



图 4 GL-PPT₄ 酸水解样品 PMP 衍生物的 HPLC 色谱图

Fig. 4 HPLC Chromatogram of PMP derivatives of acid hydrolysates of GL-PPT₄

中提取分离出的多糖肽,系灵芝的活性成分之一。用柱前衍生化高效液相色谱法分析多糖中的单糖组成结果表明,3 种多糖肽均由 9 种单糖组成。经文献查新对比,灵芝多糖肽中单糖组成含有核糖为首次报道。这可能由于灵芝子实体表面附有灵芝孢子,在提取分离过程中,也带入孢子多糖肽所致。

从灵芝子实体中分离出灵芝活性成分,GL-PPT₂、GL-PPT₃ 和 GL-PPT₄ 的水解物与 PMP 衍生化,所得单糖衍生物具有很强的紫外吸收。采用高压液相 245 nm 紫外检测,使用等度洗脱方法,实现

较好的分离并具有良好的峰形,可以一次性完成由杂单糖组成多糖的分析工作。

References:

- [1] Lin Z B. *Modern Studies on Ganoderma* (灵芝的现代研究) [M]. Beijing: Peking Union Medical College, 2001.
- [2] Cao Q Z, Lin Z B. Antitumor and anti-angiogenic activity of *Ganoderma lucidum* polysaccharides peptide [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 2004, 25(6): 833-838.
- [3] Lin S Q, Wang S Z, Lin Z B, et al. Isolation and identification of active components of *Ganoderma lucidum* cultivated with grass and wood log I. Extraction, purification and characterization of glycopeptide [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(10): 872-874.
- [4] Yu S L. *HPLC Method and Application* (高效液相色谱方法及应用) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2000.
- [5] Zhang W J. *Biochemical Technology of Compound Polysaccharide* (复合多糖生化技术) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1987.
- [6] Wei Y A, Fang J N. Determination of homogeneity and molecular weight of polysaccharides by HPGPC [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1989, 24(7): 532-536.
- [7] Ma D Y, Chen J, Li P, et al. Analysis of monosaccharide compositions in polysaccharides by pre-column derivatization high performance liquid chromatography [J]. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 2002, 30: 702-705.

岷山红三叶草化学成分的研究

陈学福, 雋惠玲, 史高峰, 王金波

(兰州理工大学石油化工学院, 甘肃 兰州 730050)

红三叶 *Trifolium pratense* L. 又名红车轴、红花苜蓿、红荷兰翘翘等,为豆科三叶草属多年生草本植物,原产于小亚细亚与东南欧,广泛分布于温带及亚热带地区,我国也有大面积种植,主要分布于甘肃、湖北、重庆等地。民间用其花序煎剂治感冒和肺结核、祛痰、利尿和消炎,外敷治脓肿、烧伤和眼疾等,并有应用花、种子、植株及根部制膏、浸膏、糊剂、煎剂和泡茶饮用,来治疗肠胃疾病^[1]。近期研究发现,红三叶还具有抗癌,抗氧化,调节人体激素平衡,改善骨质疏松、妇女更年期综合征,清除自由基等作用^[2~4]。鉴于其独特的药理功效及广阔的应用前景,笔者对岷山红三叶草的化学成分进行了系统的分析和研究,从中分离得到 8 个化合物,运用现代波谱分析技术,确定其结构分别为:正二十四烷(tetra-

cosane, I)、十四烷酸(myristic acid, II)、β-谷甾醇(β-sitosterol, III)、胡萝卜苷(daucosterol, IV)、芒柄花素(formononetin, V)、鹰嘴豆芽素 A(biochanin A, VI)、芒柄花苷(ononin, VII)、D-3-甲氧基-手-肌醇(D-3-O-methyl-chiro-inositol, VIII)。其中化合物 I~IV 和 VIII 为首次从该植物中分离得到。

1 仪器和材料

X-4 型显微熔点测定仪,温度计未校正;Nexus 670 FT-IR 型傅里叶变换红外光谱仪;LCQ Deca XP plus 型质谱仪(ESI 源);Varian INOVA-400 型核磁共振波谱仪,TMS 为内标。色谱用硅胶(青岛海洋化工厂,160~200 目,200~300 目),薄层色谱硅胶 GF₂₅₄(青岛海洋化工厂)。岷山红三叶草由甘肃省岷县牧草研究所提供。

收稿日期:2006-06-18

作者简介:史高峰(1963—),男,博士,教授,现主要从事天然药物研究与开发、天然有机合成、生物化工等方面工作。

Tel:13109391608 E-mail:shigaofeng@lut.cn

2 提取与分离

取干燥红三叶草全草 2.5 kg, 粉碎, 用 60%~70% 工业乙醇浸泡 9 次, 合并渗漉液, 减压回收乙醇得浸膏 500 g。取浸膏 440 g 悬于 300 mL 水中, 分别用氯仿、醋酸乙酯、正丁醇萃取, 得到氯仿浸膏 36 g, 醋酸乙酯浸膏 62 g, 正丁醇浸膏 51 g。氯仿浸膏部分经硅胶柱色谱分离纯化得化合物 I (41 mg)、II (200 mg)、III (339 mg)、IV (23 mg)、V (125 mg); 醋酸乙酯浸膏部分经硅胶柱色谱分离纯化得 VI (58 mg)、VII (22 mg); 正丁醇浸膏部分经硅胶柱色谱分离纯化得化合物 VIII (5 389 mg)。

3 结构鉴定

化合物 I: 白色粉末 (CHCl₃-EtOAc), mp 48~50 °C。与二十四烷对照品混合熔点不下降, 其 IR、¹H-NMR、¹³C-NMR 光谱数据与正二十四烷的对照品结果一致, 化合物 I 被鉴定为正二十四烷。

化合物 II: 白色粉末 (CHCl₃-EtOAc), mp 52~54 °C。其 IR、MS、¹H-NMR、¹³C-NMR 光谱数据与文献值^[5]一致, 化合物 II 被鉴定为十四烷酸。

化合物 III: 无色针状结晶 (CHCl₃-EtOAc), mp 138~140 °C, Liebermann-Burchard 反应阳性, Molish 反应阴性, TLC 遇 H₂SO₄-乙醇显紫红色。做 TLC 对照, R_f 值及色斑相同, 并与对照品混合熔点不下降, 其 IR、MS、¹H-NMR、¹³C-NMR 光谱数据与文献值^[6]一致, 化合物 III 被鉴定为 β-谷甾醇。

化合物 IV: 白色固体 (CHCl₃-CH₃OH), mp 288~290 °C, Liebermann-Burchard 反应阳性。Molish 反应阴性, TLC 遇到 H₂SO₄ 乙醇显紫红色。其 IR、MS、¹H-NMR、¹³C-NMR 光谱数据与文献值^[7]一致。取化合物 IV 10 mg, 溶于 10 mL 50% 甲醇, 加入适量盐酸, 水浴回流至水解完全; 滤过, 苷元鉴定为 β-谷甾醇 (β-sitosterol); 水溶液浓缩后做 TLC 检查, 与 D-glucopyranose 的 TLC 对照, R_f 值及色斑相同, 化合物 IV 被鉴定为胡萝卜苷。

化合物 V: 无色针状结晶 (CHCl₃-CH₃OH), mp 257~258 °C。IR ν_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 129 (OH), 1 633 (C=O), 1 606, 1 566, 1 512 (苯环), 885 (孤立芳氢), 808 (邻二芳氢)。正离子 ESI-MS *m/z*: 269 [M+H]⁺, 提示相对分子质量为 268。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 3.77 (3H, s, OCH₃-4'), 6.86 (1H, d, *J*=1.8 Hz, H-8), 6.93 (1H, dd, *J*=8.7, 1.8 Hz, H-6), 6.94 (2H, dd, *J*=8.7, 1.8 Hz, H-3', 5'), 7.49 (2H, dd, *J*=8.7, 1.8 Hz, H-2', 6'), 7.96 (1H, d, *J*=8.7 Hz, H-5), 8.33 (1H, s, H-2), 10.80 (1H, s, OH-7)。

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ: 55.1 (OCH₃-4'), 102.1 (C-8), 113.6 (C-3', 5'), 115.2 (C-6), 116.6 (C-10), 123.1 (C-3), 124.2 (C-1'), 127.3 (C-5), 130.1 (C-2', 6'), 153.2 (C-2), 157.4 (C-9), 158.9 (C-4'), 162.6 (C-7), 174.6 (C-4)。其 IR、MS、¹H-NMR、¹³C-NMR 光谱数据与文献值^[8]一致, 化合物 V 被鉴定为 7-羟基-4'-甲氧基异黄酮 (7-hydroxy-4'-methoxyisoflavone), 即芒柄花素。

化合物 VI: 黄色针状结晶 (CHCl₃-CH₃OH), mp 215~216 °C。IR ν_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 386, 3 306 (OH), 1 653 (C=O), 1 620, 1 567, 1 515, 880, 829。正离子 ESI-MS *m/z*: 285 [M+H]⁺, 提示相对分子质量为 284。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 3.78 (3H, s, OCH₃-4'), 6.22 (1H, d, *J*=2.4 Hz, H-6), 6.39 (1H, d, *J*=2.4 Hz, H-8), 6.99 (2H, dd, *J*=9.0, 2.4 Hz, H-3', 5'), 7.49 (2H, dd, *J*=9.0, 2.4 Hz, H-2', 6'), 6.80 (1H, s, H-3), 8.36 (1H, s, H-2), 10.90 (1H, s, OH-7), 12.92 (1H, s, OH-5)。¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ: 154.3 (C-2), 121.9 (C-3), 180.1 (C-4), 162.0 (C-5), 99.0 (C-6), 164.3 (C-7), 93.7 (C-8), 157.6 (C-9), 104.5 (C-10), 122.9 (C-1'), 130.2 (C-2'), 113.7 (C-3'), 159.2 (C-4'), 113.5 (C-5'), 130.1 (C-6'), 56.0 (OMe)。其 IR、MS、¹H-NMR、¹³C-NMR 光谱数据与文献值^[9]一致, 化合物 VI 被鉴定为 5,7-二羟基-4'-甲氧基异黄酮 (5,7-dihydroxy-4'-methoxyisoflavone), 即鹰嘴豆芽素 A。

化合物 VII: 白色针状结晶 (CHCl₃-CH₃OH), mp 213~215 °C。IR ν_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 330 (OH), 2 896, 1 620 (C=O), 1 514, 1 446, 1 376, 1 252, 1 077, 838。正离子 ESI-MS *m/z*: 431 [M+H]⁺, 提示相对分子质量为 430。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 8.44 (1H, s, H-2), 8.06 (1H, d, *J*=8.7 Hz, H-5), 7.54 (2H, d, *J*=8.7 Hz, H-2', 6'), 7.23 (1H, d, *J*=2.1 Hz, H-8), 7.15 (1H, dd, *J*=8.7, 2.1 Hz, H-6), 6.99 (2H, d, *J*=8.7 Hz, H-3', 5'), 3.78 (3H, s, OCH₃-4'), 5.10 (1H, d, *J*=7.5 Hz, H-1'')。¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ: 153.4 (C-2), 123.7 (C-3), 174.8 (C-4), 127.0 (C-5), 115.6 (C-6), 161.4 (C-7), 103.4 (C-8), 157.1 (C-9), 118.5 (C-10), 122.3 (C-1'), 130.2 (C-2'), 115.1 (C-3'), 157.3 (C-4'), 115.0 (C-5'), 130.1 (C-6'), 56.0 (OMe), 100.0 (G-1''), 73.1 (G-2''), 76.5 (G-3''), 69.6 (G-4''), 77.2 (G-5''), 60.6 (G-6'')。取化合物 VII 10 mg, 溶于 10 mL 50% 甲醇, 加入适量盐酸, 水浴

回流至水解完全,滤过,苷元鉴定为 7-羟基-4'-甲氧基异黄酮(7-hydroxy-4'-methoxyisoflavone);水溶液浓缩后做 TLC 检查,与 *D*-glucopyranose 的 TLC 对照, Rf 值及色斑相同。其 IR、MS、¹H-NMR、¹³C-NMR 光谱数据与文献值^[10]一致,化合物 VII 被鉴定为 4'-甲氧基-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷异黄酮,即芒果花苷。

化合物 VIII:白色针状结晶(EtOAc-CH₃OH), mp 178~180 °C,易溶于水。IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}(\text{cm}^{-1})$: 3 379(OH), 2 933, 2 868, 1 462, 1 368, 1 022, 796。正离子 ESI-MS m/z : 195[M+H]⁺,提示相对分子质量为 194。¹H-NMR(400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 4.74, 4.64, 4.54, 4.49, 4.37(各 1H, m, OH-1, 2, 4, 5, 6), 2.98, 3.30, 3.34, 3.40, 3.46, 3.50(各 1H, m, H-3, 1, 2, 4, 5, 6), 3.60(3H, s, OCH₃)。 ¹³C-NMR(100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 72.6(C-6), 72.4(C-5), 72.0(C-1), 70.9(C-2), 70.1(C-4), 83.8(C-3), 59.7(OMe)。其 IR、MS、¹H-NMR、¹³C-NMR 光谱数据与文献值^[11]一致,化合物 VIII 被鉴定为 *D*-3-甲氧基-手-肌醇。

References:

[1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific

and Technical Publishers, 1997.

- [2] Beck V, Rohr U, Jungbauer A. Phytoestrogens derived from red clover: An alternative to estrogen replacement therapy [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2005, 94(5): 499-519.
- [3] Ingram D, Sander K, Clarke R. Case control study of phytoestrogens and breast cancer [J]. *Lancet*, 1997, 350: 990-994.
- [4] Kroyer G T. Red clover extract as antioxidant active and functional food ingredient [J]. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 2004, 5(1): 101-105.
- [5] Sadtler J W, Sease B, Zechmeister L, et al. *Infrared Grating Spectra* [M]. Washinton: US Government Printing Office, 1980.
- [6] Kojimah H, Sato N, Hatano A, et al. Sterol glucosides from *prunella vulgaris* [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29(7): 2351-2357.
- [7] Xiang Y, Wang H B, Wen Y Y. Studies on the chemical constituents of *Platycerium wallichii* Hook [J]. *J Trop Subtrop Bot* (热带亚热带植物学报), 2002, 10(1): 71-75.
- [8] Wang Z X, Ma Q F, He Q, et al. Studies on chemical constituents of *Astragalus* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1983, 14(3): 1-3.
- [9] Whalley J L, Oldfield M F, Botting N P. Synthesis of [4-¹³C]-isoflavonoid phytoestrogens [J]. *Tetrahedron*, 2000, 56: 455-460.
- [10] Barrero A F, Sanchez J F, Reyes F, et al. Resorcinol derivatives and other components of *ononis speciosa* [J]. *Phytochemistry*, 1989, 28(1): 161-164.
- [11] Beritmaier E, Voelter W. *Carbon-13 NMR Spectroscopy* [M]. New York: VCH Publishers, 1987.

蒲葵籽中有效化学成分的研究

刘志平¹, 崔建国^{1*}, 黄初升¹, 钟振国²

(1. 广西师范学院 化学系, 广西 南宁 530001; 2. 广西中医学院, 广西 南宁 530001)

蒲葵籽为棕榈科植物蒲葵的成熟果实,在民间常与土鸡、猪肉等蒸炖,用于治疗食道癌、白血病、绒毛上皮癌^[1]。国外加利福尼亚大学 Sartippour 和 Liu 等报道了蒲葵籽的提取物能抑制凝血细胞和癌细胞的生长^[2]。经文献检索,国内还没有发现有从蒲葵籽中提取、分离具有抗癌活性单体化合物的文献报道。为此,本实验对“蒲葵籽中有效活性成分进行分离并对其结构进行表征”,为开发利用广西丰富的蒲葵资源提供依据。

采用硅胶柱色谱、薄层色谱、重结晶等手段从蒲葵籽中分离出 11 个化合物,利用 ¹H-NMR、¹³C-NMR、IR、MS、UV 等手段鉴定了 7 个化合物,

其中 4 个为甾体化合物:β-谷甾醇(I)、豆甾醇(II)、薯蓣皂苷元(III)、β-胡萝卜苷(IV);2 个黄酮类化合物:小麦黄素(V)、芹菜素(VI);1 个直链脂肪醇:正二十六碳醇(VII)。其余化合物因量较少,结构复杂,还未鉴定出准确结构。同时蒲葵籽中富含鞣质,在空气中易被氧化变质,给大极性部分成分的分离工作带来极大困难。

采用 MTT 法对所分离的化合物进行抗肿瘤活性实验表明:化合物 III 对 4 种不同肿瘤细胞(白血病细胞株 P388、宫颈癌细胞株 HeLa、人胃癌细胞株 SGC 7901、人肝癌细胞株 Hele 7404)均有显著的抑制作用。

收稿日期:2006-07-12

基金项目:国家自然科学基金资助基金(30160095);广西自然科学基金(0135011);广西教育厅科学基金

作者简介:刘志平(1979-),男,山西中阳人,硕士研究生,从事有机天然产物的研究。

* 通讯作者 崔建国 E-mail: cuijg@public.nn.gx.cn