

C_{4'}-H), 4.85(1 H, ddd, J=9.2, 6.4, 7.0, C_{5'}-H), 3.99(1 H, dd, J=6.4, 11.6, C_{6'}-H), 4.39(1 H, dd, J=7.0, 11.6, C_{6'}-H), 4.92(1 H, d, J=7.0, C_{1'}-H), 5.41(1 H, dd, J=7.0, 8.3, C_{2'}-H), 5.58(1 H, t, J=8.3, C_{3'}-H), 5.29(1 H, ddd, J=8.3, 9.3, 12.1, C_{4'}-H), 3.57(1 H, dd, J=9.3, 11.7, C_{5'}-H), 4.39(1 H, dd, J=12.1, 11.7, C_{5'}-H)。

参考文献

- 1 何直升,等. 中草药, 1995, 26(6): 285
- 2 Fang S Y, et al. Phytochemistry, 1995, 39: 1241
- 3 Fang S Y, et al. J Nat Prod, 1996, 59: 304

- 4 方世跃,等. 中草药, 1996, 27(3): 131
- 5 He Z S, et al. Phytochemistry, 1996, 42(5): 1391
- 6 徐任生. 天然产物化学. 北京: 科学出版社, 1993. 424
- 7 Gujral V K. Indian J Chem. Sect B, 1979, 17B(1): 40
- 8 Fumiko A, et al. Phytochemistry, 1993, 33(6): 1499
- 9 Gen-ichio, et al. Chem Pharm Bull, 1982, 30(6): 2061
- 10 Dayar A, et al. Aust J Chem, 1993, 46: 977
- 11 Brown R T, et al. Chem Commun, 1967, 9: 453
- 12 Leticia J, et al. J Nat Prod, 1981, 43(6): 668
- 13 于德泉,等. 分析化学手册. 第五分册. 北京: 化学工业出版社, 1985. 827

(1996-09-10 收稿)

Studies on the Chemical Constituents of Thinleaf Adina (*Adina rubella*) (Ⅲ)

Fan Gaojun and He Zhisheng

Seven compounds, 5-hydroxy-2-methylchromone-7-O-β-D-xylopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside (I), 5-hydroxy-2-methylchromone-7-O-β-D-apiofuranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside (II), 2, 4, 6-trimethoxyphenol-1-O-β-D-apiofuranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside (III), strictosidinic acid (IV), harman-3-carboxylic acid (V), loganin (VI), 2-O-α-D-glucopyranosyl-D-glucose (VII), were isolated from the root of *Adina rubella* Hance. Their structures were established by chemical methods and spectral analysis. Among them, III was a new compound.

蜜柑草抗癌有效成分研究[△]

Ⅱ. 多酚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 的干燥全草中分得 6 个多酚类化合物, 经理化常数测定和光谱解析, 分别鉴定为老鹳草素(V), 柯里拉京(VI), 短叶苏木酚酸(VII), 鞣花酸(VIII), 没食子酸(IX)和原儿茶酸(X)。这些化合物均首次从该植物中得到。经体外及体内抗肿瘤筛选, 柯里拉京显示较强的抗癌活性。

关键词 蜜柑草 多酚类 老鹳草素 柯里拉京 抗肿瘤

前文^[1]报道了自大戟科叶下珠属植物蜜柑草 *Phyllanthus matsumurae* Hayata 中分得 4 个黄酮类化合物。本文报道从该植物中得到的 6 个多酚类成分。多酚类为叶下珠属植物中一类主要化学成分, 含量较高并具有一定的抗肿瘤活性^[2]。我们从蜜柑草的丙酮-水(1:1)提取物中分得老鹳草素(geraniin,

V)和鞣花酸(ellagic acid, VIII), 从水提液经大孔吸附树脂处理得到的总甙中分得柯里拉京(corilagin, VI), 短叶苏木酚酸(brevifolin-carboxylic acid, VII), 没食子酸(gallic acid, IX)和原儿茶酸(protocatechuic acid, X)。经抗癌活性筛选, 其中柯里拉京作用较强, 体外抗 KB 细胞试验 5、10 和 20 μg/mL 的抑制率

* Address: Chen Yuwu, China-Japan Friendship Institute of Clinical Medical Sciences, Beijing

△ 本文国家自然科学基金资助项目

分别为 80%、90%、99%；抗 A₂₇₈₀ 细胞试验 5 $\mu\text{g/mL}$ 和 10 $\mu\text{g/mL}$ 的抑制率为 85%、95%。体内抗小鼠 Lewis 肺癌试验抑瘤率为 45.7%， $P < 0.001$ 。加之柯里拉京在蜜甘草中含量较高，因此可以认为柯里拉京为蜜甘草总甙抗癌作用的主要活性成分。

化合物 V 为黄色结晶，与三氯化铁试剂显蓝色， α -萘酚反应阳性。从质谱〔负离子 FAB-MS m/z 951($M-1$)〕和元素分析推出分子式为 $C_{41}H_{28}O_{27}$ 。完全酸水解产生没食子酸、鞣花酸、短叶苏木酚酸和葡萄糖，提示为一多酚甙。核磁共振氢谱 δ 7.16(2 H, s) 和 6.61, 7.15(各 1 H, s) 为没食子酰基和六羟基二苯酰基(HHDP)上氢的信号。从葡萄糖质子信号的化学位移(δ 6.60, 5.51, 5.48, 5.45, 4.75, 4.90 和 4.25 $C_{1\sim6}\text{-H}$)表明所有羟基都被酰化。

随着化合物 V 在溶剂中的时间加长，其核磁共振碳谱出现成对的两组峰，提示有异构体产生。这与文献报道^[3] geraniin 溶于 $(CD_3)_2CO-d_6-D_2O$ 中 1 h 仅出现 geraniin (A) 一组碳的信号峰，样品溶液置室温 24 h 后测试便增加了相对映的另一组峰〔geraniin (B)〕是一致的，其化学位移数据比较见表 1。

在化合物 V (A)、V (B) 所有酚碳中仅 C_6 显示单一峰 δ 143.44 和 147.27，其他酚碳均显示重峰，化学位移差很小。这表明 V (A) 和 V (B) 二者都有半缩醛环，在 V (A) 中存在六元半缩醛环，核磁共振氢谱中 H-1' 和 H-3' 呈尖单峰也支持这一推论。 C_6 峰向低场有很大位移，由 δ 92.70 移至 109.07，这是由于从吡喃环缩合为呋喃环所致，因此 V (B) 则存在五元半缩醛环。以上数据经与文献^[4,5] 对照确定化合物 V 为 geraniin，其结构式见图 1。

化合物 VI 为无色结晶，与三氯化铁试剂显蓝色， α -萘酚反应阳性。从质谱〔负离子 FAB-MS m/z 633($M-1$)〕和元素分析推出分子式为 $C_{27}H_{22}O_{18}$ 。核磁共振氢谱 δ 7.11(2 H, s) 和 6.68, 6.82(各 1 H, s) 为没食子酰基和六羟基二苯酰基氢的信号。由葡萄糖质子

H-1, H-3 和 H-6 信号化学位移(δ 6.36, 4.82, 4.95)提示这 3 个羟基被酰化，核磁共振碳谱 165.20(galloyl CO), 167.25 和 168.69 (HHDP CO) 进一步得到证明。

表 1 化合物 V 与 geraniin ¹³C-NMR 数据比较

		geraniin(a)		geraniin(b)		V (A)	V (B)
Glucose	C-1	90.79	91.79	91.44	91.44		
	2	69.92	70.48	70.23	70.82		
	3	63.29	62.38	63.60	62.61		
	4	65.96	66.87	66.13	67.07		
	5	72.62	73.30	72.80	73.37		
	6	63.73	63.60	63.93	63.60		
Galloyl (A 环)	C-1	120.30	120.30	119.97	119.97		
	2,6	110.99	110.78	110.99	110.99		
	3,5	145.87	145.87	146.20	146.20		
	4	139.67	139.67	140.47	140.39		
	7	164.65	164.77	165.23	165.23		
HHDP (B 环)	C-1	117.21	116.86	117.59	116.89		
	2	124.76	124.61	124.40	124.25		
	3	110.61	110.17	110.82	110.53		
	4	144.57	144.18	144.99	144.90		
	5	137.73	137.73	138.12	138.04		
	6	145.07	145.00	145.38	145.18		
	7	166.09	166.09	166.75	166.01		
(C 环)	C-1	115.16	115.01	115.90	115.46		
	2	125.73	125.52	125.58	125.52		
	3	108.03	108.17	107.85	107.96		
	4	145.40	145.40	145.69	145.66		
	5	136.67	136.46	136.60	136.60		
	6	144.96	145.16	145.18	145.43		
	7	168.29	168.15	169.20	169.16		
2,4-Acyl (D 环)	C-1	115.16	120.12	115.56	119.97		
	2	119.59	117.07	119.02	117.43		
	3	113.46	113.46	113.90	113.76		
	4	145.72	147.60	145.95	147.89		
	5	138.82	137.27	139.49	137.80		
	6	143.40	147.16	143.41	147.24		
	7	165.36	165.18	165.82	165.82		
(E 环)	C-1	46.21	52.02	46.05	52.06		
	2	154.55	149.21	154.39	149.15		
	3	128.63	124.99	129.08	125.48		
	4	191.69	194.99	192.44	195.31		
	5	96.22	92.35	96.42	92.41		
	6	92.47	108.90	92.70	109.07		
	7	165.53	165.68	165.93	165.93		

(125MHz Acetone- d_6 - D_2O)

化合物 VI 质谱除 m/z 633($M-1$) 峰外，还得到 463(M -没食子酸)和 301(M -没食子酸-葡萄糖)碎片峰。完全酸水解得到没食

子酸,鞣花酸和葡萄糖。以上数据经与文献^[3,6]对照化合物Ⅵ被确定为 corilagin, 结构式见图 1。

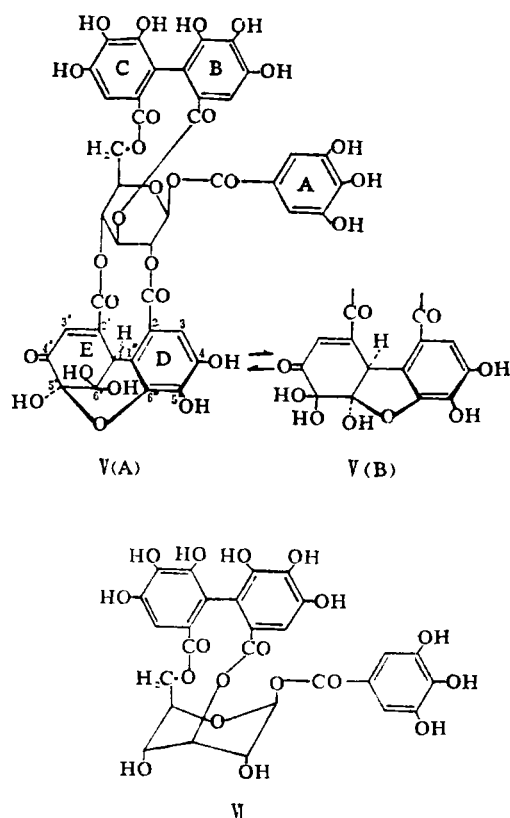


图 1 化合物Ⅴ、Ⅵ的结构式

化合物Ⅶ:黄色针晶,与三氯化铁试剂显蓝色,与溴酚蓝试剂显黄色。易溶于稀甲醇,溶液显酸性。紫外光谱(MeOH)在 278、350、364 nm 有吸收,与短叶苏木酚一致^[7]。核磁共振氢谱示环戊烯酮上 4 位有 1 H 被取代 (δ 2.58, 1 H, d, C_3-H_1 ; 2.87, 1 H, dd, C_3-H_2 ; 4.37, 1 H, d, C_4-H)。化合物Ⅶ负离子 FAB-MS 除 m/z 291($M-1$)峰外,还得到 247($M-COOH$)⁻碎片峰,因此确定化合物Ⅶ为短叶苏木酚酸。

1 仪器与试剂

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 220 A 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 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。柱层析用硅胶为青岛海洋化工厂生产。Sephadex LH-20 为 Pharmacia 公司产品(上海化学试剂厂进口分装)。柱层析用 Polyamide 6D 为德国 Riedel-dehaen 公司生产。薄层层析用聚酰胺薄膜为浙江黄岩四青生化材料厂生产。溶剂系统①丙酮-甲醇-甲酸-水(3:6:5:5),②甲醇。

2 提取和分离

蜜柑草全草 150 g 粉碎,用丙酮-水(1:1)室温浸提 2 次,提取液减压浓缩除去丙酮后,用乙酸乙酯萃取多次,乙酸乙酯液减压浓缩得淡黄色针晶,用甲醇重结晶得化合物Ⅷ 60 mg。母液用正丁醇萃取多次,正丁醇提取物经硅胶柱层析得化合物Ⅴ粗品,再经 Sephadex LH-20 柱层析精制得化合物Ⅴ结晶 150 mg。

蜜柑草全草 1 kg,切碎,加水煎提 2 次,水提液经大孔吸附树脂处理得总甙。总甙行硅胶短柱层析粗分,再经 Sephadex LH-20 柱层析得化合物Ⅹ 50 mg,Ⅺ 200 mg,Ⅵ 5.07 g。分离化合物Ⅵ后的母液浓缩后放置析出黄色针晶,用甲醇-水重结晶得化合物Ⅶ 170 mg。

3 鉴定

化合物Ⅴ:黄色结晶,mp260℃(dec, MeOH-H₂O)。易溶于 MeOH, Me₂CO,微溶于 H₂O。与三氯化铁试剂显蓝色, α -萘酚反应阳性。元素分析实验值 C, 46.56%; H, 3.58%。计算值 $C_{41}H_{28}O_{27} \cdot 6H_2O$, C, 46.42%; H, 3.77%。UV (MeOH) nm ($\log \epsilon$): 224 (4.79), 278 (4.50)。IR (KBr) cm^{-1} : 3410 (OH), 1716, 1702 (C=O), 1612, 1505, 1335, 1205。负离子 FAB-MS m/z 951($M-1$)。¹H-NMR (Me₂CO- d_6) δ : 4.25 (1 H, dd, $J=8.2$ 、10.5 Hz, glc- C_5-H), 4.77 (1 H, m, glc- C_5-

H), 4.90(1 H, t, $J=11.0$ Hz, glc-C₆-H), 5.11(1 H, s, C₁'-H), 5.47, 5.48, 5.51(各 1 H, brs, glc-C_{4,3,2}-H), 6.47(1 H, s, C₃'-H), 6.60(1 H, brs, glc-C₁-H), 6.61, 7.14(各 1 H, s, HHDP-H), 7.16(2 H, s, galloy-H), 7.21(1 H, s, C₃'-H)。

化合物 V 水解: 取化合物 V 5 mg, 加 10%CF₃COOH 1 mL, 沸水浴水解 2 h, 有黄色针晶析出, 滤出针晶, 并用 EtOAc 萃取水解液多次。TLC 检查针晶为鞣花酸, 萃取液显示与化合物 VII 和 X Rf 值相同斑点。母液部分减压抽干, TLC 检出糖的斑点与葡萄糖的 Rf 值一致。

化合物 VI: 无色针晶, mp 206℃ (dec, MeOH-H₂O)。易溶于 MeOH、EtOH、Me₂CO, 微溶于水。与三氯化铁试剂显蓝色。 α -萘酚反应阳性。元素分析实验值 C, 49.48%; H, 3.90%; 计算值 C₂₇H₂₂O₁₈·H₂O, C, 49.69%, H, 3.68%。UV (MeOH) nm (log ϵ): 220(4.46), 270(4.36)。IR (KBr) cm⁻¹: 3410 (OH), 1730, 1714, 1691 (C=O), 1613, 1530 (芳环), 1358, 1242, 1202, 1161, 1032。负离子 FAB-MS m/z 633(M-1), 463(M-170)⁻, 301(M-170-162)⁻。¹H-NMR (Me₂CO-d₆) δ : 4.05, 4.09(各 1 H, m, glc-C_{2,6}-H), 4.45, 4.51(各 1 H, m, glc-C_{4,5}-H), 4.82, 4.95(各 1 H, m, glc-C_{3,6}-H), 6.36(1 H, d, $J=2.0$ Hz, glc-C₁-H), 6.68, 6.82(各 1 H, s, HHDP-H), 7.11(2 H, s, galloyl-H)。¹³C-NMR (Me₂CO-d₆) δ : 165.20(galloyl CO), 168.69, 167.25(HHDP CO), 139.33, 137.36, 136.63(aroyl ester A、B、C 环 C₄), 94.34(glc-C₁), 75.72(C₅), 70.49(C₃), 68.93(C₂), 64.41(C₄), 62.10(C₆)。

化合物 VII 10 mg, 加 CF₃COOH 1 mL, 沸水浴回流 2 h 完全水解, 滤出针晶, TLC 检查为鞣花酸。水解液再用 EtOAc 萃取, 得另一甙元没食子酸。母液减压抽干, TLC 检出与葡萄糖 Rf 值一致斑点。

化合物 VIII: 黄色针晶, mp 290℃ (dec,

MeOH-H₂O)。溶于热的稀丙酮、稀甲醇。紫外灯下显亮黄色荧光, 与三氯化铁试剂显蓝色。UV (MeOH) nm (log ϵ): 278(4.40), 350(4.12), 364(sh)。IR (KBr) cm⁻¹: 3375, 3225 (OH), 1702, 1678 (C=O), 1595, 1518, 1491 (芳环), 1390, 1357, 1314, 1095。负离子 FAB-MS m/z 291(M-1), 247(M-45)。¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 2.58(1 H, d, $J=18.1$ Hz, 环戊烯酮环-CH₂-CH-), 2.87(1 H, dd, $J=7.4, 18.1$ Hz, 同上), 4.37(1 H, d, $J=7.4$ Hz, 环戊烯酮环-CH₂-CH-), 7.26(1 H, s, 芳环-H)。以上数据与文献^[8]中短叶苏木酚酸数据一致。

化合物 VIII: 淡黄色针晶, mp > 360℃。与三氯化铁试剂显灰蓝色。UV (MeOH) nm (log ϵ): 255(4.38), 366(3.97)。IR (KBr) cm⁻¹: 3360, 3110 (OH), 1716, 1691(六元共轭内酯环), 1616, 1581, 1505, 1443。¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 10.80(2 H, brs, OH), 10.60(2 H, brs, OH), 7.47(2 H, s, 芳环-H)。负离子 FAB-MS m/z 301(M-1)。以上数据与鞣花酸一致。^[9]。

化合物 IX: 无色针晶, mp 240 (dec, MeOH-H₂O)。易溶于 MeOH, EtOH, 溶于 H₂O, 水溶液呈酸性。与三氯化铁试剂显蓝色。IR (KBr) cm⁻¹: 3370 (OH), 1696 (C=O), 1614, 1530 (芳环), 1446, 866。其 mp、TLC、Rf 值和红外光谱均与没食子酸标准品一致。

化合物 X: 无色棒状结晶, mp 202℃ ~ 203℃ (H₂O), 易溶于 MeOH, EtOH, 溶于 H₂O, 水溶液呈弱酸性, 与三氯化铁试剂显灰黑色。IR (KBr) cm⁻¹: 3260 (OH), 1669 (C=O), 1600, 1523 (芳环), 1442, 765。其 mp、TLC、Rf 值和红外光谱均与原儿茶酸标准品一致。

致谢: 安徽中医学院植物资源开发研究所王德群教授鉴定植物样品。中国科学院化学所仪器室代测质谱。军事医学科学院仪器测试中心代测核磁共振谱。中国医学科学院药物研究所代做抗肿瘤活性试验。

- 1 陈玉武,等.中草药,1997,28(1):5
- 2 Takashi Yoshida,et al. Chem Pharm Bull,1987,35(2): 814
- 3 Haddock E A,et al. J Chem Soc Perkin Trans I,1982, 2535
- 4 Takuo Okuda,et al. J Chem Soc Perkin Trans I,1982, 9
- 5 Takashi Yoshida,et al. Chem Pharm Bull,1992,40(1): 53
- 6 Takashi Yoshida,et al. Phytochemistry,1985,24(9): 2075
- 7 郭佳生,等.药学报,1987,22(1):25
- 8 Reiko Saijo,et al. Chem Pharm Bull,1989,37(10):2624
- 9 Nawwar MAM,et al. Phytochemistry,1984,23(12): 2966

(1995-11-17 收稿)

Studies on the Anti-cancer Active Constituents of Matsumura Leafflower

(*Phyllanthus matsumarae*) I. Isolation and Identification of Polyphenolic Compounds

Chen Yuwu and Ren Lijuan

Six polyphenolic compounds were isolated from *Phyllanthus matsumarae* Hayata. On the basis of physico-chemical properties and spectroscopic analysis, their structures were indentified as geraniin (V), corilagin (VI), brevifolincarboxylic acid (VII), ellagic acid (VIII), gallic acid (IX) and protocatechuic acid (X). All of them were isolated form this plant for the first time. Corilagin showed anti-cancer activity in *vitro* and *vivo*.

GC-MS 和 GC-FTIR 联用分析砂仁挥发油的成分

清华大学分析中心(北京 100084) 刘密新* 汪 伟

摘 要 本文依靠 GC-MS 和 GC-FTIR 联用分析砂仁挥发油的化学组成,取得了满意的结果。2 种方法得到的色谱图无论从出峰顺序以及强度都非常一致。共分离出 38 种物质,确定了 34 种化合物,占挥发油峰面积的 99% 以上,其中氧化芳樟醇等 13 种物质均为首次报道^[1,2]。对于某些类型化合物红外光谱定性比质谱较更为可靠,因此利用 GC-FTIR 辅助 GC-MS,可提高分析挥发油的准确性。

关键词 砂仁 挥发油 GC-MS GC-FTIR

砂仁为姜科植物阳春砂 *Amomum villosum* Lour., 海南砂 *A. longigulare* T. L. Wu. 或绿壳砂 *A. lour var. xanthioides* T. L. Wu. et Senjen 的干燥成熟果实^[3]。阳春砂主产于广东、广西等地。砂仁是一种芳香化湿药,行气调中、和胃、醒脾,主治腹痛痞胀、胃呆食滞、噎膈呕吐、寒泻冷痢^[4]。关于砂仁挥发油成分的研究国内有过报道。由于挥发油成分复杂,单独靠 GC-MS 分析有一定困难,本文采用 GC-MS 和 GC-FTIR 联用的方法,通过仔细调节色谱和红外的条件,提高了 GC-FTIR 分析的灵敏度,分离效果好,并弥补了

GC-MS 定性中的不足,鉴定了 34 种化合物,其中氧化芳樟醇等 13 种物质均为首次报道。

1 样品处理

将砂仁研磨后水蒸汽蒸馏,己烷萃取,无水 Na_2SO_4 干燥,旋转蒸发除去溶剂,慢慢用氮气进一步吹扫,得到淡黄色挥发油,有浓郁的香气,并且有大量结晶析出。

2 实验仪器及条件

HP-5890 型气相色谱仪和 HP-5971 质量选择器联用。色谱条件:HP-5 柱,柱长 30 m,内径 0.25 mm,载气 He,分流比 50:1,柱前压 $41.37 \times 10^4 \text{Pa}$,进样口温度 250°C ,接口

* Address: Lui Mixin, Analysis Centre, Qinghua University, Beijing