

UMR106 细胞的增殖^[9],因此在本实验中用作阳性对照。成骨细胞产生的碱性磷酸酶(alkaline phosphatase)是成骨细胞分化的标志,而 Hsu 等首次从 UMR106 细胞中将该酶分离出来^[6]。所以化合物对 UMR106 细胞增殖和碱性磷酸酶的促进作用,可能预示化合物具有抗骨质疏松性质。

在本实验中化合物Ⅳ可同时促进 UMR106 细胞的增殖和分化,化合物Ⅰ和Ⅲ可促进细胞的增殖,化合物Ⅴ和Ⅶ可促进细胞碱性磷酸酶活性。而化合物Ⅱ和Ⅵ由于得量较少,无法进行活性测试。根据 Li 等的研究结果,香草醛和原儿茶酸可以抑制 PTH 诱导的新生小鼠颅骨骨吸收亢进^[10]。结合本实验结果,酚酸类化合物可能对成骨细胞和破骨细胞都具有调控作用。

致谢:本实验项目由香港特别行政区大学教育资助委员会 the Area of Excellence Scheme 资助(AOE/r-10/01)。原植物由沈阳药科大学江泽荣教授来自辽宁并鉴定为接骨木,ESI-MS 实验由本实验组高昊同学完成,本实验组解芳同学在细胞实验方面提供帮助,特此致谢。

References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Traditional Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 2001.
- [2] Akesson K. New approaches to pharmacological treatment of osteoporosis [J]. *Bull World Health Organ*, 2003, 81(9): 657-663.
- [3] Zhang Q Y, Zhao Y Y, Liu X H, et al. Studies on chemical constituents of *Stemmatocrypton khasianum* (Benth.) H. Baill. [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2000, 25(2): 101-103.
- [4] Wang X S, Che Q M, Li Y M, et al. A study on chemical constituents in seeds of *Crataegus pinnatifida* Bge. var. *major* N. E. Br. [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1999, 24(12): 739-740.
- [5] Forrest S M, Ng K W, Findlay D M, et al. Characterization of an osteoblast-like clonal cell line which responds to both parathyroid hormone and calcitonin [J]. *Calcif Tissue Int*, 1985, 37: 51-56.
- [6] Hsu H H, Rouse J, Hamilton J, et al. Purification and partial amino acid sequencing of rat bone tumor (UMR106) alkaline phosphatase [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1987, 13(3): 329-334.
- [7] Williams G R, Bland R, Sheppard M C. Characterization of thyroid hormone (T3) receptors in three osteosarcoma cell lines of distinct osteoblast phenotype; interactions among T3, vitamin D3, and retinoid signaling [J]. *Endocrinology*, 1994, 135(6): 2375-2385.
- [8] Gray T K, Flynn T C, Gray K M, et al. 17 β -Estradiol acts directly on the clonal osteoblastic cell line UMR106 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84(17): 6267-6271.
- [9] Leung K, Rajkovic I A, Peters E, et al. Insulin-like growth factor I and insulin down-regulate growth hormone (GH) receptors in rat osteoblasts: evidence for a peripheral feedback loop regulating GH action [J]. *Endocrinology*, 1996, 137(7): 2694-2702.
- [10] Li H Y, Li J X, Prasain J K, et al. Antiosteoporotic activity of the stems of *Sambucus sieboldiana* [J]. *Biol Pharm Bull*, 1998, 21(6): 594-598.

三棱的化学成分研究(I)

袁 涛, 华会明*, 裴月湖

(沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 研究黑三棱 *Sparganium stoloniferum* 的化学成分。方法 用硅胶、Sephadex LH-20 柱色谱等方法进行分离纯化,通过理化性质及光谱数据结合化学反应确定化合物的结构。结果 分离得到 9 个化合物,分别鉴定为胡萝卜苷棕榈酸酯(Ⅰ)、 β -谷甾醇棕榈酸酯(Ⅱ)、24-亚甲基环阿尔廷醇(Ⅲ)、6,7,10-三羟基-8-十八烯酸(Ⅳ)、香草酸(Ⅴ)、对羟基苯甲醛(Ⅵ)、 α -棕榈酸单甘油酯(Ⅶ)、5-羟甲基糠醛(Ⅷ)、 β -谷甾醇(Ⅸ)。结论 化合物Ⅰ~Ⅲ和Ⅴ~Ⅶ均为首次从该属植物中分离得到。

关键词:黑三棱;胡萝卜苷棕榈酸酯; β -谷甾醇棕榈酸酯

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2005)11-1607-04

Chemical constituents of *Sparganium stoloniferum* (I)

YUAN Tao, HUA Hui-ming, PEI Yue-hu

(School of Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

收稿日期:2005-04-11

作者简介:袁 涛(1982-),男,江西高安人,在读硕士,2003年毕业于江西中医学院,现主要从事天然产物化学研究。

E-mail:chinayuantao@tom.com

*通讯作者 华会明 Tel: (024)23986465 E-mail:huimhua@163.com

Abstract: Objective To study the chemical constituents in *Sparganium stoloniferum*. **Methods** The compounds were isolated by repeated silica gel and Sephadex LH-20 chromatographies. The structures of isolated compounds were identified by analysis of their spectral data and chemical reactions. **Results** Nine compounds were isolated and their structures were identified as daucosterol palmitate (I), β -sitosterol palmitate (II), 24-methylenecycloartanol (III), 6, 7, 10-trihydroxy-8-octadecenoic acid (IV), vanillic acid (V), *p*-hydroxybenzaldehyde (VI), 2, 3-dihydroxypropyl palmitate (VII), 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde (VIII), β -sitosterol (IX). **Conclusion** Compounds I—III and V—VIII are obtained from the plants of *Sparganium* L. for the first time.

Key words: *Sparganium stoloniferum* Buch.-Ham.; daucosterol palmitate; β -sitosterol palmitate

三棱为黑三棱科植物黑三棱 *Sparganium stoloniferum* Buch.-Ham. 的块茎。其性苦、平，入肝、脾经，破血行气，消积止痛，是活血化瘀的常用中药。主要分布在江苏、河南、山东、江西等地^[1]。三棱的化学成分复杂，目前国内外对其化学成分的报道有黄酮和黄酮苷、苯丙素苷、甾体及其苷、有机酸等化合物^[2-6]。为了阐明其活性成分，本实验对其化学成分进行了系统研究，采用硅胶、Sephadex LH-20 等色谱方法从中分离得到 9 个化合物，通过理化性质及光谱数据结合化学反应等方法确定其结构，分别为胡萝卜苷棕榈酸酯(I)、 β -谷甾醇棕榈酸酯(II)、24-亚甲基环阿尔廷醇(III)、6, 7, 10-三羟基-8-十八烯酸(IV)、香草酸(V)、对羟基苯甲醛(VI)、 α -棕榈酸单甘油酯(VII)、5-羟甲基糠醛(VIII)、 β -谷甾醇(IX)。其中化合物 I ~ III 和 V ~ VIII 均为首次从该属植物中分离得到。

1 材料与仪器

三棱购自辽宁省药材公司，由沈阳药科大学孙启时教授鉴定为黑三棱科植物黑三棱 *S. stoloniferum* Buch.-Ham. 的块茎。

熔点用日本 Yanaco MP-S3 型显微熔点测定仪测定；IR 利用 Bruker IR S-55 型红外分光光度计测定；NMR 谱利用 Bruker-AC(E)-300 型核磁共振光谱仪测定(TMS 作内标)；MS 用日本岛津 GCMS-5050A 气质联用仪直接进样测定。薄层色谱及制备型薄层色谱用硅胶 GF-254 (10~40 μ m)，柱色谱用硅胶(200~300 目)均为青岛海洋化工厂生产。葡聚糖凝胶 LH-20 为 Pharmacia 产品，色谱溶剂为 AR 级。

2 提取与分离

三棱块茎 10 kg，用 95% 乙醇回流提取 3 次，每次 2 h，回收乙醇得总浸膏 765 g。将总浸膏混悬于水中，依次用石油醚、氯仿、醋酸乙酯、正丁醇萃取。石油醚萃取回收溶剂后得浸膏 30 g，石油醚萃取物

进行硅胶柱色谱分离，以石油醚-醋酸乙酯进行梯度洗脱，洗脱流份再经反复纯化得化合物 I、II、III、VII、IX。氯仿萃取回收溶剂得浸膏 11 g，氯仿萃取物进行硅胶柱色谱分离，以石油醚-丙酮进行梯度洗脱，流份再经反复纯化得化合物 IV、V、VI、VIII。

3 结构鉴定

化合物 I：白色粉末，¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 5.38 (2H, m, H-6 和 Glu-1'), 4.36 (1H, m, H-3), 1.25 (brs, (CH₂)_n), 0.99 (3H, s, CH₃), 0.93 (3H, t, CH₃), 0.80~0.88 (12H, m, (CH₂)₄), 0.67 (3H, s, CH₃)。 ¹³C-NMR 谱(数据见表 1)有 β -谷甾醇的碳信号及一组糖和一系列脂肪酰基碳信号，且其数据与文献报道^[7]基本一致。将化合物 I 碱水解得到两个物质，一个通过薄层色谱检识为胡萝卜苷，另一个通过 EI-MS 定为棕榈酸，故确定该化合物为胡萝卜苷棕榈酸酯。

化合物 I 的水解：取样品 10 mg，加 2.5% KOH 甲醇溶液 1 mL 和氯仿 1 mL，在室温下搅拌反应 7 h，挥干溶剂，用水和氯仿萃取，水层析出类白色固体，经 TLC 检识为胡萝卜苷，水层用稀盐酸中和后用氯仿萃取，挥干氯仿析出蜡状固体，其 EI-MS m/z : 256(M⁺), 129, 73, 43，与棕榈酸 EI-MS 图谱一致。

化合物 II：白色粉末，mp 88~90 °C (醋酸乙酯)。EI-MS m/z : 396 [M⁺ - CH₃(CH₂)₁₄COOH] (100), 255, 147, 57。 ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 5.38 (1H, d, J =4.5 Hz), 4.63 (1H, m), 1.02 (3H, s), 0.80~0.93 (m, (CH₂)₅), 1.25 (brs, (CH₂)_n), 0.67 (3H, s, CH₃)。 ¹³C-NMR 谱(数据见表 1)显示有与 β -谷甾醇一致的一组碳信号和一系列脂肪酰基碳信号，且其数据与文献报道^[8]完全一致。将化合物 II 碱水解得两物质，一种通过薄层色谱检识为 β -谷甾醇，另一种通过 EI-MS 定为棕榈酸，故确定该化合

表1 化合物I和II的¹³C-NMR数据(CDCl₃, 75 MHz)Table 1 ¹³C-NMR data of compounds I and II (CDCl₃, 75 MHz)

碳位	I	II	碳位	I	II	碳位	I	II
1	37.2	37.0	15	24.3	24.3	29	11.9	12.0
2	27.2	27.8	16	28.2	28.2	脂 1'	173.3	174.3
3	79.7	73.7	17	56.1	56.0	肪 2'	34.2	34.7
4	38.9	38.2	18	11.8	11.8	链 3'	25.6	25.1
5	140.2	139.7	19	19.3	19.3	4'~13'	29.3~29.7	
6	122.0	122.6	20	36.1	36.1	14'	31.9	31.9
7	31.9	31.9	21	18.7	18.8	15'	22.7	22.7
8	31.9	31.9	22	33.9	33.9	16'	14.1	14.1
9	50.1	50.0	23	26.1	26.1	糖 1	101.2	
10	36.6	36.6	24	45.7	45.8	部 2	73.3	
11	21.0	21.0	25	29.1	29.1	分 3	76.0	
12	39.7	39.7	26	19.8	19.8	4	70.2	
13	42.3	42.3	27	19.0	19.0	5	73.7	
14	56.7	56.7	28	23.0	23.1	6	63.5	

物为β-谷甾醇棕榈酸酯。

化合物II的水解:取样品10 mg,加2.5% KOH 甲醇溶液1 mL和氯仿1 mL,在室温下搅拌反应7 h,挥干溶剂,用水和氯仿萃取,氯仿层挥干溶剂析出白色结晶,经TLC检识为β-谷甾醇,水层用稀盐酸中和后用氯仿萃取,挥干氯仿析出蜡状固体,其EI-MS m/z :256(M^+),129,73,43,与棕榈酸EI-MS图谱一致。

化合物III:无色针状结晶,mp 147~149 °C(石油醚-氯仿)。其¹H-NMR和¹³C-NMR数据与文献报道^[9]对照基本一致,故确定该化合物为24-亚甲基环阿尔廷醇。

化合物IV:白色粉末,mp 116~118 °C(甲醇)。从¹H-NMR可以看出,5.55(2H,m)为一双键上的两个氢信号,3.89,3.76,3.22(each 1H)为连氧的CH上的氢信号。¹³C-NMR显示有18个碳信号,其中3个连氧次甲基碳信号(δ :74.33,73.80,70.60),以及一个双键(δ :134.55,129.54)和一个COOH(δ :174.61)。H-H COSY出现了如图1所示的相关信号,从而确定了-CH(OH)-CH(OH)-CH=CH-CH(OH)-这一结构片段,EI-MS出现43,57,71,85,99等脂肪链裂解的碎片离子峰,另外在194还出现了一个强峰,被认为是分子脱去两分子水产生的共振结构 $CH_3(CH_2)_6-CH=CH-CH=CH-CH=C(OH)-(CH_2)_4COOH$ 后再脱去 $-(CH_2)_4COOH$ 产生的。为了进一步确证双键两边的链长,将该化合物与DMDS(二甲基二硫化物)反应,从反应产物的EI-MS上可以看到一较强碎片峰203($CH_3(CH_2)_7-CH(OH)-CH-SCH_3$),从而确定该化合物为6,7,10-三羟基-8-十八烯酸。¹H-NMR(DMSO- d_6 ,300 MHz)

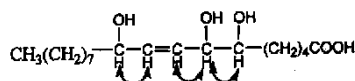


图1 化合物IV的主要氢氢相关

Fig. 1 Main H-H COSY correlations of compound IV

δ :0.85(3H,t,H-18),1.20(2H,t,H-5),1.40(2H,H-11),1.47(2H,H-3),2.18(2H,t,H-2),3.22(1H,m,H-6),3.76(1H,brs,H-7),3.89(1H,brs,H-10),5.55(2H,m,H-8和H-9)。¹³C-NMR(DMSO- d_6 ,75 MHz) δ :174.61(C-1),33.80(C-2),24.62(C-3),28.64(C-4),37.50(C-5),74.33(C-6),73.80(C-7),129.54(C-8),134.55(C-9),70.60(C-10),31.92(C-11),29.11(C-12),28.96(C-13),25.02(C-14),25.26(C-15),31.62(C-16),22.21(C-17),14.05(C-18)。EI-MS m/z :212,194,113,99,85,71,57,43。文献报道^[3]将该化合物命名为三棱酸,并将结构误定为6,9,10-三羟基-7-十八烯酸。

化合物IV的DMDS加成反应:取少量样品溶于二硫化碳(0.5 mL)中,加DMDS 0.5 mL,碘2 mg,置于封管内,65 °C反应40 h,加入5%硫代硫酸钠终止反应,加入石油醚,挥干石油醚萃取液后得到固体,其EI-MS给出碎片峰 m/z 203($C_{11}H_{23}SO$)。

化合物V:白色针状结晶,mp 207~209 °C(石油醚-丙酮)。溴甲酚绿和三氯化铁反应均为阳性,其¹H-NMR光谱数据与文献报道^[10]对照一致,与对照品共TLC一致,故确定该化合物为香草酸。

化合物VI:白色粉末,mp 115~117 °C(丙酮),三氯化铁反应为阳性。¹H-NMR(丙酮,300 MHz) δ :9.86(1H,s,CHO),7.81(2H,d, $J=8.7$ Hz),7.15(2H,d, $J=8.7$ Hz)。与对照品共TLC一致,故确定该化合物为对羟基苯甲醛。

化合物VII:白色结晶(石油醚-丙酮)。EI-MS m/z :229,256,239,134,98,57,43。¹H-NMR(CDCl₃,300 MHz) δ :0.88(3H,t, $J=7.2$ Hz, CH_3),1.25(brs, $CH_2 \times 12$),1.63(2H,m,H-3'),2.35(2H,t, $J=7.5$ Hz,H-2'),3.59(1H,dd, $J=12.0,5.7$ Hz,H-3),3.70(1H,dd, $J=12.0,3.8$ Hz,H-3),3.93(1H,m,H-2),4.14(1H,dd, $J=12.0,6.2$ Hz,H-1),4.20(1H,dd, $J=12.0,5.0$ Hz,H-1),与对照品共TLC一致,故确定该化合物为α-棕榈酸单甘油酯。

化合物VIII:黄色油状物,¹H-NMR数据与文献报道^[11]对照一致,与对照品共TLC一致,故确定该化合物为5-羟甲基糠醛。

化合物Ⅹ:白色针状结晶,mp 136~138 °C(石油醚-醋酸乙酯)。Liebermann-Burchard 反应阳性, H₂SO₄ 显紫红色斑点,与β-谷甾醇对照品共 TLC 一致,故确定该化合物为β-谷甾醇。

致谢:核磁共振和质谱由本校测试中心测试。

References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1977.
- [2] Chen Y Z, Xue D Y, Li H Q, et al. Study on chemical constituents of the essential oil of *Sparganium stoloniferum* [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1998, 8(5): 271-273.
- [3] Zhang W D, Xiao K, Yang G Q, et al. A new compound sanleng acid from *Sparganium stoloniferum* Buch. -Ham. [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1995, 26(3): 125-126.
- [4] Zhang W D, Wang Y H, Qing L P. Studies on the flavonoids of *Sparganium stoloniferum* Buch. -Ham. [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志) 1996, 21(9): 550-551.
- [5] Zhang W D, Wang Y H, Qing L P. Studies on the new steroid glycosides from *Sparganium stoloniferum* Buch. -Ham. [J]. *Acad J Second Mil Med Univ* (第二军医大学学报), 1996, 17(2): 174-176.
- [6] Zhang W D, Wang Y H, Qing L P. Studies on water soluble constituents from *Sparganium stoloniferum* Buch. -Ham. [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1996, 27(11): 643-645.
- [7] Hua H M, Li X, Zhang H Q. Steroids from *Linaria vulgaris* Mill [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2000, 17(1): 40-42.
- [8] Sun H X, Ye Y P, Yang K. Studies on the chemical constituents in *Radix Astibes Chinensis* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2002, 27(10): 751-754.
- [9] Teresa J D, Urones J G, Marcos I S, et al. Triterpenes from *Euphorbia broteri* [J]. *Phytochemistry*, 1987, 26(6): 1767-1776.
- [10] Chen Q, Wu L J, Ruan L J. Chemical studies on the constituents of *Lophatherum gracile* Brongn. (II) [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2002, 19(4): 257-259.
- [11] Wang J Z, Wang F P. Studies on the chemical constituents of *Codonopsis tangshen* Oliv. [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 1996, 8(2): 8-11.

蜀葵花的化学成分研究(I)

冯育林,徐丽珍,杨世林*,邹忠梅

(中国医学科学院 中国协和医科大学药用植物研究所,北京 100094)

摘要:目的 研究蜀葵 *Althaea rosea* 花中的化学成分。方法 用各种柱色谱方法进行分离纯化,根据理化性质和波谱解析鉴定其化学结构。结果 分离得到 10 个化合物,分别鉴定为银槭苷(tiliroside, I)、柚皮素(naringenin, II)、茴香酸(anisic acid, III)、肉桂酸(cinnamic acid, IV)、香豆酸(*p*-coumaric acid, V)、阿魏酸(ferulic acid, VI)、水杨酸(salicylic acid, VII)、正二十九烷(nonacosane, VIII)、β-谷甾醇(β-sitosterol, IX)、胡萝卜苷(daucosterol, X)。结论 化合物 I~IV、VI~VIII、X 为首次从该植物中得到,其中化合物 III、IV、VIII、X 为首次从蜀葵属中得到。

关键词:蜀葵;银槭苷;茴香酸

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2005)11-1610-03

Chemical constituents isolated from flowers of *Althaea rosea*

FENG Yu-lin, XU Li-zhen, YANG Shi-lin, ZOU Zhong-mei

(Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union

Medical College, Beijing 100094, China)

Key words: the flowers of *Althaea rosea* (Linn.) Cavan. Diss; tiliroside; anisic acid

蜀葵 *Althaea rosea* (Linn.) Cavan. 系锦葵科蜀葵属植物,产于我国西南地区,全国各地广泛栽培供园林观赏。花型大,色彩鲜艳。全草入药,味甘甜,性凉。有和血止血、解毒散结的功能,主治吐血、衄血、月经过多、赤白带下、二便不通、小儿风疹等^[1]。

为进一步揭示蜀葵花药理活性的化学基础,本实验对其进行了较为系统的研究。从中分离鉴定了 10 个单体化合物,分别是:银槭苷(tiliroside, I)、柚皮素(naringenin, II)、茴香酸(anisic acid, III)、肉桂酸(cinnamic acid, IV)、香豆酸(*p*-coumaric acid, V)、

收稿日期:2005-06-09

作者简介:冯育林(1977-),男,博士研究生。 Tel:(010)62899705 E-mail:fyl_2003@sohu.com

*通讯作者 杨世林 Tel:(010)62899705