

- 63; 1299-1324.
- [7] Porte C J, Wasmuth J C, Schneider K, *et al.* Lopinavir/ritonavir plus saquinavir in salvage therapy; pharmacokinetics, tolerability and efficacy [J]. *AIDS*, 2003, 17: 1700-1702.
- [8] Cameron D W, Japour A J, Xu Y, *et al.* Ritonavir and saquinavir combination therapy for the treatment of HIV infection [J]. *AIDS*, 1999, 13: 213-224.
- [9] Bohm H J. The Development of a simple empirical scoring function to estimate the binding constant for a protein-ligand complex of known three-dimensional structure [J]. *Comput Aided Mol Des*, 1994, 8: 243-248.
- [10] Bohm H J. LUDI: Rule-based automatic design of new substituents for enzyme inhibitor leads [J]. *Comput Aided Mol Des*, 1992, 6: 593-596.

鸡桑中化学成分及其抗癌和抗氧化活性研究

张庆建, 陈若芸, 于德泉*

(中国医学科学院中国协和医科大学 药物研究所, 北京 100050)

鸡桑 *Morus australis* Poir. 又名小叶桑, 分布于全国多个省份。鸡桑的同属植物桑 *M. alba* L. 为传统中药, 树皮、枝、叶、果实均可入药, 具有降压、抗菌、利尿、镇静等作用^[1]。近20年来日本对桑属植物作了大量的研究, 发现其中含有黄酮、二苯乙烯、苯骈呋喃等酚性成分。鸡桑的化学成分的报道很少, 为研究其活性成分, 笔者对其醋酸乙酯部分进行了分离。从醋酸乙酯部分分离到10个化合物, 通过光谱方法测定了结构, 分别鉴定为白桑酚 B (albanol B, I)、桑根酮 C (sanggenon C, II)、异甘草黄酮醇 (isolicoflavonol, III)、羟基藜芦酚 (oxyresveratrol, IV)、3, 3', 4, 5'-四羟基二苯乙烯 (3, 3', 4, 5'-tetrahydroxystilbene, V)、白藜芦醇 (resveratrol, VI)、二氢桑色素 (dihydromorin, VII)、2, 3', 4-三羟基二苄乙烷 (2, 3', 4-trihydroxybibenzyl, VIII)、槲皮素 (quercetin, IX) 和山柰酚 (kaempferol, X)。检测了化合物 II ~ X 的活性。化合物 III 和 V 为首次从该属植物中分离得到, 其余均为首次从鸡桑中分离得到。活性筛选结果表明, 化合物 III 对 Bel 7402、BGC-823、HCT-8 和 A2780 癌细胞生长有抑制作用, 化合物 IX 和 X 对 BGC-823 细胞生长有抑制作用。化合物 III ~ VI 和 IX 能明显抑制 Fe^{2+} -半胱氨酸诱导的肝微粒体脂质过氧化产物的生成。

1 仪器和材料

^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 用 INOVA-500 型核磁共振仪测定。FAB-MS 用 VG-Autospec-300 型质谱仪测定, ESI-MS 用 Agilent 1100 LC/MSD Trap SL 型质谱仪测定。红外光谱用 IMPACT 400 型红外光谱仪测定。旋光用 Perkin-Elmer-241 型

旋光仪测定。Sephadex LH-20 购自 Pharmacia 公司, RP-18(40~60 μm) 购自 Merck 公司。薄层色谱硅胶 GF₂₅₄ 和柱色谱硅胶 (160~200 目) 为青岛海洋化工厂产品。溶剂均为分析纯, 由北京化工厂生产。

实验药材采于江西省庐山, 由江西九江森林植物研究所谭策铭研究员鉴定为鸡桑 *M. australis* Poir.。

2 提取与分离

鸡桑干燥茎 15 kg, 粉碎, 95% 乙醇回流提取 3 次, 每次 1 h。提取液减压浓缩得干浸膏 1 010 g。将该浸膏溶于热水, 分别用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取。醋酸乙酯萃取部分减压浓缩后得浸膏 465 g。该部分硅胶拌样后, 以氯仿-甲醇梯度洗脱, 分成 10 个部分。各部分分别用硅胶、RP-18、LH-20 凝胶等色谱法, 从第 3、4、5 部分共分离到 10 个化合物, 分别是 2 个 Diels-alder 型化合物: I (10 mg) 和 II (250 mg); 4 个二苯乙烯类化合物: IV (2.5 g), V (1.3 g), VI (500 mg) 和 VII (200 mg); 4 个黄酮化合物: III (41 mg)、IX (35 mg)、X (50 mg) 和 X (14 mg)。

3 结构鉴定

化合物 I: 棕色无定形粉末, $[\alpha]_D^{25} + 118^\circ (c 0.04, \text{CHCl}_3)$; FAB-MS: m/z 559 ($[M+1]^+$), 558 (M^+); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 317 (OH), 1 618 (苯环); ^1H -NMR (acetone- d_6 , 500 MHz) δ : 8.49 (1H, br s, H-2''), 7.17 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-20''), 7.62 (1H, br s, H-6''), 7.39 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-4), 7.16 (1H, d, $J=1.5$ Hz, H-6'), 7.09 (1H, d, $J=1.5$ Hz, H-3), 6.98 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-7), 6.80 (1H, dd, $J=8.0, 2.0$ Hz, H-5), 6.58 (1H, br d, $J=8.0$ Hz, H-

收稿日期: 2006-08-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (20432030, 20572133)

* 通讯作者 于德泉 Tel: (010) 63165224 Fax: (010) 63017757 E-mail: dqyu@imm.ac.cn

19"), 6.56 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-17"), 6.30 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-11"), 6.17 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-14"), 5.91 (1H, dd, $J=8.0, 2.0$ Hz, H-13"), 2.50 (3H, s, H-7"); ^{13}C -NMR (acetone- d_6 , 125 MHz) δ : 160.8 (C-12"), 160.0 (C-10"), 158.0 (C-2, 7a), 157.0 (C-3', 5'), 154.2 (C-6), 153.2 (C-18"), 152.2 (C-16"), 140.6 (C-1"), 132.3 (C-3"), 131.0 (C-14"), 129.6 (C-5"), 129.3 (C-1'), 126.4 (C-20"), 125.3 (C-2"), 122.4 (C-3a), 122.2 (C-4), 121.7 (C-4"), 121.3 (C-6"), 115.2 (C-4'), 115.0 (C-15"), 113.4 (C-5), 111.5 (C-19"), 111.0 (C-9"), 107.4 (C-13"), 106.4 (C-8"), 106.3 (C-6'), 105.7 (C-2'), 105.2 (C-17"), 104.7 (C-11"), 103.4 (C-3), 98.3 (C-7), 22.2 (C-7"). 以上波谱数据与文献报道阿尔本酚 B 一致^[2], 确定化合物 I 为白桑酚 B。

化合物 II: 黄色无定形粉末, $[\alpha]_D^{25}$: +108° (c 0.105, MeOH); FAB-MS: m/z 709 ($[M+1]^+$); ^1H -NMR (acetone- d_6 , 500 MHz) δ : 1.55 (3H, s, H-12), 1.47 (3H, s, H-13), 1.88 (3H, s, H-17), 2.18~2.40 (2H, m, H-18), 2.96 (1H, d, $J=12.5$ Hz, H-9), 2.88 (1H, dd, $J=9.5, 12.5$ Hz, H-9), 4.06 (1H, br s, H-14), 3.85 (1H, br s, H-19), 4.52 (1H, t, $J=7.0$ Hz, H-20), 5.05~5.15 (1H, m, H-10), 5.53 (1H, s, H-15), 5.84 (1H, s, H-8), 6.28~6.45 (3H, m, H-3', 24, 32), 6.35 (1H, dd, $J=2.0, 9.0$ Hz, H-26), 6.52 (1H, dd, $J=1.5, 8.0$ Hz, H-5'), 6.14 (1H, d, $J=2.5$ Hz, H-30), 7.28 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-6'), 8.28 (1H, d, $J=9.0$ Hz, H-27), 6.89 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-33), 12.48 (1H, s, OH-5); ^{13}C -NMR (acetone- d_6 , 125 MHz) δ : 92.4 (C-2), 102.1 (C-3), 188.5 (C-4), 99.7 (C-4a), 163.5 (C-5), 108.9 (C-6), 167.4 (C-7), 96.5 (C-8), 161.9 (C-8a), 32.7 (C-9), 118.7 (C-10), 136.7 (C-11), 18.3 (C-12), 25.8 (C-13), 35.8 (C-14), 123.1 (C-15), 134.7 (C-16), 23.7 (C-17), 33.7 (C-18), 36.8 (C-19), 48.0 (C-20), 209.1 (C-21), 113.4 (C-22), 165.9 (C-23), 103.6 (C-24), 166.2 (C-25), 108.8 (C-26), 129.0 (C-27), 121.5 (C-28), 156.3 (C-29), 103.7 (C-30), 158.2 (C-31), 108.7 (C-32), 134.7 (C-35), 122.2 (C-1'), 161.2 (C-2'), 99.0 (C-3'), 161.2 (C-4'), 110.1 (C-5'), 125.8 (C-6'), 参考文献确定化合物 II 为桑根酮 C^[3]。

化合物 III: 黄色粉末, mp 117~119 °C, 盐酸-镁粉反应显阳性。EI-MS、 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据与

文献报道的异甘草黄酮醇一致^[4], 确定化合物 III 为异甘草黄酮醇。

化合物 IV: 淡黄色粉末, mp 198~200 °C。硅胶薄层板上呈现蓝色荧光, 与 FeCl_3 试剂反应呈紫褐色。EI-MS: m/z 244 (M^+), 226, 198; ^1H -NMR (acetone- d_6 , 400 MHz) δ : 7.40 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-6), 6.38 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5), 6.43 (1H, br s, H-3), 6.22 (1H, br s, H-4'), 6.51 (2H, br s, H-3', 5'), 6.88 (1H, d, $J=16.4$ Hz, H- α), 7.33 (1H, d, $J=16.4$ Hz, H- β); 碳谱数据见表 1。以上数据与文献报道的羟基藜芦酚一致^[5], 确定化合物 IV 为羟基藜芦酚。

化合物 V: 棕色粉末, mp 216~218 °C。EI-MS: m/z 244 (M^+); ^1H -NMR (acetone- d_6 , 400 MHz) δ : 7.06 (1H, s, H-2), 6.80 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5), 6.90 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-6), 6.81 (1H, d, $J=16.0$ Hz, H- α), 6.94 (1H, d, $J=16.0$ Hz, H- β), 6.52 (2H, s, H-2', 6'), 6.25 (1H, s, H-4'); 碳谱数据见表 1, 依文献确定化合物 V 为 3, 3', 4, 5'-四羟基二苯乙烯^[6]。

化合物 VI: 淡黄色块状晶体 (MeOH), mp 254~255 °C。EI-MS: m/z 244 (M^+); ^1H -NMR (acetone- d_6 , 400 MHz) δ : 7.40 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-2, 6), 6.83 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-3, 5), 6.54 (2H, d, $J=2.0$ Hz, H-2', 6'), 6.26 (1H, t, $J=2.0$ Hz, H-4'), 6.87 (1H, d, $J=16.4$ Hz, H- α), 7.01 (1H, d, $J=16.4$ Hz, H- β); 碳谱数据见表 1。参考文献确定化合物 VI 为白藜芦醇^[7]。

化合物 VII: 淡黄色粉末, mp 232~235 °C, $[\alpha]_D^{25}$: +65.5° (c 0.11, MeOH)。盐酸-镁粉反应显阳性。依据 ESI-MS、 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据, 并结合文献确定化合物 VII 为二氢桑色素^[8]。

表 1 化合物 IV~VI 和 VII 的碳谱数据 (acetone- d_6 , 100 MHz)

Table 1 ^{13}C -NMR Data of compounds IV-VI, and VII (acetone- d_6 , 100 MHz)

碳位	IV	V	VI	VII
1	117.2	130.7	128.8	120.1
2	156.9	113.8	128.4	156.6
3	102.3	146.1	116.1	103.4
4	159.1	146.1	157.8	157.5
5	108.4	116.2	116.1	107.2
6	124.3	120.0	128.4	131.2
α	126.3	129.3	129.7	32.6
β	128.2	126.9	126.5	37.2
1'	141.6	140.8	140.5	145.1
2'	105.5	105.6	105.3	116.2
3'	159.5	159.5	159.2	158.2
4'	103.6	102.6	102.6	113.4
5'	159.5	159.5	159.2	129.9
6'	105.5	105.6	105.3	120.4

化合物Ⅶ:棕色粉末。碳谱见表1。依据EI-MS、 ^1H -NMR和 ^{13}C -NMR数据,并参考文献确定化合物Ⅶ为2,3',4-三羟基二苯乙烷^[9]。

化合物Ⅸ:黄色粉末,盐酸-镁粉反应显阳性。EI-MS、 ^1H -NMR和 ^{13}C -NMR数据与文献报道的槲皮素一致^[10],确定化合物Ⅸ为槲皮素。

化合物X:黄色粉末,盐酸镁粉反应显阳性。由EI-MS、 ^1H -NMR和 ^{13}C -NMR数据确定化合物X为山柰酚。

4 活性筛选

对以上分离得到的9个化合物进行了体外抗癌和抗氧化活性筛选。

4.1 MTT法测定化合物抗癌活性:采用MTT法测定了化合物Ⅰ~X对人肺癌A549、肝癌Bel 7402、胃癌BGC-823、结肠癌HCT-8和卵巢癌A2780细胞生长的抑制作用。

抗癌筛选结果表明,化合物Ⅲ对肝癌Bel 7402、胃癌BGC-823、结肠癌HCT-8和卵巢癌A2780细胞生长有抑制作用,其 IC_{50} 分别为7.8、7.5、3.9和6.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$;化合物Ⅸ和X对胃癌BGC-823细胞生长有抑制作用, IC_{50} 分别为5.5和9.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。其他化合物未表现抑制癌细胞生长的活性。

4.2 化合物抗氧化活性筛选:采用 Fe^{2+} -半胱氨酸诱导的肝微粒体脂质过氧化模型,测定了化合物Ⅰ~X对脂质过氧化产物生成的抑制率。

抗氧化筛选结果表明,在 10^{-5} mol/L浓度时,化合物Ⅲ~Ⅵ和Ⅸ能明显抑制脂质过氧化产物的生成,抑制率分别为67%、72.8%、75.3%、71.8%、

59.5%,提示这些化合物具有抗氧化活性。阳性对照VE的抑制率为66.7%。

致谢:本所药理室刘红岩和魏玲玲老师分别测定抗癌和抗氧化活性,仪器分析室代测光谱。

References:

- [1] Editorial Board of China Herbal, State Administration of Traditional Chinese Medicine China. *China Herbal* (中华本草) [M]. Vol. 1. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1999.
- [2] Hano Y, Miyagawa Y, Yano M, et al. Correlation between albanol B and mulberrofuran I, and structure of mulberrofuran S, novel 2-arylbenzofuran derivative [J]. *Heterocycles*, 1989, 28(2): 745-749.
- [3] Nomura T, Fukar T, Hano Y, et al. Structure of Sanggenon C, a natural hypotensive Diels-alder adduct from Chiense crude "Sang-Bai-Pi" (*Morus root barks*) [J]. *Heterocycles*, 1981, 16(12): 2141-2148.
- [4] Zhu D Y, Song G Q, Jiang F X, et al. The research of components from *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. [J]. *Acta Chim Sin* (化学学报), 1984, 42: 1080-1084.
- [5] Kanchanapoom T, Suga K, Kasai R, et al. Stilbene and 2-arylbenzofuran glucosides from the rhizomes of *Schoenocaulon officinale* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2002, 50(6): 863-865.
- [6] Silayo A, Ngadjui B T, Abegaz B M. Homoisoflavonoids and stilbenes from the bulbs of *Scilla nervosa* subsp. *rigidifolia* [J]. *Phytochemistry*, 1999, 52: 947-955.
- [7] Yang J Z, Zhou L X, Ding Y. Studies of chemical constituents of oligostilbenes from *Vitis davidii* Foex [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2001, 26(8): 553-555.
- [8] El-Sohly H N, Joshi A, Li X C, et al. Flavonoids from *Maclura tinctoria* [J]. *Phytochemistry*, 1999, 52: 141-145.
- [9] Hermann A, Ralph S, Ruediger M. Bibenzyls and bisbibenzyls from a neotropical *Plagiochila* species [J]. *Phytochemistry*, 1999, 52: 1639-1645.
- [10] Shi J, Chen B, Sun Z H, et al. Studies on flavonoid constitutions of *Caragana intermedia* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2003, 38(8): 599-602.

蒲葵籽化学成分研究

陈 屏,杨峻山*

(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)

蒲葵籽为棕榈科蒲葵属乔木蒲葵 *Livistona chinensis* (Jacq.) R. Br. 的种子,产于我国南部地区。味苦、性寒,有小毒;有抗癌、凉血止血、止痛的作用。到目前为止,国内外对蒲葵籽化学成分研究较少,巴基斯坦人^[1]分得4个游离单糖、6个氨基酸、十八烯酸。药理方面,蒲葵(种子)提取物小鼠灌胃给

药可降低B16-F10黑素瘤细胞活性,且促进脾细胞增殖;蛋白和糖未除去时无抗癌活性^[2]。黄才等^[3]研究表明,蒲葵籽对蛋白激酶C的活性有明显的抑制作用。丁庆等^[4]利用蒲葵籽经破细胞壁后提取原粉制备抗癌剂。为探索其抗癌有效成分,笔者对其化学成分进行了系统研究,以期寻找其抗癌有效成分。本

收稿日期:2006-11-23

作者简介:陈 屏,女,博士研究生。Tel: (010)62899739 E-mail: chenping-2006@tom.com

* 通讯作者 杨峻山 Tel: (010)62899707 E-mail: junshanyang@sina.com