

4 讨论

活性氧对细胞的损伤是造成许多退化性神经系统疾病的一种重要诱因,而合适的抗氧化剂可以保护神经元免受氧化损伤,是防治该类疾病的有效途径^[10]。本文探讨了从吉祥草中分离的 5 个单体化合物对神经母瘤细胞 SH-SY5Y 的抗氧化保护活性,结果表明在 1~10 $\mu\text{g/ml}$ 浓度范围内显示出一定的抗氧化活性,因此为神经退化性疾病的药物设计提供了一定的参考价值。但是由于药物介导的神经细胞的抗氧化作用,其机制复杂多样,如细胞膜的损坏程度、相关抗氧化酶系含量的变化等,其详细机理还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 余永红,米长忠,周顺.吉祥草的鉴别[J].中国民族民间医药杂志,2005,5:300.
- [2] 张元,杜江,邱德文.苗药吉祥草的研究概况[J].贵阳中医学院学报,2003,25(2):205.
- [3] 张元,杜江,许建阳,等.吉祥草总皂苷溶血、止咳、化痰、抗炎作用的研究[J].武警医学,2006,17(4):282.
- [4] 黄少兰,董文娟,薛艳红,等.排风藤生物碱对 H_2O_2 致 SH-SY5Y 细胞损伤的保护作用[J].江苏中医药,2011,43(9):90.
- [5] 吴迪,吴桂荣,阿布力孜·阿布杜拉,等.不同 $\omega-3/\omega-6$ 构成比的配伍红花籽油对 SH-SY5Y 细胞氧化损伤的预防效应[J].天然产物研究与开发,2011,23(3):420.
- [6] 孙芳玲,王文,安宜,等.莫诺苷抑制过氧化氢诱导的神经细胞损伤作用[J].中国药物与临床,2008,8(11):843.
- [7] 余涓,胡桂芳,翁绳美,等.13-甲基十四烷酸对 H_2O_2 诱导 SH-SY5Y 神经细胞损伤的保护作用[J].中国临床药理学与治疗学,2010,15(6):622.
- [8] 荣国斌.波谱数据表-有机化合物的结构解析[M].上海:华东理工大学出版社,2002:238,155.
- [9] 侯群娥.吉祥草化学成分分析及抗风湿性关节炎研究[D].三峡大学硕士学位论文,2009:19.
- [10] Milton N G. Role of hydrogen peroxide in the aetiology of Alzheimer's disease: implications for treatment[J]. Drugs Aging, 2004, 21(2):81.

马兰的化学成分研究

张玉梅¹,宋启示¹,冯峰^{1,2}

(1. 中国科学院西双版纳热带植物园,热带植物资源可持续利用重点实验室,云南 昆明 650223;

2. 昆明理工大学,云南 昆明 650500)

摘要:目的 研究马兰全草中的化学成分。方法 采用工业甲醇提取,硅胶柱、反向 C-18 柱及凝胶柱等柱层析方法从马兰全草中分离化学成分,并通过 MS 和 NMR 等波谱学方法进行结构鉴定。结果 分离得到 4 个化合物,分别为 ascleposide E (1)、pimar-15(16)- β -ene-8 β ,11 α ,20-triol-7-O- β -D-glucopyranoside (2)、4'-O- β -acetylsinapylangelate (3) 和 (3 β ,5 α ,22E,24S)-campesta-7,22-dien-3-O- β -D-glucopyranoside (4)。结论 此 4 个化合物均为在该植物中首次分离得到,且它们在体外人肿瘤细胞株 A549、BGC-823 和 HeLa 上均不显示细胞毒活性。

关键词: 马兰; 化学成分; 细胞毒活性

DOI 标识: doi: 10.3969/j.issn.1008-0805.2014.07.006

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1008-0805(2014)07-1551-02

马兰为菊科马兰属植物马兰 *Kalimeris indica* (L.) Sch. Bip. 的全草,具有清热解毒、消食积、利小便、散瘀止血的功效,民间也将其幼苗当做野菜食用,俗称“马兰头”^[1]。现代药理则证明其具有抗菌、抑制血小板活化因子以及保肝等作用^[2-4]。由于马兰在我国南方大部分地区均有分布,前人主要对采自贵阳、杭州及合肥等地的马兰进行过一些化学成分研究,其化学成分主要有三萜、甾醇、酚类、甘油酯、烷烃和烷醇等^[3-9]。为了进一步明确马兰的化学成分和药效物质基础,我们对采自云南昆明的马兰进行了进一步的化学成分研究工作,从其全草的甲醇提取物中首次分离得到了 ascleposide E (1)、pimar-15(16)- β -ene-8 β ,11 α ,20-triol-7-O- β -D-glucopyranoside (2)、4'-O- β -acetylsinapylangelate (3) 和 (3 β ,5 α ,22E,24S)-campesta-7,22-dien-3-O- β -D-glucopyranoside (4) 等 4 个化合物,并对其进行了体外抗肿瘤细胞毒活性测试。

1 仪器与材料

MS 用液相离子阱色质谱联用仪 BRUKER HCT/ESQUIRE 测定。NMR 用 Bruker AM-400 和 Bruker DRX-500 超导核磁共振仪测定, TMS 为内标。凝胶 Sephadex LH-20 为瑞士 Pharmacia 公司生产,柱层析硅胶为青岛化工厂生产, RP-C18 柱层析材料为德国 Merck 公司生产。TCL 薄层板为青岛化工厂生产,显色方法为 254,365 nm 荧光,8% 硫酸乙醇溶液显色。

马兰全草采自云南昆明,经中国科学院昆明植物所李荣博士鉴定为马兰 *Kalimeris indica* (L.) Sch. Bip., 标本保存于中国科学院西双版纳热带植物园民族药研究组。

2 方法与结果

2.1 提取分离 马兰全草 5.5kg,晾干粉碎后用工业甲醇 15L 冷浸提取 3 次,6 天/次,合并减压回收甲醇得浸膏 224 g。浸膏加水溶解,再分别用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取,减压蒸馏得到石油醚(45 g)、乙酸乙酯(63 g)、正丁醇(50)和水部分(66g)。将石油醚部分(45 g)通过硅胶柱(200~300 目),用石油醚/丙酮(0:1~1:0)梯度洗脱,得到 8 个流分(Fr1~Fr8)。Fr3 通过硅胶柱(SiO_2 ,石油醚/丙酮=3:1)反复柱层析,得到化合物 3(320 mg)。乙酸乙酯部分(63 g)通过硅胶柱(20~300 目),用氯仿/甲醇(1:0~0:1)梯度洗脱,得到 6 个流分(FrA~FrF)。FrD 经反

收稿日期: 2013-08-27; 修订日期: 2013-12-17

基金项目: 国家自然科学基金(No. 20972168);

云南省中青年学术技术带头人后备人才项目(No. 2010CIC048)

作者简介: 张玉梅(1973-),女(汉族),四川南充人,西双版纳热带植物园副研究员,硕士研究生导师,博士学位,主要从事天然药物化学研究工作。

复正相硅胶柱(SiO₂, 氯仿/甲醇 = 9: 1 ~ 4: 1)、反相柱(Rp - C₁₈, 甲醇/水 = 4: 6 ~ 8: 2)、凝胶(Sephadex LH - 20, 氯仿/甲醇 = 1: 1)层析, 得到化合物 1(42 mg)、2(275 mg)和 4(16 mg)。

2.2 结构鉴定

2.2.1 化合物 1 白色粉末, C₁₉H₃₂O₈, ESI⁺ - MS: 411 [M + H]⁺; ¹H NMR(600 MHz, CD₃OD) δ: 4.35(1H, d, J = 7.8 Hz, H - 1/), 4.11(1H, m, H - 3), 3.86(1H, d, J = 11.4 Hz, H - 6/a), 3.66(2H, m, H - 6/b, H - 11a), 3.41(1H, dd, J = 7.8, 1.8 Hz, H - 11b), 3.34(1H, m, H - 3/), 3.26(2H, m, H - 4/ 5/), 3.12(1H, dd, J = 7.8, 7.8 Hz, H - 2/), 2.63(2H, t, J = 7.8 Hz, H - 8), 2.16(3H, s, H - 10), 1.95(1H, dd, J = 12.8, 7.0 Hz, H - 4a), 1.77(2H, m, H - 2a, 7a), 1.60(2H, m, H - 2b, 7b), 1.52(1H, dd, J = 12.8, 6.6 Hz, H - 4b), 1.35(1H, t, J = 6.6 Hz, H - 6), 1.25(3H, s, H - 13), 1.01(3H, s, H - 12); ¹³C NMR(150 MHz, CD₃OD) δ: 44.1(C - 1), 38.7(C - 2), 74.3(C - 3), 39.0(C - 4), 85.3(C - 5), 54.8(C - 6), 19.7(C - 7), 43.6(C - 8), 211.3(C - 9), 30.0(C - 10), 78.1(C - 11), 21.9(C - 12), 25.9(C - 13), 102.8(C - 1/), 75.2(C - 2/), 78.2(C - 3/), 71.8(C - 4/), 78.1(C - 5/), 62.9(C - 6/). 以上数据与文献[10]报道一致, 故化合物 1 鉴定为 ascleposide E。

2.2.2 化合物 2 白色针晶, C₂₆H₄₄O₉, ESI⁺ - MS: 523 [M + Na]⁺; ¹H NMR(600 MHz, CD₃OD) δ: 6.14(1H, dd, J = 17.7, 11.4 Hz, H - 15), 5.03(1H, dd, J = 18.0, 1.2 Hz, H - 16a), 4.90(1H, dd, J = 10.8, 1.2 Hz, H - 16b), 4.74(1H, d, J = 10.2 Hz, H - 20a), 4.61(1H, m, H - 11), 4.27(1H, d, J = 7.8 Hz, H - 1), 3.95(1H, d, J = 10.2 Hz, H - 20b), 3.19(1H, m, H - 7), 0.97(3H, s, H - 19), 0.92(3H, s, H - 18), 0.89(3H, s, H - 17); ¹³C NMR(150 MHz, CD₃OD) δ: 37.6(C - 1), 20.0(C - 2), 42.6(C - 3), 34.7(C - 4), 53.7(C - 5), 27.4(C - 6), 78.6(C - 7), 78.0(C - 8), 62.4(C - 9), 44.7(C - 10), 69.4(C - 11), 48.5(C - 12), 37.9(C - 13), 50.3(C - 14), 149.4(C - 15), 110.2(C - 16), 32.4(C - 17), 34.3(C - 18), 22.8(C - 19), 70.7(C - 20), 105.1(C - 1), 75.4(C - 2), 78.0(C - 3), 71.7(C - 4), 77.9(C - 5), 62.8(C - 6). 以上数据与文献[11]报道一致, 故化合物 2 鉴定为 pimar - 15(16) - β - ene - 8β, 11α, 20 - triol - 7 - O - β - D - glucopyranoside。

2.2.3 化合物 3 白色柱状结晶, C₁₈H₂₂O₆, ESI⁺ - MS: 334 [M]⁺; ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 6.65(2H, s, H - 2, 6), 6.59(1H, d, J = 15.8 Hz, H - 7), 6.21(2H, m, H - 3, 8), 4.72(2H, d, J = 6.4 Hz, H - 9), 3.81(6H, s, H - OMe), 2.10(3H, s, H - OAc), 2.08(3H, s, H - 5), 2.07(3H, d, J = 3.9 Hz, H - 4); ¹³C NMR(100 MHz, CDCl₃) δ: 134.4(C - 1), 103.3(C - 2, 6), 152.3(C - 3, 5), 127.3(C - 4), 134.0(C - 7), 123.4(C - 8), 64.9(C - 9), 165.6(C - 1), 128.7(C - 2), 139.4(C - 3), 20.7(C - 4), 15.9(C - 5), 170.8(C - 1), 21.0(C - 2). 以上数据与文献[12]报道一致, 故化合物 3 鉴定为 4' - O - acetylsinapylangelate。

2.2.4 化合物 4 白色粉末, C₃₄H₅₆O₆, ESI⁺ - MS: 560 [M]⁺; ¹H NMR(400 MHz, C₅D₅N) δ: 5.26(1H, dd, J = 12.7, 6.7 Hz, H - 22), 5.22(1H, t, J = 17.4, 4 Hz, H - 7), 5.15(1H, dd, J = 12.7, 8.6 Hz, H - 16b), 4.98(1H, d, J = 7.6 Hz, H - 1), 3.96(1H, m, H - 3), 1.12(3H, d, J = 6.7 Hz, H - 28), 0.94(3H, d, J = 6.7 Hz, H - 27), 0.92(3H, d, J = 7.9 Hz, H - 26), 0.90(3H, d, J = 6.4 Hz, H - 21),

0.78(3H, s, H - 18), 0.63(3H, s, H - 19); ¹³C NMR(100 MHz, CSD₅N) δ: 37.5(C - 1), 30.1(C - 2), 77.4(C - 3), 34.9(C - 4), 41.0(C - 5), 28.8(C - 6), 117.9(C - 7), 139.7(C - 8), 51.5(C - 9), 34.7(C - 10), 21.9(C - 11), 39.8(C - 12), 43.6(C - 13), 55.4(C - 14), 25.6(C - 15), 23.4(C - 16), 56.3(C - 17), 12.4(C - 18), 12.3(C - 19), 40.4(C - 20), 19.3(C - 21), 138.6(C - 22), 129.9(C - 23), 49.8(C - 24), 32.2(C - 25), 13.0(C - 26), 21.2(C - 27), 21.6(C - 28), 102.4(C - 1), 75.4(C - 2), 78.7(C - 3), 72.0(C - 4), 78.3(C - 5), 63.1(C - 6). 以上数据与文献[13]报道一致, 故化合物 4 鉴定为(3β, 5α, 22E, 24S) - campesta - 7, 22 - dien - 3 - O - β - D - glucopyranoside。

3 讨论

本研究从采自云南昆明的植物马兰中首次分离鉴定了 ascleposide E, pimar - 15(16) - β - ene - 8β, 11α, 20 - triol - 7 - O - β - D - glucopyranoside, 4' - O - acetylsinapylangelate 和(3β, 5α, 22E, 24S) - campesta - 7, 22 - dien - 3 - O - β - D - glucopyranoside 等 4 个化合物。体外活性测试结果显示, 马兰甲醇总提取物和以上 4 个化合物在人肿瘤细胞株 A549、BGC - 823 和 HeLa 均无明显细胞毒活性。由于马兰最为人知的是其清热解毒以及保肝作用, 这提示我们以上小分子化合物可能为其药效物质基础, 下一步应该针对性地对这些单体小分子化合物进行抗病毒相关药理研究。

参考文献:

- [1] 中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [2] 陈榕, 陈小清, 苏育才. 路边菊多糖提取物抗菌活性初步研究[J]. 微量元素与健康研究, 2009, 26(2): 22.
- [3] Fan GJ, Kim S, Han BH, et al. Glyceroglycolipids: a novel class of platelet - activating factor antagonists from *Kalimeris indica* [J]. *Phytochem Lett* 2008, 1(4): 207.
- [4] 王刚, 王国凯, 刘劲松, 等. 马兰化学成分研究[J]. 中药材, 2010, 33(4): 551.
- [5] 林材, 曹佩雪, 梁光义. 马兰化学成分的研究[J]. 中国药理学杂志, 2006, 41(4): 251.
- [6] Clifford MN, Zheng W, Kuhnert N. Profiling the chlorogenic acids of *Aster* by HPLC - MS [J]. *Phytochem Anal* 2006, 17(6): 384.
- [7] 龚小见, 周欣, 赵超, 等. 马兰中的三萜成分[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(3): 327.
- [8] 刘劲松, 王刚, 王国凯, 等. 马兰三萜类化学成分研究[J]. 中成药, 2010, 32(3): 462.
- [9] 许文清, 龚小见, 周欣, 等. 马兰化学成分研究[J]. 中草药, 2010, 41(7): 1056.
- [10] Abe F, Yamauchi T, Saito T. Epoxymegastigmanes from the leaves of *Asclepias fruticosa* [J]. *Chem Pharm Bull* 2000, 48(12): 1908.
- [11] Wang CZ, Yu DQ. Diterpenoid, sesquiterpenoid and secoiridoid glucosides from *Aster auriculatus* [J]. *Phytochemistry* 1997, 45(7): 1483.
- [12] Bohlmann F, Chen ZL, Schuster A. Aromatic esters from *Solidago decurrens* [J]. *Phytochemistry* 1981, 20(11): 2601.
- [13] Takaishi Y, Ohashi T, Tomimatsu T. Ergosta - 7, 22 - dien - 3β - ol glycoside from *Tylopilus neofelleus* [J]. *Phytochemistry* 1989, 28(3): 945.