

- order araucariales. II. wood resin of *A gathis australis* [J]. *Acta Chem Scand*, 1965, 19(4): 913-919.
- [4] Samaraweera U, Uvais M. 3, 5, 7, 3', 5'-Pentahydroxyflavan and 3-O-methoxyfriedelan from *Hum bodlia laurifolia* [J]. *Phytochemistry*, 1983, 22(2): 565.
- [5] Agrawal P K, Agarwal S K, Rastogi R P C, et al. A new neolignan and other phenolic constituents from *Cedrus deodara* [J]. *Phytochemistry* (Elsevier), 1980, 19(6): 1260-1261.
- [6] Wawrzyczek W P, Kazmierczak IA, Landwirtschaftlichen H O P. Colorimetric determination of osmium (VIII) oxide with hydroxyhydroquinone [J]. *Fresenius Analyt Chem*, 1967, 228(6): 433.
- [7] Takahashi K, Yasue M, Ogiyama K F A, et al. A norlignan, cryptoresinol, from the heartwood of *Cryptomeria japonica* [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27(5): 1550-1552.

香鳞毛蕨的化学成分及其细胞毒活性

张彦龙¹, 付海燕¹, 张莹莹¹, 宋庆宇¹, 徐文华¹, 匡海学^{2*}

(1. 黑龙江大学生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150080; 2. 黑龙江中医药大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要: 目的 研究香鳞毛蕨中的化学成分及其生物活性。方法 利用柱色谱和高效液相色谱等现代技术对香鳞毛蕨的化学成分进行分离, 根据理化性质和现代波谱技术并辅以化学方法对化合物进行结构鉴定, 采用MTT法测定化合物对Bel-7402, HCT-8及A-549的细胞毒活性。结果 共鉴定出4个化合物, 分别为京尼平苷(geniposide, I)、3*S*, 5*R*, 6*R*, 7*E*, 9*S*-四甲基环己烯型单萜-7-烯-3, 5, 6, 9-四羟基-3-*O*- β -D-葡萄糖吡喃糖苷(3*S*, 5*R*, 6*R*, 7*E*, 9*S*-megastignan-7-ene-3, 5, 6, 9-tetraol-3-*O*- β -D-glucopyranoside, II)、(6*S*, 9*R*)-3-酮- α -紫罗兰醇-9-*O*- β -D-葡萄糖吡喃糖苷[(6*S*, 9*R*)-3-oxo- α -ionol-9-*O*- β -D-glucopyranoside, III]、香鳞毛蕨苷(a fragranside a, IV)。结论 化合物IV为新化合物, 化合物I~III在鳞毛蕨属植物中均为首次发现。药理实验表明, 化合物I、III具有显著的细胞毒活性。

关键词: 香鳞毛蕨; 香鳞毛蕨苷a; 细胞毒活性

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)05-0648-04

Chemical components from *Dryopteris fragrans* and their cytotoxicity

ZHANG Yan-long¹, FU Hai-yan¹, ZHANG Ying-ying¹, SONG Qing-yu¹,

XU Wen-hua¹, KUANG Hai-xue²

(1. College of Life Science, Heilongjiang University, Harbin 150080, China; 2. College of Pharmacy,

Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

Abstract: Objective To study the chemical components from *Dryopteris fragrans* and their biological activities. **Methods** By means of HPLC and other column chromatography, the chemical components were isolated from *D. fragrans* and their chemical structures were identified by spectral and chemical tests in accordance with their physicochemical characteristics. Furthermore, the cytotoxicity of the chemical components for Bel-7402, HCT-8, and A-549 cells was measured by MTT method. **Results** Four compounds, geniposide (I), 3*S*, 5*R*, 6*R*, 7*E*, 9*S*-megastignan-7-ene-3, 5, 6, 9-tetraol-3-*O*- β -D-glucopyranoside (II), (6*S*, 9*R*)-3-oxo- α -ionol-9-*O*- β -D-glucopyranoside (III), and fragranside a (IV) were isolated and identified. **Conclusion** Compound IV is a new compound. And all the other three compounds I-III are found in plants of *Dryopteris Adanson* for the first time. The results of pharmacological experiments indicate that compounds I and III show strong cytotoxicity.

Key words: *Dryopteris fragrans* (L.) Schott; fragranside a; cytotoxicity

香鳞毛蕨 *Dryopteris fragrans* (L.) Schott 是鳞毛蕨科鳞毛蕨属植物, 落叶多年生草本, 生于高寒地区的滑石坡、森林中的碎石坡上和火山周围的岩

浆缝隙中。主要分布于黑龙江省五大连池、塔河县白卡兽山、呼中的大白山的高山地带及小兴安岭北部地区。据北方民间验方记载, 香鳞毛蕨能治疗各种皮

* 收稿日期: 2007-11-02

基金项目: 黑龙江省自然科学基金资助项目(D2005-51); 哈尔滨市重点科技攻关计划项目(GJ2007GH003003)

作者简介: 张彦龙(1966-), 男, 黑龙江省双城人, 副教授, 在站博士后, 主要研究方向为天然药物化学。

皮肤病和关节炎。据文献报道,香鳞毛蕨具有驱虫、杀菌、抗炎和抗肿瘤等多方面生理活性^[1-4],而对其化学成分的研究甚少。笔者从香鳞毛蕨水煎液中分离得到3个萜类成分和1个芳香族苷类化合物,分别鉴定为京尼平苷(I)、3*S*, 5*R*, 6*R*, 7*E*, 9*S*-四甲基环己烯型单萜-7-烯-3, 5, 6, 9-四羟基-3-*O*- β -D-葡萄糖吡喃糖苷(II)、(6*S*, 9*R*)-3-酮- α -紫罗兰醇-9-*O*- β -D-葡萄糖吡喃糖苷(III)、香鳞毛蕨苷a(IV),其中化合物IV为新化合物,命名为香鳞毛蕨苷a(fragranside a),化合物I~III均为在鳞毛蕨属植物中首次发现。同时,化合物I、III对人肝癌细胞株Bel-7402、人盲肠腺癌细胞株HCT-8、人肺癌细胞株A-549具有明显的抑制作用。

1 仪器和材料

X-6型显微熔点测定仪;NOVA-400FT NMR(美国)核磁共振仪;VA Auto Spec-3000型质谱仪;Sephadex LH-20和ODS liquid chromatography(ODS-A)均为日本YMC CO. LTD产品;柱色谱硅胶为青岛海洋化工厂生产;研究所用药材采集于黑龙江省五大连池地区,经东北林业大学植物学教授聂绍荃鉴定为香鳞毛蕨*Dryopteris fragrans*(L.) Schott.

2 提取与分离

香鳞毛蕨干燥粗粉15 kg,用10倍量水提取两次,减压浓缩至膏状,称量,计算出膏率(8.1%)。经AB-8大孔吸附树脂柱色谱吸附,依次分别用水、30%乙醇、60%乙醇和95%乙醇溶液洗脱,以药效学研究为基础,将其中30%乙醇组分84 g用硅胶柱分段,依次用氯仿-甲醇(12:1, 8:1, 5:1, 2:1)梯度洗脱。其中氯仿-甲醇(2:1)部分经反复ODS反相柱色谱并结合Sephadex LH-20分离,最后经HPLC纯化,得单体化合物I~IV。

3 结构鉴定

化合物I:白色针状结晶(甲醇),mp为159~160, Molish反应显阳性,酸水解后糖部分经薄层色谱检识证明仅含有D-葡萄糖。ESI-MS m/z : 411 [M + Na]⁺。¹H-NMR (CD₃OD) δ 7.51(1H, s, H-3), 5.79(1H, br. s, H-7), 5.16(1H, d, J = 7.8 Hz, H-1), 4.70(1H, d, J = 8.0 Hz, H-1), 4.19(2H, q, H-10), 3.70(3H, s, H-12), 2.70(2H, t, J = 16.0 Hz, H-6), 2.10(1H, q, H-5)。¹³C-NMR (CD₃OD) δ 98.2(C-1), 153.4(C-3), 112.5(C-4), 39.7(C-5), 36.6(C-6), 128.3(C-7), 144.8(C-8), 47.0(C-9), 61.4(C-10), 169.5(C-11), 51.7(C-12), 100.3(C-

1), 74.8(C-2), 78.4(C-3), 71.5(C-4), 77.8(C-5), 62.6(C-6)。以上理化数据及波谱数据与文献报道数据^[5]一致,鉴定化合物I为京尼平苷。

化合物II:白色无定形粉末(甲醇), Molish反应呈紫色环。ESI-MS m/z : 429 [M + Na]⁺, 835 [2M + Na]⁺。¹H-NMR (CD₃OD) δ 6.06(1H, d, J = 16.0 Hz, H-7), 5.77(1H, dd, J = 16.0, 7.4 Hz, H-8), 4.34(1H, d, J = 8.0 Hz, H-1), 4.19(1H, m, H-3), 3.34(1H, m, H-9), 1.95(1H, dd, J = 12.8, 2.4 Hz, H-4 α), 1.78(1H, t, J = 12.8 Hz, H-4 β), 1.72(1H, t, J = 12.0 Hz, H-2 ω), 1.58(1H, dd, J = 12.0, 2.2 Hz, H-2 β), 1.26(1H, m, H-9), 1.19(3H, s, H-13), 1.14(3H, s, H-11), 0.84(3H, s, H-12)。¹³C-NMR (CD₃OD) δ 40.7(C-1), 44.4(C-2), 73.2(C-3), 42.3(C-4), 77.9(C-5), 79.1(C-6), 131.0(C-7), 136.2(C-8), 69.5(C-9), 24.2(C-10), 27.5(C-11), 26.3(C-12), 27.2(C-13), 102.1(C-1), 75.1(C-2), 78.1(C-3), 71.6(C-4), 77.8(C-5), 62.7(C-6)。以上理化数据及波谱数据与文献报道数据^[6]一致,鉴定化合物II为3*S*, 5*R*, 6*R*, 7*E*, 9*S*-四甲基环己烯型单萜-7-烯-3, 5, 6, 9-四羟基-3-*O*- β -D-葡萄糖吡喃糖苷。

化合物III:白色粉末(甲醇), Molish反应呈阳性。ESI-MS m/z : 393 [M + Na]⁺。¹H-NMR (CD₃OD) δ 5.88(1H, s, H-4), 5.79(1H, dd, J = 15.2, 6.4 Hz, H-7), 5.63(1H, dd, J = 15.2, 8.8 Hz, H-8), 4.40(1H, m, H-9), 4.35(1H, d, J = 8.0 Hz, H-1), 2.68(1H, d, J = 8.8 Hz, H-6), 2.04(2H, t, J = 16.4 Hz, H-2), 1.94(3H, s, H-13), 1.29(3H, d, J = 6.4 Hz, H-10), 1.03(3H, s, H-12), 1.00(3H, s, H-11)。¹³C-NMR (CD₃OD) δ 37.1(C-1), 46.6(C-2), 202.0(C-3), 126.2(C-4), 165.9(C-5), 56.8(C-6), 128.8(C-7), 138.2(C-8), 77.0(C-9), 21.0(C-10), 27.6(C-11), 28.0(C-12), 23.8(C-13), 102.5(C-1), 75.3(C-2), 78.0(C-3), 71.6(C-4), 78.1(C-5), 62.7(C-6)。以上理化数据及波谱数据与文献报道数据^[7]一致,鉴定化合物III为(6*S*, 9*R*)-3-酮- α -紫罗兰醇-9-*O*- β -D-葡萄糖吡喃糖苷。

化合物IV:白色无定形粉末(甲醇), 升华(191), [α]_D²⁰ - 131.2(c 0.1, 甲醇), Molish反应呈阳性。酸水解后,糖部分经薄层色谱检识证明仅含有D-葡萄糖。根据高分辨ESI-MS谱中的准分子离子峰 m/z : 373.3585 [M + Na]⁺, 结合元素分析和NMR数据可确定其分子式为C₁₈H₂₂O₇(计算值

[M + Na]⁺ 373.3583), 表明其相对分子质量为350, 不饱和度为8, IR_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 3476 (OH), 1740 (C=O), 1615 (C=C), 1140 (C-O)。¹H-NMR谱(CD₃OD, 400 MHz)显示有3个芳香质子信号, 其中在δ 7.24 (1H, t, J = 8.0 Hz), 7.07 (1H, d, J = 8.4 Hz)和6.91 (1H, d, J = 7.6 Hz)处出现一组苯环的邻三取代氢质子信号; 在δ 7.33 (1H, s)处还可观察到一个烯氢质子信号。另外在δ 1.14 (3H, t, J = 7.6 Hz)处有一个甲基的三重峰信号, 表明其邻位可能存在亚甲基。在δ 2.18 (2H, s)和3.41 (2H, m)处可见到两组亚甲基的同碳质子信号; 在δ 4.83 (1H, d, J = 7.8 Hz)处可见来源于葡萄糖端基质子的信号, 根据其偶合常数可知葡萄糖为β构型。¹³C-NMR谱(CD₃OD, 400 MHz)给出18个碳信号, 其中包括一组βD-葡萄糖基的6个碳信号(δ 102.4, 75.0, 78.3, 71.3, 78.3, 62.6), 一个甲基碳信号(δ 8.1), 2个亚甲基碳信号(δ 38.9, 19.0), 一组苯环上的6个碳信号(δ 136.3, 133.6, 155.1, 114.2, 125.5, 131.1), 此外还有一个αβ不饱和羰基的3个碳信号(δ 211.3, 131.0, 129.3)。详细的¹H-NMR、¹³C-NMR谱数据见表1。

表1 化合物IV的¹H-NMR和¹³C-NMR谱数据
(CD₃OD, 400 MHz)

Table 1 ¹H-NMR and ¹³C-NMR Spectroscopic data
for compound IV (CD₃OD, 400 MHz)

碳位	¹³ C-NMR	¹ H-NMR
1	125.5	7.07 (1H, d, J = 8.4 Hz)
2	131.1	7.24 (1H, t, J = 8.0 Hz)
3	114.2	6.91 (1H, d, J = 7.6 Hz)
4	155.1	
5	133.6	
6	136.3	
7	19.0	2.18 (2H, s)
8	129.3	
9	131.0	7.33 (1H, s)
10	211.3	
11	38.9	3.41 (2H, m)
12	8.1	1.14 (3H, t, J = 7.6 Hz)
1	102.4	4.83 (1H, d, J = 7.8 Hz)
2	75.0	
3	78.3	
4	71.3	
5	78.3	
6	62.6	3.86 (1H, dd, J = 12.0, 2.0 Hz) 3.67 (1H, dd, J = 12.0, 5.6 Hz)

在化合物IV的HMBC谱中显示δ 1.14 (3H, t, J = 7.6 Hz)处的甲基质子信号H-12与羰基碳信号C-10、C-11相关, 表明化合物结构中存在-C(=O)-CH₂-CH₃结构片段。δ 2.18 (2H, s)处的亚甲基质子

信号H-7分别与C-1、C-6处的芳环碳信号相关; δ 7.07 (1H, d, J = 8.4 Hz)处的芳环质子信号H-1与C-3相关; δ 7.24 (1H, t, J = 8.0 Hz)处的芳环质子信号H-2分别与C-1、C-5相关; δ 7.33 (1H, s)处的烯氢质子信号H-9与C-4、C-5相关。δ 4.83 (1H, d, J = 7.8 Hz)处的葡萄糖端基质子信号H-1与δ 155.1处的芳香碳信号C-4相关, 说明葡萄糖连接在芳环的C-4上。经¹H-NMR、¹³C-NMR、DEPT、¹H-¹H COSY、HMBC、HMQC、HRESIMS等方法将该化合物的结构确定为如图1所示。经查新证明为一新化合物, 命名为香鳞毛蕨苷a (fragranside a)。

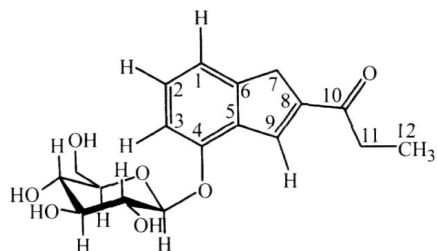


图1 化合物IV的化学结构式

Fig. 1 Chemical structure of compound IV

4 细胞毒活性实验

将分得的化合物 I、II、III溶解于DM SO 中, 用1640培养基稀释成不同质量浓度。取对数生长期的3种癌细胞(分别为人肝癌细胞Bel-7402、人盲肠腺癌细胞HCT-8、人肺癌细胞A-549), 以细胞浓度为 5×10^4 /mL接种于96孔细胞培养板中, 每孔200 μL, (细胞浓度为 1×10^5 个/孔)。培养24 h后, 弃原液, 加样品溶液200 μL, 继续培养48 h后加MTT 20 μL, 4 h后吸去上清液, 每孔加DM SO 100 μL, 振荡溶解10 min, 用酶标仪测其吸光度^[8]。当样品溶液质量浓度为50 μg/mL时, 化合物 I、II、III对Bel-7402的抑制率分别为69.50%、42.08%、71.89%, 对HCT-8的抑制率分别为61.89%、37.56%、75.48%, 对A-549的抑制率分别为65.02%、29.67%、52.73%。

参考文献:

- [1] 李红枝, 沈志滨, 赵 瑛. 香鳞毛蕨软膏对大鼠实验性体癣的治疗作用[J]. 中药材, 2005, 28(10): 491-492.
- [2] 沈志滨, 金哲雄, 张德连. 香鳞毛蕨治疗银屑病的药理作用研究[J]. 中草药, 2002, 33(5): 844-845.
- [3] 沈志滨, 马英丽, 江蔚新. 香鳞毛蕨对真菌的抑制作用[J]. 中草药, 2005, 36(5): 735-736.
- [4] Hideyuki I, Takashi M, Kazuko M, et al. Ichthyotoxic phloroglucinol derivatives from *Dryopteris fragrans* and their anti-tumor promoting activity[J]. *Chem Pharm Bull*, 2000, 48(8): 1190-1195.
- [5] Leticia J, Naggar E I, Beal J L, et al. Iridoids A review[J]. *J Nat Prod*, 1980, 43(6): 649-707.

- [6] Hideaki O, Eiji H, Takakazu S, *et al.* Stereochemistry of megastigmene glucosides from *Glochidion zeylanicum* and *Alangium pinnatifolium* [J]. *Phytochemistry*, 2003, 62(5): 763-768.
- [7] Otsuka H, Yao M, Kamada K, *et al.* Alanginoids G-M: Glycosides of megastigmene derivatives from the leaves of *Alangium pinnatifolium* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1995, 43(5): 754-759.
- [8] 李杰. MTT法肿瘤研究中的改良和应用进展[J]. *中国肿瘤临床*, 1998, 25(4): 312.

白头翁地上部分的化学成分研究

张晓琦, 石宝俊, 李药兰, 栗原博, 叶文才^{* *}

(暨南大学中药及天然药物研究所, 广东 广州 510632)

摘要: 目的 研究白头翁 *Pulsatilla chinensis* 地上部分的化学成分。方法 应用硅胶和ODS 色谱柱进行分离纯化, 应用各种波谱技术(UV、IR、MS、NMR) 鉴定化合物的结构。结果 从白头翁地上部分的95% 乙醇提取物中分离得到9个化合物, 分别鉴定为L-菊苣酸(I)、银假苷(II)、芹菜素-7-O- β D-(3-反式对羟基肉桂酰氧基)葡萄糖苷(III)、4,6,7-三甲氧基-5-甲基香豆素(IV)、4,7-二甲氧基-5-甲基香豆素(V)、*myo*-肌醇(VI)、莽草酸(VII)、1,4-丁二酸(VIII)、5-羟基-4-氧代戊酸(IX)。结论 所有化合物均为首次从该植物中分离得到, 其中化合物I为新的天然产物。

关键词: 白头翁; L-菊苣酸; 莽草酸

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)05-0651-03

Chemical constituents in aerial parts of *Pulsatilla chinensis*

ZHANG Xiao-qi, SHI Bao-jun, LI Yao-lan, KURIHARA Hiroshi, YE Wen-cai

(Institute of Traditional Chinese Medicine and Natural Products, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: Objective To study the chemical constituents in the aerial parts of *Pulsatilla chinensis*.

Methods The compounds were isolated and purified by silica gel and ODS column chromatographies. Their structures were identified by physical and chemical properties as well as spectral data. **Results** Nine compounds were isolated from the 95% ethanol extract in the aerial parts of this plant. Their structures were elucidated as L-chicoric acid (I), tiliroside (II), apigenin 7-O-(3-p-coumaryl)-glucoside (III), 4,6,7-trimethoxy-5-methyl coumarin (IV), 4,7-dimethoxy-5-methyl coumarin (V), *myo*-inositol (VI), shikimic acid (VII), 1,4-amber acid (VIII), and 5-hydroxy-4-oxo-pentanoic acid (IX), respectively. **Conclusion** Compound I is a new natural product. All compounds are isolated from this plant for the first time.

Key words: *Pulsatilla chinensis* (Bunge) Regel; L-chicoric acid; shikimic acid

白头翁 *Pulsatilla chinensis* (Bunge) Regel 为多年生草本植物, 又名白头草、野丈人等。始载于《神农本草经》, 为常用中药, 具有清热解毒、凉血止痢、燥湿杀虫的功效, 临床上用于治疗细菌性痢疾、阿米巴痢疾、妇科阴道炎等^[1]。本课题组曾从白头翁药材(地下根茎)中分离鉴定出多种新的羽扇豆烷型三萜皂苷^[2-7], 笔者首次报道了白头翁地上部分的化学成分研究, 从该植物的95%乙醇提取物中分离得到9个化合物, 经理化及波谱数据分析, 分别鉴定为L-

菊苣酸(L-chicoric acid, I)、银假苷(tiliroside, II)、芹菜素-7-O- β D-(3-反式对羟基肉桂酰氧基)葡萄糖苷[apigenin 7-O-(3-p-coumaryl)-glucoside, III]、4,6,7-三甲氧基-5-甲基香豆素(4,6,7-trimethoxy-5-methyl coumarin, IV)、4,7-二甲氧基-5-甲基香豆素(4,7-dimethoxy-5-methyl coumarin, V)、*myo*-肌醇(*myo*-inositol, VI)、莽草酸(shikimic acid, VII)、1,4-丁二酸(1,4-amber acid, VIII)、5-羟基-4-氧代戊酸(5-hydroxy-4-oxo-pentanoic acid,

* 收稿日期: 2007-08-16

基金项目: 国家杰出青年科学基金(30625039); 广东省关键领域重点突破项目(2003A30909); 广州市科技攻关计划(2004Z2-E5021)

* 通讯作者 叶文才 Tel/Fax: (020)85221559 E-mail: chyw@yaho.com.cn