

珍珠菜抗肿瘤有效部位化学成分研究

吴 威¹, 王春枝², 李 夏¹, 李笑然¹, 许琼明^{1*}, 杨世林¹

1. 苏州大学医学部药学院, 江苏 苏州 215123

2. 漯河医学高等专科学校第二附属医院, 河南 漯河 462000

摘 要: 目的 研究珍珠菜 *Lysimachia clethroides* 抗肿瘤有效部位的化学成分。方法 采用各种色谱法进行分离、纯化, 通过理化性质及波谱法鉴定化合物的结构。结果 分离并鉴定了 14 个化合物, 分别为山柰酚 (1)、槲皮素 (2)、江户樱花苷 (3)、异槲皮苷 (4)、山柰酚-7-O- β -D-葡萄糖苷 (5)、山柰酚-3-O- β -D-芸香糖苷 (6)、芦丁 (7)、异鼠李素-3-O- β -D-芸香糖苷 (8)、二氢山柰酚 (9)、柚皮素 (10)、(-)-表儿茶素 (11)、圣草素 (12)、槲皮素-3-O-(2,6-二鼠李糖基葡萄糖苷) (13)、山柰酚-3-O-(2,6-二鼠李糖基葡萄糖苷) (14)。结论 化合物 9、12、13 首次从本属植物中分离得到。

关键词: 珍珠菜; 珍珠菜属; 抗肿瘤; 黄酮; 二氢山柰酚; 圣草素; 槲皮素-3-O-(2,6-二鼠李糖基葡萄糖苷)

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)01-0038-04

Chemical constituents of antitumor active fraction of *Lysimachia clethroides*

WU Wei¹, WANG Chun-zhi², LI Xia¹, LI Xiao-ran¹, XU Qiong-ming¹, YANG Shi-lin¹

1. School of Pharmacy, Medical College of Soochow University, Suzhou 215123, China

2. The Second Affiliated Hospital, Medical College of Luohe, Luohe 462000, China

Key words: *Lysimachia clethroides* Duby; *Lysimachia* L.; antitumor; flavanoids; dihydrokaempferol; eriodictyol; quercetin-3-O-(2,6-dirhamnopyranosylglupyranside)

珍珠菜 *Lysimachia clethroides* Duby 系报春花科珍珠菜属植物, 具有清热利湿、活血散瘀、解毒消痛的作用^[1]。本课题组前期曾报道了对珍珠菜总黄酮苷诱导 HL-60 细胞的凋亡作用及对 HL-60 细胞周期调控相关基因表达的影响, 最终确定珍珠菜总黄酮为抗肿瘤的有效部位^[2], 并对总黄酮的提取富集工艺进行了优化^[3-4], 确定了有效部位的制备方法。为了进一步阐明抗肿瘤的物质基础, 本实验对有效部位的化学成分进行了系统研究, 从中分得 14 个化合物, 均为黄酮类, 分别为山柰酚 (1)、槲皮素 (2)、江户樱花苷 (3)、异槲皮苷 (4)、山柰酚-7-O- β -D-葡萄糖苷 (5)、山柰酚-3-O- β -D-芸香糖苷 (6)、芦丁 (7)、异鼠李素-3-O- β -D-芸香糖苷 (8)、二氢山柰酚 (9)、柚皮素 (10)、(-)-表儿茶素 (11)、圣草素 (12)、槲皮素-3-O-(2,6-二鼠李糖基葡萄糖苷) (13)、山柰酚-3-O-(2,6-二鼠李糖基葡萄糖苷) (14), 其中化合物 9、12、13 为首次从该属植物

分离得到。

1 仪器和材料

XT5 显微熔点测定仪 (北京科仪电光仪器厂); Unity Inova 400 核磁共振仪 (美国瓦里安公司), TMS 为内标; TOF-MS (美国 Micromass 公司); 各种色谱硅胶均为青岛海洋化工厂出品。Sephadex LH-20 (美国 GE 公司)。珍珠菜购自安徽亳州, 经苏州大学药学院刘春宇教授鉴定为 *Lysimachia clethroides* Duby 的全草。

2 提取与分离

取经粉碎的药材适量, 依次加入 10 倍量的 80% 乙醇, 加热回流提取 3 次, 每次 1.5 h, 合并提取液滤过。滤液减压浓缩至适量, 浓缩液再加 2 倍量水稀释、静置, 抽滤除去不溶性物质, 减压除去乙醇, 经 AB-8 大孔树脂柱色谱, 用水-乙醇梯度洗脱。其中 40% 乙醇洗脱组分经药效学实验证明具有较强的抗肿瘤活性, 将洗脱液减压浓缩、喷雾干燥成粉末。

收稿日期: 2010-03-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30873362); “重大新药创制”科技重大专项 (2009ZX09102-135)

作者简介: 吴 威, 男, 在读硕士研究生。

*通讯作者 许琼明 Tel: (0512)65882080 E-mail: xuqiongming@suda.edu.cn

取该样品粉末 25 g 经硅胶柱色谱分离, 用氯仿-甲醇 (10:0→4:6) 梯度洗脱。其中氯仿-甲醇 (9:1) 洗脱部分经甲醇重结晶, 得化合物 **3** (230 mg); 氯仿-甲醇 (8:2) 洗脱部分经甲醇重结晶, 得化合物 **7** (331 mg); 其余组分经反复硅胶、Sephadex LH-20 柱色谱分离纯化, 分别得到化合物 **1** (20 mg)、**2** (31 mg)、**4** (45 mg)、**5** (10 mg)、**6** (41 mg)、**8** (45 mg)、**9** (32 mg)、**10** (27 mg)、**11** (18 mg)、**12** (29 mg)、**13** (18 mg)、**14** (15 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 黄色针晶 (甲醇), mp 277~278 °C, 紫外灯下显亮黄色荧光。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 8.08 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-2', 6'), 6.89 (2H, dd, $J = 3.0, 8.9$ Hz, H-3', 5'), 6.40 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-8), 6.18 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-6)。将氢谱数据与文献报道比较^[5], 鉴定为山柰酚。

化合物 **2**: 黄色针晶 (甲醇), mp 315~316 °C, 紫外灯下显亮黄色荧光。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 7.72 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 7.62 (1H, dd, $J = 2.1, 8.5$ Hz, H-6'), 6.88 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 6.38 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.17 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6); ¹³C-NMR 数据见表 1。将其氢谱、碳谱数据与文献报道比较^[5], 鉴定为槲皮素。

化合物 **3**: 白色粉末 (甲醇), mp 224~226 °C, ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 7.31 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-2', 6'), 6.84 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-3', 5'), 6.21 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 6.19 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-6), 5.37 (1H, dd, $J = 2.8, 13.0$ Hz, H-2), 4.96 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-1''), 3.89 (1H, dd, $J = 1.8, 12.1$ Hz, H-6a''), 3.71 (1H, dd, $J = 4.8, 12.1$ Hz, H-6b''), 3.14 (1H, dd, $J = 13.0, 17.2$ Hz, H-3a), 2.76 (1H, dd, $J = 3.0, 17.2$ Hz, H-3e); ¹³C-NMR 数据见表 1。将其氢谱、碳谱数据与文献报道比较^[6], 鉴定为江戸樱花苷。

化合物 **4**: 黄色粉末 (甲醇), mp 208~210 °C, ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 7.70 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-2'), 7.58 (1H, dd, $J = 2.1, 8.5$ Hz, H-6'), 6.86 (1H, d, $J = 8.54$ Hz, H-5'), 6.39 (1H, d, $J = 2.13$ Hz, H-8), 6.20 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.23 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1''), 3.70 (1H, dd, $J = 2.4, 11.9$ Hz, H-6a''), 3.56 (1H, dd, $J = 5.4, 11.9$ Hz, H-6b''); ¹³C-NMR 数据见表 1。将其氢谱、碳谱数据与文献报道比较^[4], 鉴定为异槲皮苷。

化合物 **5**: 黄色结晶 (甲醇), mp 267~268 °C,

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 8.12 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-2', 6'), 6.90 (2H, dd, $J = 1.8, 7.0$ Hz, H-3', 5'), 6.77 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 6.46 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6), 5.05 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1''), 3.93 (1H, dd, $J = 2.3, 12.1$ Hz, H-6a''), 3.71 (1H, dd, $J = 5.8, 12.1$ Hz, H-6b''); ¹³C-NMR 数据见表 1。将其氢谱、碳谱数据与文献报道比较^[7], 鉴定为山柰酚-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷 (kaempferol-7-*O*-β-*D*-glucoside)。

化合物 **6**: 黄色结晶 (甲醇), mp 223~224 °C, 盐酸-镁粉反应显红色, ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 8.06 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2', 6'), 6.89 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-3', 5'), 6.41 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 6.21 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6), 5.12 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1''), 4.51 (1H, d, $J = 1.4$ Hz, H-1'''), 1.11 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, H-6'''). 苷元与化合物 **1** 比较, H-8 与 H-6 的化学位移没有明显变化, 故判断为 C-3-OH 与芸香糖成苷。将其氢谱数据与文献报道比较^[8], 化合物 **6** 鉴定为山柰酚-3-*O*-β-*D*-芸香糖苷。

化合物 **7**: 黄色粉末 (甲醇), mp 185~186 °C, ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 7.66 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 7.62 (1H, dd, $J = 2.1, 8.5$ Hz, H-6'), 6.87 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.38 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-8), 6.20 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.10 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1''), 4.52 (1H, d, $J = 1.1$ Hz, H-1'''), 1.11 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, H-6'''); ¹³C-NMR 数据见表 1。将其氢谱、碳谱数据与文献报道比较^[9], 鉴定为芦丁。

化合物 **8**: 黄色针晶 (甲醇), mp 214~216 °C, ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 7.94 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-2'), 7.62 (1H, dd, $J = 1.6, 8.4$ Hz, H-6'), 6.91 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.41 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-8), 6.21 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-6), 5.23 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1''), 4.52 (1H, s, H-1'''), 1.09 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, H-6'''); ¹³C-NMR 数据见表 1。将其氢谱、碳谱数据与文献报道比较^[8], 鉴定为异鼠李素-3-*O*-β-*D*-芸香糖苷。

化合物 **9**: 无色针晶 (甲醇), mp 204~207 °C, ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 7.34 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2', 6'), 6.82 (2H, d, $J = 8.3$ Hz, H-3', 5'), 5.92 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-8), 5.88 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-6); ¹³C-NMR 数据见表 1。将其氢谱、碳谱数据与文献报道比较^[10], 鉴定为二氢山柰酚。

化合物 **10**: 无色针晶 (甲醇), mp 253~255 °C, ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 7.31 (2H, d, $J = 8.4$

表 1 化合物 2~5 和 7~14 的 ^{13}C -NMR 数据 (125 MHz, CD_3OD)
 Table 1 ^{13}C -NMR data of compounds 2—5 and 7—14 (125 MHz, in CD_3OD)

碳位	2	3	4	5	7	8	9	10	11	12	13	14
2	148.3	80.7	158.8	149.4	158.8	159.2	85.3	80.8	80.1	44.4	159.2	159.3
3	137.5	44.3	135.9	138.0	135.9	135.8	73.9	44.3	67.7	80.8	134.8	134.7
4	177.6	198.4	179.8	177.9	179.7	179.6	198.8	198.1	29.5	198.1	179.6	179.6
5	158.5	164.9	163.4	162.5	163.2	163.3	165.6	165.7	158.2	165.8	163.4	163.5
6	99.5	98.2	100.2	100.6	100.2	100.2	97.6	97.4	96.2	97.3	100.0	100.1
7	165.9	167.0	166.4	164.8	166.3	166.3	169.0	168.7	157.9	168.6	165.9	165.9
8	94.7	97.1	95.0	95.9	95.2	95.2	96.6	96.5	96.7	96.5	95.0	95.1
9	162.8	164.6	159.3	157.6	159.6	158.8	164.9	165.2	157.6	165.2	158.7	158.8
10	104.8	105.0	105.9	106.9	105.9	106.0	102.2	103.7	100.4	103.7	106.2	106.3
1'	124.5	130.7	123.5	123.8	123.4	123.3	129.6	131.4	132.5	132.1	123.7	123.5
2'	116.3	129.1	116.3	131.2	116.4	114.8	130.6	129.3	119.7	115.0	117.7	132.5
3'	146.5	116.5	150.1	116.7	150.1	151.1	116.4	116.6	146.0	146.8	146.2	116.5
4'	149.1	159.0	146.2	161.5	146.1	148.6	159.5	159.3	146.2	147.2	149.8	149.8
5'	116.5	116.5	117.9	116.7	118.0	116.4	116.4	116.6	115.6	116.6	116.4	116.5
6'	122.0	129.1	123.4	131.2	123.9	124.3	130.6	129.3	116.2	119.5	123.8	132.5
3-Glu												
1			104.6		105.0	104.7					100.8	100.8
2			76.0		76.0	76.2					80.3	80.2
3			78.7		77.5	78.5					79.2	79.2
4			71.5		72.5	72.0					72.2	72.3
5			78.4		78.5	77.7					77.4	77.4
6			62.9		68.9	68.8					68.6	68.6
7-Glu												
1		101.3		102.0								
2		74.6		75.0								
3		78.2		78.7								
4		71.1		71.6								
5		77.8		78.2								
6		62.4		62.8								
6''-Rha												
1					102.7	102.8					102.9	102.9
2					72.4	72.4					72.7	72.7
3					71.7	72.6					72.6	72.6
4					74.2	74.1					74.4	74.4
5					70.0	70.1					70.3	70.2
6					18.2	18.2					17.8	17.8
2''-Rha												
1											102.5	102.6
2											72.4	72.4
3											72.6	72.6
4											74.2	74.1
5											70.0	70.0
6											18.1	18.1
OCH_3							57.1					

Hz, H-2', 6'), 6.81 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', 5'), 5.89 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 5.88 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.33 (1H, dd, $J = 2.0, 7.3$ Hz, H-2), 3.10 (1H, dd, $J = 12.9, 17.2$ Hz, H-3a), 2.69 (1H, dd, $J = 2.9, 17.2$ Hz, H-3e); ^{13}C -NMR 数据见表 1。将其氢谱、碳谱数据与文献报道比较^[11], 鉴定为柚皮素。

化合物 11: 黄色晶体(甲醇), mp 244~246 °C, ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.33 (1H, s, H-2'), 6.79 (1H, dd, $J = 1.7, 8.2$ Hz, H-6'), 6.76 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5'), 5.95 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-6), 5.91 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-8), 4.55 (1H, m, H-2), 4.17 (1H, s, H-3), 2.85 (1H, dd, $J = 4.6, 16.8$ Hz, H-4a), 2.73 (1H, dd, $J = 2.8, 16.8$ Hz, H-4b); ^{13}C -NMR 数据见表 1。将其氢谱、碳谱数据与文献报道比较^[12], 鉴定为(-)-表儿茶素。

化合物 12: 无色针晶(甲醇), mp 238~239 °C, ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.91 (1H, s, H-2'), 6.78 (2H, s, H-5', 6'), 5.88 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-8), 5.87 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-6), 5.27 (1H, dd, $J = 2.8, 12.7$ Hz, H-2), 3.06 (1H, dd, $J = 12.8, 17.1$ Hz, H-3a), 2.69 (1H, dd, $J = 2.9, 17.1$ Hz, H-3e); ^{13}C -NMR 数据见表 1。将其氢谱、碳谱数据与文献报道比较^[12], 化合物 12 鉴定为圣草素。

化合物 13: 黄色晶体(甲醇)。 ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.61 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-6'), 7.59 (1H, s, H-2'), 6.87 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5'), 6.36 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-8), 6.18 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-6), 5.58 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-1''), 5.22 (1H, s, 2''-Rha-H-1), 4.50 (1H, s, 6''-Rha-H-1), 1.07 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, 6''-Rha-H-6), 1.00 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, 2''-Rha-H-6); ^{13}C -NMR 数据见表 1。将其氢谱、碳谱数据与文献报道比较^[13], 鉴定为槲皮素-3-*O*-(2,6-二鼠李糖基葡萄糖苷)。

化合物 14: 黄色晶体(甲醇)。 ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 8.01 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-2', 6'), 6.89 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-3', 5'), 6.37 (1H, d, $J = 1.0$ Hz, H-8), 6.18 (1H, d, $J = 1.0$ Hz, H-6), 5.59 (1H, d,

$J = 7.0$ Hz, H-1''), 5.22 (1H, s, 2''-Rha-H-1), 4.49 (1H, s, 6''-Rha-H-1), 1.07 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, 6''-Rha-H-6), 0.98 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, 2''-Rha-H-6); ^{13}C -NMR 数据见表 1。将其氢谱、碳谱数据与文献报道比较^[13], 化合物 14 鉴定为山柰酚-3-*O*-(2,6-二鼠李糖基葡萄糖苷)。

参考文献

- [1] 邹海艳, 屠鹏飞. 珍珠菜化学成分的研究 [J]. 中草药, 2009, 40(5): 704-708.
- [2] 游本刚, 唐丽华, 徐向毅, 等. 大孔吸附树脂分离纯化珍珠菜总黄酮的研究 [J]. 中草药, 2007, 38(9): 1337-1340.
- [3] 唐丽华, 王祎茜, 梁中琴, 等. 珍珠菜提取物对肝癌抑制作用的研究 [J]. 中草药, 2009, 40(1): 108-111.
- [4] 唐丽华, 游本刚, 刘 扬. 正交试验设计优化 AB-8 树脂对珍珠菜总黄酮的吸附条件 [J]. 抗感染药学, 2006, 3(3): 102-104.
- [5] 刘晶芝, 王 莉. 白花蛇舌草化学成分研究 [J]. 河北医科大学学报, 2007, 28(3): 188-190.
- [6] Turner A, Chen S N, Joike M K, et al. Inhibition of uropathogenic *Escherichia coli* by cranberry juice: A new antiadherence assay [J]. *J Agric Food Chem*, 2005, 53(23): 8940-8947.
- [7] 邱鹰昆, 窦德强, 裴玉萍, 等. 仙人掌的化学成分研究 [J]. 中国药科大学学报, 2005, 36(3): 213-215.
- [8] Slimestad R, Andersen Ø M, Francis G W, et al. Syringetin 3-*O*-(6''-acetyl)- β -glucopyranoside and other flavonols from needles of norway spruce, *Picea abies* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 40(5): 1537-1542.
- [9] 童胜强, 黄 娟, 王冰岚, 等. 肿节风化学成分的研究 [J]. 中草药, 2010, 41(2): 198-201.
- [10] 冯 锋, 柳文媛, 陈优生, 等. 菝葜中黄酮和芪类成分的研究 [J]. 中国药科大学学报, 2003, 34(2): 119-121.
- [11] 柳建军, 刘锡葵. 黄连木食用部位化学成分研究 [J]. 中草药, 2009, 40(2): 186-189.
- [12] 汪伟光, 曹永国, 付立卓, 等. 碎米花杜鹃的化学成分及其对小鼠免疫细胞影响的研究 [J]. 中草药, 2010, 41(1): 19-23.
- [13] Kazuma I K, Noda N, Masahiko S. Malonylated flavonol glycosides from the petals of *Clitoria ternatea* [J]. *Phytochemistry*, 2003, 62(2): 229-237.