

致谢:日本东北大学折谷隆志教授为此项研究提供的生药粗提物。

References:

- [1] Baloglu E, Kingston D G I. The taxane diterpenoids [J]. *J Nat Prod*, 1999, 62: 1448-1472.
- [2] Wang F S, Peng L Y. Three new oxetane-ring-containing taxoids from *Taxus chinensis* [J]. *J Nat Prod*, 2004, 67: 905-907.
- [3] Shen Y C, Cheng K C, Lin Y C, et al. Three new taxane diterpenoids from *Taxus sumatrana* [J]. *J Nat Prod*, 2005, 68: 90-93.
- [4] Shigemori H, Kobayashi J. Biological activity and chemistry of taxoids from the Japanese yew, *Taxus cuspidata* [J]. *J Nat Prod*, 2004, 67: 245-256.
- [5] Appendino G. *The Structure Elucidation of Taxoids* [M]. USA: Amsterdam, 1995.
- [6] Herz W, Kirby G W, Moore R E, et al. *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products* [M]. USA: Springer, 1993.
- [7] Appendino G, Jakupovic J, Varese M, et al. Acid and base catalysed rearrangement of 9, 10-dioxotaxanes [J]. *Tetrahedron Lett*, 1996, 37(5): 727-730.
- [8] Vande V D G, Georg G I, Gollapudi S R, et al. Wallifoliol, a taxol congener with a novel carbon skeleton from Himalayan *Taxus wallichiana* [J]. *J Nat Prod*, 1994, 57: 862-867.
- [9] Kiyota H, Shi Q W, Oritani T, et al. New 11 (15→1) abeo-taxane, 11 (15→1), 11 (10→9) bisabeotaxane and 3, 11-cyclotaxanes from *Taxus yunnanensis* [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2001, 65: 35-40.
- [10] Shen Y C, Lin Y S, Cheng Y B, et al. Novel taxane diterpenes from *Taxus sumatrana* with the first C-21 taxane ester [J]. *Tetrahedron*, 2005, 61: 1345-1352.

淫羊藿黄酮的分离鉴定及其对前破骨细胞株增殖的影响

王 婷^{1,2}, 张大威^{2,3}, 张金超^{2,4}, 杨梦魁^{2*}, 肖培根^{1*}

- (1. 中国医学科学院 中国协和医科大学药用植物研究所, 北京 100094; 2. 香港城市大学深圳研究院, 广东 深圳 518057; 3. 沈阳药科大学 天然药物化学教研室, 辽宁 沈阳 110016; 4. 河北大学化学与环境科学学院, 河北 保定 071002)

摘要:目的 观察淫羊藿中单体黄酮的抗骨质疏松作用。方法 利用硅胶和凝胶柱色谱分离淫羊藿中单体黄酮成分, 根据化合物光谱数据(ESI-MS, ¹H-NMR和¹³C-NMR)鉴定其结构, 通过MTT法观察其对体外培养的前破骨细胞株RAW 264.7增殖的影响。结果 从淫羊藿地上部分的醋酸乙酯萃取物中分离得到5个化合物, 分别为淫羊藿苷(I)、宝藿苷II(II)、朝藿素B(III)、宝藿苷I(IV)及金丝桃苷(V)。活性结果表明, 0.1~100 μmol/L化合物II对前破骨细胞RAW264.7的生长有一定程度的促进作用; 浓度为0.1~100 μmol/L的化合物I对前破骨细胞RAW 264.7的生长有一定的抑制作用, 但随着浓度的升高, 转而表现为轻微的促进作用; 浓度为1.0和10 μmol/L的化合物II对该细胞的增殖基本上没有什么影响, 而其他浓度下, 则对前破骨细胞RAW 264.7的增殖表现出明显的抑制作用; 除个别浓度外, 化合物IV和V均对前破骨细胞RAW 264.7的生长表现出相当程度的抑制作用。结论 黄酮类化合物对RAW 264.7的生长是促进还是抑制依赖于其自身的化学结构以及作用浓度, 淫羊藿可能是通过黄酮类化合物抑制前体破骨细胞的增殖, 进而抑制前体破骨细胞分化形成破骨细胞而发挥抗骨质疏松作用的。

关键词:淫羊藿; 黄酮; 前破骨细胞; RAW 264.7

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)10-1458-05

Isolation and identification of flavonoids from *Epimedium koreanum* and their effects on proliferation of RAW 264.7 cell line

WANG Ting^{1,2}, ZHANG Da-wei^{2,3}, ZHANG Jin-chao^{2,4}, YANG Meng-su², XIAO Pei-gen¹

- (1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100094, China; 2. Shenzhen Research Institute of City University of Hong Kong, Shenzhen 518057, China; 3. Department of Natural Products Chemistry, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 4. Department of Chemistry, College of Chemistry & Environmental Science, Hebei University, Baoding 071002, China)

Abstract: Objective To study the antiosteoporosis activity of flavonoids isolated from *Epimedium*

收稿日期: 2006-01-19

基金项目: 国家 863 计划资助项目(2003AA2Z2052)

作者简介: 王 婷(1981-), 女, 河北丰润人, 博士研究生, 主要从事淫羊藿药理药化方面的研究工作。

E-mail: btctingwang@cityu.org.cn

* 通讯作者 杨梦魁 肖培根 Tel: (0755)26712364 Fax: (0755)26712364 E-mail: bhmyang@cityu.edu.hk; xiaopg@public.bta.net.cn

koreanum. **Methods** The compounds were separated by column chromatography with silica gel and Sephadex LH-20 and identified by spectral analysis (ESI-MS, $^1\text{H-NMR}$, and $^{13}\text{C-NMR}$), respectively. MTT Assay was used to investigate the effects of the compounds on proliferation of preosteoclast RAW 264.7 cell line *in vitro*. **Results** Five compounds were isolated from the ethyl acetate extract of the aerial part of *E. koreanum*. Their structures were identified as icariin (I), baohuoside II (II), epimedokoreanin B (III), baohuoside I (IV), and hyperoside (V). The results indicated that compound I could promote the proliferation of RAW 264.7 cell line at concentrations of 0.1–100 $\mu\text{mol/L}$. Compound I at concentrations of 0.1–100 $\mu\text{mol/L}$ could inhibit the proliferation of RAW 264.7 cell line and turned to stimulate the proliferation of RAW 264.7 cell line as concentration increased. Compound III at concentrations of 1.0 and 10 $\mu\text{mol/L}$ had no effect on the proliferation, but significantly inhibited the proliferation of RAW 264.7 cell line at other concentrations. Except individual concentration, compounds IV and V at concentrations of 0.1–100 $\mu\text{mol/L}$ significantly inhibited the proliferation of RAW 264.7 cell line. **Conclusion** The effects of flavonoids on the proliferation of RAW 264.7 cell line are bi-directional, depending on concentrations and their chemical structures. The osteoporosis may be controlled by *E. koreanum* through inhibiting the proliferation and differentiation of preosteoclast.

Key words: *Epimedium koreanum* Nakai; flavonoid; preosteoclast; RAW 264.7

我国已步入老龄化社会,骨质疏松症严重影响着老年人的生活质量。中医中药在治疗骨质疏松症方面有着独到的见解和丰富的临床经验。根据中医“肾主骨”的理论,临床上多采用补益肾阳的中药来治疗骨质疏松症。淫羊藿味辛、甘,性温,归肝、肾经,是传统的补肾壮阳中药,《本草纲目》称之有“益精气,强筋骨,补腰膝”作用,其疗效已被多年的中医临床实践所证实。

近年来,国内外学者对淫羊藿抗骨质疏松症的疗效和机制做了较多且深入的研究,其总提取物或总有效部位对各类骨质疏松症动物模型作用的研究已经有很多报道^[1~3],体外实验多集中在探讨其对成骨细胞的作用^[4~6],而淫羊藿中单体成分对前破骨细胞的作用则尚未见报道。为进一步阐明淫羊藿抗骨质疏松症作用的有效成分和机制,本实验通过活性跟踪分离,在确定活性部位的基础上,研究了从小檗科淫羊藿属植物朝鲜淫羊藿 *Epimedium koreanum* Nakai 活性组分中分离鉴定的 5 种黄酮单体对前破骨细胞株 RAW 264.7 增殖的影响。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料: Bruker AV-400 型核磁共振仪; Thermo Finnigan-LCQ 质谱仪; Bio-RAD Model 680 型酶联免疫检测仪。

色谱用硅胶购自青岛海洋化工厂;葡聚糖凝胶(Sephadex LH-20)为 Pharmacia 产品;四氮唑溴[MAA, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,6-diphenyl tetrazolium bromide]为 Amresco 公司产品,由上海

生物工程有限公司分装;培养基 DMEM(高糖型)购自 Gibico 公司;新生牛血清为杭州四季青生物工程有限公司产品。

朝鲜淫羊藿购自吉林省长春市,经本所资源室陈四保研究员鉴定为朝鲜淫羊藿 *Epimedium koreanum* Nakai 的干燥地上部分。

1.2 方法

1.2.1 活性部位的确定及化合物的分离: 朝鲜淫羊藿的干燥地上部分 15 kg 粉碎后,用 95%乙醇回流提取 3 次,将提取物浓缩得干浸膏,干浸膏用水悬浮后,依次用石油醚、醋酸乙酯和正丁醇萃取,回收溶剂。初步生物活性实验结果显示,相对于其他部位萃取物来讲,醋酸乙酯萃取物对 RAW 264.7 细胞的生长表现出较好的增殖抑制作用。然后,取醋酸乙酯萃取物(180 g)用硅胶(100~200 目)拌样进行硅胶柱色谱,分别用石油醚、醋酸乙酯和甲醇梯度洗脱,硅胶 TLC 检查合并相同组分,共合并成 33 个部分。第 21 部分用硅胶柱(200~300 目)色谱,石油醚、丙酮(10:3.5)洗脱,硅胶 TLC 检查合并相同组分,共合并成 6 份(A~F),A 份经 Sephadex LH-20 柱纯化(MeOH 洗脱),经 MeOH 重结晶,得一黄色针状结晶,为化合物 III。第 23~28 部分合并后用硅胶柱色谱(200~300 目),氯仿、甲醇梯度洗脱,硅胶 TLC 检查合并相同组分,合成 12 份(A~L),其中 H 和 I 份经反复 Sephadex LH-20 柱纯化(甲醇或氯仿:甲醇 1:1 洗脱),甲醇重结晶,分别得到黄色针状结晶化合物 IV 和 I。第 30 部分用硅胶柱(200~300

目)色谱, 氯仿-甲醇梯度洗脱, 硅胶 TLC 检查合并相同组分, 共合并成 8 份(A~H), B 份经反复 Sephadex LH-20 柱纯化(甲醇洗脱), 甲醇重结晶, 得黄色针状结晶化合物 V, F 份经甲醇重结晶, 得黄色针状结晶化合物 I。

1.2.2 细胞生长抑制率测定: 所有受试药及雌二醇均用二甲基亚砷溶解并稀释, 使得二甲基亚砷在药液中的终浓度小于 0.5%。前破骨细胞株 RAW 264.7 购于 American Type Culture Collection (ATCC), 细胞以 2×10^4 个/mL 密度接种于 96 孔板, 90 μ L/孔。过夜, 加入雌二醇以及受试化合物, 使其终浓度分别为 100、50、10、1、0.1 μ mol/L, 加入受试药 48 h 后, 每孔加入 5 mg/mL 的 MTT 10 μ L, 继续培养 4 h 后小心弃培养液, 然后每孔中加入 100 μ L DMSO, 于酶联免疫检测仪上 570 nm 波长处测各孔吸光度值(A), 细胞生长抑制率根据公式[抑制率 = $(A_T - A_C) / A_C \times 100\%$ (A_T : 受试药组的吸光度; A_C 对照组的吸光度)]计算。

2 结果

2.1 化合物的鉴定

化合物 I: 黄色针状结晶 (MeOH)。MS、 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据与文献报道的化合物淫羊藿苷 (icariin) 的数据基本一致^[7]。

化合物 II: 黄色针状结晶 (MeOH)。正离子 ESI-MS (m/z): 523 (M+Na)⁺, 501 (M+H)⁺; 负离子 ESI-MS (m/z): 499 (M-H)⁻。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, MeOD) δ : 7.79 (2H, d, $J=6.4$ Hz, H-2', 6'), 6.95 (2H, d, $J=6.4$ Hz, H-3', 5'), 6.26 (1H, s, H-6), 5.39 (1H, brs, Rha-H-1), 5.20 (1H, t, $J=5.2$ Hz, H-2''), 1.73, 1.68 (各为 3H, s, H-4'', 5''), 0.94 (3H, d, $J=8.8$ Hz, Rha-H-6)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOD) δ : 159.2 (C-2), 136.1 (C-3), 179.9 (C-4), 160.8 (C-5), 99.3 (C-6), 163.1 (C-7), 107.9 (C-8), 155.8 (C-9), 106.0 (C-10), 122.9 (C-1'), 131.9 (C-2'), 116.5 (C-3'), 161.6 (C-4'), 116.5 (C-5'), 131.9 (C-6'), 22.4 (C-1''), 123.8 (C-2''), 132.4 (C-3''), 25.9 (C-4''), 103.5 (Rha-C-1), 72.0 (Rha-C-2), 72.1 (Rha-C-3), 73.2 (Rha-C-4), 71.9 (Rha-C-5), 17.7 (Rha-C-6)。以上数据与文献报道的化合物宝藿苷 II (baohuoside II) 的数据基本一致^[7]。

化合物 III: 黄色针状结晶 (MeOH)。正离子 ESI-MS (m/z): 423 (M+H)⁺; 负离子 ESI-MS (m/z): 421 (M-H)⁻。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d-6) δ : 12.89 (1H, s, 5-OH), 10.76 (1H, s, 7-OH),

9.83 (1H, s, 4'-OH), 9.24 (1H, s, 3'-OH), 7.31 (1H, s, H-6'), 7.30 (1H, s, H-2'), 6.27 (1H, s, H-6), 6.60 (1H, s, H-3), 5.30 (1H, t, $J=8.2$ Hz, H-2''), 5.24 (1H, t, $J=6.8$ Hz, H-2'''), 3.43 (2H, d, $J=7.2$ Hz, H-1''), 3.28 (2H, d, $J=6.8$ Hz, H-1'''), 1.74 (3H, s, H-4''), 1.67 (6H, s, H-4''', 5'''), 1.60 (3H, s, H-5'')。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d₆) δ : 163.2 (C-2), 102.4 (C-3), 181.9 (C-4), 158.9 (C-5), 98.2 (C-6), 160.5 (C-7), 160.0 (C-8), 154.3 (C-9), 103.5 (C-10), 120.9 (C-1'), 110.7 (C-2'), 145.2 (C-3'), 147.4 (C-4'), 128.7 (C-5'), 118.9 (C-6'), 21.3 (C-1''), 118.9 (C-2''), 131.8 (C-3''), 25.5 (C-4''), 17.7 (C-5''), 28.1 (C-1'''), 122.2 (C-2'''), 130.3 (C-3'''), 25.4 (C-4'''), 17.7 (C-5''')。以上数据与文献报道的化合物朝藿素 B (epimedokoreanin B) 的数据基本一致^[7]。

化合物 IV: 黄色针状结晶 (MeOH)。正离子 ESI-MS (m/z): 537 (M+Na)⁺, 515 (M+H)⁺; 负离子 ESI-MS (m/z): 513 (M-H)⁻。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d-6) δ : 12.51 (1H, s, 5-OH), 10.86 (1H, s, 7-OH), 7.85 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-2', 6'), 7.12 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-3', 5'), 6.32 (1H, s, H-6), 5.27 (1H, d, $J=1.8$ Hz, Rha-H-1), 5.14 (1H, t, $J=6.8$ Hz, H-2''), 3.85 (3H, s, 4'-OMe), 1.66, 1.60 (均为 3H, s, H-4'', 5''), 0.78 (3H, d, $J=5.6$ Hz, Rha-H-6)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d₆) δ : 156.7 (C-2), 134.4 (C-3), 177.9 (C-4), 158.8 (C-5), 98.3 (C-6), 161.2 (C-7), 105.9 (C-8), 153.7 (C-9), 104.1 (C-10), 122.2 (C-1'), 130.4 (C-2'), 114.0 (C-3'), 161.6 (C-4'), 114.0 (C-5'), 130.4 (C-6'), 21.3 (C-1''), 122.3 (C-2''), 131.0 (C-3''), 25.4 (C-4''), 17.7 (C-5''), 56.5 (4'-OMe), 102.9 (Rha-C-1), 70.4 (Rha-C-2), 70.8 (Rha-C-3), 71.2 (Rha-C-4), 70.0 (Rha-C-5), 17.4 (Rha-C-6)。以上数据与文献报道的化合物宝藿苷 I (baohuoside I) 的数据基本一致^[7]。

化合物 V: 黄色针状结晶 (MeOH)。MS、 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据与文献报道的化合物金丝桃苷 (hyperoside) 的数据基本一致^[7]。

2.2 对前破骨细胞增殖的影响: 见图 1。在 0.1~100 μ mol/L 浓度内, 化合物 II 对前破骨细胞 RAW 264.7 的生长有一定程度的促进作用; 浓度为 0.1、1 μ mol/L 的化合物 I 对前破骨细胞 RAW 264.7 的生长有一定的抑制作用, 但随着浓度的升高, 转而表

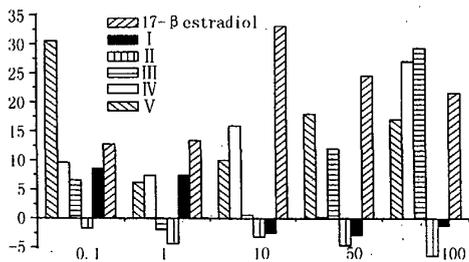


图 1 雌二醇及化合物 I ~ V 对 RAW 264.7 细胞增殖的影响

Fig. 1 Effects of 17β-estradiol and compounds I - V on proliferation of RAW 264.7

现为轻微的促进作用;浓度为 1.0、10 μmol/L 的化合物 II 对该细胞的增殖基本上没有什么影响,而其他浓度下,该化合物则对前破骨细胞 RAW 264.7 的增殖表现出明显的抑制作用;除个别浓度外,在 0.1~100 μmol/L 浓度内,化合物 IV 和 V 均对前破骨细胞 RAW 264.7 的生长表现出相当程度的抑制作用。如 0.1 μmol/L 的 V 对 RAW 264.7 的生长抑制率达到 30.5%,与雌二醇相当。

3 讨论

正常的骨重建依赖于骨吸收和骨形成之间的动态平衡,当破骨细胞的骨吸收功能超过成骨细胞的骨形成作用后,这一平衡将失调,从而导致骨质疏松或骨质破坏。所以,现阶段治疗骨质疏松主要从两方面入手,即抑制骨吸收和促进骨形成。体外成骨细胞的分离培养相对容易,纯度也高,而且目前也建立了一些成骨细胞系,如细胞 UMR 106,所以体外研究药物对骨形成作用的影响已比较成熟。破骨细胞是由骨髓单核细胞前体融合形成的具有骨吸收功能的多核巨细胞^[8],在骨代谢性疾病及某些溶骨性疾病的骨吸收及骨质破坏中起重要作用,由于破骨细胞的分离培养存在着难度大,技术水平要求高等因素的限制,直到 1982 年,Chamber 和 Magnus 才首次成功分离原代破骨细胞。而且原代分离得到的破骨细胞数量少、纯度低,因此,对破骨细胞细胞的研究明显滞后于其他细胞,同时也限制了对其分子水平的深入研究。破骨细胞的永生化是个世界难题,目前世界上尚没有成功建立破骨细胞系,但是已建立了一些前体破骨细胞系。例如,目前较多采用的是 Raschke 等于 1978 年采用艾贝尔逊(氏)小鼠白血病病毒(Abelson murine leukemia virus)转染淋巴细胞淋巴瘤建立的鼠源性单核巨噬细胞系 RAW 264.7。

本实验采用 RAW 264.7 细胞模型,首次研究

了 5 个淫羊藿单体黄酮对前体破骨细胞系 RAW 264.7 增殖的影响,得到以下结果:(1)黄酮类化合物对 RAW 264.7 的生长是促进还是抑制依赖于其自身的化学结构以及作用浓度;(2)单体黄酮对前体破骨细胞系 RAW 264.7 增殖的影响没有表现出浓度依赖性。可见,淫羊藿可能是通过黄酮类化合物抑制前体破骨细胞的增殖,进而抑制前体破骨细胞分化形成破骨细胞而发挥抗骨质疏松作用的。据文献报道,活性氧在骨改建中有如下作用:①增加破骨细胞数量^[9];②激活静止态的破骨细胞^[10];③直接参与骨基质的降解^[11];④拮抗破骨细胞的活性抑制物质^[12]。可见,淫羊藿的抗骨质疏松作用大概与其所含的黄酮类化合物的抗氧化性也是密切相关的。另外,单体黄酮对前体破骨细胞系 RAW 264.7 表现出的生物效应与雌激素是类似的,都没有表现出浓度依赖性,这与文献中报道雌激素的某些生理效应表现为 U 型效应也是一致的^[13,14]。当然,淫羊藿抗骨质疏松作用的物质基础以及机制,尚需要运用现代分子生物学手段进行深入的研究。

References:

- [1] Yu S, Chen K, Li S, et al. *In vitro* and *in vivo* studies of the effect of a Chinese herb medicine on osteoclastic bone resorption [J]. *Chin J Dent Res* (中国医疗器械研究), 1999, 2 (1): 7-11.
- [2] Ma H P, Jia Z P, Bai M H, et al. Influence of total flavonoids of *Herbá Epimedii* on the biochemical index of osteoporosis in rats [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2002, 18(6): 187-190.
- [3] Li Q N, Liao J M, Wu T, et al. *Epimedium sagittatum* Maxim preventing hormone RAW 264.7 induced osteoporosis in rats [J]. *Chin Pharm J* (中国药杂志), 1996, 31(8): 647-470.
- [4] Li Y, Ji H, Li P, et al. Effects of *Epimedium pubescens* flavonoids on osteoblasts *in vitro* [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2002, 33(1): 18-50.
- [5] Meng F H, Li Y B, Xiong Z L, et al. Osteoblastic proliferative activity of *Epimedium brevicornum* Maxim [J]. *Phytomedicine*, 2005, 12(3): 189-193.
- [6] Cai M L, Ji H, Li P, et al. Effects of five flavonoids isolated from *Epimedium pubescens* on osteoblasts *in vitro* [J]. *Chin J Nat Med* (中国天然药物), 2004, 4(2): 235-237.
- [7] Li W K. Study on the chemical constituents of *Epimedium koreanum* Nakai. and *Epimedium wanshanense* [A]. *Dissertation of Doctor Degree of Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College* (中国医学科学院 中国协和医科大学博士论文) [D]. Beijing: Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, 1995.
- [8] Zheng M H, Nicholson G C, Warton A, et al. What is new in osteoclast ontogeny? [J]. *Path Res Pract*, 1991, 187(1): 117-125.
- [9] Silenko I I, Mishohenko V P, Rokar D L, et al. The mechanism of the therapeutic effect of periodontal cytomedin on the course of experimental periodontitis [J]. *Stomatologiya (Mosk)*, 1991 (4): 13-15.

- [10] Ries W L, Key L L Jr, Rodriguez R M, *et al.* Nitroblue tetrazolium reduction and bone resorption by osteoclasts *in vitro* inhibited by a manganese based superoxide dimutase mimic [J]. *J Bone Miner Res*, 1992, 7(8): 931-939.
- [11] Li H Q, Xu S J, Li Y, *et al.* Damage of proteoglycan by reactive oxygen and the mineralization in the presence of proteoglycan [J]. *Acta Biochim Biophys Sin* (生物化学与生物物理学报), 1994, 26(3): 303-308.
- [12] Alam A S, Huang C L, Blake D, *et al.* A hypothesis for the local control of osteoclast function by Ca^{2+} , nitric oxides and free radicals [J]. *Biosci Rep*, 1992, 12(5): 369-380.
- [13] Merry J O, Oursler. Modulation of transforming TGF- β production in normal human osteoblast-like cells by 17- β estradiol and parathyroid hormone [J]. *Endocrinology*, 1991, 129(6): 3313-3320.
- [14] Kameda T. Estrogen inhibits bone resorption by directly inducing apoptosis of the bone resorption osteoclasts [J]. *J Exp Med*, 1997, 186(4): 489-495.

多管藻化学成分研究

柳全文^{1,3}, 李桂华¹, 刘珂^{2*}, 张婷⁴, 范晓^{3*}, 郭红艳¹

(1. 烟台师范学院化学与材料科学学院, 山东烟台 264025; 2. 烟台大学药学院, 山东烟台 264003; 3. 中国科学院海洋研究所, 山东青岛 266071; 4. 烟台师范学院生命科学学院, 山东烟台 264025)

摘要:目的 研究红藻多管藻 *Polysiphonia urceolata* 的化学成分。方法 采用硅胶、Sephadex LH-20 柱色谱、反相 HPLC 分离化合物, 运用波谱技术分析确定化合物结构。结果 从多管藻乙醇提取物的醋酸乙酯萃取层中分离得到 10 个化合物, 分别为 2, 2', 3, 3'-四溴-4, 4', 5, 5'-四羟基二苯甲烷(I)、2, 2', 3-三溴-3', 4, 4', 5-四羟基-6'-乙氧甲基二苯甲烷(II)、双-(2, 3-二溴-4, 5-二羟基苯基)-醚(III)、3-溴-4-(2, 3-二溴-4, 5-二羟基苯基)-5-甲氧甲基苯二酚(IV)、2, 3-二溴-4, 5-二羟基苯甲醇(V)、2, 3-二溴-4, 5-二羟基苯基甲基醚(VI)、3-溴-4-羟基苯甲酸(VII)、2-溴-4, 5-二羟基苯甲醛(VIII)、2, 3-二溴-4, 5-二羟基苯甲醛(IX)、3-溴-4, 5-二羟基苯甲醛(X)。结论 化合物 I ~ IV、VI、VII 均为首次从该属海藻中发现。

关键词:红藻; 多管藻; 结构鉴定

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)10-1462-04

Chemical constituents from *Polysiphonia urceolata*

LIU Quan-wen^{1,3}, LI Gui-hua¹, LIU Ke², ZHANG Ting⁴, FAN Xiao³, GUO Hong-yan¹

(1. College of Chemical and Material Science, Yantai Normal University, Yantai 264025, China; 2. School of Pharmacy, Yantai University, Yantai 264003, China; 3. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 4. College of Life Sciences Yantai-Normal University, Yantai 264025, China)

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents of red alga, *Polysiphonia urceolata*. **Methods** The compounds I - X were isolated by a combination of silica gel, Sephadex LH-20, and RP-HPLC chromatographies, and their structures were elucidated with spectroscopic methods including IR, MS, and NMR. **Results** Ten compounds were isolated from ethyl acetate extract of the red alga, *P. urceolata*. Their structures were identified as: 2, 2', 3, 3'-tetrabromo-4, 4', 5, 5'-tetrahydroxydiphenyl methane (I), 2, 2', 3-tribromo-3', 4, 4', 5-tetrahydroxy-6'-ethoxymethyl-diphenyl methane (II), bis (2, 3-dibromo-4, 5-dihydroxybenzyl) ether (III), 3-bromo-4-(2, 3-dibromo-4, 5-dihydroxybenzyl)-5-methoxymethylpyrocatechol (IV), 2, 3-dibromo-4, 5-dihydroxybenzyl alcohol (V), 2, 3-dibromo-4, 5-dihydroxybenzyl methyl ether (VI), 3-bromo-4-hydroxybenzoic acid (VII), 2-bromo-4, 5-dihydroxybenzaldehyde (VIII), 2, 3-dibromo-4, 5-dihydroxybenzaldehyde (IX), and 3-bromo-4, 5-dihydroxybenzaldehyde (X). **Conclusion** Compounds I - IV, VII and VIII are obtained from this alga species for the first time.

收稿日期: 2006-03-17

基金项目: 国家自然科学基金重点资助项目(29932030); 国家“863”高技术发展计划专项(2001AA620403); 烟台师范学院博士基金项目(20062901)

作者简介: 柳全文(1974-), 男, 博士, 从事新药研发和天然药物化学研究。 E-mail: qwliu2001@yahoo.com.cn

* 通讯作者 刘珂, 范晓