

## 小蓟的化学成分研究

曹琴<sup>1</sup>, 陈建涛<sup>2</sup> (1 武警 8690部队医院, 江苏 宜兴 214206; 2 上海第一生化药业有限公司, 上海 200240)

**[摘要]** 目的 研究小蓟中具有止血作用的化学成分。方法 运用正相硅胶, 凝胶 (Sephadex LH-20)等多种柱色谱和 HPLC进行分离纯化, 根据理化性质和波谱数据进行结构鉴定。结果 从小蓟的乙酸乙酯萃取部分和正丁醇部分分离得到 5 个化合物, 分别鉴定为咖啡酸 (I), 绿原酸 (II), 7-葡萄糖酸-5, 6-二羟基黄酮 (III), 豆甾醇 3-O-葡萄糖苷 (IV), 5, 8, 4'-三羟基黄酮-7-O-β-D-葡萄糖苷 (V)。结论 化合物 IV、V 为首次从小蓟中分离得到; 化合物 I、II 具有止血作用。

**[关键词]** 小蓟; 化学成分; 结构鉴定

**[中图分类号]** R 284 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2010)04-0271-03

## Studies on the chemical constituents of *Cirsium segetum*

CAO Q in<sup>1</sup>, CHEN Jian-tao<sup>2</sup> (1 No. 8690 Hospital of People's Armed Police, Yixing 214206, China; 2 Shanghai First biochemical & Pharmaceutical company LTD., Shanghai 200240, China)

**[Abstract]** **Objective** To study the chemical constituents of *Cirsium segetum*. **Methods** Multi chromatographic methods including Silica gel column chromatography and Sephadex LH-20 gel permeation were employed for the isolation and purification. The structures were identified on the basis of chemical evidence and spectral data. **Results** Five compounds were isolated and identified as Caffeic acid (I), Chlorogenic acid (II), Baicalin (III), stigmasterol 3-O-glucopyranoside (IV), 5, 8, 4'-trihydroxy-7-O-β-D-glucopyranoside (V). **Conclusion** compounds IV and V were isolated from *Cirsium segetum* for the first time.

**[Key words]** *Cirsium segetum*; chemical constituents; structure identification

中药小蓟为菊科植物刺儿菜 *Cirsium setosum* (Willd) MB. 的干燥地上部分, 根亦可入药。又名青刺蓟、刺蓟菜。目前也有以菊科植物刻叶刺儿菜 *Cephalanoplos segetum* (Bunge) Kitam. 的干燥地上部分作为小蓟入药<sup>[1-3]</sup>。

作者对小蓟进行了化学成分研究, 从中分离得到了 5 个化合物, 分别为: 咖啡酸 (I), 绿原酸 (II), 7-葡萄糖酸-5, 6-二羟基黄酮 (III), 豆甾醇 3-O-葡萄糖苷 (IV), 5, 8, 4'-三羟基黄酮-7-O-β-D-葡萄糖苷 (V)。化合物 IV、V 均为首次从小蓟中分离得到。

### 1 材料和方法

**1.1 仪器和试剂** Yanato MP-21 显微熔点仪 (温度未校正); Varian Inova-400 型核磁共振仪 (TMS 内标); ESI-MS 谱用 Q-ToF micro 质谱仪测定; 硅胶 H 及柱色谱硅胶 (300-400 目, 青岛海洋化工厂); Sephadex LH-20 (Pharmacia 公司产品); 石油醚、乙酸乙酯、丙酮、二氯甲烷、甲醇均为分析纯 (上海化

学试剂公司)。

**1.2 样品** 小蓟样品于 2006 年 5 月采集于中国江苏南通, 其生物种属由中国药科大学秦民坚教授鉴定为刺儿菜 *Cirsium setosum* (Willd) MB. 全草。

**1.3 提取和分离** 取新鲜小蓟全草 4 kg, 用 90% 的乙醇冷浸 3 次, 每次 5 d 合并提取液并减压回收乙醇, 得提取物浓缩液。于浓缩液中加水至 4 000 ml 分别用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取, 得到石油醚部位 130 g 乙酸乙酯部位 60 g 和正丁醇部位 30 g。

取乙酸乙酯部位 50 g 拌等同量的硅胶进行硅胶柱色谱 (石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱), 得到 5 个流分。流分 2~4 分别经硅胶柱进一步分离 (石油醚-丙酮梯度洗脱), Sephadex LH-20 凝胶柱纯化 (氯仿: 甲醇 = 1: 1 洗脱), 分别得到化合物 1 (20 mg)、2 (50 mg)、3 (40 mg)。

取正丁醇部位 30 g 拌等同量的硅胶进行硅胶柱色谱 (氯仿-甲醇梯度洗脱), 得到 8 个流分。流分 2~3 分别经硅胶柱进一步分离 (氯仿-甲醇梯度洗脱), Sephadex LH-20 凝胶柱纯化 (氯仿: 甲醇 = 1: 1 洗脱), 分别得到化合物 4 (10 mg)、5 (30 mg)。

**[作者简介]** 曹琴 (1973-), 女, 副主任药师. E-mail: caoqiny666@sina.com.

**[通讯作者]** 陈建涛. Tel: (021) 64300590, E-mail: cjt19840921@126.com.

## 2 结果

**2.1 化合物 I 的结构鉴定** 黄白色针晶, 易溶于丙酮、甲醇, 可溶于水, 遇  $\text{FeCl}_3\text{-K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  试剂显蓝色, 说明为酚性成分, 在 365 nm 下显天蓝色荧光。根据 ESHMS( $m/z$ ) 给出准分子离子峰  $m/z$  203  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 示相对分子质量为 180。红外光谱:  $\text{R}(\text{KBr}) \text{cm}^{-1}$ : 3 435, 3 245, 1 780, 1 620, 1 596, 1 450, 1 281。 $^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{Me}_2\text{CO-d}_6$ )  $\delta$  7.15 (1H, d,  $J=2.0 \text{ Hz}$ , H-2), 7.08 (1H, dd,  $J=8.0, 2.0 \text{ Hz}$ , H-6), 6.87 (1H, d,  $J=8.0 \text{ Hz}$ , H-5), 7.43 (1H, d,  $J=16.0 \text{ Hz}$ , H-7), 6.24 (1H, d,  $J=16.0 \text{ Hz}$ , H-8)。 $^{13}\text{C NMR}$  (150 MHz,  $\text{Me}_2\text{CO-d}_6$ )  $\delta$  127.1 (C-1), 116.1 (C-2), 146.4 (C-3), 148.9 (C-4), 121.8 (C-5), 116.3 (C-6), 146.0 (C-7), 146.4 (C-8), 168.1 (C-9)。以上光谱数据与文献<sup>[4]</sup>报道一致, 且混合熔点测定不下降, 因此鉴定化合物 I 为咖啡酸。

**2.2 化合物 II 的结构鉴定** 白色针状结晶, mp 206~208 °C, 易溶于 MeOH 中, 遇  $\text{FeCl}_3\text{-K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  试剂显蓝色, 说明为酚性成分。根据 ESHMS( $m/z$ ) 给出准分子离子峰  $m/z$ : 376  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 示相对分子质量为 353。 $^1\text{H NMR}$  (600 MHz, MeOD)  $\delta$  6.34 (1H, d,  $J=16.0 \text{ Hz}$ , H-2'), 7.63 (1H, d,  $J=16.0 \text{ Hz}$ , H-3'), 6.79 (1H, d,  $J=8.0 \text{ Hz}$ , H-8'), 6.96 (1H, dd,  $J=1.6, 8.0 \text{ Hz}$ , H-9'), 7.10 (1H, d,  $J=1.6 \text{ Hz}$ , H-5'), 2.16 (2H, m, H-2), 5.30 (1H, t,  $J=4.2 \text{ Hz}$ , H-3), 3.68 (1H, m, H-4), 4.18 (1H, m, H-5), 1.98 (1H, q, H-6), 2.21 (1H, m, H-6)。 $^{13}\text{C NMR}$  (150 MHz, MeOD)  $\delta$  170.0 (C-1'), 116.5 (C-2'), 147.5 (C-3'), 128.3 (C-4'), 116.5 (C-5'), 150.4 (C-6'), 147.6 (C-7'), 116.0 (C-8'), 124.1 (C-9'), 75.8 (C-1), 36.8 (C-2), 73.6 (C-3), 74.6 (C-4), 68.8 (C-5), 42.6 (C-6), 177.9 (C-7)。将以上光谱数据与文献<sup>[5]</sup>对照基本一致, 与绿原酸对照品混合熔点测定不下降, 与绿原酸对照品混合物共薄层色谱显示单一斑点, 因此鉴定化合物 II 为绿原酸。

**2.3 化合物 III 的结构鉴定** 黄色针状结晶 (MeOH), 黄色针状结晶 (MeOH), mp 285~288 °C, 根据 ESHMS( $m/z$ ) 给出准分子离子峰  $m/z$  481  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 示相对分子质量为 448。 $^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  12.87 (2H, 16-COOH, 5-H), 8.02 (1H, H-6'), 7.98 (1H, H-2'), 7.53 (1H, H-4'), 7.02 (2H, H-3', H-5'), 6.77 (1H, H-8), 5.27 (1H, H-3)。 $^{13}\text{C NMR}$  (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  168 (C-2),

102.1 (C-3), 189.0 (C-4), 159.9 (C-5), 156.6 (C-6), 154.1 (C-7), 97.1 (C-8), 154.3 (C-9), 100.8 (C-10), 99.1 (C-11), 85.2 (C-12), 65.2 (C-13), 65.2 (C-14), 65.1 (C-15), 172.4 (C-16), 127.9 (C-1'), 129.1 (C-2'), 115.0 (C-3'), 128.6 (C-4'), 113.9 (C-5'), 129.2 (C-6')。将以上光谱数据与文献<sup>[6]</sup>对照基本一致, 因此鉴定化合物 III 为 7-葡萄糖酸-5,6-二羟基黄酮。

**2.4 化合物 IV 的结构鉴定** 白色粉末 (石油醚-乙酸乙酯), Molish 反应阳性。根据 ESHMS( $m/z$ ) 给出准分子离子峰  $m/z$  597  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 示相对分子质量为 574。 $^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  5.31 (s, 1H), 5.17 (d, 1H,  $J=8.0 \text{ Hz}$ ), 4.68 (dd, 3H,  $J=8.0 \text{ Hz}$ ), 4.25 (d, 2H,  $J=8.0 \text{ Hz}$ ), 0~3.46 (48H)。 $^{13}\text{C NMR}$  (150 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  140.3 (C-5), 116 (C-22), 128.7 (C-23), 120.9 (C-6), 100.7 (C-1'), 76.9 (C-3'), 76.7 (C-5'), 73.3 (C-2'), 70.1 (C-4'), 61.0 (C-6'), 56.0 (C-14), 55.4 (C-17), 50.3 (C-24), 49.5 (C-9), 45.1 (C-13), 41.7 (C-20), 40.0 (C-12), 39.3 (C-4), 38.2 (C-1), 36.7 (C-10), 31.3 (C-25), 31.2 (C-7), 31.0 (C-8), 29.1 (C-2), 28.7 (C-16), 25.5 (C-28), 24.6 (C-15), 23.6 (C-21), 22.5 (C-11), 20.8 (C-26), 20.4 (C-6), 19.4 (C-19), 11.6 (C-18), 11.4 (C-29)。以上数据和文献<sup>[7]</sup>报道的豆甾醇 3-O-葡萄糖苷数据对照一致, 因此鉴定化合物 IV 为豆甾醇 3-O-葡萄糖苷。

**2.5 化合物 V 的结构鉴定** 黄色粉末 (MeOH); 根据 ESHMS( $m/z$ ) 给出准分子离子峰  $m/z$  471  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 示相对分子质量为 448。 $^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  7.99 (2H, d,  $J=8.5 \text{ Hz}$ , H-2', H-6'), 6.91 (2H, d,  $J=8.5 \text{ Hz}$ , H-3', H-5'), 6.06 (1H, s, H-3), 6.26 (1H, s, H-6), 5.50 (1H, d,  $J=7.0 \text{ Hz}$ , H-1'), 3.22~3.74 (m, 5H, 糖上质子)。 $^{13}\text{C NMR}$  (150 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  176.7 (C-4), 161.0 (C-4'), 160.2 (C-7), 156.7 (C-5), 155.4 (C-9), 147.0 (C-2), 130.6 (C-2'), 130.6 (C-6'), 120.8 (C-8), 115.3 (C-3'), 115.2 (C-5'), 102.3 (C-10), 101.4 (C-3), 94.3 (C-6), 100.0 (C-1'), 77.3, 76.5, 74.3, 69.8, 60.8 (-CH<sub>2</sub>-)。将以上光谱数据与文献<sup>[8]</sup>报道的 5,8,4'-三羟基黄酮-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷对照基本一致, 因此鉴定化合物 V 为 5,8,4'-三羟基黄酮-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷。

【参考文献】

[1] 中国药典 2005年版. 一部[S]. 2005: 32.  
 [2] 金延明, 李胜华, 楼之岑. 中药大蓟和小蓟植物资源调查[J]. 中国中药杂志, 1994, 12: 23.  
 [3] 王本祥. 现代中药药理学[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1997: 783.  
 [4] 张勉, 张朝凤, 王峥涛. 侧茎囊吾化学成分的研究[J]. 药学报, 2005, 40(6): 529.  
 [5] 孙燕荣, 董俊兴, 吴曙光. 杜仲化学成分研究[J]. 中药材,

2004, 27(5): 341.  
 [4] 张中朋, 杨中林, 唐登峰, 等. 地蚕化学成分分离与鉴定[J]. 中成药, 2004, 26(12): 1051.  
 [7] 陆江海, 赵玉英, 乔梁, 等. 醉鱼草化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2001, 26: 41.  
 [8] 张卫东, 陈万生, 王永红, 等. 灯盏花黄酮苷化学成分的研究[J]. 中草药, 2000, 31(8): 565.

[收稿日期] 2010-05-07

[修回日期] 2010-06-24

(上接第 264 页)

均随作用时间呈递减变化。还有报道当  $10^{-6}$  mol/L 的 A ra-C 与一定剂量的喜树碱联合应用诱导急性早幼粒白血病细胞株 MOL T-4 4 h 细胞凋亡数目明显增加<sup>[13]</sup>, 且细胞多处于 G0 期, S 期细胞明显减少。因此推断正是这种抑制作用为随后 ATRA 的诱导分化作用铺平了道路, 除被阻断在 S 期的细胞外, ATRA 将诱导其它处于细胞周期阶段的细胞分化, 使之趋于衰老直至死亡。

当 ATRA 与 A ra-C 同时作用时, Bcl-2 反而表达, 推测有可能 DNA 复制阻断药物与诱导分化药物间发生了一定的拮抗, 使抗凋亡癌基因有机会表达。因此 A ra-C 在联合给药中的作用地位主要是对细胞周期的阻断。

ATRA 与 DNR 联用, 不论何种方式均可获得良好效果, 表现为细胞凋亡流式检测同时联用和 DNR 先用, ATRA 后用均可显著提高细胞凋亡数量, 而联用的三种方式均可使 Bcl-2 蛋白消失。推测这是因为 DNR 是对 G1 期细胞作用最强的抗癌抗生素。目前已知肿瘤细胞周期长于正常细胞主要在于其有较长的 G1 期<sup>[11]</sup>, DNR 强烈抑制 G1 期 RNA 和各种 DNA 转录启动蛋白的合成, 使之不能进入下一个细胞周期, 为 ATRA 的同时或后续诱导分化提供了良好的条件。

根据本研究结论推测首先应用小剂量 A ra-C 随后应用 ATRA 的联用方式可明显增多细胞凋亡数目, 抑制 HL-60 细胞的抗凋亡蛋白 Bcl-2 不能表达, 有效控制细胞凋亡方向, 是最有潜力的药物联用方式。

【参考文献】

[1] Laurent D, Zheng YW. All trans retinoic acid in acute promyelocytic leukemia[J]. Oncogene 2001, 20: 7140.  
 [2] Martin SF, Jan et WA, Charles AS et al. All trans retinoic acid in acute promyelocytic leukemia long-term outcome and prognostic factor analysis from the North American Intergroup protocol[J]. Blood 2002, 100(13): 4298.  
 [3] Tallan MS Andersen JW, Schiffer CA, et al. All trans retinoic

acid in acute promyelocytic leukemia[J]. N Engl J Med, 1997, 337: 1021.  
 [4] Tallan MS, Andersen JW, Schiffer CA, et al. All trans retinoic acid in acute promyelocytic leukemia long-term outcome and prognostic factor analysis from the North American Intergroup protocol[J]. Blood 2002, 100: 4298.  
 [5] Fenaux P, Le Deley MC, Castaigne S, et al. Effect of all-trans retinoic acid in newly diagnosed acute promyelocytic leukemia. Results of an multicenter randomized study[J]. Blood 1993, 82: 3241.  
 [6] Fenaux P, Chastang C, Chevret S, et al. A randomized comparison of all-trans-retinoic acid (ATRA) followed by chemotherapy and ATRA plus chemotherapy and the role of maintenance therapy in newly diagnosed acute promyelocytic leukemia[J]. Blood, 1999, 94: 1192.  
 [7] Bumett AK, Grinwade D, Solomon E, et al. Presenting white blood cell counts and kinetics of molecular remission predict prognosis in acute promyelocytic leukemia treated with all-trans retinoic acid: results of the randomized MRC trial[J]. Blood 1999, 93: 4131.  
 [8] Aandelli F, Diviero D, Avvisati G, et al. Molecular remission in FML/RAR $\alpha$ -positive acute promyelocytic leukemia by combined all-trans retinoic acid and idarubicin (IDA) therapy[J]. Blood 1999, 90: 1014.  
 [9] Sanz MA, Martin G, Rayón C, et al. A modified AIDA protocol with anthracycline-based consolidation results in high antileukemic efficacy and reduced toxicity in newly diagnosed FML/RAR $\alpha$ -positive acute promyelocytic leukemia[J]. Blood 1999, 94: 3015.  
 [10] Lengfelder E, Reichert A, Schoch C, et al. Effects in patients with newly diagnosed acute promyelocytic leukemia[J]. Leukemia 2000, 14: 1362.  
 [11] 陈仁彪, 孙岳平. 细胞与分子生物学基础[M]. 第 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2003: 147.  
 [12] 杜冰, 朱道银, 唐恩洁. 小剂量阿糖胞苷体外诱导 HL-60 细胞凋亡的作用[J]. 重庆大学学报(自然科学版), 2004, 27: 145.  
 [13] 喻春钊, 吴丰华, 余源, 等. Camptothecin (CPT) 和 Cytosine arabinoside (Ara-C) 联合应用对 MOL T-4 细胞株周期特异性凋亡的影响[J]. 肿瘤, 2004, 24: 349.

[收稿日期] 2009-12-11

[修回日期] 2010-01-11