

成的。

4.5 NMP的差热失重分析(TGA):从图中可以看出,除了水的失重温度峰外,样品的失重温度范围都在 200℃~ 400℃内,没有其它杂质峰,说明该样品的纯度较高,从元素分析也可以得到验证。

综上所述,我们可以得到这样的结论,采用DEAE-Sephades A-25阴离子柱层析法可以较好地分离和提纯中华芦荟原始多糖,凝胶层析得到的淋洗曲线为一单一的正态分布曲线,以及元素分析和热失重分析均表明该多糖的纯度较高;提取得到的多糖经过 HPLC IR ¹³C NMR测定证明为一种部分

乙酰化的β-1, 4-D聚吡喃甘露糖。该多糖是否具有生物和药理活性有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] Bill H M, Grand P R, *et al.* Uses of Aloe products [P]. US Patent 5, 308, 838.
- [2] Michel D G, Gilles K A, Hamilton J K. *et al.* Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. Anal Chem, 1956, 28: 350-356.
- [3] Akira Yagi, Hiroshi Nishimura, Takao Shida, *et al.* Structure determination of polysaccharides in *Aloe arborescens* var [J]. Planta Med, 1986, 3: 213-218.
- [4] Gorin P A. Assignment of signals of the carbon-13 magnetic resonance spectrum of selected polysaccharide. Comments on methodology [J]. Carbohydrate Research, 1975, 39: 3-10.

西南银莲花的活性三萜皂苷

廖 循¹,李伯刚¹,高小平¹,官家发¹, 丘生¹,陈耀祖^{2*}

(1. 中国科学院成都生物研究所,四川 成都 610041; 2. 浙江大学 化学系,浙江 杭州 310027)

摘 要:目的 研究西南银莲花 *Anemone davidii* 根状茎和地上部分的活性三萜皂苷。方法 用甲醇室温提取,大孔树脂 D101 硅胶及反相硅胶柱层析分离纯化,NMR分析并结合化学降解鉴定结构,体外抑菌和人癌细胞生长抑制实验测试抗菌和抗癌活性。结果 从该植物根状茎中分离鉴定出三萜皂苷I ~ VII,从地上部分分离鉴定出三萜皂苷V ~ VIII,其中II ~ IV对人癌细胞体外生长有抑制作用,V,VI和VIII有一定的抗菌活性。结论 上述化学成分均为首次从该植物中分离得到,并首次进行抗癌活性测试,其中II,IV和VI在该属植物中为首次报道。

关键词:西南银莲花;三萜皂苷;生物活性

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)06-0493-04

Bioactive triterpenoid saponins from *Anemone davidii*

LIAO Xun¹, LI Bo-gang¹, GAO Xiao-ping¹, GUAN Jia-fa¹, DING Li-sheng¹, CHEN Yao-zu²

(1. Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu Sichuan 610041, China; 2. Department of Chemistry, Zhejiang University, Hangzhou Zhejiang 310027, China)

Key words *Anemone davidii* Franch.; triterpenoid saponins; bioactivity

西南银莲花 *Anemone davidii* Franch.,又名铜钱草(湖北)、铜骨七(四川)和钻骨风(贵州),属毛茛科银莲花属植物,生长于海拔 950~ 3 500 m的山地中,分布于西南及湖北西部和湖南西北部。其根状茎具有活血止痛、祛瘀消肿和补肾之功效,可用于治疗跌打损伤、风湿痛、劳伤、阳痿和腰痛^[1]。该植物的化学成分还未见报道,我们对其根状茎和地上部分分别用甲醇提取,脱脂后用大孔树脂 D101柱层析得到总皂苷。通过反复硅胶柱层析和反相硅胶柱层析从根状茎总皂苷中分离出化合物I ~ VII,从地上部分总皂苷中分离出化合物V ~ VIII。

化合物I ~ VII经薄层酸水解后,苷元经薄层展开,其 R_f值与齐墩果酸标准品相同;而化合物VIII经相同的处理后,苷元的 R_f值与常春藤配基标准品相同。从 8个化合物的¹³C NMR谱可知,化合物I ~ IV的苷元除 C-3外与齐墩果酸的基本一致,只是 C-3(δ-88)的化学位移比齐墩果酸向低场移动约 δ11,说明它们是仅 C-3接糖链的齐墩果酸糖苷。化合物V ~ VIII的苷元¹³C NMR化学位移与齐墩果酸或常春藤配基标准品相比,除 C-3向低场移动约 δ10外,C-28(δ-176)还向高场移动约 δ4,同时,碳谱中还出现以酯苷键与苷元相连的糖基异头碳特征信号。

* 收稿日期: 2000-04-03

作者简介:廖 循(1972-),男,四川省成都市人,中国科学院成都生物研究所助理研究员,博士 Tel (028) 5229227

895.5,说明它们是苷元 C-3和 C-28同时接有糖链的双糖链苷。

薄层酸水解后,水解下来的单糖与标准糖共同展开对照 Rf值,发现所有化合物均含有鼠李糖和阿拉伯糖,¹³CNMR谱指出,化合物I 只含 1个鼠李糖和 1个阿拉伯糖 其中阿拉伯糖基的 C-2(δ75.8)比未取代的向低场移动 δ3^[2],而 C-1和 C-3分别向高场移动 δ3和 1,说明鼠李糖基与阿拉伯糖基的 C-2相连 所以,I 的结构为齐墩果酸-3-O-α-L-吡喃鼠李糖基(1→2)-α-L-吡喃阿拉伯糖苷(eleutheroside K)^[2,3]。薄层酸水解显示III与I 相比分子中还多 1个葡萄糖基,III的阿拉伯糖基 C-4的化学位移(δ79.6)比I 的向低场移动 δ11.6,所以,III为齐墩果酸-3-O-α-L-吡喃鼠李糖基(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖基(1→4)-α-L-吡喃阿拉伯糖苷,其¹³CNMR化学位移与文献值吻合^[4]。化合物II 和IV 分别比I 和III多 1个木糖基,II,IV 的鼠李糖基 C-3化学位移(δ-83)比I ,III的向低场移动 δ11,C-2和 C-4相应地分别向高场移动 δ-0.6和 δ-1,说明木糖基与鼠李糖基的 C-3相连,所以,化合物II 和IV 的结构分别为齐墩果酸-3-O-β-D-吡喃木糖基(1→3)-α-L-吡喃鼠李糖基(1→2)-α-L-吡喃阿拉伯糖苷^[5,6]和齐墩果酸-3-O-β-D-吡喃木糖基(1→3)-α-L-吡喃鼠李糖基(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖基(1→4)-α-L-吡喃阿拉伯糖苷,其¹³CNMR化学位移与文献值吻合^[6]。

化合物V 为-3-O-β-D-α-L-吡喃鼠李糖基(1→2)-α-L-吡喃阿拉伯糖苷-齐墩果酸-28-O-α-L-吡喃鼠李糖基(1→4)-β-D-吡喃葡萄糖基(1→6)-β-D-吡喃葡萄糖苷,¹³CNMR化学位移与文献报道的 hederasaponin B吻合^[7]。化合物VIII的¹HNMR中出现 6个角甲基峰(δ0.87, 0.87, 0.97, 1.02, 1.09, 1.16, each 3H, s),与常春藤配基吻合,糖链的¹³CNMR化学位移与V 完全一致,故其结构应为-3-O-α-L-吡喃鼠李糖基(1→2)-α-L-吡喃阿拉伯糖苷-常春藤配基-28-O-α-L-吡喃鼠李糖基(1→4)-β-D-吡喃葡萄糖基(1→6)-β-D-吡喃葡萄糖苷,即 kalopanax-saponin B^[8]。将化合物VI和VII碱水解后分别得到次级苷VI a和VII a,它们的¹³CNMR化学位移分别与化合物II 和III的完全一致;VI, VII通过与其次级苷比较¹³CNMR化学位移可知与苷元 C-28相连的糖链为吡喃鼠李糖基(1→4)-β-D-吡喃葡萄糖基(1→6)-β-D-吡喃葡萄糖苷,由此可知化合物VI和VII的结构分别为-3-O-β-D-吡喃木糖基(1→3)-α-L-吡喃鼠李基(1→2)-α-L-吡喃阿拉伯糖苷-齐墩果酸-28-O-α-L-吡喃鼠李

糖基(1→4)-β-D-吡喃葡萄糖基(1→6)-β-D-吡喃葡萄糖苷(sieboldianoside B)^[8]和-3-O-α-L-吡喃鼠李糖基(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖基(1→4)-α-L-吡喃阿拉伯糖苷-齐墩果酸-28-O-α-L-吡喃鼠李糖基(1→4)-β-D-吡喃葡萄糖基(1→6)-β-D-吡喃葡萄糖苷(hederachiside E)^[9]。

上述化合物中II, IV和VI为首次从本属植物中分离得到。8个三萜皂苷经 *in vitro* 活性实验说明其中II, III和IV 具有抑制多种人癌细胞生长的活性,V, VI和VII对蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus* AS. 1. 1688)和白色假丝酵母(*Candida albicans* No. 01)的生长具有抑制作用。

1 仪器和材料

¹³CNMR谱用 Bruker AC-300P型仪测定,以 C₅D₅N 为溶剂,TMS 为内标,薄层层析和柱层析硅胶用青岛海洋化工厂产品。反相层析用 Liohroprep R₈(40~63μm, Merck) B型柱。西南银莲花于 1999年 10月采自重庆市南川金佛山,凭证本由重庆市药物种植研究所刘正宇副研究员鉴定。

2 提取与分离

西南银莲花根状茎(1.1 kg)和地上部分(0.6 kg)的干燥粗粉分别用甲醇室温浸提 3次共 30 d 根状茎浸提液减压浓缩,浸膏分散于水中,用石油醚、乙酸乙酯各萃取 3次,剩下的水部分减压浓缩,尽量除去与水互溶的有机溶剂。水溶液经大孔树脂 D 101柱吸附,先用水洗去糖和无机盐后,以 20%, 50%, 75% 和 100% 乙醇冲洗,皂苷成分集中在 75% 乙醇洗脱部分。此部分上硅胶柱,以水饱和氯仿-甲醇系统梯度洗脱(5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2),粗分成 10段,各段经反复硅胶柱层析,分离得到化合物I ~ VII;地上部分以相同方法处理,经萃取、大孔树脂吸附、75% 乙醇洗脱后,硅胶柱粗分成 10段,除第 5段应用反相硅胶柱 R_p-8纯化得化合物VIII外,利用反复硅胶柱层析从第 2, 5和 7段分离得到化合物V ~ VII,综上,从西南银莲花中一共分离得到 8个化合物,分别是I (540 mg),II (110 mg),III (2.7 g),IV (290 mg),V (6.2 g),VI (190 mg),VII (8.9 g),VIII (380 mg)。

3 结构鉴定

化合物I ~ VIII: 白色粉末,苷元部分的¹³CNMR数据见表 1,糖链部分的¹³CNMR数据见表 2。

薄层酸水解: 将点有样品和对照用标准品的硅胶薄层板放入盛有浓盐酸的烧杯中(不接触盐酸),密封,水浴加热 30 min后取出晾干,按常规方法用

针对苷元或单糖的展开剂展开,比较水解下来的苷元或单糖与标准品的 R_f值

VI和VII碱水解:取样品 50 mg,加 5 mol/L氨水溶液 5 mL,封管于沸水浴中水解 4 h,水解液真空抽干,加水溶解,用水饱和的正丁醇萃取 3 次,萃取液水洗后减压回收,干燥得次级苷。

4 生物活性实验

人癌细胞抑制活性实验:受试细胞来自美国 ATCC,由中国科学院成都地奥制药公司药物筛选中心细胞库保存,实验方法参照美国癌症研究所(NCI)标准 SRB法^[10],发现化合物II,III和IV具有抑制人癌细胞生长的活性

抗菌实验:以大肠杆菌(*Escherichia coli* SIA2. 16)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* No. 209)、蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus* AS. 1. 1688)、白色假丝酵母(*Candida albicans* No. 01)和黑曲霉(*SspERGillus niger* No. 3. 324)作指示菌进行抗菌活性测试^[11],结果表明化合物V、VI和VII对蜡状芽孢杆菌和白色假丝酵母的生长具有抑制作用。

表 1 化合物I ~ VIII的苷元部分的 ¹³ CNMR化学位移 δ								
C	1	2	3	4	5	6	7	8
1	38.8	38.9	38.9	38.8	38.9	38.4	38.9	39.0
2	26.4	26.6	26.5	26.1	26.4	26.1	26.5	26.1
3	88.7	88.7	88.6	88.6	88.7	88.6	88.6	81.0
4	39.6	39.7	39.6	39.6	39.8	39.3	39.8	43.4
5	55.8	55.9	55.8	56.0	55.8	55.9	55.9	47.6
6	18.5	18.4	18.4	18.5	18.4	18.0	18.4	18.1
7	33.1	33.1	33.1	33.1	33.0	31.9	32.7	32.7
8	39.4	39.5	39.4	39.5	39.4	39.1	39.4	39.8
9	48.0	48.0	47.9	48.0	48.0	47.5	48.0	48.1
10	37.0	37.0	36.9	37.0	36.9	36.5	36.9	36.8
11	23.6	23.8	23.6	23.6	23.7	22.8	23.1	23.3
12	122.4	122.5	122.4	122.5	122.7	122.8	122.8	122.9
13	144.7	144.7	144.7	144.7	144.0	144.0	144.0	144.0
14	42.1	42.1	42.1	42.1	42.1	42.6	42.0	42.1
15	28.2	28.2	28.2	28.2	28.2	27.7	28.0	28.2
16	23.6	23.6	23.6	23.8	23.7	23.2	23.6	23.8
17	46.6	46.6	46.6	46.6	46.9	46.5	46.9	47.0
18	41.9	41.9	41.9	41.9	41.6	41.6	41.6	41.6
19	46.4	46.4	46.4	46.4	46.1	45.7	46.1	46.1
20	30.9	30.9	30.9	30.9	30.7	30.3	30.7	30.9
21	34.2	34.2	34.2	34.2	33.9	33.5	34.0	34.0
22	33.1	33.1	33.1	33.1	32.4	32.5	33.1	32.5
23	28.0	28.1	28.0	28.1	28.0	27.7	28.0	63.9
24	16.9	17.1	17.0	17.1	16.9	16.7	16.9	13.9
25	15.5	15.5	15.5	15.5	15.6	15.2	15.6	16.1
26	17.3	17.3	17.3	17.3	17.4	16.9	17.4	17.5
27	26.1	26.2	26.1	26.1	26.0	25.6	26.0	26.2
28	180.1	180.1	180.1	180.1	176.4	176.4	176.4	176.5
29	33.3	33.3	33.3	33.3	33.1	32.7	33.1	33.1
30	23.8	23.8	23.7	23.8	23.6	23.2	23.7	23.7

表 2 化合物I ~ VIII糖部分的 ¹³ CNMR化学位移 δ								
	1	2	3	4	5	6	7	8
3-ara	104.8	105.1	104.9	105.1	104.7	104.7	104.8	104.1
	75.8	75.5	76.2	75.6	75.7	75.4	76.3	75.7
	73.7	74.4	74.0	74.6	73.8	74.5	73.7	74.4
	68.6	69.1	79.6	80.1	68.5	69.5	79.4	69.1
	64.8	65.4	64.5	65.2	64.5	65.5	64.7	65.4
rha	101.6	101.4	101.6	101.2	101.5	101.2	101.4	101.5
	72.4	71.8	72.3	71.7	72.4	71.8	72.4	72.4
	72.3	82.9	72.1	82.7	72.2	82.6	72.1	72.2
	73.9	72.9	73.9	72.7	73.7	72.8	73.7	74.0
	69.8	69.6	69.7	69.5	69.7	69.2	69.0	69.6
glc	18.5	18.5	18.6	18.5	18.4	18.4	18.4	18.4
			106.3	106.1			106.2	
			75.3	75.4			75.3	
			78.3	78.6			78.3	
			71.1	71.1			71.1	
xyl			78.6	78.2			78.5	
			62.5	62.4			62.4	
		107.4		107.2		107.2		
		75.2		75.3		74.9		
		78.3		78.3		78.3		
28-glc		71.0		70.9		70.9		
		67.3		67.2		67.3		
					95.5	95.5	95.5	95.5
					75.2	75.2	75.2	75.2
					78.5	78.5	78.5	78.3
glc					70.6	70.6	70.6	70.7
					76.3	76.3	76.3	76.4
					69.0	69.0	69.0	69.1
					104.7	105.1	104.7	104.2
					73.6	73.7	73.7	73.7
rha					77.8	77.8	77.8	77.9
					78.1	78.1	78.1	78.6
					77.0	77.0	77.0	77.0
					61.1	61.1	61.1	61.2
					102.5	102.4	102.4	102.6
					72.6	72.6	72.6	72.4
					72.4	72.4	72.4	72.6
					73.8	73.7	73.7	73.8
					70.1	70.1	70.1	70.2
					18.5	18.4	18.5	18.5

参考文献:

[1] 张惠源,张志英. 中国中药资源志要[M]. 北京: 科学出版社, 1994.

[2] Kawai H, Kuroyanagi M, Umehara K, *et al.* Studies on the saponins of *Lonicera japonica* Thunb. [J]. Chem Pharm Bull, 1988, 36(12): 4769-4775.

[3] Shao C J, Kasai R, Ohtani K, *et al.* Saponins from leaves of *Kalopanax septemlobus* (Thunb.) Koidz: structures of kalopanax-saponins La, Lb and Lc [J]. Chem Pharm Bull, 1989, 37(12): 3251-3254.

[4] Ekabo O A, Farnsworth N R, Henderson T O, *et al.* Anti-fungal and molluscicidal saponins from *Serjunia salzmanniana* [J]. J Nat Prod, 1996, 59(4): 431-435.

[5] Nakayama K, Fujino H, Kasai R, *et al.* Saponins of pericarps of Chinese *Sapindus delavayi* (Pyi-shiau-tzu), a source of natura surfactants [J]. Chem Pharm Bull, 1986, 34(5): 2209-2213.

[6] Schenkel E P, Werener W, Schulte K E. Saponins from *Thi-nouia coriacea* [J]. Planta Med, 1991, 57(5): 463-467.

- [7] Sano K, Sanada S, Ida Y, *et al.* Studies on the constituents of the bark of *Kalopanax pictus* Nakai [J]. Chem Pharm Bull, 1991, 39(4): 865-870.
- [8] Sawada H, Miyakoshi M, Isoda S, *et al.* Saponins from leaves of *Acanthopanax sieboldianus* [J]. Phytochemistry, 1993, 34(4): 1117-1121.
- [9] Dekanosidze G E, Dzhikiya O D, Vugalter M M, *et al.* Triterpene glycosides of *Hedera colchica*: structure of hedera-colchisides E and F [J]. Khim Prirodin, 1984(6): 747-750.
- [10] Skehan P, Storeng R, Scudiero D, *et al.* New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening [J]. J National Cancer Institute, 1990, 82(13): 1107-1112.
- [11] 周德庆. 微生物学实验手册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986.

金龙胆草黄酮类成分的研究

苏艳芳¹, 刘建生², 果德安¹, 李菁¹, 郭洪祝¹, 郑俊华^{1*}

(1. 北京医科大学药学院, 北京 100083; 2. 四川格雷恩医药科技发展有限公司, 四川 成都 610037)

摘要: 目的 研究金龙胆草的化学成分。方法 采用硅胶柱层析反复分离, 光谱方法测定其结构。结果 从金龙胆草中分得 7 个黄酮类化合物。根据其理化性质和光谱数据分别鉴定为芦丁(I)、槲皮素-3-O-葡萄糖苷(II)、圣草素(III)、槲皮素-3,4'-二甲醚(IV)、槲皮素(V)、5,8-二羟基-7,3',4'-三甲氧基黄酮(VI)和山柰酚(VII)。结论 化合物 I~III 为首次从该植物中分得, IV 和 VII 为首次从白酒草属植物中分得。

关键词: 菊科; 金龙胆草; 黄酮

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)06-0496-02

Seven flavonoids from aerial parts of *Conyza blinii*

SU Yan-fang¹, LIU Jian-sheng², GUO De-an¹, LI Jing¹, GUO Hong-zhu¹, ZHENG Jun-hua¹

(1. College of Pharmacy, Beijing University of Medical Sciences, Beijing 100083, China; 2. Sichuan GELEIEN Medicinal Science and Technology Development Co. Ltd. Chengdu Sichuan 610037, China)

Key words Compositae; *Conyza blinii* Lévl.; flavonoids

金龙胆草为菊科白酒草属植物苦蒿 *Conyza blinii* Lévl. 的干燥地上部分, 分布于我国西南地区。系 70 年代四川省发掘的民间草药, 具有清热解毒、消炎祛痰、止咳平喘之功效, 用于慢性气管炎、胃肠炎、肾炎、肝炎、痢疾、口腔炎、中耳炎、风火牙痛、湿疹、痔疮、外伤出血、烫火伤及牲畜创伤。金龙胆草及其制剂在《中国药典》1977 年版一部及《四川省药品标准》中收载^[1]。我们前文报道了从金龙胆草中分离得到二萜类化合物 conyzalactone、咖啡酸、木栓醇等单体化合物^[2-4]。我们又对其中的黄酮类化合物进行了较系统的化学研究, 从中分离得到 7 个黄酮类化合物, 通过理化常数、光谱数据分别鉴定为芦丁(I)、槲皮素-3-O-葡萄糖苷(II)、圣草素(III)、槲皮素-3,4'-二甲醚(IV)、槲皮素(V)、5,8-二羟基-7,3',4'-三甲氧基黄酮(VI)、山柰酚(VII)。其中, 化合物 I、II、III 为首次从该植物中分离得到, IV 和 VII 为首次从白酒草属植物中分离得到。

1 仪器与试剂

熔点用于 XT_{4A} 型双目显微熔点测定仪测定, 温

度未校正, 红外光谱用 Perkin-Elmer 983 型红外光谱仪测定, KBr 压片, MS 用 AEI-MS-50 型质谱仪测定, NMR 用 VXR300 和 VXR500 型核磁共振仪测定, TMS 内标。常规提取分离用甲醇、氯仿、丙酮、石油醚、乙酸乙酯等均为北京化工厂分析纯产品, 薄层层析用硅胶 G 柱层析用硅胶 H(200~300 目) 为青岛海洋化工厂产品, 层析用聚酰胺粉为江苏无锡电化教具厂出品, 聚酰胺薄膜为浙江台州四于生化材料厂出品, 1% 三氯化铝乙醇溶液、10% 硫酸乙醇溶液为显色剂。

2 提取与分离

金龙胆草 20 kg 用 95% 酒精热回流提取 2 次, 再用 60% 酒精回流提取 1 次。95% 酒精提取物与硅胶拌样, 晾干后经硅胶短柱层析, 分别用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、甲醇洗脱, 浓缩后得石油醚部分、氯仿部分、乙酸乙酯部分、甲醇部分。氯仿部分经硅胶柱层析, 得到化合物 VI, 乙酸乙酯部分经硅胶柱层析、聚酰胺柱层析, 得到化合物 III、IV、V、VII。60% 酒精提取物用正丁醇萃取, 浓缩后得正丁醇部分, 正丁醇

* 收稿日期: 2000-07-18

作者简介: 苏艳芳, 女, 29 岁, 2000 年于北京大学药学院获得理学博士, 现在日本东邦大学做博士后, 主要从事天然产物的分离与鉴定研究, 已在国内外期刊发表论文 10 篇。