

蜜柑草抗癌有效成分研究[△]

I. 黄酮类成分的分离与鉴定

中日友好医院临床医学研究所(北京 100029) 陈玉武* 任丽娟

摘 要 从蜜柑草 *Phyllanthus matsumurae* Hayata 的干燥全草中共分得 10 个化合物。其中有 4 个黄酮、6 个多酚类成分。作者报道 4 个黄酮化合物,经理化常数和光谱测定,分别鉴定为槲皮素-3-O-木糖葡萄糖甙(I),槲皮素-3-O-鼠李葡萄糖甙(II),槲皮素-3-O-葡萄糖甙(III)和槲皮素(IV)。这些化合物均为首次从蜜柑草中分得。多酚类成分另报。

关键词 蜜柑草 黄酮 槲皮素-3-O-木糖葡萄糖甙

蜜柑草 *Phyllanthus matsumurae* Hayata 为大戟科叶下珠属植物,分布于我国长江以南各省,具有清肝明目,消痞止痢,渗湿利尿之功效。民间用来治疗肝炎黄胆、红白痢疾、肾炎水肿等疾病^[1]。其化学成分未见报道。近年来国外报道叶下珠属植物有抗乙肝病毒和抗肿瘤等作用^[2~4]。经筛选,我们也发现蜜柑草总甙对 KB 细胞有明显的抑制作用,因此,对蜜柑草的化学成分进行了研究。从安徽产蜜柑草水提液经大孔吸附树脂处理所得总甙中分得槲皮素-3-O-木糖葡萄糖甙(querctetin-3-O-xyloglucoside, I),槲皮素-3-O-鼠李葡萄糖甙(querctetin-3-O-rhamnoglucoside, II),槲皮素-3-O-葡萄糖甙(querctetin-3-O-glucoside, III)和槲皮素(querctetin, IV)。经抗肿瘤体外试验筛选,以上化合物对 KB 细胞未显示抑制活性。

化合物 I HCl-Mg 反应呈红色, α -萘酚反应阳性,锆盐试验呈黄色,加柠檬酸褪色。其核磁共振氢谱示黄酮母核的 5、7、3'、4'位有取代(δ 6.17、6.39 各 1 H,d,J=2.2 Hz, δ 6.85、7.55、7.66 各 1 H,d,J=8.1、2.2、8.8 Hz)。另外在 δ 4.59、5.72 还出现两个糖的端基质子,示为一双糖甙。化合物 I 在 MeOH 中紫外光谱加三氯化铝-盐酸后,带 I 红移 44 nm,说明 5 位有游离羟基;加醋酸钠带 II

红移 16 nm,示有 7 位羟基;加醋酸钠-硼酸后带 I 红移 18 nm,表明 B 环有邻二酚羟基。上述结果提示化合物 I 为 5,7,3',4'四羟基黄酮双糖甙。

化合物 I 用三氟醋酸水解得到的甙元为黄色针晶,根据熔点、紫外和红外光谱数据鉴定为槲皮素即 3,5,7,3',4'五羟基黄酮。酸水解得到的糖部分,薄层层析检识含木糖和葡萄糖。氯化锆-柠檬酸反应呈阴性表明糖基连在甙元的 3 位上。核磁共振碳谱中葡萄糖 C₂ 的化学位移向低场位移了 8ppm 至 81.83,根据成甙位移规律,木糖与葡萄糖应以 1 $\rightarrow$ 2 相连接。

根据化合物 I 核磁共振氢谱中葡萄糖和木糖端基质子的偶合常数分别为 6.6 Hz 和 7.3Hz,其甙键应为 β 型。因此 I 的结构应为槲皮素-3-O- β -D-吡喃木糖-(1 $\rightarrow$ 2)-O- β -D-葡萄糖吡喃糖甙(即槲皮素-3-O-桑布双糖甙)。

化合物 III 紫外光谱(MeOH)在 257、358 nm 显示黄酮化合物的特征吸收。HCl-Mg 反应呈红色, α -萘酚反应阳性。酸水解得甙元为黄色针晶经鉴定为槲皮素,糖部分薄层层析检出含葡萄糖。由化合物 III 的 FAB 质谱(m/z 465(M+1),302(M-162))也证明含一分子葡萄糖。又根据氯化锆-柠檬酸反应呈阴性表明葡萄糖连在 3 位上。化合物 III 应为槲

* Address: Chen Yuwu, Institute of Clinical Medicine, Sino-Japan Friend Ship Hospital, Beijing

[△] 本课题为国家自然科学基金资助项目

皮素-3-O-葡萄糖甙。

1 仪器和试剂

熔点用 Boetius PHMK 05 型显微熔点测定仪测定(温度计未校正);UV 光谱用日立 220A 型紫外分光光度仪测定;IR 光谱用 Shimadzu 460 型红外光谱仪测定;NMR 谱用 JNM-GX400 型核磁共振仪测定,TMS 为内标;FAB-MS 用 JMS-DX300 型和 KyKy-ZHP-5 型质谱仪测定。大孔吸附树脂为天津南开大学高分子化学研究所化工厂生产。Sephadex LH-20 为 Pharmacia 公司产品,上海化学试剂厂进口分装。制备薄层用 Polyamide 6D 为德国 Riedeldehaen 产品。薄层层析用聚酰胺薄膜为浙江黄岩四青生化材料厂产品。糖的检识用 Merck 公司生产的硅胶 60F₂₅₄ 预制薄层板。溶剂系统用①乙酸乙酯-甲醇-冰醋酸-水(12:3:3:2);②正丁醇-吡啶-水(6:3:1),显色剂用茴香醛-硫酸试剂。

2 提取和分离

蜜甘草干燥全草 1 kg,切碎,水煎提 2 次,水提液浓缩至 4000 mL,通过 H-103 型大孔吸附树脂柱,水洗至 α -萘酚反应阴性,乙醇洗脱得总甙干膏 68 g。总甙拌入硅胶行硅胶短柱层析,CHCl₃-MeOH-H₂O(70:30:6)洗脱,每份 100 mL 接收。第 2 份经聚酰胺柱精制,EtOAc-MeOH 重结晶得化合物 IV 40 mg。第 4~5 份经聚酰胺制备薄层层析得化合物 III 30 mg。第 7~9 份浓缩后放置析出细针晶,经 MeOH-H₂O 重结晶得化合物 II 80 mg。第 12~16 份,经 Sephadex LH-20 柱层析,Me₂CO-H₂O(1:1)洗脱得化合物 I 粗品,再经聚酰胺制备薄层精制得化合物 I 660 mg。在上述总甙硅胶柱层析中还得到 6 个多酚类成分另报。

3 鉴定

化合物 I:黄色无定形粉末,mp194℃~195℃。HCl-Mg 反应阳性,Molish 反应阳性。UV (MeOH)nm (log ϵ):256(4.53),358(4.41);(NaOMe)270,328(sh),406;

(AlCl₃)276,331(sh),434;(AlCl₃/HCl)270,300(sh),402;(NaOAc)272,368;(NaOAc-H₃BO₃)264,376。IR(KBr)cm⁻¹:3380(OH),1645(C=O),1604,1501(芳环),1358,1300。FAB-MS m/z 619(M⁺+Na)。¹H-NMR (400M Hz,DMSO-d₆):7.66(1H,dd,J=8.8、2.2 Hz,C₆-H),7.55(1H,d,J=2.2 Hz,C₂-H),6.85(1H,d,J=8.1 Hz,C₅-H),6.39(1H,d,J=2.2 Hz,C₈-H),6.17(1H,d,J=2.2 Hz,C₆-H),5.72(1H,d,J=6.6 Hz,H-1 glc),4.59(1H,d,J=7.3 Hz,H-1 xyl)。¹³C-NMR (125 MHz,DMSO-d₆):177.30(C₄),164.68(C₇),161.21(C₅),156.23(C₂),155.25(C₉),148.62(C₄'),144.96(C₃'),132.90(C₃),121.87(C₁'),121.09(C₆'),115.94(C₅'),115.24(C₂'),104.53(C₁₀),103.66(C₁,xyl),98.73(C₆),97.89(C₁,glc),93.47(C₈),81.83(C₂,glc),77.61(C₃,glc),76.83(C₃,xyl),76.13(C₅,glc),73.89(C₂,xyl),69.55(C₄,xyl),69.38(C₄,glc),65.63(C₅,xyl),60.60(C₆,glc)。化合物 I 加 CF₃COOH 水解,甙元为黄色针晶,mp,TLC 和红外光谱均与化合物 IV 一致,糖部分 TLC 显示二个斑点,分别与木糖和葡萄糖 Rf 值一致。以上数据与文献^[5]一致。

化合物 II:淡黄色针晶,mp181℃~182℃(MeOH-H₂O)。HCl-Mg 反应阳性,Molish 反应阳性。UV (MeOH)nm (log ϵ):258(4.32),359(4.22)。IR(KBr)cm⁻¹:3421(OH),1649(C=O),1596,1490(芳环),1357,1293。加 CF₃COOH 水解后,TLC 除显示与化合物 IV 相同 Rf 值斑点外还显示两个糖的色斑,分别与鼠李糖和葡萄糖的 Rf 值一致。以上数据与文献值对照^[6],鉴定为槲皮素-3-O-鼠李葡萄糖甙即芦丁(rutin)。

化合物 III:黄色无定形结晶,mp228℃~230℃(MeOH-H₂O)。HCl-Mg 反应阳性,Molish 反应阳性。UV (MeOH)nm (log ϵ):257(4.34),358(4.22);(NaOMe)274,327(sh),416;(AlCl₃)276,331(sh),432;(Al-

Cl_3/HCl) 268, 299 (sh), 400; (NaOAc) 273, 324 (sh), 384; ($\text{NaOAc}/\text{H}_3\text{BO}_3$) 262, 292 (sh), 378。IR (KBr) cm^{-1} : 3335 (OH), 1649 ($\text{C}=\text{O}$), 1600, 1498 (芳环), 1355, 1301。FAB-MS 465 ($\text{M}+1$), 302 ($\text{M}-162$)。加 CF_3COOH 水解后甙元的 mp、TLC 和 IR 光谱与化合物 IV 一致, 糖的色斑与葡萄糖 Rf 值一致。以上数据与文献值对照^[7,8], 鉴定为槲皮素-3-O-葡萄糖甙即异槲皮甙 (iso-quercitrin)。

化合物 IV: 黄色针晶, mp 310℃~312℃ (EtOAc-MeOH)。HCl-Mg 反应阳性。UV (MeOH) nm (log ϵ): 258 (4.20), 373 (4.04)。IR (KBr) cm^{-1} : 3450, 315 (OH), 1652 ($\text{C}=\text{O}$), 1606, 1555, 1515 (芳环), 1378, 1167。以上数据与槲皮素标准品一致, 鉴定为槲皮素。

致谢: 安徽中医学院中药资源开发研究所王德君教授鉴定植物样品。中国医学科学院医学生物技术研究所仪器分析室代测质谱。中国军事医学科学院仪器分析测试中心代测核磁共振谱。

参考文献

- 1 江苏新医学院. 中药大辞典. 上海: 上海人民出版社, 1977. 2582
- 2 Venkateswaran SP, et al. Proc Natt Acad Sci USA, 1987, 84: 274
- 3 Pett CR, et al. J Nat Prod, 1990, 53(6): 1406
- 4 方雷等. 国外医药·植物药分册, 1992, 7(6): 249
- 5 Rosemary F W. Phytochemistry, 1991, 30(7): 2443
- 6 Nawwar MAM, et al. Phytochemistry, 1982, 21: 1775
- 7 Shinji Funayama, et al. Chem Pharm Bull, 1979, 27 (11): 2865
- 8 张振杰, 等. 中草药通讯, 1974, 5(1): 21

(1995-11-17 收稿)

Studies on the Anticancer Constituents of Matsumura Leafflower (*Phyllanthus matsumurae*)

I. Isolation and Identification of Flavonoid Compounds

Chen Yuwu and Ren Lijuan

Four flavonoid compounds were isolated from *Phyllanthus matsumurae*. On the basis of physico-chemical properties and spectroscopic analysis, their structures were identified as quercetin-3-O-xyloglucoside (I), quercetin-3-O-rhamnoglucoside (II), quercetin-3-O-glucoside (III) and quercetin (IV). All of them were isolated from this plant for the first time.

野罂粟蒴果化学成分研究 (I)[△]

承德医学院中药研究所 (067000) 张沿军* 于永芳 康少文

摘要 为了寻找镇咳平喘药物, 对野罂粟蒴果进行了研究, 从中分得 20 个生物碱单体。作者主要报道提取分离及 5 个微量生物碱的鉴定。经理化常数及波谱分析分别鉴定为刺罂粟碱(I₁)、海罂粟胺(I₂)、丽春花宁(I₃)、丽春花定(I₄)、和乙基丽春花宁(I₅)。

关键词 野罂粟蒴果 刺罂粟碱 海罂粟胺 丽春花宁 丽春花定 乙基丽春花宁

野罂粟为罂粟科罂粟属植物。其蒴果民间用于止咳、平喘、镇痛。为了寻找具有镇咳

和平喘作用的药物, 我们对其进行了深入研究。该植物在承德地区有 2 种即野罂粟 *Pa-*

* Address: Zhang Yanjun, Institute of Materia Medical, Chengde Medical College, Chengde

△ 本课题为河北省自然科学基金资助项目