

回流至水解完全,滤过,苷元鉴定为 7-羟基-4'-甲氧基异黄酮(7-hydroxy-4'-methoxyisoflavone);水溶液浓缩后做 TLC 检查,与 *D*-glucopyranose 的 TLC 对照, R_f 值及色斑相同。其 IR、MS、 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 光谱数据与文献值^[10]一致,化合物 VII 被鉴定为 4'-甲氧基-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷异黄酮,即芒果花苷。

化合物 VIII:白色针状结晶($\text{EtOAc-CH}_3\text{OH}$), mp 178~180 °C,易溶于水。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}(\text{cm}^{-1})$: 3 379(OH), 2 933, 2 868, 1 462, 1 368, 1 022, 796。正离子 ESI-MS m/z : 195 $[\text{M}+\text{H}]^+$,提示相对分子质量为 194。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6) δ : 4.74, 4.64, 4.54, 4.49, 4.37(各 1H, m, OH-1, 2, 4, 5, 6), 2.98, 3.30, 3.34, 3.40, 3.46, 3.50(各 1H, m, H-3, 1, 2, 4, 5, 6), 3.60(3H, s, OCH_3)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6) δ : 72.6(C-6), 72.4(C-5), 72.0(C-1), 70.9(C-2), 70.1(C-4), 83.8(C-3), 59.7(OMe)。其 IR、MS、 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 光谱数据与文献值^[11]一致,化合物 VIII 被鉴定为 *D*-3-甲氧基-手-肌醇。

References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific

and Technical Publishers, 1997.

- [2] Beck V, Rohr U, Jungbauer A. Phytoestrogens derived from red clover: An alternative to estrogen replacement therapy [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2005, 94(5): 499-519.
- [3] Ingram D, Sander K, Clarke R. Case control study of phytoestrogens and breast cancer [J]. *Lancet*, 1997, 350: 990-994.
- [4] Kroyer G T. Red clover extract as antioxidant active and functional food ingredient [J]. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 2004, 5(1): 101-105.
- [5] Sadtler J W, Sease B, Zechmeister L, et al. *Infrared Grating Spectra* [M]. Washinton: US Government Printing Office, 1980.
- [6] Kojimah H, Sato N, Hatano A, et al. Sterol glucosides from *prunella vulgaris* [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29(7): 2351-2357.
- [7] Xiang Y, Wang H B, Wen Y Y. Studies on the chemical constituents of *Platycerium wallichii* Hook [J]. *J Trop Subtrop Bot* (热带亚热带植物学报), 2002, 10(1): 71-75.
- [8] Wang Z X, Ma Q F, He Q, et al. Studies on chemical constituents of *Astragalus* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1983, 14(3): 1-3.
- [9] Whalley J L, Oldfield M F, Botting N P. Synthesis of [4- ^{13}C]-isoflavonoid phytoestrogens [J]. *Tetrahedron*, 2000, 56: 455-460.
- [10] Barrero A F, Sanchez J F, Reyes F, et al. Resorcinol derivatives and other components of *ononis speciosa* [J]. *Phytochemistry*, 1989, 28(1): 161-164.
- [11] Beritmaier E, Voelter W. *Carbon-13 NMR Spectroscopy* [M]. New York: VCH Publishers, 1987.

蒲葵籽中有效化学成分的研究

刘志平¹, 崔建国^{1*}, 黄初升¹, 钟振国²

(1. 广西师范学院 化学系, 广西 南宁 530001; 2. 广西中医学院, 广西 南宁 530001)

蒲葵籽为棕榈科植物蒲葵的成熟果实,在民间常与土鸡、猪肉等蒸炖,用于治疗食道癌、白血病、绒毛上皮癌^[1]。国外加利福尼亚大学 Sartippour 和 Liu 等报道了蒲葵籽的提取物能抑制凝血细胞和癌细胞的生长^[2]。经文献检索,国内还没有发现有从蒲葵籽中提取、分离具有抗癌活性单体化合物的文献报道。为此,本实验对“蒲葵籽中有效活性成分进行分离并对其结构进行表征”,为开发利用广西丰富的蒲葵资源提供依据。

采用硅胶柱色谱、薄层色谱、重结晶等手段从蒲葵籽中分离出 11 个化合物,利用 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 、IR、MS、UV 等手段鉴定了 7 个化合物,

其中 4 个为甾体化合物: β -谷甾醇(I)、豆甾醇(II)、薯蓣皂苷元(III)、 β -胡萝卜苷(IV);2 个黄酮类化合物:小麦黄素(V)、芹菜素(VI);1 个直链脂肪醇:正二十六碳醇(VII)。其余化合物因量较少,结构复杂,还未鉴定出准确结构。同时蒲葵籽中富含鞣质,在空气中易被氧化变质,给大极性部分成分的分离工作带来极大困难。

采用 MTT 法对所分离的化合物进行抗肿瘤活性实验表明:化合物 III 对 4 种不同肿瘤细胞(白血病细胞株 P388、宫颈癌细胞株 HeLa、人胃癌细胞株 SGC 7901、人肝癌细胞株 Hele 7404)均有显著的抑制作用。

收稿日期:2006-07-12

基金项目:国家自然科学基金资助基金(30160095);广西自然科学基金(0135011);广西教育厅科学基金

作者简介:刘志平(1979-),男,山西中阳人,硕士研究生,从事有机天然产物的研究。

*通讯作者 崔建国 E-mail: cuijg@public.nn.gx.cn

1 实验部分

1.1 仪器和材料:日本岛津 UV-3000 型紫外光谱仪;美国 Nicolet FT-360 傅里叶红外光谱仪(KBr 压片);美国 Bruker AV-500 核磁共振仪(TMS 作内标);VG-ZAB-HS 质谱仪,Hewlett-packard. 5988 型 GS-MS 联用仪;熔点测定采用 X4 显微熔点测定仪,温度计未校正。柱色谱硅胶(200~300 目)和薄层色谱硅胶系青岛化工厂产品;常用溶剂均为分析纯。蒲葵籽采集自广西南宁市人民公园。

1.2 提取和分离:黑色蒲葵籽 2.5 kg 经粉碎过筛,转入 5 000 mL 圆底烧瓶,依次用 3 000 mL 石油醚、氯仿、醋酸乙酯回流提取 3 次,每次 1 d,合并提取液,减压浓缩,分别得棕色石油醚相浸膏 12 g、棕黑色氯仿相浸膏 9.7 g、棕色醋酸乙酯相浸膏 7.8 g。固体蒲葵籽样再用 3 000 mL 甲醇冷浸提取 3 次,每次 1 d,合并提取液浓缩得棕褐色固体 23 g。

采用硅胶多次柱色谱、薄层色谱及重结晶等手段从氯仿相中以石油醚-醋酸乙酯进行梯度洗脱,分离出化合物 I~III;从醋酸乙酯相中以氯仿-甲醇梯度洗脱分离出化合物 IV~VI;从石油醚相中分离出化合物 VII~XI。

1.3 结构鉴定及波谱数据

化合物 I:白色针状结晶,mp 137~138 °C,10%硫酸显红色,与标准品谷甾醇同时在多种溶剂系统中展开,Rf 值相同,测混合熔点不变,光谱及波谱数据与文献报道^[3]β-谷甾醇数据一致,确定为β-谷甾醇。

化合物 II:白色针状结晶,mp 168~169 °C,10%硫酸显红色,和标准品豆甾醇对比,Rf 值一致,混合熔点不下降,IR 光谱及¹H-NMR 和¹³C-NMR 数据与文献报道^[4]豆甾醇数据对比一致,确定为豆甾醇。

化合物 III:白色针状结晶,mp 180~181 °C,无荧光,10%硫酸显红色,提示为甾体类化合物。氢谱 δ 1.05、0.81 处显示 2 个甲基吸收的 s 峰,δ 1.10、0.99 处显示 2 个甲基吸收的 d 峰;碳谱 δ 140.82、121.43 为典型的甾体骨架上 5、6 位双键碳的吸收峰;δ 109.76 可能为同时连 2 个氧的碳吸收峰,此外,在 δ 80.92、71.75、61.97 处还有 3 个连氧碳,碳谱给出 27 个碳信号。MS 给出分子 M+1 峰为 415,分子式初步确定为 C₂₇H₄₂O₃。经检索数据与文献报道^[5]中薯蓣皂苷元数据一致,确定为薯蓣皂苷元,化学名 Δ⁵-异螺甾-3β-醇。

化合物 IV:白色粉末,mp 294~296 °C,无荧光,磷钼酸显蓝黑圆点,10%硫酸显红色,提示为甾体类

化合物。¹³C-NMR 数据和 β-谷甾醇对比近似,但在 δ 102~60 多出 6 个碳,数据与 D-葡萄糖化学位移相近,糖 C-1 化学位移在 δ 101.3 提示为氧苷,初步确定为 β-胡萝卜苷(C₃₅H₆₀O₆),相对分子质量为 576。波谱数据与文献报道^[6]中胡萝卜苷数据对比一致,确定为 β-胡萝卜苷。

化合物 V:黄色针状固体,mp 284~286 °C,镁-盐酸反应显阳性。氢谱 δ 3.89 处 6H 单峰提示有两个对称的甲氧基,δ 6.56、6.21 处各 1H 呈 d 峰,J=2.2 Hz,属于 AB 系统,提示 A 环可能有 5、7 双羟基取代;δ 7.33 处 s 峰 2H 为 B 环的 H-2',6';δ 6.99 为 3 位质子吸收峰。IR ν_{max}(cm⁻¹):3 423(—OH),1 655(C=O),1 558,1 508,1 360 为苯环的特征吸收。结合氢谱和碳谱确定分子式为 C₁₇H₁₄O₇,相对分子质量为 330。经文献检索波谱数据与文献报道^[7,8]中小麦黄素对照一致,确定化合物 V 为 5,7,4'-三羟基-3',5'-二甲氧基黄酮,即小麦黄素。

化合物 VI:黄色颗粒状粉末,mp 332~334 °C,镁-盐酸反应显阳性。氢谱 δ 7.94、6.93 处各 2H 呈现 d 峰,J=8.9 Hz,为 B 环上邻位质子偶合所致,提示 B 环 4'位有羟基取代;δ 6.49、6.20 处各 1H 呈 d 峰,J=2.1 Hz,为 A 环的间位质子偶合所致,提示 A 环有 5、7 双取代;δ 6.80 处 1H 呈现 s 峰为 3 位质子。结合氢谱和碳谱得出分子式为 C₁₅H₁₀O₅,相对分子质量为 270。经文献检索波谱数据与文献报道^[9]中芹菜素相一致,确定化合物 VI 为 5,7,4'-三羟基黄酮,即芹菜素。

化合物 VII:白色片状固体,mp 79~80 °C。氢谱和碳谱与文献报道^[10]中正二十六碳醇数据一致,确定该化合物为正二十六碳醇。

1.4 药理研究:采用 MTT 法研究了所分离的部分单体对 4 种不同肿瘤细胞株(白血病细胞株 P388、宫颈癌细胞株 HeLa、人胃癌细胞株 SGC 7901、人肝癌细胞株 Hele 7404)生长的抑制情况。单体药液临用前用 DMSO 溶解后无菌滤过,结果表明化合物 III 对 4 种肿瘤细胞株的生长均具有显著的抑制作用,抑制率达 80%以上,增加浓度,其活性也随之提高;同时,化合物 IV、VII 也具有中等程度的抗癌活性。部分单体化合物的抗肿瘤活性结果见表 1。

2 讨论

化合物 III 在质量浓度为 0.001 μg/mL 时对宫颈癌细胞株、人胃癌细胞株、人肝癌细胞株的抑制率均达 82%以上,且随着浓度的增加抗肿瘤活性也随之提高。

表1 部分单体化合物的药理活性

Table 1 Pharmacological activity of some monomers

化合物	质量浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	抑制率/%			
		白血病 P388	胃癌 SGC7901	肝癌 Hele 7404	宫颈癌 Hela
II	0.001		91.73	85.68	82.11
	0.005		92.23	95.37	96.84
	0.01	83.55	92.65		
IV	0.001		31.55	23.6	9.05
	0.005		39.28	61.48	25.28
	0.01	65.79	51.05		
VI	0.001		15.5		11.51
	0.005		15.39	50.15	27.16
	0.01	53.29	29.41		

化合物Ⅲ浓度变化对肝癌 Hele 7404 和宫颈癌 Hela 的抑制率影响变化较大。质量浓度从 0.001 $\mu\text{g/mL}$ 增加到 0.005 $\mu\text{g/mL}$ 时,对肝癌 Hele 7404 和宫颈癌 Hela 的抑制率分别从 85.68%、82.11% 提高到 95.37%、96.84%;而化合物Ⅲ浓度变化对胃癌 SGC 7901 的抑制率影响却不是很大,质量浓度从 0.001 $\mu\text{g/mL}$ 增加到 0.01 $\mu\text{g/mL}$ 时,对胃癌的抑制率仅从 91.73% 提高到 92.65%。

化合物Ⅲ在质量浓度低于 0.001 $\mu\text{g/mL}$ 时对胃癌 SGC 7901 的抑制作用最强;而当质量浓度高于 0.005 $\mu\text{g/mL}$ 时对肝癌 Hele 7404 和宫颈癌 Hela 的抑制作用较好。

化合物Ⅳ在质量浓度高于 0.005 $\mu\text{g/mL}$ 时对以上细胞株具有中等强度的抑制作用。

从蒲葵中分离出的单体化合物的抗肿瘤数据表

明,化合物Ⅲ具有显著的抗肿瘤活性。因此,化合物Ⅲ应该是蒲葵籽中具有抗肿瘤活性的主要成分之一,这为蒲葵的开发与利用提供了科学的理论指导。另外,蒲葵中大极性部分化学成分分离研究还在进行之中。

References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 2001.
- [2] Sartippour M, Liu C H, Shao Z M, *et al.* Livistona extract inhibits angiogenesis and cancer growth [J]. *Oncol Rep*, 2001, 8: 1355-1357.
- [3] Cui Y L, Mu Q, Hu C Q. Studies on the chemical constituents of *Caragaa rosea* [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2004, 39(3): 172-174.
- [4] Wang J R, Peng S L, Wang M K. Chemical constituents of the *Anemone tomentosa* root [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1994, 41(1): 107-110.
- [5] Yang X W, Cui X Y, Liu X H. NMR Characteristica of liliacifolioside A and steroidal saponins [J]. *Chin J Magn Resonance* (波谱学杂志), 2002, 19(9): 301-309.
- [6] Sun H X, Ye Y P, Yang K. Studies on the chemical constituents in *Radix Astilbes Chinensis* [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2002, 37(10): 751-753.
- [7] Guo F, Liang Q L, Min Z D. Studies of flavones from *Elephantopus scaber* Linn. [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(4): 303-306.
- [8] David T C, Timothy M Q, John W, *et al.* Identification of three hydroxyflavan phytoalexins from *Daffodil bulb* [J]. *Phytochemistry*, 1980, 19(5): 889-891.
- [9] He H P, Liu F C. Chemical constituents of *Colcicum autumnale*: Non-alkaloid composition [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2000, 12(1): 12-15.
- [10] Zhou H L, Yuan J R. The chemical constituents of *Ixeris chinensis* (Thunb.) Nakai [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1996, 27(5): 267-268.

GC-MS 法分析海星中脂肪酸及脂溶性成分

吴 鹏, 赵 岩, 李平亚*

(吉林大学再生医学科学研究所, 吉林 长春 130021)

海星学名海盘车, 属棘皮动物门(Echinodermata)海星纲(Asteroidea)。棘皮动物是海洋里常见的大型无脊椎动物, 是研究海洋药物的良好材料, 现已知1 500多种。我国沿海海域有100多种。药理研究表明, 很多海洋生物次生代谢产物对人类多种疾病具有很好的疗效, 主要生物活性表现在抗肿瘤、抗心脑血管病、抗菌、抗病毒、抗放射、抗衰老、止血、镇痛和

消炎等方面。海星中含有大量结构独特的具有生物活性的代谢产物, 李国强等^[1]从海星中分离出17种化合物, 其中主要是甾体类成分。这些甾体类成分具有细胞毒、溶血、抗病毒、抑菌等药理活性。许东晖等^[2]研究表明海星甾醇具有抑制血小板聚集作用。有关海星提取物中的油性成分尚未见报道, 本实验采用 GC-MS 法对其油性成分进行分析。

收稿日期: 2006-04-12

作者简介: 吴 鹏(1981—), 男, 宁夏平罗人, 吉林大学药学院硕士研究生, 研究方向为天然药物的化学成分及生物活性研究。

* 通讯作者 李平亚 Tel: (0431)85619803 E-mail: lipy@jlu.edu.cn