

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2. National Engineering Laboratory for Quality Control Technology of Chinese Herbal Medicine, Beijing 100700, China)

[Abstract] Eight compounds were isolated from *Bufois periostracum* by repeated column chromatography on silica gel, ODS and Sephadex LH-20 and their structures were characterized as palmitic acid cholesteryl ester (**1**), cholesterol (**2**), 5 α , 8 α -epidioxycholesta-6-en-3 β -ol (**3**), cholest-5-en-3 β , 7 β -diol (**4**), cholest-7-en-3 β , 5 α , 6 β -triol (**5**), 3-octadecyloxy-1, 2-propanediol (**6**), isisamide (**7**) and bufotionine (**8**) on the base of spectral analysis. Compounds **1-8** were isolated from *Bufois periostracum* for the first time and compounds **3, 5, 6, 7** were obtained from *Bufo bufo gargarizans* and *Bufo* genus for the first time. The bioassays showed all tested samples displayed no antitumor activity against the cell lines such as A549, BeL 7402, HGC-27 and HL-60, except the control compound bufalin.

[Key words] *Bufois periostracum*; *Bufo bufo gargarizans*; chemical constituents; antitumor

doi:10.4268/cjcm20111612

[责任编辑 丁广治]