

中药蛇床子水提物活性成分的研究[△]

江苏省药物研究所(南京 210009)

向仁德* 张新勇 韩 英 夏 超

兰州军区乌鲁木齐总医院临床医学研究所

殷学军 刘德祥 黄国香 王河川

摘 要 从中药蛇床 *Cnidium monnieri* (L.) Cusson. 果实的水提物中分得 9 个化合物,经化学和光谱方法鉴定为蛇床子素 (osthol, I)、佛手柑内酯 (bergapten, II)、异虎耳草素 (isopimpinellin, III)、欧芹属素乙 (imperatorin, IV)、5-甲基尿嘧啶 (thymine, V)、6-氧嘌呤 (hypoxanthine, VI)、尿嘧啶 (uracil, VII)、L-(+)-缬氨酸 (L-(+)-valine, VIII) 与苯丙氨酸 (D-phenylalanine, IX)。其中 V, VI, VII, VIII 与 IX 均首次从该植物中获得。I, II, III 与 IV 显示很强的抗诱变作用。

关键词 蛇床子 水提物 活性成分 抗诱变

蛇床子系伞形科蛇床属植物蛇床 *Cnidium monnieri* (L.) Cusson. 的果实,是我国的传统常用中药。近几年来,我们在同协作单位合作开展蛇床子水提物抗化学致癌剂的实验研究中,发现有多种成分具有极强的抗黄曲霉素 B₁ 诱发的移码突变效应和很强的抗环磷酰胺诱发的小鼠染色体损伤和染红细胞微核效应。其中一成分可使环磷酰胺诱发的染色畸变率和多染红细胞微核的频率下降至接近阴性对照组[□]。这一研究成果对研制配合癌症化疗、放疗以及抗衰老药物的研究和开发方面,展现了广阔的前景。

有关蛇床子化学成分的研究已有较多的报道,但其水溶性成分的系统研究至今还无人问津。为此,我们对蛇床子水提物的化学成分进行了比较深入的研究,共分得 12 个化合物,除 3 个因得量微而无法鉴定外,其它 9 个均通过化学和光谱法确定了结构。其中 V, VI, VII, VIII 与 IX 等 5 个化合物均首次从该植物中获得。

1 仪器与材料

熔点用 YANACO 微量熔点测定仪测定,温度计未经校正;UV 用岛津 UV-200 型测定;IR 用 FTS-100 型测定;MS 用 JMS-

D 300 型测定;¹HNMR 用 BRUKER ACF-300 型测定。柱层析和薄层层析用硅胶均为青岛海洋化工厂产品。紫外灯下观察荧光。原料药材购自江苏高淳县,并经专家鉴定。

2 提取和分离

将蛇床子果实粉碎后加水提取 3 次,水提取液减压浓缩至小体积后加醇沉淀,弃去沉淀,溶液经适当浓缩后上大孔树脂柱分离,用水和不同比例的水-醇混合溶媒洗脱,各流分合并后再减压浓缩至小体积后用正丁醇萃取。正丁醇萃取液经减压浓缩后再进行硅胶柱和低压硅胶柱层析分离,并用不同比例的石油醚-醋酸乙酯溶媒系统洗脱,先后得蛇床子素 (osthol),佛手柑内酯 (bergapten),异虎耳草素 (isopimpinellin)、欧芹属素乙 (imperatorin),5-甲基尿嘧啶、(thymine),6-氧嘌呤 (hypoxanthine),尿嘧啶 (uracil),L-(+)-缬氨酸 (L-(+)-valine) 与苯丙氨酸 (D-phenylalanine)。

3 鉴定

I: 无色柱晶(乙醇),mp 83 C~84 C, Rf0.639 (蓝紫色荧光),UVλ_{max}^{EtOH} nm:322, 258。IRν_{max}^{KBr} cm⁻¹:2 960,2 900 (CH₃,CH₂), 1 715 (α,β 不饱和 δ-内酯),1 600,1 495 (苯

* Address: Xiang Rende, Jiangsu Institute of Materia Medica, Nanjing

△本课题为国家自然科学基金(29372053)资助项目

环), 1.385 (偕甲基)。¹HNMR (CDCl₃) δ: 1.65 (3 H, s, C₅'-CH₃), 1.85 (3 H, s, C₄'-CH₃), 3.51 (2 H, d, C₁'-CH₂), 3.90 (3 H, s, C₇-OCH₃), 5.21 (H, m, C₂'-H), 6.20 (H, d, J=10 Hz, C₃-H), 6.82 (H, d, J=8.5 Hz, C₆-H), 7.38 (H, d, J=8.5 Hz, C₅-H), 7.60 (H, d, J=10 Hz, C₄-H)。MS m/z: 244 (M⁺), 229, 201, 132。根据理化数据和光谱分析与文献^[2]比较, 并与标准品一起测混合熔点不下降, 故确定化合物 I 为 osthol。

II: 米黄色针晶(丙酮), mp 189 C ~ 191 C, Rf 0.538 (草绿色荧光)。UV λ_{max}^{EtOH} nm: 243 (肩峰), 259, 268, 312。IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3 100 ~ 3 050 (CH), 1 720 (α, β 不饱和内酯), 1 600, 1 480 (苯环)。¹HNMR (CDCl₃) δ: 4.34 (3 H, s, C₅-OCH₃), 6.20 (1H, d, J=10 Hz, C₃-H), 7.16 (1H, s, C₈-H), 7.33 (1H, d, J=8.5 Hz, C₄'-H), 7.53 (1H, d, J=8.5 Hz, C₅'-H), 8.30 (1H, d, J=10 Hz, C₄-H)。MS m/z: 216 (M⁺), 201, 188, 173, 145。根据理化数据和光谱分析与文献^[3]比较, 并与标准品测混合熔点不下降, 故确定化合物 II 为 bergapten。

III: 淡黄色针晶(丙酮), mp 150 C ~ 152 C, Rf 0.456 (棕黄色荧光)。UV λ_{max}^{EtOH} nm: 241, 248, 270, 313。IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3 125 ~ 3 050 (CH), 1 720 (>C=O), 1 582, 1 470 (苯环)。¹HNMR (CDCl₃) δ: 4.14 (6 H, s, C_{5,8}-OCH₃), 6.21 (1H, d, J=10 Hz, C₃-H), 6.93 (1H, d, J=2 Hz, C₄'-H), 7.56 (1H, d, J=2 Hz, C₅'-H), 8.03 (1H, d, J=10 Hz, C₄-H)。MS m/z: 246 (M⁺), 231, 203, 175, 160。以上光谱数据与文献^[4]比较, 并与标准品一起测混合熔点不下降, 故确定化合物 III 为 isopimpinellin。

IV: 无色针晶(丙酮), mp 100 C ~ 102 C, Rf 0.50 (黄色荧光)。UV λ_{max}^{EtOH} nm: 244 (肩峰), 249, 264, 300。IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3 120, 3 100, 3 050, 1 720, 1 580, 1 300。¹HNMR

(CDCl₃) δ: 1.71 (6 H, s, =C<CH₃), 4.98 (2H, d, J=7, -OCH₂), 5.56 (1H, t, -CH=), 6.29 (1H, d, J=10 Hz, C₃-H), 6.78 (1H, d, J=2 Hz, C₄'-H), 7.29 (1H, s, C₅-H), 7.67 (1H, d, J=2 Hz, C₅'-H), 7.73 (1H, d, J=10 Hz, C₄-H)。MS m/z: 270 (M⁺), 202, 174, 146, 116, 69, 41。以上光谱数据与文献^[4]比较, 并与标准品测混合熔点不下降, 故确定化合物 IV 为 imperatorin。

V: 淡黄色针晶(沸水), mp > 300 C, UV λ_{max}^{H₂O} nm: 209, 263。IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3 172, 3 089, 3 043, 2 978, 1 726, 1 676, 1 449, 1 211, 813。¹HNMR (DMSO-D₆) δ: 1.72 (3 H, s, -CH₃), 7.21 (1H, s, -CH), 10.62 (1H, s, -NH), 11.04 (1H, s, -NH)。¹³CNMR (DMSO-D₆) δ: 151.6 (C₂), 165.1 (C₄), 107.1 (C₅), 137.9 (C₆), 11.9 (C₇)。m/z: 112 (M⁺), 69, 55, 42。以上光谱数据与 Sadtler^[4]标准光谱一致, 故确定化合物 V 为 thymine。

VI: 淡黄色针晶(沸水), mp 150 C (分解), UV λ_{max}^{H₂O} nm: 203, 248。IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3 134, 1 688, 1 678, 1 581, 1 346, 1 213, 790。¹HNMR (DMSO-D₆) δ: 7.96 (1H, s, C₆-H), 8.10 (1H, s, C₂-H), 12.36 (1H, s, 7-NH), 13.23 (H, s, 1-NH)。MS m/z: 134 (M⁺), 109, 81, 54。以上测试光谱数据与 Sadtler 标准光谱一致, 故确定化合物 VI 为 hypoxanthine。

VII: 浅黄色针晶(热水), mp > 300 C, UV λ_{max}^{H₂O} nm: 206.8, 258.3。IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3212 ~ 3100, 1 713, 1 650, 1 510, 1 420, 1 240, 827, 760。¹HNMR (DMSO-D₆) δ: 5.44 (1H, d, J=7.5 Hz, C₅-H), 7.39 (1H, d, J=7.5 Hz, C₆-H), 10.80, 10.99 (各 1H, s, -NH)。¹³CNMR (DMSO-D₆) δ: 100.3 (C₅), 142.2 (C₆), 151.6 (C₂), 164.4 (C₄)。MS m/z: 112 (M⁺), 69, 42。以上光谱数据与文献^[7]比较, 确定化合物 VII 为 uracil。

VIII: 无色鳞片状结晶(热水), mp > 300

C, 茛三酮反应呈阳性。UV $\lambda_{\max}^{\text{H}_2\text{O}}$ nm: 207.2, 271.5, 298.9。IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 2 960, 2 875, 2 180, 1 606, 1 584, 1 360, 1 351, 843。 $^1\text{H-NMR}$ (D_2O) δ : 0.99 (3 H, m, $-\text{CH}_3$), 1.05 (3 H, m, $-\text{CH}_3$), 2.22 (1 H, m, $\text{C}_3\text{-H}$), 3.55 (1 H, d, $\text{C}_2\text{-H}$)。以上光谱数据与 Sadtler^[8] 标准光谱一致, 并与标准品测混合熔点不下降, 故确定化合物 VII 为 *L*-(+)-valine。

K: 无色片状结晶 (热水), mp > 298 °C (分解), 茛三酮反应呈阳性。UV $\lambda_{\max}^{\text{H}_2\text{O}}$ nm: 242, 258, 267。IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3 040, 2 100, 1 590, 1 490, 1 400, 1 330, 1 070, 840。以上光谱数据与光谱集^[9] 所载数据一致, 并与标准品对照纸层析亦相同, 故确定化合物 IX 为

D-phenylalanine。

参考文献

- 1 殷学军, 等. 癌变·畸变·突变, 1998, 10(3): 133
- 2 陈尚齐, 等. 药学报, 1982, 17(5): 391
- 3 杨秀伟, 等. 中草药, 1993, 24(10): 507
- 4 Lee K H, et al. J Pharm Sci, 1969, 58(6): 681
- 5 Sadtler standard spectra. UV spectra, 1972: 18385
Sadtler standard spectra. IR spectra, 1971: 8683
Sadtler standard spectra. $^1\text{H-NMR}$ Spectra, 1970: 9394
- 6 Sadtler standard spectra. UV spectra, 1971: 17763
Sadtler standard spectra. IR spectra, 1971: 21138
Sadtler standard spectra. $^1\text{H-NMR}$ Spectra, 1977: 27560
- 7 卢颖等. 中国中药杂志, 1972, 17(8): 488
- 8 Sadtler standard spectre. IR spectra, 1970: 453
Sadtler standard spectre. $^1\text{H-NMR}$ Spectra, 1971: 10363
- 9 Atlas of Spectral Data and Physical Coostants for Organic Compounds

(1999-01-11 收稿)

异黄酮类薄层简易显色鉴别方法

上海中医药大学中药研究所(200032) 宋纯清 胡之璧

黄酮体化合物是具有 $\text{C}_6\text{-C}_3\text{-C}_6$ 骨架的一大类化合物, 是许多中草药的主要有效成分, 到目前已有 2 000 多天然化合物^[1,2], 其生理活性与应用范围也愈来愈广泛, 而异黄酮类是其中一大类化合物, 主要包括异黄酮 (isoflavones), 异黄烷 (isoflavans), 紫檀烷 (pterocarpans) 3 类。主要分布在豆科 (占 70%), 其次分布于鸢尾科和桑科等植物中^[3]。其中生理活性也相当广泛, 如芒柄花素 (formononetin) 的降血脂、抗氧自由基作用^[4,5]; 染料木素 (genistein)、大豆素 (daidzein)、prunetin 的雌性激素作用^[6]; 异黄烷、紫檀烷类的抗菌、植物毒素、霉菌毒素作用等^[7-10]。在中草药有效成分研究中如何运用快而简便的方法来识别有效成分类别, 进而拟定分离方法或定向寻找某类成分越来越受到普遍重视。我们在豆科相思子、黄芪等有效成分研究中发现上述 3 类异黄酮成分^[10-13] 结合紫外和应用香兰素硫酸薄层显色法加以区别, 并在实践中追踪薄层显色相同的斑点分得相同骨架的异黄酮类成分。并经 35 个化合物进一步得到验证。这为定向寻找和鉴别异黄酮化合物提供了一个简便快捷的方法。

1 材料和方法

硫酸 (AR), 香兰素, 硅胶 F_{254} 预制板 (青岛), 电热板或电吹风, 待分离样品, 层析缸。

样品: 化合物 8~18, 22~34 我们从黄芪中分得^[10-12], 其余为 Extrasynthese 公司标准品, 样品点于薄层板后, 用适当展开剂展层 (如氯仿-甲醇 = 50 : 1.20 : 1, 10 : 1, 5 : 1), 展开后的板先在紫外分析灯下观察, 并斑点记号, 然后用 0.5% 香兰素硫酸喷雾后用电热板或电吹风加热显色, 异黄烷类 (isoflavans) 显红色, 紫檀素类 (pterocarpans) 显黄色, 且显色较持久; 黄酮、异黄酮、双氢黄酮类在紫外灯下可见斑点。

几种黄酮类化合物的化学结构见图 1。35 个黄酮化合物薄板显色特征见表 1。

2 结论

运用硅胶 F_{254} 预制薄板, 香兰素硫酸显色方法, 简单而快捷的区别 3 个主要类别的异黄酮类成分。这对于定向寻找有效成分、对于化学分类学、对于植物化学和中草药有效成分研究提供了一个简便有用的方法。在具体鉴定化合物结构时还需结合其它光谱学和化学转化等方法^[14,15]。