

12 α -脱氢- α -灰叶酚(6 α ,12 α -dehydro- α -toxicarol)。

化合物Ⅲ:白色固体,mp 198~199℃(石油醚)。[α]_D²⁰=0(石油醚)。MS(*m/z*);410(M⁺),208(100),207,203,187。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹:3 420,1 675,1 600,1 578,1 390,1 300。¹H-NMR(CDCl₃) δ :1.34(3H,s,7'-CH₃),1.49(3H,s,8'-CH₃),3.74(3H,s,3-OCH₃),3.80(3H,s,2-OCH₃),4.48(1H,s,12 α -OH),4.80(6-CH₂,6 α -H),5.55(1H,d,*J*=10.10 Hz,H-5'),6.44(1H,d,*J*=9.5 Hz,H-10),6.48(1H,s,H-4),6.55(1H,s,H-1),6.58(1H,d,*J*=10.10 Hz,H-4'),7.70(1H,d,*J*=9.6 Hz,H-11)。mp,IR,MS,¹H-NMR,[α]_D²⁰与文献值一致^[6],故鉴定化合物Ⅲ为(±)-灰叶素[(±)-tephrosin]。

化合物Ⅳ:微黄色固体,受热分解。MS(*m/z*):424(M⁺),409,407,393,379(100),233,203。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹:3 350,1 658,1 618,1 514,1 158。¹H-NMR(CDCl₃) δ :1.47(6H,s,7',8'-CH₃),1.61(1H,s,6-OH),3.85(3H,s,3-OCH₃),3.98(3H,s,2-OCH₃),5.59(1H,d,*J*=10.0 Hz,H-5,*J*=10.0 Hz,H-4'),6.57(1H,s,H-4),8.25(1H,s,H-1),12.75(1H,s,OH-11)。IR,MS,¹H-NMRD与文献值一致^[4],故鉴定化合物Ⅳ为(-)-6-羟基-6 α ,12 α -脱氢-灰叶酚[(-)-6-Hydroxy-6 α ,12 α -dehydro-toxicarol]。

化合物Ⅴ:白色晶体 MS(*m/z*):394(M⁺),192(100),149,91与鱼藤酮文献值一致^[6]。在三氯甲烷溶液中测其紫外可见区的最大吸收波长为295 nm,与鱼藤酮(rotenone)的文献值一致^[7]。鉴定出化合物是鱼藤酮,为首次在紫穗槐叶中分离得到。

2.2 不同生长期粗提物杀虫效果:见表1。结果表明6月份鲜叶毒杀作用最强。

2.3 不同质量分数粗提物的杀虫效果:结果表明,

表1 紫穗槐叶的采收时间对大绿锦龟甲杀虫作用的影响(*n*=6)

Table 1 Pesticide effect of ingredients from leaves of *A. fruticosa* collected at different time on *F. grandis* (*n*=6)

月份	95%EtOH 提取物	
	校正死亡率/%	RSD/%
4	8	2.3
5	55	2.1
6	91	2.3
7	76	1.9
8	61	2.0

取质量分数2%的粗提物效果较好,杀虫校正死亡率达90%以上。

2.4 对分离得到的5种化合物的毒杀作用和有效配比也进行了初步的探索,结果表明按天然比混合毒杀效果最佳。

References:

[1] Rózsza Z, Hohmann J, Szendrei K, et al. Amoradin, amoradicin, and amoradinm, three prenylflavanones from *Amorpha fruticosa* [J]. *Phytochemistry*, 1989, 23(8): 1818-1819.
 [2] Carison D G, Weisleder D, Tallent W H. NMR Investigations of rotenoids [J]. *Tetrahedron*, 1973, 29(18): 2731-2741.
 [3] Cesar C, Andrei P C, Vieira J, et al. Dimethylchromene rotenoids from *Tephrosia candida* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 46(6): 1081-1085.
 [4] Ognyanov T. Somleva rotenoids and 7, 2', 4', 5'-tetramethoxyisoflavone in *Amorpha fruticosa* L. fruits [J]. *Plant Med*, 1989, 38: 279-280.
 [5] Lumonadio L, Lee I S, Woongchon M, et al. Kinghorn rotenoids and chalcones from *Mundulea sericea* that inhibit phorbol ester-induced ornithine decarboxylase activity [J]. *Phytochemistry*, 1994, 36(6): 1523-1526.
 [6] Long P Z, Li S. *Natural Organic Mass Spectrometry* (天然有机质谱学) [M]. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science and Technology Publishing House, 2002.
 [7] Huang J G, Xu H H, Zhang L J. Study on the spatial distribution patterns of nephoptery X SP. *Lanae* and sampling methods [J]. *South China Agric Univ* (华南农业大学学报), 2002, 23(3): 45-48.

紫穗槐细胞毒活性部位化学成分研究

姜泓,白丽萍,康廷国

(辽宁中医学院,辽宁 沈阳 110032)

紫穗槐 *Amorpha fruticosa* L. 为豆科紫穗槐属多年生落叶灌木。在世界范围内具有广泛的分布。全世界有紫穗槐属植物约25种,原产北美,我国引入

栽培的只有紫穗槐1种,南北均有栽植^[1]。紫穗槐在我国又称绵槐、油条、椒条、穗花槐、紫翠槐、苕条^[2],多作为水土保持树种。其叶微苦、凉,具有祛湿消肿

收稿日期:2004-12-18

基金项目:沈阳市科委项目(1032042-1-01)

作者简介:姜泓(1969-),女,副教授,主要研究方向为中药有效成分的研究及新药的研制与开发。

Tel:(024)31207121-52051

功效,主治痈肿、湿疹、烧烫伤。临床上单方应用,“治烧烫伤,痈疮,湿疹”^[3]。国外已经对紫穗槐的化学成分和药理活性进行了大量的研究,而国内在化学方面仅从叶中分离得到 4 个黄酮类化合物^[4],笔者对紫穗槐叶 75%乙醇提取物的石油醚、醋酸乙酯、正丁醇及水部分进行了体外活性检测。取对数生长期 JB6 细胞接种于 96 孔培养板,采用 10%福尔马林进行固定,经 0.1%结晶紫染色,酶标仪测定 570 nm 处吸光度值,计算肿瘤细胞生长的半抑制浓度 (IC₅₀) 值。结果发现醋酸乙酯部分对 JB6 两种肿瘤细胞克隆原细胞 CL22、CL41 的平均 IC₅₀ 值为 30 μg/mL; 鉴于上述结果,本实验对其叶 75%乙醇提取物的醋酸乙酯部分进行了化学成分研究,分离得到 5 个化合物,分别为 β-谷甾醇 (β-sitosterol, I)、5,7-二羟基-8-牻牛儿基双氢黄酮 (5,7-dihydroxy-8-geranyl-flavanone, II)、灰叶素 (tephrosin, III)、7,4'-二甲氧基异黄酮 (7,4'-dimethoxyisoflavone, IV) 和 7,2',4',5'-四甲氧基异黄酮 (7,2',4',5'-tetromethoxyisoflavone, V)。化合物 I 和 IV 为首次从紫穗槐中分离得到,化合物 II 为首次从紫穗槐叶分离得到,5 个化合物均为首次从中国产的紫穗槐叶中分离得到。

1 仪器、试剂与材料

1.1 仪器: HTS-7000 酶标仪。熔点用 XT-4A 型双目体视显微熔点测定仪测定 (温度计未校正); UV-265-FW 型自记式分光光度计, 红外光谱用 IR-274 型岛津红外分光光度测定 (KBr 压片); 核磁共振仪用 BRUKER-ARX-300 MHz 和 INOVA-500 MHz 型核磁共振仪测定, TMS 为内标, CDCl₃ 为溶剂; 高分辨质谱用 VG-70SE 质谱仪测定; 质谱用 GMS-D-300 型质谱仪测定。日本岛津 LC-10A 高效液相色谱仪, LC-10AVP 泵, SPD-10AVP 可见紫外检测器, 浙大 N2000 双通道色谱工作站。

1.2 试剂: 甲醇为色谱纯, 水为重蒸水; 硅胶为青岛海洋化工厂产品。其他试剂均为分析纯, 沈阳化学试剂厂产品。

1.3 药材: 紫穗槐叶采自辽宁省本溪市高台子。由辽宁中医学院康廷国教授鉴定为紫穗槐 *A. fruticosa* L. 的叶, 凭证标本存放在辽宁中医学院中药系标本室。

2 体外细胞毒性实验

2.1 样品制备: 紫穗槐叶 100 g, 粉碎, 75%乙醇 10 倍量提取 3 次, 第 1 次提取 2 h, 第 2、3 次各提取 1 h, 减压回收溶剂至无醇味, 混悬于水中, 相继以石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取 3 次, 分别得到石油醚、

醋酸乙酯、正丁醇和水溶部分, 浸膏干粉, 配制成 5 mg/mL 的浓溶液。

2.2 方法: 将肿瘤细胞 JB6 复苏, 传代。取对数生长期细胞, 稀释至约 1×10^4 个/mL, 接种于 96 孔板上, 每孔 100 μL。36.5 °C、5% CO₂ 条件下培养 24 h 加入不同质量浓度样品液, 每个浓度平行 3 孔, 并做阴性对照和空白对照。样品终质量浓度为 100、60、50、30、10、3、1 μg/mL。连续培养 3~4 d, 待细胞处于对数生长期, 采用 10%福尔马林进行固定后, 经 0.1%结晶紫染色, 于 570 nm 波长下用酶标仪测吸光度 (A₅₇₀) 值, 并计算细胞存活率。以细胞存活率对样品质量浓度作图, 求出 IC₅₀ 值。

2.3 结果: 石油醚、醋酸乙酯部分对 JB6 两种肿瘤细胞克隆原细胞 CL22、CL41 的平均 IC₅₀ 值分别为 80、30 μg/mL; 正丁醇及水部分对 JB6 两种肿瘤细胞克隆原细胞 CL22、CL41 的平均 IC₅₀ 值均大于 100 μg/mL。结果表明醋酸乙酯部分具有较好的抗肿瘤活性。

3 提取与分离

紫穗槐叶 6 kg, 粉碎, 用 10 倍量 75%乙醇提取两次, 每次提取 2 h, 减压回收溶剂, 得到乙醇提取浸膏 (1.2 kg)。将乙醇提取浸膏混悬于水中, 相继以石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取 3 次, 得到石油醚部分 (90 g)、醋酸乙酯部分 (150 g)、正丁醇部分 (110 g) 和水溶部分。将所得醋酸乙酯部分进行硅胶柱色谱, 以石油醚-醋酸乙酯不同比例梯度洗脱, 经反复硅胶柱色谱、制备薄层色谱、反复重结晶, 得到 5 个化合物。即化合物 I (52 mg)、化合物 II (100 mg)、化合物 III (39 mg), Sephadex LH-20 纯化后, 经制备 HPLC 得化合物 IV (16 mg) 和化合物 V (32 mg)。

4 鉴定

化合物 I: 白色片状结晶 (石油醚-醋酸乙酯), mp 137~138 °C。Liebermann-Burchard 反应阳性, 5%硫酸乙醇溶液显色为紫红色。与 β-谷甾醇对照品共薄层为同一个斑点, 混合熔点不下降, 为本植物中首次发现的已知化合物。

化合物 II: 白色簇晶 (石油醚-醋酸乙酯), mp 153~155 °C。FeCl₃ 反应阳性, 示酚羟基的存在。UV λ_{max}^{MeOH} nm (A): 209.6 (2.094), 293.8 (1.177), 332.0 (0.272)。¹³C-NMR (CDCl₃, TMS) 谱 δ: 低场区示 14 个碳信号, 128.8 和 126.1 强度为其他碳信号强度的 2 倍, 示结构中单取代苯的 2 个对称碳信号, 高场区给出 8 个碳信号。79.0 (C-2), 43.4 (C-3), 195.9 (C-4), 161.2 (C-5), 95.7 (C-6), 164.1 (C-7), 106.8 (C-8), 161.0 (C-9), 102.9 (C-10), 138.5 (C-1'),

128.8 (C-2'), 126.1 (C-3'), 128.8 (C-4'), 21.1 (C-1''), 121.2 (C-2''), 139.7 (C-3''), 39.7 (C-4''), 26.3 (C-5''), 123.6 (C-6''), 132.2 (C-7''), 17.7 (C-8''), 25.7 (C-9''), 16.2 (C-10''). 再根据 HMQC 谱归属相关的 C-H 信号, ¹H-NMR 和 EI-MS 谱数据与 5,7-二羟基-8-牻牛儿基双氢黄酮基本一致^[5]。

化合物 III: 白色固体, mp 208 ~ 210 °C。 ¹H-NMR、¹³C-NMR 和 HMBC 谱数据与文献报道基本一致^[5,6], 此化合物为灰叶素。

化合物 IV: 无色方晶, mp 154 ~ 156 °C。 UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm(A): 213.4(0.176), 224.0(0.314), 238.8(0.177), 275.4(0.993)。 ¹H-NMR(CDCl₃, TMS) 谱 δ : 8.19(1H, dd, *J* = 8.7, 1.8 Hz, H-5), 6.97(1H, dd, *J* = 8.7, 2.1 Hz, H-6), 6.83(1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-8) 为 AMX 偶合系统, 推测结构中在 1,3,4 取代苯环。由 7.48(2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2', 6'), 6.95(2H, d, *J* = 8.7 Hz, H-3', 5'), 推测结构中在 1,4 二取代苯环。7.90(1H, s, H-2), 3.89, 3.82(3H, s, each, OCH₃-7, 4'), 为 2 个甲氧基信号。 ¹³C-NMR(CDCl₃, TMS) 谱 δ : 低场区给出 13 个碳信号, 130.1 和 113.9 是其他碳信号高度的 2 倍, 为 1,4 取代苯环上的 4 个对称信号。高场区有 55.8, 55.3 两个甲氧基碳信号, 152.2(C-2), 124.8(C-3), 175.9(C-4), 127.7(C-5), 114.5(C-6), 163.9(C-7), 100.1(C-8), 157.9(C-9), 118.3(C-10), 124.1(C-1'), 130.1(C-2'), 113.9(C-3'), 159.5(C-4'), 55.8(OCH₃-7), 55.3(OCH₃-4')。 ¹H-¹HCOSY 谱 δ : 8.19 同 6.97 相关, 7.48 同 6.95 相关。HMQC 谱 δ : 8.19 同 127.7, 7.48 同 130.1, 6.97 同 114.5, 6.95 同 113.9, 6.83 同 100.06 相关, 3.90 同 55.8, 3.82 同 55.3 相关。HMBC 谱 δ : 8.19 同 175.9, 163.9, 157.9 相关, 7.90 同 175.9, 157.9, 122.3 相关, 1.48 同 159.5, 130.1, 124.1 相关, 6.97 同 118.3, 100.1

相关, 6.95 同 124.1, 113.9 相关, 6.83 同 163.9, 157.9, 118.3, 114.5 相关, 3.90 同 163.9 相关, 3.82 同 159.5 相关。EI-MS *m/z*(%): 282(M⁺, 100), 281(25), 150(15), 132(58), 122(10)。根据以上数据确定该化合物的结构为 7,4'-二甲氧基异黄酮, 与文献结构一致^[5]。

化合物 V: 白色针晶, mp 186 ~ 188 °C。结合文献 IR、¹H-NMR 和 MS^[5~7] 确定化合物为 7,2',4',5'-四甲氧基异黄酮。

文献报道灰叶素和 7,2',4',5'-四甲氧基异黄酮对 6 种人癌细胞系 A-549, HCT-8, RPMI-7951, TE-671, KB 和 P388 有细胞毒作用 (ED₅₀ < 10 μ g/mg)^[8]。此外, 7,4'-二甲氧基异黄酮对 Raji 细胞有高的细胞毒作用。结合已有资料及初筛结果, 认为灰叶素和 7,2',4',5'-四甲氧基异黄酮可能为细胞毒活性主要成分, 紫穗槐体外细胞毒活性具体由何种成分引起, 还是各成分间的协同作用, 尚有待进一步证实。

References:

- [1] Hou K Z. *A Dictionary of the Families and Genera of Chinese Seed Plants* (中国种子植物科属词典) [M]. Beijing: Science Press, 1982.
- [2] China Pharmaceutical University. *Thesaurus of Chinese Materia Medica* (中药辞海) [M]. Beijing: China Medicopharmaceutical Science and Technology Publishing House, 1996.
- [3] Chinese Medicinal Material Company. *Major Records of Chinese Materia Medica Resources in China* (中国中药资源志要) [M]. Beijing: Science Press, 1994.
- [4] Qu Q Y, Bai Z C, Shi D Y, et al. Study on the insecticidal constituents from the leaves of *Morpha fruticosa* L. [J]. *Acta Bot Boreal-occident Sin* (西北植物学报), 1998, 18(2): 311-313.
- [5] Somleva T, Ognyanov I. New rotenoids in *Amorpha fruticosa* fruits [J]. *Planta Med*, 1985, (3): 219-221.
- [6] Hiroki T, Midori K, Takao K, et al. Structural elucidation and chemical conversion of amorphispironone, a novel spironone from *Amorpha fruticosa*, to rotenoids [J]. *Chem Pharm Bull*, 1993, 41(1): 187-190.
- [7] Ognyanov I, Somleva T. Rotenoids and 7,2',4',5'-tetramethoxyisoflavone in *Amorpha fruticosa* L. fruits [J]. *Planta Med*, 1980, 38: 279-280.
- [8] Li L P, Wang H K. Antitumor agents, 138. rotenoids and isoflavones as cytotoxic constituents from *Amorpha fruticosa* [J]. *J Nat Prod*, 1993, 56(5): 690-698.

南五味子种子挥发油成分的 GC-MS 分析

唐志书, 崔九成

(陕西中医学院 药剂教研室, 陕西 咸阳 712083)

南五味子系木兰科植物华中五味子 *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wills. 的干燥成熟果实。主

收稿日期: 2005-02-25

基金项目: 陕西省中医管理局重点项目(044)

作者简介: 唐志书(1972-), 男, 陕西省镇巴县人, 毕业于陕西中医学院药学系中药专业, 陕西省中药制药重点学科带头人, 从事中药新药及新剂型的开发研究工作, 主持或参与了复方三七滴丸、秦七风湿滴丸等 10 余项新药开发研究工作, 获省级科技进步奖 3 项, 并荣获陕西省优秀青年科技人才、咸阳市优秀青年科技人才等荣誉。