

• 化学成分 •

玫瑰花中的异黄酮类化合物及其活性研究

李丽梅, 娄洁, 刘贵有, 王欢, 杨娟霞, 王月德, 董伟, 周堃, 胡秋芬*

云南民族大学 民族药资源化学国家民委教育部重点实验室, 云南 昆明 650500

摘要: 目的 研究玫瑰 *Rosa rugosa* 花蕾的化学成分。方法 运用硅胶、凝胶、MCI-gel 树脂及 PR-HPLC 等多种色谱技术对玫瑰花蕾的化学成分进行分离纯化, 并根据理化性质和波谱数据鉴定化合物的结构。结果 从玫瑰花蕾中分离得到了 3 个异黄酮类化合物, 分别鉴定为 6,8-二羟基-4',7-二甲氧基异黄酮 (1)、樱黄素 (2)、红车轴草素 (3)。细胞毒活性筛选显示化合物 1 对 A549 和 PC3 细胞的 IC_{50} 值分别为 2.6 和 3.2 $\mu\text{mol/L}$ 。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为玫瑰异黄酮, 化合物 2 和 3 首次从玫瑰花蕾中分离得到; 化合物 1 表现出较强的细胞毒活性。

关键词: 玫瑰; 异黄酮; 细胞毒活性; 6,8-二羟基-4',7-二甲氧基异黄酮; 玫瑰异黄酮; 樱黄素; 红车轴草素

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)10-1420-03

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.10.002

Isoflavones from flower buds of *Rosa rugosa* and their cytotoxicity

LI Li-mei, LOU Jie, LIU Gui-you, WANG Huan, YANG Juan-xia, WANG Yue-de, DONG Wei, ZHOU Kun, HU Qiu-fen

Key Laboratory of Chemistry in Ethnic Medicinal Resources, State Ethnic Affairs Commission & Ministry of Education, Yunnan Minzu University, Kunming 650500, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from the flower buds of *Rosa rugosa*. **Methods** The chemical constituents from the flower buds of *R. rugosa* were isolated by silica gel, MCI-gel resin, Sephadex LH-20 column chromatography and high performance liquid chromatography (HPLC) methods. Their structures were elucidated by spectroscopic methods and physicochemical properties. **Results** Three isoflavones, 6,8-dihydroxy-4',7-dimethoxyisoflavone (1), prunetin (2), and pratensein (3) were isolated from the flower buds of *R. rugosa*. **Conclusion** Compound 1 is a new compound named rosa isoflavone. Compounds 2 and 3 are isolated from *R. rugosa* for the first time. Compound 1 displays the stronger cytotoxicity against A549 and PC3 cells with IC_{50} values of 2.6 and 3.2 $\mu\text{mol/L}$, respectively.

Key words: *Rosa rugosa* Thunb.; isoflavones; cytotoxicity; 6,8-dihydroxy-4',7-dimethoxyisoflavone; rosa isoflavone; prunetin; pratensein

玫瑰 *Rosa rugosa* Thunb. 为蔷薇科 (Rosaceae) 蔷薇属 *Rosa* L. 植物, 为多年生灌木^[1], 在我国大约有两千年的种植史, 玫瑰花颜色艳丽、气味芳香, 具有美化环境的功能, 多用于园林建设和提取玫瑰精油。玫瑰花富含氨基酸、蛋白质、多糖、淀粉、维生素等各种营养成分, 花瓣可食用、可泡茶。另外, 玫瑰花药用价值极高, 历代本草均有玫瑰花在药用方面的记载。玫瑰花具有清除自由基、抗氧化、

抗肿瘤、抗病毒、扩张血管、解毒、利胆等作用^[2]。国内外学者对玫瑰花化学成分进行过研究, 其化学成分主要是鞣质、萜类、苯丙素和黄酮类化合物^[3-6]。本实验对产于云南大理的玫瑰花蕾化学成分进行研究, 从中得到了 3 个异黄酮类化合物, 分别鉴定为 6,8-二羟基-4',7-二甲氧基异黄酮 (6,8-dihydroxy-4',7-dimethoxy isoflavone, 1)、樱黄素 (prunetin, 2)、红车轴草素 (pratensein, 3), 结构见图 1。其中,

收稿日期: 2015-01-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (21032085, 31460144); 云南省高校科技创新团队 (IRTSTYN 2014-11); 云南民族大学研究生创新项目 (2014YJY86)

作者简介: 李丽梅, 女, 云南昆明人, 硕士在读, 从事中药及天然药物活性成分研究。

*通信作者 胡秋芬, 女, 博士, 教授, 硕士生导师。Tel: (086)68329045 E-mail: huqiufena@aliyun.com

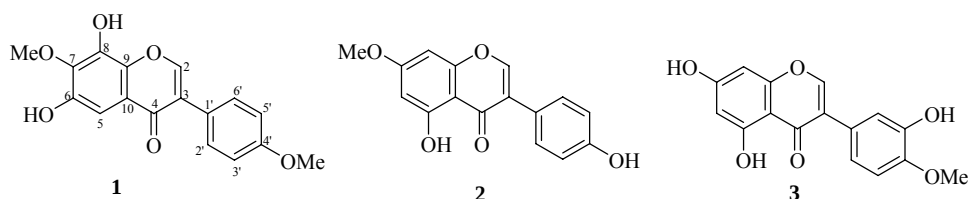


图1 化合物1~3的结构式

Fig. 1 Structures of compounds 1—3

化合物1为新化合物，命名为玫瑰异黄酮，化合物2和3首次从玫瑰花蕾中分离得到；并且化合物1表现出较强的细胞毒活性。

1 仪器与材料

Bruker AM-500 超导核磁共振仪（德国 Bruker 公司）；VG AUTOSpec-3000 质谱仪（英国 VG 公司）；旋光仪 Jasco DIP-370（日本 Spectroscopic 公司）；Bio-Rad FTS-135 傅里叶变换红外光谱仪（美国 Bio-Rad 公司）；UV 2401A 紫外光谱仪（日本岛津）；Agilent 1100 高效液相色谱仪，色谱柱为 Agilent ZORBAX SB-C₁₈（250 mm×9.4 mm，5 μm）和 Eclipse XDB-C₁₈ 反相柱（美国安捷伦科技公司）。100~200、200~300 目硅胶和 GF₂₅₄ 硅胶板，青岛海洋化工厂产品；MCI-gel CHP-20P 材料，日本三菱公司生产；Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶，美国 CE 公司生产；工业级：三氯甲烷、甲醇、醋酸乙酯、石油醚，云南祥瑞化玻教仪研发有限公司；分析纯：乙腈、四氢呋喃，天津市瑞金特化学品有限公司；纯净水，娃哈哈饮用纯净水。

实验用玫瑰花干花蕾于2013年2月购自云南省昆明市菊花村中药材市场，其产地为云南省大理州宾川县，由云南民族大学杨青松副教授鉴定为玫瑰 *Rosa rugosa* Thunb.。

2 提取与分离

取玫瑰花 2.5 kg，粉碎过 40 目筛后用 95%乙醇超声提取 4 次，每次提取 1.0 h，用乙醇 8.0 L，减压浓缩到小体积，依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取；并减压回收溶剂。正丁醇部位（22.5 g）用 MCI-Gel 树脂脱色后再经硅胶柱色谱分离，氯仿-甲醇（9：1→1：1）梯度洗脱，共分为 6 个部分（A~F）；取其中 B 部分（氯仿-甲醇 8：2）进行硅胶柱分离，用氯仿-丙酮（9：1→1：1）为流动相梯度洗脱分为 6 个部位 B₁~B₆，B₄ 部位（氯仿-丙酮 6：4）再用 HPLC 和 Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶色谱进一步分离纯化，得到化合物 1（8.9 mg）、2（11.5 mg）和 3（14.8 mg）。

3 结构鉴定

化合物1：黄色胶状物。HR-ESI-MS 显示其准分子离子峰为 337.068 2 [M+Na]⁺，结合 ¹H-和 ¹³C-NMR 推出分子式为 C₁₇H₁₄O₆。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 410（羟基），1 660（羰基）和 1 608、1 547、1 504（苯环），1 438，1 125，1 061，987，853；UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 352 (3.68)，310 (3.47)，245 (3.96)，215 (4.37)，证实化合物中存在苯环结构。结合 UV 与 IR 数据证明有异黄酮结构特征。化合物的 ¹H-和 ¹³C-NMR 谱（表1）显示其含有 17 碳和 14 氢：包括 1 个五取代的苯环（ δ_{C} 111.8 d、141.1 s、148.3 s、136.9 s、145.8 s 和 119.8 s； δ_{H} 6.61 s）；1 个 1,4-二取代苯环 [δ_{C} 125.2 s、131.0 d (2C)、116.0 d (2C) 和 160.8 s； δ_{H} 7.75, d, *J* = 8.8 Hz 和 6.76, d, *J* = 8.8 Hz]；1 组双键（ δ_{C} 152.0 d, 124.6 s； δ_{H} 7.87 s）；2 个甲氧基（ δ_{C} 61.0 q 和 55.9 q； δ_{H} 3.81 s 和 3.78 s）；2 个酚

表1 化合物1的¹H-NMR和¹³C-NMR数据 (500/125 MHz, C₅D₅N)

碳位	δ_{C}	δ_{H}
2	152.0 d	7.87 (s)
3	124.6 s	
4	175.1 s	
5	111.8 d	6.61 (s)
6	141.1 s	
7	148.3 s	
8	136.9 s	
9	145.8 s	
10	119.8 s	
1'	125.2 s	
2',6'	131.0 d	7.75 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz)
3',5'	116.0 d	6.76 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz)
4'	160.8 s	
7-OCH ₃	61.0 q	3.81 (s)
4'-OCH ₃	55.9 q	3.78 (s)
Ar-OH-8		11.19 (s)
Ar-OH-6		10.90 (s)

羟基 (δ_{H} 10.90 s 和 11.19 s); 以及 1 个羰基 (δ_{C} 175.1 s) 信号。结合 H-2 (δ_{H} 7.87 s) 和 C-9 (δ_{C} 145.8), C-3 (δ_{C} 124.6), C-4 (δ_{C} 175.1), C-1' (δ_{C} 125.2) 的 HMBC 相关, 以及 H-2', 6' (δ_{H} 7.75) 和 C-3 (δ_{C} 124.6) 的 HMBC 相关 (图 2) 也可证实该化合物为异黄酮类化合物^[7]。进一步分析其 HMBC 相关信号, 根据甲氧基氢 (δ_{H} 3.81 和 3.78) 分别与 C-7 (δ_{C} 148.3) 和 C-4' (δ_{C} 160.8) 的 HMBC 相关可证实 2 个甲氧基分别取代在 C-7 和 C-4' 位。根据 1 个酚羟基信号 (δ_{H} 11.19) 与 C-7 (δ_{C} 148.3), C-8 (δ_{C} 136.9) 和 C-9 (δ_{C} 145.8) 相关, 以及另一个酚羟基信号 (δ_{H} 10.90) 和 C-5 (δ_{C} 111.8), C-6 (δ_{C} 141.1) 和 C-7 (δ_{C} 148.3) 的 HMBC 相关可证实 2 个酚羟基分别取代在 C-6 和 C-8 位。至此, 该化合物的结构确认为 6,8-二羟基-4',7-二甲氧基异黄酮, 为新化合物, 命名为玫瑰异黄酮。

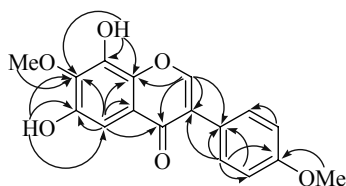


图 2 化合物 1 的主要 HMBC 相关 (↘)

Fig. 2 Key HMBC (↘) correlations of compound 1

化合物 2: 浅黄色粉末。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 8.36 (1H, s, H-2), 6.42 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 6.68 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 7.41 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2', 6'), 6.84 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-3', 5'), 3.81 (3H, s, 7-OCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 153.6 (C-2), 121.7 (C-3), 180.5 (C-4), 161.7 (C-5), 98.5 (C-6), 164.9 (C-7), 93.1 (C-8), 157.2 (C-9), 106.2 (C-10), 122.8 (C-1'), 130.5 (C-2', 6'), 115.6 (C-3', 5'), 158.3 (C-4'), 55.9 (7-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 2 为樱黄素。

化合物 3: 黄色粉末。¹H-NMR (500 MHz, CD₃COCD₃) δ : 8.31 (1H, s, H-3), 6.27 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-6), 6.39 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-8), 7.08 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2'), 6.95 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-5'), 6.87 (1H, dd, J = 1.5, 8.1 Hz, H-6'), 3.79 (3H, s, 4'-OCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃COCD₃) δ : 154.1 (C-2), 122.6 (C-3), 180.2 (C-4), 162.4 (C-5), 98.7 (C-6), 164.5 (C-7), 94.2 (C-8), 157.6 (C-9), 104.2 (C-10),

123.3 (C-1'), 116.3 (C-2'), 146.2 (C-3'), 147.9 (C-4'), 112.9 (C-5'), 120.0 (C-6'), 56.0 (4'-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 3 为红车轴草素。

4 化合物的细胞毒性

由于有文献报道玫瑰花中的黄酮类化合物具有明显的细胞毒性, 因此对化合物 1 进行了细胞毒性筛选。细胞毒性检测参照文献采用改良的 MTT 测定法^[10], 测试细胞株为 NB4、A549、SHSY5Y、PC3 和 MCF7。以紫杉醇为阳性对照 (其对 5 株细胞株的 IC₅₀ 值分别为 0.03、0.02、0.1、0.1、0.05 μ mol/L)。结果表明, 化合物 1 对所选的 5 株细胞的 IC₅₀ 值分别为 8.2、2.6、6.8、3.2、9.5 μ mol/L, 其对 A549 和 PC3 细胞具有较高的细胞毒性。化合物 2 和 3 的细胞毒性已在公开文献中报道过, 因此本实验中未进行测试。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 李明, 李艳芳, 孙永超, 等. 中药玫瑰花的研究进展 [J]. 卫生职业教育杂志, 2007, 25(8): 145-147.
- [3] Hu Q F, Zhou B, Huang J M, *et al.* Cytotoxic oxepinochromenone and flavonoids from the flower buds of *Rosa rugosa* [J]. *J Nat Prod*, 2013, 76(10): 1866-1871.
- [4] Thao N P, Luyen B T T, Jo S H, *et al.* Triterpenoid saponins from *Rosa rugosa* Thunb. as rat intestinal sucrase inhibitors [J]. *Arch Pharm Res*, 2014, 37(10): 1280-1285.
- [5] 刘红燕. 玫瑰花的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25(1): 47-49.
- [6] Ochir S, Park B, Nishizawa M, *et al.* Simultaneous determination of hydrolysable tannins in the petals of *Rosa rugosa* and allied plants [J]. *J Nat Med*, 2010, 64(3): 383-387.
- [7] Chen Z Y, Tan J L, Yang G Y, *et al.* Isoflavones from the roots and stems of *Nicotiana Tabacum* and their anti-tobacco mosaic virus activities [J]. *Phytochem Lett*, 2012, 5(2): 233-235.
- [8] Fu M Q, Deng D, Feng S X, *et al.* Chemical constituents from roots of *Flemingia philippinensis* [J]. *Chin Herb Med*, 2012, 4(1): 8-11.
- [9] 张念, 华茉莉, 姜仁吉, 等. 红车轴草醇提物的化学成分研究 [J]. 中成药, 2011, 32(10): 1746-1749.
- [10] Hu Q F, Zhou B, Ye Y Q, *et al.* Cytotoxic deoxybenzoins and diphenylethylenes from *Arundina graminifolia* [J]. *J Nat Prod*, 2013, 76(10): 1854-1859.