

表2 化合物 I、IV~VII 糖基部分¹³C-NMR数据
(C₅D₅N, 125 Hz)

Table 2 ¹³C-NMR Data for moieties of compounds I
and IV-VII (C₅D₅N, 125 Hz)

碳位	I	IV	V	VI	VII
Glc 1	102.9	100.5	100.8	100.9	100.7
2	75.7	77.7	78.4	78.6	78.2
3	79.0	78.0	78.3	78.3	78.1
4	72.0	77.3	78.6	78.5	77.2
5	78.9	77.1	77.5	77.5	77.8
6	63.2	62.8	61.8	61.7	63.1
Ara 1		109.9			110.2
2		83.0			83.3
3		78.2			78.5
4		87.0			87.2
5		61.7			62.0
Rha 1		102.3	102.6	102.7	102.5
2		72.8	73.1	73.0	73.4
3		73.1	73.3	73.4	73.0
4		74.5	74.5	74.7	74.7
5		69.8	70.0	70.1	70.1
6		19.0	19.0	19.2	19.2
Rha 1'			103.4	103.8	
2'			73.1	73.2	
3'			73.4	73.4	
4'			74.7	74.5	
5'			70.9	70.9	
6'			19.2	19.0	
Rha 1''				102.7	
2''				73.8	
3''				73.4	
4''				80.9	
5''				68.8	
6''				19.4	

在 Cateni F 等^[2]的报道中提到化合物 I 对鼻咽癌(KB)细胞具有很好的抑制性,并且当药物质量浓度在 20 μg/mL 时,其对 KB 细胞的抑制率就已经达到了 30%。另外,Huang Y^[7]认为该类化合物既可抑制肿瘤细胞的侵袭,也可以诱导一些肿瘤细胞的凋亡和分化,还可以防止细胞衰老等等。这些结果都表明重楼中抗肿瘤的活性成分除了以往报道的薯蓣或偏诺皂苷类化合物以外,可能还存在其他类型的化学成分。对此,还有待进一步地研究。

References:

- [1] Lou F C, Ma Q Y, Du F L, et al. Phytochemical study of *Lysimachia foenum-graecum* 1 [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 1989, 20(1): 37-39.
- [2] Cateni F, Zilic J, Falsone G, et al. Preliminary biological assay on cerebroside minixture from *Euphorbia nicaeensis* All. Isolation and structure determination of five glucocerebrosides [J]. *IL Farmco*, 2003, 58: 809-817.
- [3] Nobushige N, Yoshinori S, Masumi F, et al. Ecdysteroids from *Pfaffia iraffia* Iresinoide and reassignment of some ¹³C-NMR chemical shifts [J]. *Phytochemistry*, 1987, 26(9): 2505-2507.
- [4] Han X W, Yu H, Liu X M, et al. ¹H-NMR and ¹³C-NMR assignments of diosgenyl- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2) and (1 $\rightarrow$ 4)- β -D-glucopyranoside analogs [J]. *Chin J Magn Resonance* (波谱学杂志), 1999, 16(6): 542-546.
- [5] Kang L P, Ma B P, Zhang J, et al. Isolation and identification of steroidal saponins from *Paris polyphylla* Smith [J]. *Chin J Med Chem* (中国药物化学杂志), 2005, 15(1): 25-30.
- [6] Chen C X, Zhou J. The steroidal saponins of *Paris axialis* (2) [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 1987, 9(2): 239-245.
- [7] Huang Y, Yu Y N, Yang J. Advances in research of sphingolipids [J]. *J Zhejiang Univ: Med Sci* (浙江大学学报:医学版), 2005, 34(4): 375-379.

乌韭的化学成分研究

任冰如^{1,2},夏冰²,李维林²,吴菊兰²,张涵庆²

(1. 南京农业大学生命科学学院,江苏 南京 210095; 2. 江苏省中国科学院植物研究所 江苏省迁地保护重点实验室,江苏 南京 210014)

摘要:目的 研究乌韭 *Stenoloma chusanum* 全草的化学成分。方法 用硅胶、聚酰胺、Lichroprep RP-18、Sephadex LH₂₀ 等对乌韭的乙醇提取物进行分离,根据化学方法和波谱数据(ESI-MS、¹H-NMR、¹³C-NMR、DEPT、HSQC、HMBC)对分离所得的化合物进行结构鉴定。结果 分离并鉴定了 7 个化合物,分别为菰草苷(orientin, I)、菰草苷-2''-O- β -D-吡喃葡萄糖苷(orientin-2''-O- β -D-glucopyranoside, II)、牡荆素(vitexin, III)、芹素(apigenin, IV)、丁香酸(syringic acid, V)、香草酸(vanillic acid, VI)和龙胆酸(gentisic acid, VII)。结论 化合物 I、II、IV、VI、VII 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 乌韭;化学成分;菰草苷;龙胆酸

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)11-0020-04

收稿日期:2006-04-12

作者简介:任冰如(1964—),女,江苏宜兴人,研究员,在读博士,主要从事植物资源的研究。

Tel: (025)84347081 E-mail: renbingru@263.net

Chemical constituents of *Stenoloma chusanum*REN Bing-ru^{1,2}, XIA Bing², LI Wei-lin², WU Ju-lan², ZHANG Han-qing²

(1. College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Provincial Key Laboratory for Plant Ex Situ Conservation, Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China)

Key words: *Stenoloma chusanum* (Linn.) Ching in Sinensis; components; orientin; gentisic acid

乌韭 *Stenoloma chusanum* (Linn.) Ching in Sinensis 为陵齿蕨科乌蕨属植物, 又称大叶金花草, 全草或根状茎可作药用, 味微苦, 性凉, 无毒, 具清热、解毒、利湿、止血的功效。Ueno 等^[1]从乌韭叶分离得到牡荆素(vitexin)、丁香酸(syringic acid)、原儿茶醛(proto catechualdehyde)和原儿茶酸(proto catechuic acid), 为了进一步研究和发掘该植物的生物活性, 本实验对乌韭的化学成分进行了分离, 得到7个化合物, 用化学方法和波谱数据对各化合物进行了结构鉴定, 即荭草苷(orientin, I)、荭草苷-2''-O-β-D-吡喃葡萄糖苷(orientin-2''-O-β-D-glucopyranoside, II)、牡荆素(vitexin, III)、芹菜素(apigenin, IV)、丁香酸(syringic acid, V)、香草酸(vanillic acid, VI)和龙胆酸(gentisic acid, VII)。并对化合物I的碳、氢信号进行了归属。化合物I、II、IV、VI、VII为首次从该植物中分离得到。

1 仪器和材料

Reichert 型显微熔点测定仪。Packard 1100 MSD 型质谱仪。Varian Inova-400 型核磁共振仪(TMS 为内标)。硅胶(200~300、300~400 目)青岛海洋化工厂出品, 聚酰胺(100~200 目)为青岛海洋化学厂出品, Sephadex LH-20 为 Pharmacia Biotech 公司产品, Lichroprep RP-18(40~63 μm)为 Merck 公司产品。

乌韭全草采自浙江省富阳市, 原植物由江苏省中国科学院植物研究所郭荣麟研究员鉴定, 标本保存于江苏省中国科学院植物研究所标本馆。

2 提取和分离

乌韭全草干样 10 kg, 用 70% 工业酒精冷浸 2 次, 每次 7 d, 滤过, 滤液浓缩后, 取其中的 1/2 依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取, 所得醋酸乙酯部分经硅胶柱色谱分离, 石油醚-醋酸乙酯反复梯度洗脱, 得到化合物 IV、V 和 VI; 另 1/2 浓缩液经聚酰胺柱色谱分离, 水-乙醇梯度洗脱, 30% 乙醇洗脱部分浓缩后析出黄色粉末, 经 Lichroprep RP-18 色谱分离, 水-甲醇洗脱, 得化合物 I、II 和 III; 20% 乙醇洗脱部分经 Sephadex LH-20 凝胶滤过, 得化合物 VII。

3 结构鉴定

化合物 I: 黄色粉末(甲醇-水), mp 264 °C, 与 AlCl₃ 反应产生黄色荧光, 初步推断为黄酮类化合物。ESI-MS *m/z*: 447 (M-H) (100), 表明该化合物的相对分子质量为 448。利用 ¹H-NMR、¹³C-NMR、DEPT 谱、HSQC、HMBC 等波谱数据(表 1), 对化合物 I 的碳、氢信号进行了归属。DEPT 谱数据可见, δ 61.7 为 CH₂ 的碳信号, δ 119.5, 115.8, 114.2, 102.5, 98.3, 82.1, 78.9, 73.5, 70.9, 70.8 为 CH 的碳信号, δ 182.1, 164.2, 162.5, 160.5, 156.1, 149.7, 145.9, 122.2, 104.7, 104.2 为季碳信号。¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ: 13.16 (1H, s), 10.77 (1H, s, br), 10.00 (1H, s, br), 9.03 (1H, s, br) 为黄酮苷元上的 4 个酚羟基质子信号。7.48 (1H, d, *J*=1.8 Hz) 为 2'-H 信号, 6.86 (1H, d, *J*=8.3 Hz) 为 5'-H 信号; 7.53 (1H, dd, *J*=8.3, 1.8 Hz) 为 6'-H 信号; 6.63 (1H, s), 6.27 (1H, s) 分别为黄酮苷元上的另 2 个 H。由 HSQC 谱数据可见, 与 2'-H (δ 7.48) 相连的是 2'-C (δ 114.2), 与 5'-H (δ 6.86) 相连的是 5'-C (δ 115.8), 与 6'-H 相连的是 6'-C (δ 119.5)。5-OH 信号 (δ 13.16) 位于最低场, HMBC 谱显示它与 3 个碳有相关关系, 确定 3 个碳信号归属: 5-C (δ 160.5), 6-C (δ 98.3), 10-C (δ 104.2)。根据 HSQC 谱确定 6-H (δ 6.27)。HMBC 谱显示 6-H 与 5-C, 10-C 有相关关系, 还与另二个碳信号 (δ 162.5), (δ 104.7) 有相关关系, 归属为 7-C (δ 162.5) 和 8-C (δ 104.7), 7-C 上有 OH 相连, 8-C 则与糖基相连。显然, (δ 182.1) 是黄酮苷元上的羧基碳 4-C 的信号, HMBC 谱显示了 4-C 与 H (δ 6.63) 有相关关系, 故有 3-H (δ 6.63), 与之相连的是 3-C (δ 102.5)。从 HSQC 谱和 HMBC 谱看出, δ 122.2 为季碳信号, 与 3-H (δ 6.63) 和 5'-H (δ 6.86) 相关, 因处于较高场, 判断它不与 OH 相连, 因此为 1'-C (δ 122.2), δ 145.9, 149.7 都为季碳信号, 无相连的 H, 且处于较低场, 推测它们与 OH 连接。假设 δ 145.9 为 3'-C 信号, δ 149.7 为 4'-C 信号, HMBC 显示, 碳信号 δ 145.9 与 5'-H (δ 6.86), 2'-H (δ 7.48) 信号相

关,分别为 $^3J_{CH}$, $^2J_{CH}$,碳信号 δ 149.7与5'-H(δ 6.86),2'-H(δ 7.48)及6'-H(δ 7.53)信号相关,分别为 $^2J_{CH}$, $^3J_{CH}$ 和 $^3J_{CH}$,这一假设是合理的,即 δ 145.9为3'-C信号, δ 149.7为4'-C信号。

黄酮苷中糖的端基氢信号为1"-H(δ 4.68),与苷元上的碳信号7-C(δ 162.5),8-C(δ 104.7)相关,还与另一个苷元碳信号相关,将它归属为9-C(δ 156.1)。3-H(δ 6.63)与4-C(δ 182.1),1'-C(δ 122.2),10-C(δ 104.2)相关,还与另一个苷元碳信号相关,将该信号归属为2-C(δ 164.2)。在糖基信号中,端基氢信号为1"-H(δ 4.68,d, $J=9.7$ Hz),表明是 β -糖苷键,与端基氢相接的是1"-C(δ 73.5),判断苷元的8-H与糖基的1"-OH脱水形成C苷。由DEPT谱可, (δ 61.7)是CH₂的碳信号,即6"-C(δ 61.7),与6"-C相连的二个质子为6"-H(δ 3.55,3.81)。1"-H(δ 4.68)与糖基碳信号(δ 70.8),(δ 78.9)相关,分别为2"-C和3"-C,这两个碳分别连接2"-H(δ 3.35)和3"-H(δ 3.26),另外2个碳信号分别是4"-C(δ 70.9)和5"-C(δ 82.1),HMQC谱显示4"-H信号为 δ 3.85。

综上所述,化合物I的化学结构为3',4',5,7-四羟基黄酮-8-C- β -D-吡喃葡萄糖苷,即荭草苷,见文献^[2~4],化合物I的碳和氢信号的归属见表1。

表1 化合物I的 ^{13}C -NMR、 1H -NMR、HSQC、HMBC和DEPT(DMSO-d₆)数据(δ)

Table 1 ^{13}C -NMR, 1H -NMR, HSQC, HMBC, and DEPT (DMSO-d₆) (δ) Data of compound I

位置	^{13}C -NMR	1H -NMR (HSQC)	1H -NMR (HMBC)	^{13}C -NMR DEPT
4	182.1	—	6.63	C
2	164.2	—	6.63, 7.48	C
7	162.5	—	4.68, 6.27	C
5	160.5	—	13.16, 6.27	C
9	156.1	—	4.68	C
4'	149.7	—	6.68, 7.48, 7.53	C
5'	145.9	—	6.86, 7.48	C
1'	122.2	—	6.63, 6.86	C
6'	119.5	7.53	7.48	CH
5'	115.8	6.86	—	CH
2'	114.2	7.48	7.53	CH
8	104.7	—	4.68	C
10	104.2	—	6.27, 6.63, 13.16	C
3	102.5	6.63	—	CH
6	98.3	6.27	13.16	CH
5"	82.1	—	—	CH
3"	78.9	3.26	4.68	CH
1"	73.5	4.68	—	CH
4"	70.9	3.85	—	CH
2"	70.8	3.35	4.68	CH
6"	61.7	3.55, 3.82	—	CH ₂

化合物II:黄色粉末(甲醇-水),与AlCl₃反应产生黄色荧光,初步推断为黄酮类化合物。ESI-MS m/z 611.2(M+H)表示相对分子质量为610, m/z 449(M+H-162)为脱掉一个葡萄糖基的碎片离子,具有与化合物I相同的相对分子质量。 1H -NMR(300 MHz,DMSO-d₆) δ :13.14(1H,s),11.7(1H,s,br),9.8(1H,s,br),8.9(1H,s,br)为该黄酮类化合物上的4个OH的质子信号,6.23(1H,s,H-6),6.59(1H,s,H-3),7.45(1H,d, $J=2.1$ Hz,H-2'),6.87(1H,d, $J=8.9$ Hz,H-5'),7.50(1H,dd, $J=8.2,2.2$ Hz,H-6'),2.7~5.4(m)为葡萄糖基上的质子信号。 ^{13}C -NMR(75.0 MHz,DMSO-d₆) δ :182.00(C-4),163.97(C-2),162.62(C-7),160.67(C-5),156.28(C-9),149.59(C-4'),145.90(C-3'),122.22(C-1'),119.31(C-6'),115.80(C-5'),114.12(C-2'),105.24(C-8),104.00(C-10),102.71(C-3),98.21(C-6),81.74(C-5")为黄酮苷元上的碳信号,与化合物I的 ^{13}C -NMR信号相比较,化合物II与化合物I有相同的苷元。参照文献报道^[5],化合物II中与苷元直接相连的糖基,其碳谱信号(δ)可归属为71.6(C-1"),81.3(C-2"),78.6(C-3"),70.4(C-4"),82(C-5"),61.46(C-6");另一个糖基碳谱信号(δ)归属为103.7(C-1"),74.4(C-2"),76.0(C-3"),69.6(C-4"),76.3(C-5"),60.5(C-6")。以上分析结果表明,苷元的C-8与葡萄糖的C-1"相连,葡萄糖基的C-2"通过O与另一个葡萄糖的C-1"相连,将化合物II命名为3',4',5,7-四羟基黄酮-8-C- β -D-吡喃葡萄糖基-(2 $\rightarrow$ 1)-O- β -D-吡喃葡萄糖苷,即荭草苷-2"-O- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物III:黄色粉末(甲醇-水),mp 258~260℃。MS、 1H -NMR、 ^{13}C -NMR光谱数据经与文献报道^[6]谱学数据对照,确定化合物III为4',5,7-三羟基黄酮-8-C- β -D-葡萄糖苷,即牡荆素。

化合物IV:淡黄色粉末(石油醚-丙酮),mp > 300℃。MS、 1H -NMR、 ^{13}C -NMR光谱数据对照文献数据^[7],确定化合物IV为4',5,7-三羟基黄酮,即芹菜素。

化合物V:白色粉末(石油醚-醋酸乙酯),mp 200~201℃。MS、 1H -NMR、 ^{13}C -NMR光谱数据与文献数据^[8]对照,确定化合物V为3,5-二甲氧基-4-羟基-苯甲酸,即丁香酸。

化合物VI:白色粉末(石油醚-丙酮),mp 195~198℃。MS、 1H -NMR、 ^{13}C -NMR光谱数据对照文献数据^[9],确定化合物VI为3-甲氧基-4-羟基苯甲酸,

即香草酸。

化合物Ⅶ:淡黄色粉末(甲醇-水),mp 199℃。¹H-NMR、¹³C-NMR光谱对照文献数据^[10],确定化合物Ⅶ为2,5-二羟基苯甲酸,即龙胆酸。

References:

- [1] Ueno A, Oguri N, Hori K, et al. Pharmaceutical studies on ferns. 18. chemical components in leaves of *Sphenomeris chusana* Copel. and *Cyathea fau* Copel. [J]. *Jpn J Pharm*, 1963 (83): 420-422.
- [2] Mei W L, Qi S H, Wu G F, et al. Flavonoids from *Cinnamomum zeylanicum* [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 2001, 23(3): 394-396.
- [3] Kato T, Monrita Y. C-Glycosylflavones with acetyl substitution from *Rumex acetosa* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1990, 38 (8): 2277-2280.
- [4] Davoust D, Massias M, Molho D. ¹³C-NMR-Investigation of flavonoid C-β-D-glucosides detection of a conformational equilibrium [J]. *Org Magn Reson*, 1980, 13(3): 218-229.
- [5] Dong Y J, Dai B H, Zhang N X, et al. A study on flavonoids in hawthorn leaves [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 1996, 13(1): 31-33.
- [6] Chen Q, Wu L J, Ruan L J. Chemical studies on the constituents of *Lophatherum gracile* Brongn [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2002, 19(4): 257-259.
- [7] Jia L Y, Sun Q S, Huang S W. Isolation and identification of flavonoids from *Chrysanthemum morifolium* Ramat [J]. *Chin J Med Chem* (中国药物化学杂志), 2003, 13(3): 159-161.
- [8] Guo L N, Jiang L M, Wu L J, et al. Studies on the chemical constituents of the stems and leaves of *Acanthosax sessiliflorus* (Rupret Maxim.) Seem [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2002, 19(3): 180-182.
- [9] Gao H Y, Sui A L, Chen Y H, et al. Chemical constituents of *Dioscorea bulbifera* L [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2003, 20(3): 178-180.
- [10] Xie J B, Li P. Studies on phenolic acids from *Ilex purpurea* Hassk [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2002, 33(1): 76-77.

GPC法测定仙人掌多糖相对分子质量以及HPLC-ELSD法测定其单糖组成

金鑫^{1,2}, 赖凤英¹

(1. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510640; 2. 圣安娜饼屋(深圳)有限公司, 广东 深圳 518126)

多糖类的活性与其相对分子质量大小、聚合度、分支度以及溶液中高级构象等都有关系,多糖相对分子质量太大或太小均会引起活性的下降。因此,多糖的结构是其生物活性的基础,多糖的一级结构和高级结构与其生物活性间的构效关系是当前糖化学和糖生物学共同关注的焦点问题。多糖结构研究的主要内容有相对分子质量测定、多糖的单糖组成、糖苷键构型、聚合度、分支度等基本结构以及多糖的溶液构象等^[1]。本研究用热水提取的仙人掌粗多糖,提取液经Savag法脱蛋白后,采用Sephacryl S-400柱色谱纯化,得到仙人掌多糖(OP),经过高效凝胶渗透色谱和常压凝胶柱色谱分析表明,OP为均一多糖。

本实验对纯化后的仙人掌多糖组分OP的理化性质进行了研究,并利用凝胶渗透色谱法(GPC)测定仙人掌多糖OP的相对分子质量以及HPLC-ELSD分析其单糖组成。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂:米邦塔仙人掌:购于海南省仙科农业开发有限公司,晒干,磨粉备用。试验所用3,5-二硝基水杨酸、葡萄糖、苯酚、硫酸、氯仿、正丁醇、磷

酸二氢钾、茚三酮等均为分析纯。各种糖标准品:葡萄糖、鼠李糖、阿拉伯糖、蔗糖、麦芽糖、葡萄糖醛酸购于Fluka公司。Sephacryl S-400 HR凝胶填料:Amersham公司。Sephadex G-200凝胶填料:Pharmacia公司。

1.2 试验仪器:旋转蒸发仪,电热恒温水浴锅,Waters 2410示差折光检测器, Waters 717plus自动进样器, Waters 1525 HPLC泵,柱温箱, Alltech ELSD 2000蒸发光散射检测器, S21-6型电子恒温水浴锅, 80-2型离心机, HL-2A恒流泵, DBS-100电脑全自动部分收集器, Unico-UV21202PC紫外-可见分光光度计、WZZ-2A自动旋光仪。

1.3 仙人掌多糖OP的理化特性分析:观察仙人掌多糖OP的外观,测定OP的比旋光度、在不同溶液中的溶解度以及不同化学试剂的特异性反应。

1.4 凝胶渗透色谱法(GPC)测定多糖相对分子质量^[2]:色谱条件:TSK G-5000 PW×L凝胶柱, TSK G-3000 PW×L凝胶柱;流动相为0.02 mol/L KH₂PO₄溶液, pH 6.0;体积流量0.6 mL/min;柱温40℃;进样20 μL;标样为已知相对分子质量的葡聚

收稿日期:2006-05-26

作者简介:金鑫(1981—),女,硕士研究生,主要从事天然产物提纯分离及活性研究。

Tel:13751760520 E-mail:jxinemail@126.com