

文章编号: 1004-4353(2014)02-0186-03

尾叶香茶菜的化学成分及其活性的研究

孙娟¹, 金英今², 徐博¹, 王一涵¹, 李熙峰^{1,2*}

(1. 延边大学理学院 化学系; 2. 延边大学 化学生物学研究中心; 吉林 延吉 133002)

摘要: 为研究尾叶香茶菜(*Isodon excisa*)的化学成分,应用正、反相硅胶柱色谱、半制备 HPLC 等色谱方法对其进行分离纯化,利用 ESI-MS、核磁共振氢谱、核磁共振碳谱确定了 5 个化合物:阿江榄仁酸(Arjunolic acid, 1)、积雪草酸(Asiatic acid, 2)、2 α ,3 α ,23-三羟基-12-烯-28-乌苏酸(2 α ,3 α ,23-Trihydroxy-12-*en*-28-oic acid, 3)、3,5-二甲基-7-苯丙烯-4 β -吡喃葡萄糖(3,5-Dimethoxy-7-phenylpropene-4 β -pyran glucose, 4)、白藜苣 A (Dictamnosi A, 5),其中化合物 4 和化合物 5 是首次从尾叶香茶菜属植物中分离得到. 自由基清除试验表明,5 种化合物都具有较好的自由基清除活性,抑制率分别为 99.87%、95.75%、78.81%、88.27% 和 92.36%.

关键词: 尾叶香茶菜; 自由基清除活性; 阿江榄仁酸; 白藜苣 A; 积雪草酸

中图分类号: O652.63 **文献标识码:** A

Study on chemical constituents from stems and leaves of *Isodon excisa*

SUN Juan¹, JIN Yingjin², XU Bo¹, WANG Yihan¹, LI Xifeng^{1,2*}

(1. Department of Chemistry, College of Science, Yanbian University;

2. Chemical Biology Research Center, Yanbian University; Yanji 133002, China)

Abstract: To research the chemical constituents of *Isodon excisa*, we separated and purified *Isodon excisa* by silica gel column chromatography, reverse phase column, and semi-preparative HPLC. And we obtained five compounds and identified their structures by using ESI-MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR. The five compounds are Arjunolic acid (1), Asiatic acid (2), 2 α ,3 α ,23-Trihydroxy-12-*en*-28-oic acid (3), 3,5-Dimethoxy-7-penylpropene-4 β -pyran glucose (4), Dictamnosi A (5). The compounds 4 and 5 are firstly isolated from this genus. Experiments that radical scavenging activity show the five compounds showed remarkable scavenging activity toward DPPH. Inhibition rate is 99.87%, 95.75%, 78.81%, 88.27% and 92.36%, respectively.

Key words: *Isodon excisa*; free radical scavenging activity; Arjunolic acid; Dictamnosi A; Asiatic acid

尾叶香茶菜(*Isodon excisa* (maxim.) hara)为唇形科多年生草本或灌木、半灌木植物,分布于我国东北和日本、朝鲜以及俄罗斯的远东地区^[1]. 尾叶香茶菜的全草都可入药,具有清热解毒、抗菌消炎、活血化瘀、抗肿瘤和治疗各种肝炎等效用^[2]. 研究^[3]表明,具有 α -亚甲基环戊酮结构的二萜类化合物大部分具有抗癌和抑制肿瘤活性的作用. 目前为止,已有 23 种二萜类化合物从尾叶香茶菜中分离得到^[4]. 药理研究^[5-6]表明,尾叶香茶菜中的萜类成分对人体鼻咽癌细胞(KB)、宫颈癌

细胞(Hela)以及体内移植性肿瘤艾氏腹水癌(ECA)、肉瘤-180(S-180)、小鼠白血病(P388)均有显著的生长抑制作用.

本文对吉林省延吉市帽儿山的尾叶香茶菜的茎和叶进行提取分离(采集时间为 2009 年 9 月),从中共提取了 5 种化合物,分别鉴定为阿江榄仁酸(Arjunolic acid, 1)、积雪草酸(Asiatic acid, 2)、2 α ,3 α ,23-三羟基-12-烯-28-乌苏酸(2 α ,3 α ,23-Trihydroxyurs-12-*en*-28-oic acid, 3)、3,5-二甲基-7-苯丙烯-4 β -吡喃葡萄糖(3,5-Dimethoxy-7-pe-

nylpropene-4 β -pyran glucose, 4)、白藜苣 A (Dicitamnoside A, 5),并对这 5 种化合物的自由基清除活性进行了测定。

1 实验部分

1.1 仪器与材料

Agilent 6410B 高效液相色谱-质谱联用仪(美国安捷伦公司);核磁共振波谱仪(AV-300 型,瑞士布鲁克公司);高效液相色谱仪(LC-6A 型,日本岛津公司);柱层析用硅胶(100~200 目,青岛海洋化工厂);V_C(Sigma-Aldrich 公司);1,1-二苯基-2-苦肟基自由基(DPPH, Sigma-Aldrich 公司);反相色谱填料 ODS-A(YMC * GEL,日本);硅胶板(青岛海洋化工厂,50 mm×100 mm,0.2~0.25 mm,G 型);甲醇、氯仿、石油醚、醋酸乙酯、二氯甲烷等均为分析纯;高效液相色谱仪(HPLC)使用的溶剂为色谱级乙醇。

1.2 提取与分离

将尾叶香茶菜的干燥叶子(1.5 kg)在室温下用甲醇浸泡提取 3 次(每次超声 30 min),然后静置浸泡 24 h.过滤,将 3 次滤液合并减压浓缩得到甲醇粗提物 I(236.8 g).依次用石油醚 PE、乙酸乙酯 EA、正丁醇 *n*-BuOH 萃取,得到石油醚萃取物 IP(64.8 g)、乙酸乙酯萃取物 IE(40.6 g)、正丁醇萃取物 IB(27.8 g).将萃取物 IE 过 MCI 层析柱,依次用体积分数为 90%和 95%的甲醇、纯甲醇、丙酮洗脱,得到 4 个组分(IE.1-IE.4).经 TLC 分析后再将 IE.1 过硅胶层析柱,用二氯甲烷-丙酮为溶剂系统,梯度洗脱;经 TLC 分析,得到 8 个组分(IE.1.1-IE.1.8).将组分 IE.1.2-IE.1.8 经过反复硅胶柱色谱、ODS 柱色谱、半制备 HPLC 等色谱方法进行分离纯化,得化合物 1(31.9 mg)、化合物 2(29.9 mg)、化合物 3(7.5 mg)、化合物 4(4.6 mg)和化合物 5(10.1 mg),其结构如图 1 所示.其中化合物 4 和化合物 5 是首次从尾叶香茶菜属植物中分离得到。

2 结构鉴定

1) 化合物 1 为白色固体(甲醇),分子式为 C₃₀H₄₈O₅,ESI-MS m/z : 511 [M + Na]⁺. ¹H-NMR(300 MHz, CD₃OD) δ : 5.21(1H, s, H-12),

3.65(1H, dt, J = 11.2, 4.2 Hz, H-2), 3.46(1H, d, J = 11.2 Hz, H-23a), 3.26(1H, d, J = 1.5 Hz, H-3), 3.22(1H, d, J = 11.3 Hz, H-23b), 2.81(1H, m, H-18), 2.04(2H, m, H-5, -9), 1.89(2H, dd, J = 11.7, 5.0 Hz, H-1), 1.14(3H, s, H-27), 0.99(3H, s, H-30), 0.91(3H, s, H-29), 0.87(3H, s, H-25), 0.78(3H, s, H-26), 0.66(3H, s, H-24). ¹³C-NMR(75 MHz, CD₃OD) δ : 179.1(C-28), 145.4(C-13), 123.4(C-12), 78.1(C-3), 69.6(C-2), 66.2(C-23), 48.9(C-9), 47.8(C-5), 47.6(C-1), 47.2(C-19), 44.1(C-14), 43.0(C-4), 42.7(C-18), 40.5(C-8), 40.4(C-17), 39.0(C-10), 34.9(C-21), 33.8(C-22), 33.6(C-29), 33.3(C-7), 31.6(C-20), 28.8(C-15), 26.5(C-27), 24.6(C-16), 24.0(C-11), 24.0(C-30), 19.1(C-6), 17.8(C-26), 17.5(C-25), 13.9(C-24).以上数据与文献[7]报道的阿江榄仁酸数据一致,故鉴定化合物 1 为阿江榄仁酸。

2) 化合物 2 为白色固体(甲醇),分子式为 C₃₀H₄₈O₅,ESI-MS m/z : 511 [M + Na]⁺. ¹H-NMR(300 MHz, CD₃OD) δ : 5.24(1H, s, H-12), 3.69(1H, dt, J = 11.1, 4.5 Hz, H-3), 3.35(1H, m, H-3), 3.50(1H, d, J = 11.1 Hz, H-23a), 3.26(1H, d, J = 11.1 Hz, H-23b), 2.21(1H, d, J = 11.3 Hz, H-18), 2.04(2H, m, H-5, -9), 1.95(2H, dd, J = 7.5, 5.0 Hz, H-1), 1.14(3H, s, H-27), 1.05(3H, s, H-25), 0.97(3H, s, H-26), 0.89(3H, d, J = 6.3 Hz, H-30), 0.85(3H, d, J = 9.4 Hz, H-29), 0.70(3H, s, H-24). ¹³C-NMR(75 MHz, CD₃OD) δ : 179.1(C-28), 139.8(C-13), 126.6(C-12), 78.1(C-3), 69.7(C-2), 66.2(C-23), 54.4(C-18), 51.6(C-5), 48.9(C-9), 48.2(C-8), 48.0(C-1), 44.1(C-4), 43.4(C-14), 40.8(C-19), 40.4(C-17), 40.4(C-20), 39.0(C-10), 38.1(C-21), 33.6(C-7), 31.8(C-21), 29.2(C-15), 25.3(C-16), 24.5(C-11), 24.1(C-27), 21.6(C-30), 19.1(C-6), 17.9(C-29), 17.7(C-26), 17.7(C-25), 13.9(C-24).以上数据与文献[8]报道的积雪草酸数据一致,故鉴定化合物 2 为积雪草酸。

3) 化合物 3 为白色固体(甲醇),ESI-MS

m/z : 511 $[M+Na]^+$. 1H -NMR(300 MHz, CD_3OD) δ : 5.25(1H, s, H-12), 3.88(1H, d, $J=10.8$ Hz, H-3), 3.61(1H, d, $J=1.5$ Hz, H-2), 3.54(1H, d, $J=11.2$ Hz, H-23a), 3.39(1H, d, $J=11.0$ Hz, H-23b), 2.21(1H, d, $J=10.6$ Hz, H-18), 2.02(2H, m, H-5, -9), 1.99(2H, d, $J=8.2$ Hz, H-1), 1.14(3H, s, H-27), 1.03(3H, s, H-25), 0.97(3H, s, H-26), 0.89(3H, d, $J=6.3$ Hz, H-30), 0.85(3H, d, $J=9.4$ Hz, H-29), 0.78(3H, s, H-24). ^{13}C -NMR(75 MHz, CD_3OD) δ : 179.1 (C-28), 145.6 (C-13), 123.3 (C-12), 78.3 (C-3), 71.3 (C-2), 67.2 (C-23), 54.4 (C-18), 47.4 (C-10), 46.5 (C-9), 44.2 (C-5), 43.0 (C-4), 42.8 (C-17), 42.2 (C-8), 40.6 (C-19), 39.2 (C-14), 35.0 (C-1), 33.9 (C-22), 33.6 (C-20), 33.5 (C-7), 31.7 (C-21), 28.8 (C-15), 26.5 (C-27), 24.6 (C-16), 24.1 (C-11), 24.0 (C-30), 21.6 (C-24), 19.0 (C-6), 17.9 (C-26), 17.6 (C-25), 17.3 (C-29). 以上数据与文献[9]报道的乌苏酸数据一致,故鉴定化合物 3 为 $2\alpha,3\alpha,23$ -三羟基-12-烯-28-乌苏酸.

4) 化合物 4 为白色固体(甲醇),分子式为 $C_{17}H_{24}O_8$. ESI-MS m/z : 379 $[M+Na]^+$. 1H -NMR(300 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.44(2H, s, H-2, -6), 5.95(1H, m, H-8), 5.13(2H, dd, $J=12.2, 6.0$ Hz, H-7), 4.53(1H, d, $J=7.5$ Hz, H-1'), 3.86(6H, s, H-3, 5-OMe), 3.65~3.34(6H, s, H-2', -6'), 1.21(3H, d, $J=24.7$ Hz, H-9). ^{13}C -NMR(75 MHz, $CDCl_3$) δ : 152.7 (C-3, 5), 136.9 (C-4), 116.6 (C-1), 114.0 (C-8), 106.7 (C-1'), 105.7 (C-2, -6), 77.5 (C-3'), 76.1 (C-5'), 74.3 (C-2'), 70.6 (C-4'), 62.8 (C-6'), 56.4 (C-3, 5-OMe), 40.7 (C-9). 以上数据与文献[9]报道的数据一致,故化合物 4 为 3,5-二甲基-7-苯丙烯-4 β -吡喃葡萄糖.

5) 化合物 5 为白色固体(甲醇),分子式为 $C_{17}H_{24}O_8$, ESI-MS m/z : 379 $[M+Na]^+$. 1H -NMR(300 MHz, CD_3OD) δ : 6.43(2H, d, $J=5.1$ Hz, H-3, -5), 5.93(1H, m, H-8), 5.13(1H, d, $J=6.3$ Hz, H-9a), 5.09(1H, d, $J=0.7$ Hz, H-9b), 4.53(1H, d, $J=6.5$ Hz, H-1'), 3.91(1H,

d, $J=12.3$ Hz, H-6'a), 3.85(6H, s, H-3, 5-OMe), 3.79(1H, m, H-6'b), 3.72~3.43(4H, s, H-2', -5'). ^{13}C -NMR(75 MHz, CD_3OD) δ : 152.7 (C-2, 6), 137.8 (C-1), 136.9 (C-8), 133.8 (C-4), 116.6 (C-9), 106.6 (C-1'), 105.7 (C-3, -5), 77.4 (C-5'), 76.1 (C-3'), 74.3 (C-2'), 70.4 (C-4'), 62.7 (C-6'), 56.4 (C-3, 5-OMe), 40.69 (C-7). 以上数据与文献[9]报道的数据一致,故鉴定化合物 5 为白藜昔 A.

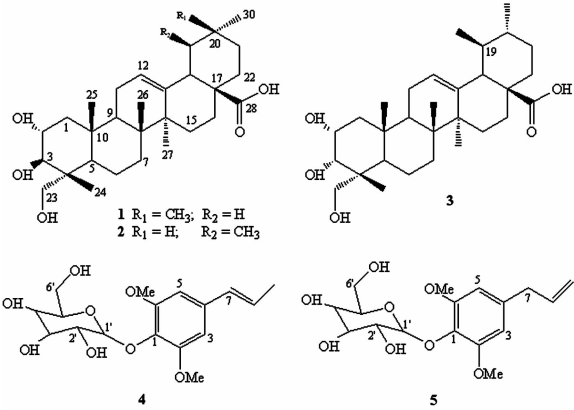


图 1 化合物 1—5 的结构式

对上述 5 个化合物进行了自由基清除试验,结果表明,化合物 1、2、3、4 和 5 均具有较好的自由基清除活性,抑制率分别为 99.87%、95.75%、78.81%、88.27%、92.36%.

参考文献:

[1] Sun H D, Huang S X, Han Q B. Diterpenoids from *Isodon species* and their biological activities[J]. Nat Prod Rep, 2006,23:673-698.
[2] 叶丽卡,陈妍妍,任常顺,等. 尾叶香茶菜抗炎作用的实验研究[J]. 中草药,2002,33(10):923.
[3] 张崇禧,王雪,那微,等. 长白山地区尾叶香茶菜化学成分的研究[J]. 中成药,2008,30(1):102.
[4] 王雪. 尾叶香茶菜萜类成分的研究[D]. 长春:吉林农业大学,2007.
[5] 王迪. 尾叶香茶菜的生药学研究[J]. 中医药学报,1998,23(5):30.
[6] 王一飞,江金花,王庆端,等. 冬凌草多糖的抗肿瘤及其免疫增强作用[J]. 中国病理生理杂志,2002,18(11):1341.
[7] 胡孝鹏,高原,王飞,等. 尾叶香茶菜化学成分研究[J]. 中国现代中药,2013,15(4):274-277.
[8] 谭庆伟. 珙桐中三萜类化学成分的分离与鉴定[D]. 福建:福建农林大学,2011.
[9] 张卫东,陈万生,孔德云,等. 灯盏细辛化学成分的研究[J]. 中国药杂志,2000,35(8):514.