

19-环氧葫芦烷的母核和(23E)- $\Delta^{23,25}$ 共轭二烯侧链结构的新化合物,化合物 I a 和 I b 为 19 位羟基的对映异构体,化合物 II a 和 II b 为母核相同、3 位分别连有葡萄糖和阿洛糖的异构体。进一步的结构和活性测定还在进行中。

References:

- [1] Pan H, Zhao Y Q. Studies on the hypoglycemic constituents of *Momordica charantia* L. [J]. *Asia-Pacific Tradit Med* (亚太传统医药), 2006 (1): 65-72.
- [2] Chai R H, Xiao C Y, Zhao Y Q. Study on the hypoglycemic effect of the extract from *Momordica charantia* L. [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2007, 38(2): 27-29.
- [3] Si L H, Zhao Y Q. Isolation and identification of hypoglycemic constituents from *Momordica charantia* L. [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2004, 27(12): 922-923.
- [4] Pan H, Zhao Y Q. Studies on chemical constituents of *Momordica charantia* L. [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2007, 38(1): 10-12.
- [5] Dulcie A M, Vikash S, Roy O, et al. Cucurbitane triterpenoids from the leaves of *Momordica Foetida* L. [J]. *Phytochemistry*, 1997, 45(2): 391-395.
- [6] Kimura Y, Akihisa T, Yuasa N, et al. Cucurbitane-type triterpenoids from the fruit of *Momordica charantia* L. [J]. *J Nat Prod*, 2005, 68(5): 807-809.
- [7] Okabe H, Miyahara Y, Yamauchi T, et al. Studies on the constituents of *Momordica charantia* L. III. Isolation and characterization of new cucurbitacin glycosides of the immature fruits. (1). Structures of momordicosides G, F₁, F₂ and I. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1982, 30(11): 3977-3986.
- [8] Xiao Z Y, Chen D H, Si J Y, et al. Studies on chemical constituents of *Momordica charantia* L. [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(8): 571-573.
- [9] Yu D Q, Yang Q S. *Analytical Chemistry Handbook* (分析化学手册) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 1999.

朝鲜淫羊藿中的非黄酮类化合物

程 岩¹, 王新峦¹, 张大威¹, 王乃利^{1,2*}, 姚新生^{1,2}

(1. 沈阳药科大学 中药学院, 辽宁 沈阳 110016; 2. 深圳市创新中药及天然药物研究重点实验室, 广东 深圳 518057)

摘要:目的 研究朝鲜淫羊藿 *Epimedium koreanum* 的非黄酮类化学成分。方法 采用硅胶、Sephadex LH-20、ODS 柱色谱分离朝鲜淫羊藿干燥地上部分的非黄酮类化学成分;应用物理化学方法及 1D 和 2D NMR 方法分析确定化学结构;用 MTT 法检测化合物对大鼠骨肉瘤 UMR106 细胞增殖的影响。结果 从朝鲜淫羊藿水提取物中分离得到 2 个倍半萜类化合物和 2 个 9,10-二氢菲类化合物,分别鉴定为:3,7,11-三甲基-2,6-十二烯-1,10,11-三羟基-10(S)-O- β -D-吡喃葡萄糖苷(3,7,11-trimethyl-2,6-dodecadien-1,10,11-trihydroxy-10(S)-O- β -D-glucopyranoside, I), 淫羊藿苷 C₁(icariside C₁, II), 淫羊藿苷 A₅(icariside A₅, III), epimedoicarisoside A(IV)。结论 化合物 I 为新化合物,命名为淫羊藿苷 F(icariside F),化合物 III 为首次从该种植物中分离得到;化合物 I~IV 有促进 UMR106 细胞增殖的作用。

关键词:朝鲜淫羊藿;非黄酮类化合物;UMR106;淫羊藿苷 F

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)08-1135-04

Nonflavanoid compounds from *Epimedium koreanum*

CHENG Yan¹, WANG Xin-luan¹, ZHANG Da-wei¹, WANG Nai-li^{1,2}, YAO Xin-sheng^{1,2}

(1. School of Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China;

2. Key Laboratory for Research and Development of Traditional Chinese Medicine and Natural Medicine in Shenzhen, Shenzhen 518057, China)

Abstract: Objective To study the nonflavanoid constituents in the aerial part of *Epimedium koreanum*. **Methods** The constituents were isolated through column chromatography on silica gel, Sephadex LH-20, and ODS from the water extract of *E. koreanum*, and their structures were identified by physico-chemical methods and spectroscopic analysis. MTT Method was used to study the effects of the constituents on the proliferation of UMR106 cell in rats. **Results** Two sesquiterpenes and two 9, 10-dihydrophenanthrene derivatives were isolated from the water extract of *E. koreanum*. Their structures were identified as 3, 7, 11-trimethyl-2, 6-dodecadien-1, 10, 11-trihydroxyl-10(S)-O- β -D-glucopyranoside

收稿日期:2006-10-12

基金项目:国家自然科学基金委员会与香港研究资助局联合基金资助项目(30418007)

作者简介:程 岩(1980-),女,辽宁鞍山人,沈阳药科大学硕士研究生,课题方向朝鲜淫羊藿化学成分研究。

Tel:13130289717 E-mail:chengyan0677@163.com

* 通讯作者 王乃利 Tel:(0755)26957800 E-mail:wangnl@sz.tsinghua.edu.cn

(I), icariside C₁(II), icariside A₅(III), epimedoicarisoside A(IV). **Conclusion** Compound I is a new compound, named icariside F. Compound III is isolated from *E. koreanum* for the first time. Compounds II—IV show the proliferation-promoting activities on UMR106 cell.

Key words: *Epimedium koreanum* Nakai; nonflavonoids; UMR106 cell; icariside F

朝鲜淫羊藿 *Epimedium koreanum* Nakai 是小檗科淫羊藿属植物,主要分布于吉林东部和辽宁东部,黑龙江与吉林交界的地区也有少量分布。具有补肾阳、强筋骨、祛风湿作用^[1]。淫羊藿是很常用的一味补肾中药^[2,3],用于治疗包括骨质疏松在内的多种疾病,并且在治疗骨质疏松时是使用频率最高的中药之一。关于朝鲜淫羊藿化学成分已有很多报道,主要化学成分为黄酮类化合物,李文魁等^[4~8]先后从该植物中分离鉴定了21个黄酮类化合物和1个非黄酮类化合物,孙朋悦等^[9~11]从该植物中分离鉴定了13个黄酮类化合物和1个非黄酮类化合物,Miyase等^[12,13]从该植物中分离鉴定了10个非黄酮类化合物。除黄酮类化合物外,笔者对其非黄酮类化学成分进行了研究,从中得到4个非黄酮类化合物:淫羊藿苷 F(icariside F, I)、淫羊藿苷 C₁(icariside C₁, II)、淫羊藿苷 A₅(icariside A₅, III)、epimedoicarisoside A(IV)。其中化合物 I 为新化合物,化合物 III 为首次从该植物中分离得到,化合物 II~IV 有促进大鼠骨肉瘤 UMR106 细胞增殖的作用。

1 仪器与材料

紫外光谱用岛津 UV2401PC 光谱仪测定;旋光用 JASCO-1020 旋光仪测定;核磁共振用 Bruker Avance-400 超导核磁共振仪测定;质谱用 Bruker Esquire 2000 质谱仪测定;日本岛津分析、制备型高效液相色谱仪;柱色谱硅胶(100~140目,200~300目)、薄层色谱硅胶均为青岛海洋化工厂生产;Sephadex LH-20 为 Amersham Biosciences 公司生产;反相 ODS 填料为 Merck 公司生产;甲醇(色谱纯)为天津协和公司产品,其余试剂(分析纯)为天津永大试剂厂产品,水为双重蒸馏水。朝鲜淫羊藿采自辽宁新宾,由沈阳药科大学孙启时教授鉴定,标本保存于沈阳药科大学中药学院。

大鼠骨肉瘤 UMR106 细胞(American type culture collation, 序号 CRL-1661), DMEM 培养基、FBS(fetal bovine serum, 胎牛血清)和 0.5% 胰酶-5.3 mmol/L EDTA (10×)(美国 GIBCOBRL 公司),青霉素及链霉素(100×)(Invitrogen 公司),96 孔板和细胞培养皿(100 mm×20 mm)(FLACON 公司),MTT(Sigma 公司)。

2 提取和分离

朝鲜淫羊藿干燥地上部分 55 kg,用 10 倍量水加热提取 2 次,每次 2 h,经 D101 大孔吸附树脂柱色谱分离,分别用水、30%乙醇、50%乙醇和 95%乙醇梯度洗脱。取 50%乙醇洗脱部分浸膏 130 g 经硅胶柱色谱分离,氯仿-甲醇(98:2~0:1)梯度洗脱得到 16 个流份。流份 7 依次经 Sephadex LH-20、ODS 柱色谱分离,制备型 HPLC 纯化,分别得化合物 I (16.9 mg)、II (25.1 mg)、III (15 mg)、IV (12 mg)。

3 结构鉴定

化合物 I:黄色油状物, $[\alpha]_D^{20} - 26.4^\circ (c 1.0, \text{MeOH})$, Molish 反应阳性。正离子 ESI-MS 给出 m/z 441 $[M+Na]^+$, 279 $[M-162+Na]^+$, 负离子 ESI-MS 给出 m/z 417 $[M-H]^-$, 提示相对分子质量为 418,分子中含有一个六碳糖。结合 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 图谱确定化合物分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{38}\text{O}_8$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 400 MHz) 图谱显示 32 个氢信号,其中高场区 4 组单峰甲基信号 [δ 1.12(3H, s), 1.17(3H, s), 1.60(3H, s), 1.66(3H, s)] 表明其与季碳直接相连;偏低场区 δ 3.85(1H, dd, $J=11.7, 2.5$ Hz) 和 3.73(1H, dd, $J=11.7, 4.8$ Hz) 为糖 C-6 上的氢信号;低场区 δ 4.36(1H, d, $J=7.8$ Hz) 为糖端基氢信号, δ 5.28(1H, t, $J=6.5$ Hz) 和 5.15(1H, t, $J=6.5$ Hz) 为两个双键上的氢信号。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 100 MHz) 结合 DEPT135 图谱显示 21 根谱线,其中包括 3 个季碳信号,8 个叔碳信号,6 个仲碳信号和 4 个伯碳信号。 δ 106.4, 78.5, 77.9, 76.0, 71.4, 62.7 为糖上的碳信号,与已知化合物 icariside C₁^[11]对照,二者糖部分信号基本相同,确定所含糖为吡喃葡萄糖。糖端基质子的偶合常数为 7.8 Hz, 确定端基质子构型为 β 型。综合 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据、分子式和不饱和度,可以推测该化合物为倍半萜类化合物,结构中含有 2 个羟基。 $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY 图谱中氢信号 δ 2.08 和 5.15, 2.00; δ 5.28 和 4.09; δ 3.56 和 1.38; δ 2.17 和 1.48 之间存在明显的相关信号,结合 HSQC 图谱,可推出结构中含有如下的碳骨架片段; $\text{C}_6-\text{C}_5-\text{C}_4, \text{C}_2-\text{C}_1, \text{C}_{10}-\text{C}_9-\text{C}_8$ 。HMBC 谱中,可见 δ 4.36 葡萄糖端基氢信号和 δ 90.3 的碳信

号有远程相关,H-13 和 C-2,C-3,C-4;H-14 和 C-6,C-7,C-8;H-15 和 C-12;H-12 和 C-10,C-11,C-15 之间有远程相关,由此推出化合物 I 的平面结构为 3,7,11-三甲基-2,6-十二烯-1,10,11-三羟基-10-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷。结构中有一手性碳原子 C-10,结合化合物的旋光值 $[\alpha]_D^{20} - 26.4^\circ (c 1.0, \text{MeOH})$ 和只有一个手性碳原子的特点,并参考相关文献^[11]确定 C-10 为 *S* 构型。综合上述分析,确定化合物 I 的结构为 3,7,11-三甲基-2,6-十二烯-1,10,11-三羟基-10(*S*)-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷(图 1)。

表 1 化合物 I 的 NMR 数据(δ , CD₃OD)

Table 1 NMR Spectral data of compound I (δ , CD₃OD)

序号	¹³ C-NMR	¹ H-NMR	HMQC	HMBC
1	59.5	4.09 (2H,d, <i>J</i> =6.5 Hz)	4.09	
2	125.1	5.28 (1H,t, <i>J</i> =6.5 Hz)	5.28	4.09 (H-1),2.00 (H-4),1.66 (H-13)
3	139.3			4.09 (H-1),2.00 (H-4),1.66 (H-13)
4	40.7	2.00 (2H,t, <i>J</i> =7.3 Hz)	2.00	1.66 (H-13)
5	27.2	2.08 (2H,m)	2.08	2.00 (H-4)
6	125.8	5.15 (1H,t, <i>J</i> =6.6 Hz)	5.15	1.60 (H-14)
7	136.2			1.60 (H-14)
8	36.9	2.17 (2H,m)	2.17	5.15 (H-6),3.56 (H-10),1.60 (H-14)
9	30.7	1.38 (1H,m),1.48 (1H,m)	1.38	
			1.48	3.56 (H-10)
10	90.3	3.56 (1H,m)	3.56	1.17 (H-12),1.12 (H-15),4.36 (glc-H-1)
11	74.8			3.56 (H-10),1.17 (H-12),1.12 (H-15)
12	23.8	1.17 (3H,s)	1.17	3.56 (H-10),1.12 (H-15)
13	16.2	1.66 (3H,s)	1.66	5.28 (H-2)
14	16.1	1.60 (3H,s)	1.60	5.15 (H-6)
15	26.4	1.12 (3H,s)	1.12	1.17 (H-12)
Glc-1	106.4	4.36 (1H,t, <i>J</i> =7.8 Hz)	4.36	3.56 (H-10)
Glc-2	76.0	3.23 (1H,m)	3.23	
Glc-3	78.5	3.35 (1H,m)	3.35	3.23 (glc-H-2),3.34 (glc-H-4)
Glc-4	71.4	3.34 (1H,m)	3.34	3.35 (glc-H-3)
Glc-5	77.9	3.25 (1H,m)	3.25	
Glc-6	62.7	3.85 (1H,dd, <i>J</i> =11.7,2.5 Hz)	3.85	
		3.73 (1H,dd, <i>J</i> =11.8,4.8 Hz)	3.73	

子 ESI-MS 给出 $m/z 417[M-H]^-$,提示相对分子质量为 418,结合 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 图谱推测分子式为 C₂₁H₃₈O₈。以上数据与文献数据^[12]对照基本一致,确定化合物 II 为淫羊藿苷 C₁。

化合物 III:白色粉末, $[\alpha]_D^{20} - 23.4^\circ (c 1.0, \text{MeOH})$,UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm:314,280,213。正离子 ESI-MS 给出 $m/z 487[M+Na]^+$,325 $[M-162+Na]^+$;负离子 ESI-MS 给出 $m/z 463[M-H]^-$,提示相对分子质量为 464,结合 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 图谱推测分子式为 C₂₃H₂₈O₁₀。以上数据与文献数据^[13]对照基本一致,确定化合物 III 为淫羊藿苷 A₅。

化合物 IV:白色粉末, $[\alpha]_D^{20} - 13.2^\circ (c 1.0, \text{MeOH})$ 。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm:312,281,215。正离子 ESI-MS 给出 $m/z 501[M+Na]^+$,提示相对分子质量为

根据 HSQC 和 HMBC 图谱,对该化合物的全部碳信号和氢信号进行了归属(表 1)。经 SciFinder 网络检索,未发现相关报道,表明这是一个新的倍半萜类化合物,命名为淫羊藿苷 F。

化合物 II:黄色油状物, $[\alpha]_D^{20} - 17.9^\circ (c 1.0, \text{MeOH})$,正离子 ESI-MS 给出 $m/z 441[M+Na]^+$,279 $[M-162+Na]^+$;负离

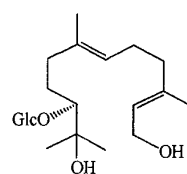


图 1 化合物 I 的化学结构式

Fig. 1 Structure of compound I

478,结合 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 图谱推测分子式为 C₂₄H₃₀O₁₀。以上数据与文献数据^[8]对照基本一致,确定化合物 IV 为 epimedoicarisoside A。

4 细胞活性实验

细胞培养:UMR106 细胞培养于含有 5%FBS、100 U/mL 青霉素、100 mg/L 链霉素的 DMEM 培养液中,置 37 ℃ 含有 5% CO₂ 的细胞培养箱中培养。当细胞生长达到 80%融合度时,用 0.05% EDTA-0.53 mmol/L 胰酶消化传代或接种。

活性测定:UMR106 细胞以 3×10⁴/mL 的密度接种于 96 孔板(每孔 10 μL),5% FBS-DMEM 培养液培养 24 h;弃去培养液,换成无血清培养液再培养 24 h;加入无血清 DMEM 溶解的不同浓度的供试样品培养,每个浓度 4 个复孔;24 h 后每孔加

入5 g/L MTT溶液10 μ L避光培养4 h;加入100 μ L DMSO溶解形成甲臍,于570 nm测定吸光度值。以10 μ g/L胰岛素样生长因子-I(IGF-I)作为阳性对照。细胞的增殖情况用增殖率表示[增殖率=($A_{\text{样品}}/A_{\text{对照}}$ - 1) $\times$ 100%],结果以Student's *t* 检验其统计学意义。

化合物 I ~ IV 对大鼠 UMR106 增殖影响见表 2。化合物 II ~ IV 有促进 UMR106 细胞增殖的作用。

表 2 化合物 I ~ IV 对 UMR106 细胞增殖的影响($n=4$)

Table 2 Effects of compounds I ~ IV on proliferation of UMR106 cells ($n=4$)

组别	C/(μ mol $\cdot$ L $^{-1}$)	A	增殖率/%
对照	—	0.580 $\pm$ 0.012	—
IGF-1	10 ng $\cdot$ mL $^{-1}$	0.653 $\pm$ 0.051	12.63**
化合物 I	20	0.584 $\pm$ 0.014	0.69
	10	0.583 $\pm$ 0.021	0.52
	1	0.567 $\pm$ 0.022	—
	0.1	0.578 $\pm$ 0.023	—
	0.02	0.572 $\pm$ 0.015	—
对照	—	0.563 $\pm$ 0.016	—
IGF-1	10 ng $\cdot$ mL $^{-1}$	0.655 $\pm$ 0.017	16.44**
化合物 II	20	0.647 $\pm$ 0.012	14.91**
	10	0.638 $\pm$ 0.013	13.43**
	1	0.660 $\pm$ 0.025	17.19**
	0.1	0.729 $\pm$ 0.028	29.48**
	0.02	0.701 $\pm$ 0.035	24.51**
化合物 III	20	0.548 $\pm$ 0.030	—
	10	0.566 $\pm$ 0.015	0.53
	1	0.586 $\pm$ 0.042	4.14
	0.1	0.625 $\pm$ 0.018	11.06**
	0.02	0.617 $\pm$ 0.021	9.64**
化合物 IV	20	0.615 $\pm$ 0.007	9.34**
	10	0.601 $\pm$ 0.014	6.74*
	1	0.618 $\pm$ 0.024	9.86**
	0.1	0.649 $\pm$ 0.009	15.33**
	0.02	0.684 $\pm$ 0.018	21.50**

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group

致谢:本研究项目为国家自然科学基金委员会

与香港研究资助局联合科研资助项目,同时也得到了深圳市政府的资助。本课题在深圳中药及天然药物研究中心完成,核磁共振谱由该中心张雪测定,质谱由该中心唐金山测定。

References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 2001.
- [2] An S J. Effect of kidney-tonifying herbs on ovary function and bone mass in postmenopausal women [J]. *Chin J Osteoporosis*, 2000, 6(2): 55-59.
- [3] Wang J S. Clinical study of treatment of female osteoporosis with Yishen Jiangu Pills [J]. *Chin J Osteoporosis*, 1997, 3(4): 61-63.
- [4] Li W K, Xiao P G, Zhang P Y, et al. The chemical constituents of *Epimedium koreanum* Nakai [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 1994, 6(3): 4-8.
- [5] Li W K, Xiao P G, Zhang P Y, et al. The chemical constituents of *Epimedium koreanum* Nakai (I) [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 1994, 6(4): 12-18.
- [6] Li W K, Xiao P G, Pan J Q, et al. The chemical constituents of *Epimedium koreanum* Nakai (II) [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 1995, 30(8): 455-456.
- [7] Li W K, Xiao P G, Liao M C, et al. Isolation and structure of caohuoside E [J]. *Chem J Chin Univ* (高等学校化学学报), 1995, 16(12): 1892-1895.
- [8] Li W K, Pan J Q, Lu M J, et al. A 9, 10-dihydrophenanthrene derivate from *Epimedium koreanum* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 39(1): 231-233.
- [9] Sun P Y, Xu Y, Wen Y, et al. The chemical constituents of *Epimedium koreanum* Nakai I [J]. *Chin J Med Chem* (中国药物化学杂志), 1998, 8(2): 122-125.
- [10] Sun P Y, Xu Y, Wen Y, et al. The chemical constituents of *Epimedium koreanum* Nakai I [J]. *Chin J Med Chem* (中国药物化学杂志), 1998, 8(4): 281-284.
- [11] Sun P Y, Xu Y, Wen Y, et al. The chemical constituents of *Epimedium koreanum* Nakai [J]. *Acta Pharm Sin* (药理学学报), 1998, 33(12): 919-922.
- [12] Miyase T, Ueno A, Takizawa N, et al. Studies on the glycosides of *Epimedium grandiflorum* Morr. var. *thunbergianum* (Miq.) Nakai I [J]. *Chem Pharm Bull*, 1987, 35(3): 1109-1117.
- [13] Miyase T, Ueno A. Ionone and bibenzyl glycosides from *Epimedium grandiflorum* var. *thunbergianum* [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(5): 1727-1728.

沉香化学成分研究(II)

刘军民,高幼衡*,徐鸿华,徐梓勤**

(广州中医药大学中药学院,广东 广州 510405)

摘要:目的 研究沉香药材中 2-(2-苯乙基)色酮类成分。方法 采用色谱技术进行分离纯化,通过理化常数和波谱分析鉴定化合物的结构。结果 从沉香乙醇提取物中分得 1 个色酮成分 6-羟基-2-[2-(3'-甲氧基-4'-羟基苯乙

收稿日期:2006-09-10

作者简介:刘军民(1973—),女,副研究员,主要从事中药资源的开发与利用研究。 E-mail:liujunmin812@163.com

* 通讯作者 高幼衡 Tel:(020)39358083

** 为广州中医药大学 2002 级本科生