

阳性, 经查阅 Sadtler 光谱, 该化合物 IR、ESI-MS、 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据与熊果酸的数据均一致。

化合物 : 白色无定形粉末(甲醇), mp 301 ~ 302 ; Liebermann-Burchard 反应阳性, Molish 试验显紫红色; 其 IR、ESI-MS、 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据与文献报道^[5] 的 β -胡萝卜素数据一致。

化合物 : 白色鳞片状结晶(石油醚), mp 59 ~ 61 , 热溶于石油醚、环己烷; EI-MS m/z : 408、351、309、267、211、169、113、57(100)、43。呈现一系列相差 CH_2 的碎片峰, 显示典型饱和和长链脂肪烃的特征; 其 IR 数据、TLC 的 R_f 值均与二十九烷对照品一致, 混合熔点不下降。

化合物 : 白色针晶(石油醚), mp 140 ~ 141 ; Liebermann-Burchard 反应阳性, Molish 试验呈

阴性; 其 IR 数据、TLC 的 R_f 值均与 β -谷甾醇对照品一致, 混合熔点不下降。

References:

- [1] Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae, Agendae Academiae Sinicae Edits. *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志) [M]. Tomus 69. Beijing: Science Press, 1997.
- [2] Kimura K, Okuda T, Takano T. Studies on the constituents of *Catalpa ovata* G. Don I. Active principles of fruits [J]. *Zakagaku Zasshi*, 1962, 83(6): 635-638.
- [3] El-Naggar Beal. Iridoids, a review [J]. *J Nat Prod*, 1980, 43(6): 658-663.
- [4] Shaaban F El-Nagar, Raymond W D. Specioside: A new iridoid glycoside from *Catalpa speciosa* [J]. *J Nat Prod*, 1980, 43(4): 524-526.
- [5] Information Center of Chinese Herbal Medicine, State Pharmaceutical Administration of China. *Handbook of Active Components in Phytomedicine* (植物药有效成分手册) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1986.

短柱金丝桃中的黄酮及螺内酯成分

罗 蕾¹, 李祖强^{2*}, 马国义^{3*}

(1. 云南师范大学化学化工学院, 云南 昆明 650091; 2. 云南大学 实验中心, 云南 昆明 650091; 3. 悉尼大学 药理学系, 澳大利亚 悉尼)

摘要: 目的 研究金丝桃属植物短柱金丝桃 *Hypericum hookerianum* 的化学成分, 并通过药理实验寻找活性成分。方法 在细胞毒筛选结果指导下, 同步对短柱金丝桃的活性部位进行化学成分分离纯化。经多次柱色谱、重结晶, 得到纯化化合物; 并通过理化数据测定及波谱分析, 鉴定化合物结构。结果 从短柱金丝桃的有效部位中分离鉴定出 7 种化合物, 分别是: 槲皮素(quercetin,)、木犀草素(luteolin,)、芹菜素(apigenin,)、金丝桃苷(hyperin,)、黄芪苷(astragalin,)、螺内酯类化合物: 金丝桃内酯 A (hyperolactone A,) 和金丝桃内酯 C (hyperolactone C,)。结论 上述化合物均为首次从该植物中分离得到, 化合物 和 为首次从该属植物中分离得到; 通过细胞毒试验发现, 短柱金丝桃的氯仿及醋酸乙酯提取物、槲皮素及木犀草素具有细胞毒性。

关键词: 短柱金丝桃; 细胞毒性; 黄酮; 螺内酯

中图分类号: R284. 1 文献标识码: A 文章编号: 0253 - 2670(2005) 01 - 0017 - 04

Flavonoids and spiro-lactones from *Hypericum hookerianum*

LUO Lei¹, LI Zu-qiang², MA Guo-yi³

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Yunnan Normal University, Kunming 650091, China; 2. Experimental Center of Yunnan University, Kunming 650091, China; 3. Faculty of Pharmacy, University of Sydney, NSW, Australia)

Abstract: Objective To study the chemical constituents in plants of *Hypericum hookerianum* and their activities by pharmacological experiment. **Methods** Cytotoxicity screening of the extracts from *H. hookerianum* were carried to isolate and purify the chemical constituents. The chemical structures were identified by physicochemical properties and spectral data analysis. **Results** Seven compounds were isolated and established as quercetin (), luteolin (), apigenin (), hyperin (), astragalin (), hyperolactone A (), and hyperolactone C (). **Conclusion** All the compounds are isolated from *H.*

* 收稿日期: 2004-03-16

基金项目: 云南省应用科学基金(1999B004M); 云南省国际合作项目(GH2001121)

作者简介: 罗 蕾(1961-), 女, 副教授, 主要从事抗癌活性天然产物研究。

* 通讯作者 Tel: (0871) 5033216 E-mail: Zuqiang Li@yun.edu.cn

hookerianum for the first time. Compounds and are isolated from the plants of *Hypericum* Linn. for the first time. In addition, the fractions by chlorform and ethylacetate extracting, quercetin, and luteolin possess the cytotoxicity.

Key words: *Hypericum hookerianum* Wight et Arn.; cytotoxicity; flavonoid; spiro-lactone

短柱金丝桃 *Hypericum hookerianum* Wight et Arn. 为藤黄科金丝桃亚科金丝桃属植物^[1], 民间用于治疗各种炎症及无名肿痛。关于短柱金丝桃植物的化学成分, 至今未见报道。本项目的化学成分研究是在细胞毒活性筛选指导下, 同步进行的。用 L₁₂₁₀ 细胞系对短柱金丝桃全株的 95% 乙醇提取物及溶剂分割的组份进行细胞毒性试验, 结果表明, 氯仿和醋酸乙酯分割的组份有一定的细胞毒性。对氯仿和醋酸乙酯组份分离提纯, 得 12 个单体。通过理化数据测定及波谱分析(IR、UV、MS 及 NMR), 鉴定出其中的 7 种化合物, 分别是: 槲皮素(quercetin,)、木犀草素(luteolin,)、芹菜素(apigenin,)、金丝桃苷(hyperin,)、黄芪苷(astragalinal,)、hyperolactone A () 和 hyperolactone C ()。用 L₁₂₁₀ 细胞系对化合物进行细胞毒性试验, 槲皮素和木犀草素具有细胞毒性。

1 仪器和材料

熔点用北京产 X-6 型显微熔点测定仪测定, 温度未校正。IR 用美国 BIO-RAD 公司-40 型测定, KBr 压片。¹H-NMR、¹³C-NMR 及 DEPT 用 Bruker 公司 AVANCE DRX 500 型测定, TMS 为内标。MS 用英国 VG 公司 Outspect-3000 型测定。UV 用日本日立 V-3400 型紫外分光光度仪测定。柱色谱用 200~300 目硅胶(青岛海洋化工厂生产)及 60H 硅胶(德国 Merck 公司生产), TLC 用德国 Merck 公司硅胶 60 F254。

短柱金丝桃采自滇东北地区, 由昆明植物研究所徐廷志教授鉴定, 拉丁学名为 *H. hookerianum* Wight et Arn.。该品种为首次在滇东北发现。

2 提取和分离

干燥的短柱金丝桃全株粉碎样 5 kg, 95% 乙醇浸泡 30 d, 提取浸膏(H₀, 260 g)。用等重硅藻土加 95% 乙醇混合均匀, 于水浴上炒干, 称质量, 样品质量 220 g, 用石油醚、氯仿及醋酸乙酯-甲醇(10、8/2、1/1、0/1)在索氏提取器中分步萃取, 得组份 H₁、H₂、H₃、H₄、H₅ 及 H₆。

合并活性组份 H₂ 和 H₃(80 g), 用 200~300 目硅胶多次柱色谱, 以石油醚-醋酸乙酯-甲醇作洗脱剂。后用 60H 硅胶真空抽提层析及重结晶, 纯化得

12 个单体(以 TLC 检测)。

3 细胞毒活性筛选

对分离过程中产生的粗提物组份及单体进行体外试验(在悉尼大学癌症医学系药理实验室实施)。

分别称取 10 mg 的各种样品, 选择 L₁₂₁₀ 癌细胞系, 用染料排斥试验法测定细胞毒活性。部分结果列入表 1。

表 1 样品对培养的 L₁₂₁₀ 癌细胞系生长抑制率

Table 1 Growth inhibitory rate of samples in cultured L ₁₂₁₀ cell				
样品	不同浓度(μg · mL ⁻¹) 下的抑制率/ %			IC ₅₀ / (μg · mL ⁻¹)
	1	10	100	
H ₀	10	70	95	8.0
H ₁	5	30	70	
H ₂	20	80	100	5.5
H ₃	15	75	95	6.0
H ₄	10	30	70	
H ₅	8	20	40	
H ₆	3	10	35	
	20	75	90	6.0
	22	78	92	5.8
	15	60	70	9.2

4 结构鉴定

化合物 : 黄色针晶(丙酮), mp 310~315 (分解)。IR、UV、EI-MS、¹H-NMR、¹³C-NMR、DEPT 数据与文献报道^[2]的槲皮素对照基本一致, 故将化合物 确定为槲皮素。

化合物 : 黄色针晶(乙醇), mp 327~330 (分解)。UV、EI-MS、¹H-NMR 及 ¹³C-NMR、DEPT 数据与文献报道^[3]的木犀草素对照基本一致, 故将化合物 确定为木犀草素。

化合物 : 黄色粉末(乙醇), mp 342~345 。IR、UV、EI-MS、¹H-NMR 及 ¹³C-NMR、DEPT 数据与文献报道^[4]的芹菜素对照基本一致, 故将化合物 确定为芹菜素。

化合物 : 淡黄色结晶(甲醇), mp 228~230 (分解)。IR、UV、¹H-NMR 及 ¹³C-NMR、DEPT 数据与文献报道^[5]的金丝桃苷对照基本一致, 故将化合物 确定为金丝桃苷。

化合物 : 淡黄色针晶(甲醇), mp 165~167 。IR、UV、FAB-MS、¹H-NMR 及 ¹³C-NMR、DEPT 数据与文献报道^[6]的黄芪苷对照基本一致, 故将化

合物 确定为黄芩苷。

化合物 : 无色粒晶(丙酮), mp 56 ~ 57 。由 HREI-MS m/z : 250. 121 6[M]⁺, 得分子式C₁₄H₁₈O₄ (计算值: 250. 120 5)。EI-MS m/z (%): 250[M]⁺, 193, 177, 167, 153, 95, 81。UV $\lambda_{max}^{M,OH}$ nm (log ϵ): 210 (3. 54), 268(3. 97)。IR ν_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 1 795, 1 700 示有 2 个 C= O。仔细审核化合物 的¹H-NMR(表

2)、¹³C-NMR及 DEPT(表 3) 数据, 有 3 个 CH₃、3 个 CH₂、3 个 CH、5 个季 C(含 2 个 C= O), 并对其归属进行指认。上述数据与文献中的 hyperolactone A 对照^[7], 基本一致, 是一种螺内酯结构。

化合物 : 无色粒晶(丙酮), mp 102 ~ 104 。由 HREI-MS m/z : 270. 088 0[M]⁺, 得分子式

表 2 化合物 ~ 的¹H-NMR谱数据(500 MHz δ / Hz)
Table 2 ¹H-NMR data of compounds - (500 MHz δ / Hz)

碳位	(CD ₃ COCD ₃)	(CD ₃ COCD ₃)	(CD ₃ COCD ₃)	(C ₅ D ₅ N)	(C ₅ D ₅ N)	(CDCl ₃)	(CDCl ₃)
1						5. 26 d (17. 2)	5. 26 d (17. 5)
						5. 29 d (11. 1)	5. 28 d (11. 2)
2						5. 97 dd (17. 2, 11. 1)	6. 04 dd (17. 8, 10. 7)
3		6. 58 s	6. 80 s				
5	12. 29 s (OH)	13. 01 s (OH)	12. 99 s (OH)	12. 66 s (OH)			
6	6. 37 d (2. 0)	6. 24 d (2. 1)	6. 20 d (2. 5)	6. 15 d (2. 0)	6. 18 d (2. 0)	5. 39 s	6. 01 s
8	6. 64 d (2. 0)	6. 52 d (2. 0)	6. 50 d (2. 5)	6. 35 d (2. 0)	6. 34 d (2. 0)		
9						4. 06 d (8. 2) Ha	4. 13 d (8. 5) Ha
						4. 90 d (8. 2) Hb	4. 96 d (8. 5) Hb
10						1. 43 s	1. 56 s
1'						2. 71 m	
2'	7. 91 d (2. 2)	7. 49 d (2. 2)	7. 95 d (8. 0)	7. 47 d (2. 1)	8. 02 d (9. 3)	1. 75 m, 1. 65 m	7. 88 d (8. 1)
3'			6. 94 d (8. 0)		6. 88 d (9. 3)	0. 99 t (7. 1)	7. 54 m
4'						1. 24 d (7. 0)	7. 63 d (8. 0)
5'	7. 09 d (8. 7)	7. 00 d (8. 4)	6. 94 d (8. 0)	6. 77 d (8. 0)	6. 88 d (9. 3)		7. 54 m
6'	7. 78 dd (2. 2, 8. 7)	7. 47 dd (2. 2, 8. 1)	7. 95 d (8. 0)	7. 60 d (8. 2, 2. 0)	8. 02 d (9. 3)		7. 88 d (8. 1)
1''				5. 31 d (7. 2)	5. 22 d (7. 9)		

表 3 化合物 ~ 的¹³C-NMR谱数据(500 MHz δ / Hz)
Table 3 ¹³C-NMR data of compounds - (500 MHz δ / Hz)

碳位	(CD ₃ COCD ₃)		(CD ₃ COCD ₃)		(CD ₃ COCD ₃)		(C ₅ D ₅ N)		(C ₅ D ₅ N)		(CDCl ₃)		(CDCl ₃)	
	δ / Hz	DEPT	δ / Hz	DEPT	δ / Hz	DEPT	δ / Hz	DEPT	δ / Hz	DEPT	δ / Hz	DEPT	δ / Hz	DEPT
1											118. 77	CH ₂	119. 19	CH ₂
2	146. 68	C	164. 11	C	164. 12	C	156. 22	C	158. 91	C	134. 21	CH	134. 24	CH
3	136. 50	C	103. 33	CH	102. 83	CH	133. 43	C	135. 83	C	48. 32	C	50. 03	C
4	176. 30	C	182. 21	C	181. 88	C	177. 36	C	179. 94	C	92. 45	C	93. 16	C
5	161. 99	C	157. 93	C	157. 26	C	161. 14	C	161. 98	C	197. 30	C	196. 71	C
6	98. 83	CH	98. 87	CH	98. 76	CH	98. 66	CH	100. 26	CH	102. 06	CH	100. 39	CH
7	164. 74	C	164. 30	C	163. 74	C	164. 07	C	166. 35	C	200. 20	C	187. 31	C
8	94. 12	CH	93. 85	CH	94. 02	CH	93. 61	CH	95. 26	CH	168. 02	C	168. 22	C
9	157. 48	C	162. 49	C	161. 59	C	156. 18	C	159. 42	C	74. 01	CH ₂	74. 23	CH ₂
10	103. 83	C	104. 45	C	103. 60	C	103. 83	C	106. 45	C	19. 18	CH ₃	19. 60	CH ₃
1'	123. 45	C	119. 25	C	121. 36	C	121. 07	C	123. 17	C	37. 03	CH	127. 68	C
2'	115. 44	CH	113. 23	CH	128. 25	CH	115. 19	CH	132. 75	CH	27. 05	CH ₂	127. 41	CH
3'	145. 59	C	145. 67	C	116. 08	CH	144. 89	C	116. 38	CH	11. 02	CH ₃	128. 93	CH
4'	147. 99	C	149. 28	C	161. 19	C	148. 39	C	163. 41	C	17. 03	CH ₃	133. 62	CH
5'	115. 91	CH	115. 75	CH	116. 08	CH	116. 00	CH	116. 38	CH			128. 93	CH
6'	121. 06	CH	122. 88	CH	128. 25	CH	121. 87	CH	132. 75	CH			127. 41	CH
1''							101. 84	CH	104. 46	CH				
2''							71. 27	CH	76. 17	CH				
3''							73. 26	CH	78. 44	CH				
4''							68. 08	CH	71. 88	CH				
5''							75. 93	CH	78. 89	CH				
6''							60. 17	CH ₂	63. 07	CH ₂				

C₁₆H₁₄O₄ (计算值: 270.089 2)。EI-MS *m/z* (%) : 270 [M]⁺, 252, 225, 211, 188, 173, 147, 105, 102, 77。UV λ_{max}^{MeOH} nm (log ε): 255(4.15), 308(4.41)。IR ν_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 1 780, 1 710 示有 2 个 C=O。仔细审核化合物的¹H-NMR(表 2)、¹³C-NMR 及 DEPT(表 3)数据, 有 1 个 CH₃、2 个 CH₂、7 个 CH、6 个季 C (含 2 个 C=O), 并对其归属进行指认。上述数据与文献中的 hyperolactone B 对照^[7]基本一致, 是一种螺内酯结构。

References:

[1] Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae. *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志) [M]. Tomus 50 (2). Beijing: Science Press, 1990.
[2] Zhang X R, Peng S L, Wang M K, *et al.* Studies on the

constituents of *Lysimachia congestiflora* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1999, 34(11): 835-838.
[3] Information Center for Chinese Herbal Medicine, State Pharmaceutical Administration of China. *Handbook of Active Constituents in Phytomedicine* (植物药有效成分手册) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1986.
[4] Chen J R, Wang Y F, Qin L G. The study of chemical constituents of *Xuelianhua-Tibetan medicine* [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 1989, 11(3): 271-274.
[5] Yu D Q, Yang J S, Xie J X. *The Handbook for Analytical Chemistry* () *NMR Spectrum Analysis* (分析化学手册() 核磁共振波谱分析) [M]. Beijing: Chemical and Industry Press, 1989.
[6] Yu D Q, Yang J S. *The Handbook of Analysis Chemistry* (分析化学手册) [M]. 7th Section, Beijing: Chemical Industry Publishing House, 1999.
[7] Aramaki Y, Chiba K, Tada M. Spiro-lactones, hyperolactone A - D from *Hypericum chinense* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 38(6): 1419-1421.

三叶鬼针草活性成分研究

王硕丰¹, 杨本明¹, 李立标², 朱东亮², 何 丹³, 王 璐^{2*}

(1. 解放军第 254 医院 药剂科, 天津 300142; 2. 第二军医大学 研究生管理大队, 上海 200433;
3. 解放军第 163 医院 药剂科, 湖南 长沙 410208)

三叶鬼针草为菊科鬼针属植物。有清利湿热之功, 多用于治疗咽喉疼痛、肠炎痢疾、尿路感染、小儿腹泻、慢性支气管炎和神经衰弱等疾病。其主要成分包括黄酮类、烯炔类、香豆素类、有机酸及其酯、三萜类、甾体类、挥发油等。

笔者对三叶鬼针草全草乙醇提取物的 CHCl₃、正丁醇部分的化学成分进行了研究, 分离获得了 10 个化合物, 鉴定了其中 5 个化合物的结构, 并发现化合物 和 有中等强度的细胞毒性, 结构式见图 1。

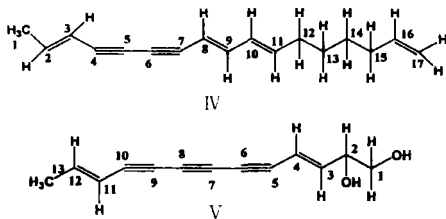


图 1 化合物 和 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds and

1 仪器和试剂

熔点用 ZMD-2 熔点仪测定(温度未校正)。EI-MS 谱用 JMSD 300 型质谱仪测定。¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 用 Bruker AM-400 型核磁共振仪测定。

红外光谱用 Perkin-Elmer 683 红外分析仪测定。RPMI-1640 培养基购自 Gibco 公司。小牛血清购自杭州四季青公司。色谱用硅胶为青岛海洋化工厂产品。Sephadex LH-20 为 Pharmacia 公司产品。所用试剂为分析纯。

2 提取与分离

三叶鬼针草 2 kg(干重), 85% 乙醇(5 L)冷浸 5 次, 浸提液真空浓缩直到无醇味, 用石油醚萃取除去叶绿素, 然后分别用氯仿、正丁醇萃取得氯仿和正丁醇部分。对氯仿部分进行反复硅胶柱色谱(CH₃OH-CH₂Cl₂ 0%~10%)得化合物 ~。对该部分的低极性油状物进行薄层制备(正己烷-丙酮=5:1)得化合物 和。

3 化合物的理化和光谱数据

化合物 : 淡黄色片晶(CH₂Cl₂-MeOH), HCl-Mg 粉反应阳性。mp 250~251。¹H-NMR、¹³C-NMR 光谱数据与金丝桃苷的光谱数据基本一致^[1]。

化合物 : 淡黄色针晶(EtOAc), HCl-Mg 粉反应阳性; ¹H-NMR(CHCl₃) δ: 4.2(3H, s), 3.8(3H, s), 3.7(3H, s), 6.9(1H, s), 6.8(1H, s), 6.7(1H,

* 收稿日期: 2004-05-16