



图1 化合物的结构式

Fig 1 Structure of compound

为临床应用地稔提供科学依据。

参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海人民出版社, 1977.
- [2] 程剑华, 李以镇. 抗癌植物药及其验方 [M]. 南昌: 江西科学技术出版社, 1998.
- [3] 唐迈, 廖宝珍, 林绥, 等. 地稔化学成分的研究 () [J]. 中草药, 2008, 39(8): 1149-1151.

- [4] 薛 芊, 郭美丽, 张 戈. 青箱子化学成分的研究 [J]. 药学服务与研究, 2006, 6(5): 345-347.
- [5] 吴 学, 韩荣弼, 罗惠善, 等. 关苍术化学成分的研究 [J]. 延边大学学报, 2004, 30(1): 29-34.
- [6] Li Y S, Wang Z T, Zhang M. Study on the terpene compounds from *Ligularia kanaitaensis* [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2002, 11(3): 115.
- [7] Makharm K R, Ternai B, Stanley R, et al. Carbon-13 NMR studies of flavonoids naturally occurring flavonoid glycosides and their acylated derivatives [J]. *Tetrahedron*, 1978, 34: 1389.
- [8] Gnabre J, Huang R C C, Bates R B, et al. Characterization of anti-HIV lignans from *Larrea tridentata* [J]. *Tetrahedron*, 1995, 51: 12203-12210.
- [9] Wang Y, Hamburger M, Gueho J, et al. Antimicrobial flavonoids from *Psiadia trinervia* and their methylated and acetylated derivatives [J]. *Phytochemistry*, 1989, 28(9): 2323-2327.
- [10] 陈炎明, 陈 静, 俞桂新. 苍术化学成分和药理活性研究进展 [J]. 上海中医药大学学报, 2006, 20(4): 95-98.

红芪化学成分和抗肿瘤活性研究

李云志^{1,2}, 黄 静^{2*}, 郭弘川², 任 波³

(1. 安徽农业大学 茶叶生物化学与生物技术教育部重点实验室, 安徽 合肥 230036; 2. 四川大学华西药学院, 四川 成都 610041; 3. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 610075)

摘要:目的 研究红芪 *Hedysarum polybotrys* 的化学成分和生物活性。方法 采用硅胶柱色谱, Sephadex LH-20 分离化学成分, 根据波谱数据和理化性质确定化学结构; MTT 法测定化合物对人肝癌细胞系 Hep G2 的体外抑制作用, 用半数抑制浓度 (IC₅₀) 评价其抗肿瘤活性。结果 共分离鉴定了 11 个化合物, 分别为正二十四烷酸 ()、正二十六烷酸 ()、三油酸甘油酯 ()、单棕榈酸甘油酯 ()、3-甲氧基-4-羟基-反式苯丙烯酸正十六醇酯 (阿魏酸正十六醇酯,)、丁香脂素 ()、7-羟基-4'-甲氧基异黄酮 ()、异甘草素 ()、3-羟基-9-甲氧基紫檀烷 ()、β-谷甾醇 ()、胡萝卜苷 ()。化合物 对 Hep G2 的 IC₅₀ 为 10.69 μmol/L。结论 化合物 ~ 、 为首次从该植物中得到; 首次研究化合物 的抗肿瘤活性, 结果显示其对 Hep G2 具有一定的细胞毒性。

关键词: 红芪; 抗肿瘤活性; Hep G2

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)08-1195-04

Chemical constituents from *Hedysarum polybotrys* and their antitumor activities

LI Yun-zhi^{1,2}, HUANG Jing², GUO Hong-chuan², REN Bo³

(1. Key Laboratory of Tea Biochemistry and Biotechnology, Ministry of Education, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China; 2. West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 3. School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China)

Abstract: **Objective** To investigate the chemical constituents in *Hedysarum polybotrys* and their antitumor activities. **Methods** The chemical constituents were isolated by various column chromatographic methods, and their structures were elucidated mainly by NMR and MS evidences; Cytotoxicities of the purified compounds against human cancer cell lines Hep G2 were evaluated by MTT method. **Results** Eleven compounds were isolated and identified as: *n*-tetracosanoic acid (), *n*-hexacosanoic acid (), trioleic

* 收稿日期: 2009-02-17

作者简介: 李云志, 男, 安徽铜陵人, 四川大学华西药学院博士, 现在安徽农业大学茶叶生物化学与生物技术教育部重点实验室工作, 主要从事天然药物化学研究。 Tel: 15155518613 E-mail: yun126126@ahau.edu.cn

* 通讯作者 黄 静 Tel: (028) 85503045

glyceride (), glycerol monopalmitate (), cetyl ferulate (), (+)syringaresinol (), 7-hydroxy-4'-methoxyisoflavane (), isoliquiritigenin (), 3-hydroxy-9-methoxypterocarpan (), β -sitosterol (), and daucosterol (). **Conclusion** Compounds — and are isolated from this plant for the first time. Compound shows the inhibitory activity on Hep G2 with IC_{50} values of 10.69 μ mol/L.

Key words: *Hedysarum polybotrys* Hand.-Mazz.; antitumor activities; Hep G2

红芪 *Hedysarum polybotrys* Hand.-Mazz. 为豆科岩黄芪属植物^[1],《中国药典》2000年版收载的常用中药红芪为多序岩黄芪的根,因与黄芪药效相近,所以在我国很多地区特别是西南、西北地区有以红芪代黄芪入药的习俗。为明确红芪中的化学成分和生物活性,本实验从石油醚萃取部分分离得到11个化合物,分别鉴定为正二十四烷酸(π tetracosanoic acid,),正二十六烷酸(π hexacosanoic acid,),三油酸甘油酯(trioleic glyceride,),单棕榈酸甘油酯(glycerol monopalmitate,),3-甲氧基-4-羟基-反式苯丙烯酸正十六醇酯(阿魏酸正十六醇酯,cetyl ferulate,),丁香脂素[(+)syringaresinol,],7-羟基-4'-甲氧基异黄酮(7-hydroxy-4'-methoxyisoflavane,),异甘草素(isoliquiritigenin,),3-羟基-9-甲氧基紫檀烷(3-hydroxy-9-methoxypterocarpan,), β -谷甾醇(β -sitosterol,),胡萝卜苷(daucosterol,),化合物 ~ 、为首次从该植物中得到。化合物 为紫檀烷类化合物,采用MTT法测定其对Hep G2的 IC_{50} 为10.69 μ mol/L,表明其对Hep G2具有一定的细胞毒活性。

1 仪器和材料

Fisher—Johns型显微熔点仪(温度计未校正),Bruker AC—E 200和Varian^{UNITY} INOVA 400/54核磁共振仪;API 3000 LC-MS/MS(三级四极杆液相色谱质谱联用仪);硅胶G、色谱硅胶H、硅胶(100~200目和200~300目,青岛海洋化工厂)。5500酶标仪(美国BIO-rad公司);ZW—A定时微量振荡器(富华仪器有限公司);XD—101倒置显微镜(南京江南光电有限公司);B1—220A生物显微镜(麦克奥迪实业集团有限公司);Hep G2细胞株购自ATCC;DMEM与胎牛血清购自Gibco;MTT,Sigma产品。

多序岩黄芪于2005年10月购自成都市五块石中药材市场,由四川彭州药品检验所张文锦副主任药师鉴定为多序岩黄芪 *H. polybotrys*,标本保存于四川大学华西药学院天然药物化学教研室。

2 提取和分离

取干燥的多序岩黄芪1.5 kg粉碎,95%乙醇加

热回流提取3次(每次2 h),合并提取液,浓缩液挥去乙醇后,加入一定量的水分散,依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取。石油醚萃取液浓缩得浸膏12.5 g。经反复硅胶柱色谱及Sephadex LH-20、薄层制备等方法得到化合物(505 mg)、(35 mg)、(37 mg)、(7 mg)、(8 mg)、(15 mg)、(9 mg)、(2 mg)、(29 mg)、(22 mg)、(39 mg)。

3 抗肿瘤活性测定

Hep G2细胞使用DMEM培养基,10%胎牛血清,1%抗生素(10 000 U/mL青霉素,10 000 U/mL链霉素)在含5%CO₂孵箱中于37℃培养。细胞生长至80%时传代,使细胞保持在对数生长期。取化合物单体用DMSO配制10~100 mmol/L的溶液作为储备液。MTT用PBS溶液配成5 mg/mL的母液,于4℃避光保存。受试药物加入96孔板(终浓度分别为2.5、5、10、20、40 μ mol/L),放置于上述同样条件(饱和湿度,37℃,5%CO₂)下的培养箱中再培养48 h。在96孔培养板的每一个孔中加入200 μ L生长良好的Hep G2(约含有10 000个细胞),培养过夜后加入不同浓度的供试样品,每组平行设4个复孔,同时设空白对照(加等体积DMSO),在37℃、5%CO₂条件下继续培养48 h。然后,每孔加入20 μ L的MTT溶液(5 mg/mL)继续培养4 h。离心弃去培养液,染色的细胞用DMSO(150 μ L/孔)溶解,待结晶完全溶解后,用酶标仪于570 nm处测吸光度(A)值。

4 结构鉴定

化合物 :白色片状结晶(石油醚-丙酮),mp 83~85℃。ESFMS m/z : 367, [M-H]⁻。¹H-NMR(CDCl₃, 400 MHz) δ : 0.88 (3H, t, J = 6.4 Hz, -CH₃), 1.25 (brs, n $\times$ CH₂), 1.65 (2H, m), 2.34 (2H, t, J = 7.2 Hz, -CH₂-COOH), 由以上理化性质和波谱数据鉴定为正二十四烷酸。

化合物 :白色片状结晶(石油醚-丙酮),mp 70~71℃。ESFMS m/z : 395, [M-H]⁻;¹H-NMR(CDCl₃, 400 MHz) δ : 0.88 (3H, t, J = 6.4 Hz, -CH₃), 1.25 (brs, n $\times$ CH₂), 1.65 (2H, m), 2.34 (2H, t, J = 7.6 Hz, -CH₂-COOH), 由以上理化性质

和波谱数据鉴定为正二十六烷酸。

化合物 : ES+MS m/z : 885 $[M + H]^+$ 。
 1H -NMR($CDCl_3$, 400 MHz) δ : 5.35 (6H, m), 5.27 (1H, m), 4.31 (2H, dd, $J = 4.4, 12.0$ Hz), 4.13 (2H, dd, $J = 6.0, 11.6$ Hz), 2.31 (6H, t, $J = 7.8$ Hz), 2.02 (12H, m), 1.61 (6H, m), 1.29 (nH, m), 0.88 (9H, t, $J = 6.8$ Hz)。 ^{13}C -NMR($CDCl_3$, 100 MHz) δ : 130.2, 129.9, 129.9, 129.6, 128.0, 127.9 归属为 6 个烯碳, 68.8 归属为 C-2, 62.1 为重叠的两个碳信号, 为 C-1, 3, 其余为脂肪碳信号。上述波谱数据与文献报道^[2]基本一致, 故确定为三油酸甘油酯。

化合物 : 白色粉末(乙醇), mp 70~72。ES+MS m/z : 376 $[M + 2Na]^+$ 。 1H -NMR($CDCl_3$, 400 MHz) δ : 4.21 (1H, dd, $J = 12.0, 4.8$ Hz, H-1a), 4.15 (1H, dd, $J = 11.6, 6.0$ Hz, H-1b), 3.94 (1H, m, H-2), 3.70 (1H, dd, $J = 11.2, 3.6$ Hz, H-3a), 3.60 (1H, dd, $J = 11.2, 6.0$ Hz, H-3b), 2.35 (2H, m, H-2'), 1.61 (2H, m, H-3'), 1.28 (nH, H-4'~15'), 0.88 (3H, t, $J = 6.8$ Hz, CH_3)。以上数据与文献报道^[3]一致, 故鉴定化合物为单棕榈酸甘油酯。

化合物 : 白色针晶(石油醚-丙酮), mp 47~49。ES+MS m/z : 417 $[M - H]^-$; 1H -NMR($CDCl_3$, 400 MHz) δ : 7.02 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 6.91 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 7.04 (1H, dd, $J = 2.0, 8.4$ Hz, H-6), 7.59 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7), 6.29 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8), 3.92 (3H, s, $-OCH_3$), 4.17 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, $-OCH_2$), 1.23 (多个 H, brs, 多个 CH_2), 1.67 (2H, m, OCH_2CH_2), 0.85 (3H, t, $J = 6.8$ Hz, CH_3)。以上数据与文献的数据^[4]基本一致, 故鉴定该化合物为 3-甲氧基-4-羟基-反式苯丙烯酸正十六醇酯。

化合物 : 白色结晶(乙醇), mp 176~178。体积分数 10% 硫酸-乙醇显蓝色。ES+MS m/z : 419 $[M + H]^+$ 。 1H -NMR($CDCl_3$, 400 MHz) δ : 3.08 (2H, m, H-1, 5), 3.88 (2H, m, H-4b, 8b), 4.29 (2H, m, H-4a, 8a), 4.72 (2H, d, $J = 4.0$ Hz, H-2, 6), 5.50 (2H, s, OH), 3.91 (12H, s, 4 $\times$ OMe), 6.58 (4H, s, H-1', 6', 1'', 6''); ^{13}C -NMR($CDCl_3$, 50 MHz) δ : 54.29 (C-1, 5), 56.32 (4 $\times$ OMe), 71.75 (C-4, 8), 86.02 (C-2, 6), 102.63 (C-2', 6', 2'', 6''), 132.04 (C-1', 1''), 134.23 (C-4', 4''), 147.09 (C-3', 5', 3'', 5'')。 1H -NMR和 ^{13}C -NMR数据与文献报道^[5]

的丁香脂素基本一致, 故鉴定为丁香脂素。

化合物 : 白色针晶(丙酮), mp 245~247。ES+MS m/z : 267 $[M - H]^-$ 。 1H -NMR($DMSO-d_6$, 400 MHz) δ : 7.96 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 8.33 (1H, s, H-2), 6.95 (2H, dd, $J = 6.8, 2.0$ Hz, H-3', 5'), 7.50 (2H, dd, $J = 6.8, 2.0$ Hz, H-2', 6'), 6.92 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz, H-6), 6.85 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 10.02 (7-OH), 3.84 (3H, s, OCH_3)。以上数据与文献报道^[6]的数据基本一致, 故鉴定该化合物为 7-羟基-4'-甲氧基异黄酮。

化合物 : 橙黄色针晶(石油醚-丙酮), mp 200~201。 1H -NMR($CDCl_3 + DMSO-d_6$, 400 MHz) δ : 6.26 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-3'), 6.40 (1H, dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz, H-5'), 8.16 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-6'), 7.71~7.79 (6H, m, H-2, 6 和 3, 5; H- α , β), 13.46 (brs, OH), 9.84 (brs, 2 $\times$ OH)。以上数据与文献报道^[7]的 4, 2', 4'-三羟基查耳酮数据基本一致, 故鉴定该化合物为 4, 2', 4'-三羟基查耳酮, 即异甘草素。

化合物 : 无色针晶(丙酮), mp 128~130。 1H -NMR($CDCl_3$, 400 MHz) δ : 7.38 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-1), 6.55 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz, H-2), 6.42 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-4), 7.13 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-7), 6.47 (1H, dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz, H-8), 6.45 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-10), 5.48 (1H, d, $J = 6.4$ Hz, H-11a), 4.22 (1H, dd, $J = 4.4, 10.8$ Hz, H-6), 3.55 (1H, t, $J = 10.8$ Hz, H-6), 3.50 (1H, m, H-6), 3.77 (3H, s, OCH_3)。 ^{13}C -NMR($CDCl_3$, 50 MHz) δ : 131.19 (C-1), 109.72 (C-2), 156.95 (C-3), 104.12 (C-4), 156.65 (C-4a), 65.52 (C-6), 39.47 (C-6a), 119.08 (C-6b), 124.72 (C-7), 96.90 (C-8), 161.11 (C-9), 106.39 (C-10), 160.64 (C-10a), 78.50 (C-11a), 112.66 (C-11b), 55.49 (OCH_3)。以上数据与文献报道^[8]的化合物 3-羟基-9-甲氧基紫檀烷数据一致, 故鉴定该化合物为 3-羟基-9-甲氧基紫檀烷。

化合物 : 无色针晶(氯仿), mp 138~140。用 10% 乙醇硫酸加热显紫红色, 与 β -谷甾醇对照, 多种 TLC 展开 Rf 值一致, 混合熔点不下降, 证明两者是同一种化合物, 故确定该化合物为 β -谷甾醇。

化合物 : 白色粉末, 用 10% 乙醇硫酸加热显紫红色, 与胡萝卜苷对照, 多种 TLC 展开 Rf 值一致, 混合熔点不下降, 证明两者是同一种化合物, 故确定该化合物为胡萝卜苷。

5 化合物细胞毒活性测试结果

化合物 为紫檀烷类化合物,有文献报道其具有抗菌作用^[9],但是没有相关的抗肿瘤活性报道。本实验采用 MTT 法首次研究其体外对肿瘤细胞 Hep G2 的抑制作用,结果显示该化合物的 IC₅₀ 值为 10.69 μmol/L,表明其对 Hep G2 具有一定的细胞毒活性。

参考文献:

- [1] 中国医学科学院药物研究所. 中药志() [M]. 第二版, 北京: 人民卫生出版社, 1982.
- [2] 杨小凤, 雷海民, 付宏征, 等. 栲树种子的化学成分研究 [J]. 药学学报, 2000, 35(4): 279-283.
- [3] 梁 爽, 陈海生, 王厚鹏, 等. 二杈狗牙花化学成分的研究 () [J]. 第二军医大学学报, 2007, 28(4): 425-426.
- [4] 刘 扬, 杨峻山. 多序岩黄芩化学成分研究 [J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(16): 1215-1216.
- [5] 程永现, 周 俊, 丁中涛. 粗梗木莲的酸性成分 [J]. 云南植物研究, 2000, 22(3): 365-367.
- [6] 王 伟, 陈虎彪, 王文明, 等. 红花岩黄芩黄酮类成分的研究 [J]. 药学学报, 2002, 37(3): 196-198.
- [7] 李文魁, 肖培根, 张如意. 朝鲜淫羊藿的化学成分 [J]. 天然产物研究与开发, 1994, 6(3): 4-7.
- [8] 海力茜, 梁 鸿, 赵玉英, 等. 多序岩黄芩化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2002, 27(11): 843-845.
- [9] 田宏印. 红芪化学成分的研究现状 [J]. 西北民族学院学报: 自然科学版, 1996, 17(1): 89-90.

半边莲的化学成分研究

邓可众^{1,2}, 熊 英², 高文远^{1*}

(1. 天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072; 2. 江西中医学院, 江西 南昌 330006)

摘 要:目的 研究半边莲的化学成分。方法 利用硅胶柱、凝胶柱、制备 HPLC 等分离和纯化,通过化合物的波谱数据和理化特性进行结构鉴定。结果 从半边莲中分离鉴定了 12 个化合物,分别为环桉烯醇(cycloeucalenol,), 24-亚甲基环波罗醇(24-methylenecycloartanol,), 植物醇(phytol,), 植物烯醛(phytenal,), β-香树脂醇(), 腺苷(), 正丁基-β-D-呋喃果糖苷(), 正丁基-α-D-呋喃果糖苷(), 正丁基-β-D-吡喃果糖苷(), 正丁基-α-D-吡喃果糖苷(), 水杨苷(), 5-羟甲基糠醛()。结论 其中化合物 ~ 及 ~ 为首次从半边莲属植物中分离得到,化合物 为首次从该植物中分离得到。

关键词:半边莲; 萜类; 苷类

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)08-1198-04

Chemical constituents of *Lobelia chinensis*

DENG Ke-zhong^{1,2}, XIONG Ying², GAO Wen-yuan¹

(1. School of Pharmaceutical Science and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China;

2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China)

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents in *Lobelia chinensis*. **Methods** Isolation and purification were carried out by silica gel, Sephadex LH-20, and preparative HPLC. Their structures were elucidated by spectroscopy and physicochemical properties. **Results** Twelve compounds were obtained and identified as: cycloeucalenol (), 24-methylenecycloartanol (), phytol (), phytenal (), β-amyrrin (), adenosine (), *n*-butyl-β-D-fructofuranoside (), *n*-butyl-α-D-fructofuranoside (), *n*-butyl-β-D-fructopyranoside (), *n*-butyl-α-D-fructopyranoside (), salicin (), and 5-hydroxymethyl furaldehyde (). **Conclusion** Compounds — and — are obtained from the plants of *Lobelia* L. for the first time and compound is obtained from this plant for the first time.

Key words: *Lobelia chinensis* Lour.; terpenoids; glycosides

半边莲是半边莲属植物半边莲 *Lobelia chinensis* Lour. 的干燥全草,性辛、平,归心、小肠、肺经,有利尿消肿、清热解毒的功效,主要用于大腹水肿,

面足浮肿,痈肿疔疮,蛇虫咬伤,晚期血吸虫病腹水^[1]。文献报道半边莲含有生物碱,而对非生物碱类成分报道较少。本实验从半边莲中分离鉴定了

* 收稿日期: 2009-01-28

* 通讯作者 高文远 Tel/ Fax: (022)87401895 E-mail: pharmgao@tju.edu.cn