

文章编号: 1004-4353(2019)04-0312-03

尾叶香茶菜的化学成分及其对酪氨酸酶抑制活性的研究

朴艳¹, 于畅², 金英今², 李熙峰^{2*}

(1. 龙井市环境监测站, 吉林 龙井 133400; 2. 延边大学 理学院, 吉林 延吉 133002)

摘要: 利用正、反相色谱等分离技术对长白山区药用植物尾叶香茶菜的甲醇提取液进行分离,得到了 5 个化合物. 经波谱鉴定各化合物分别为野鸦椿酸(1)、1-羟基松脂素(2)、川藏香茶菜甲素(3)、兰萼香茶菜甲素(4)和咖啡酸甲酯(5),其中化合物 5 为首次在该植物中分离得到,化合物 3 和 5 对酪氨酸酶具有一定的抑制作用,其抑制率分别为 51.5%和 55.0%.

关键词: 尾叶香茶菜; 生物活性; 1-羟基松脂素; 咖啡酸甲酯

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A

Study on chemical constituents and tyrosinase inhibition activity of *Isodon excisa* (Maxin.) Hara

PIAO Yan¹, YU Chang², JIN Yingjin², LI Xifeng^{2*}

(1. Longjing Environmental Monitoring Station, Longjing 133400, China;

2. College of Science, Yanbian University, Yanji 133002, China)

Abstract: Five compounds were isolated from the methanol extract of the medicinal plant *Isodon excisa* (Maxin.) Hara in Changbai mountain area by normal phase and reversed phase chromatography. Euscaphic acid (1), 1-hydroxy-pinoresinol (2), pseurata A (3), glaucocalyxin A (4) and caffeic acid methyl ester (5) were identified by spectroscopic methods. Compound 5 is isolated from *Isodon* genus for the first time. Compound 3 and 5 showed slight inhibitory effect for the tyrosinase activity, inhibition rate is 51.5% and 55.0%, respectively.

Keywords: *Isodon excisa* (Maxin.) Hara; biological activity; 1-hydroxypinoresinol; caffeic acid methyl ester

尾叶香茶菜(*Isodon excisa* (Maxin.) Hara)为唇形科香茶菜属植物,又名龟叶草、野苏子,性凉味甘,为多年生草本植物,在我国的吉林、辽宁及河南等地广泛分布^[1].尾叶香茶菜全草入药,具有清热解毒、健胃、活血止痛等功效,民间常用于抗菌、消炎和止痛^[2].近年来,随着对尾叶香茶菜的药理作用及化学成分研究的不断深入,其在临床的应用愈来愈广泛^[3-4].目前,有关尾叶香茶菜对酪氨酸酶的抑制活性尚未见报道.为了进一步开发和利

用尾叶香茶菜的药用资源,本文对长白山区尾叶香茶菜的化学成分及其活性进行研究.

1 仪器与材料

1200RRLC-6410B 型高效液相色谱-质谱联用仪(LC-MC),Agilent; AV-500 型和 AV-300 型核磁共振仪,Bruker; LC-6AD 型高效液相色谱仪(HPLC),Shimadzu; 手提式紫外检测器(254 nm),上海顾村电光仪器厂; 酶标仪, Molecular Devices;

收稿日期: 2019-07-25

* 通信作者: 李熙峰(1969—),男,教授,研究方向为天然物化学.

Prestige-21 型红外光谱仪(IR), Shimadzu; U-3010 型紫外光谱仪(UV), Shimadzu; 维生素 C, Sigma-Aldrich; 1,1-二苯基苦酰基苯肼(DPPH), Sigma-Aldrich; Na_2HPO_4 和 NaH_2PO_4 , Amresco; 柱色谱用硅胶(74~148 μm), 青岛海洋化工厂; 反相色谱硅胶(ODS-A), YMC * GEL; 色谱柱(ODS-AM, 250 mm \times 10 mm, 5 μm), YMC-Pack; 薄层色谱板(TLC, Silica gel 60 F_{254}), MERCK; 96 孔板, 海门市生物技术研究; 甲醇(色谱纯), Fisher; 甲醇、氯仿、石油醚、醋酸乙酯、正丁醇、二氯甲烷均为分析纯; 尾叶香茶菜采自吉林省延吉市市郊。

2 提取分离

将干燥的尾叶香茶菜的叶子(1.5 kg)用甲醇浸泡后提取 3 次, 每次超声 30 min; 静置过夜, 过滤, 将 3 次的滤液合并后减压浓缩得粗提物 I (236.8 g)。将粗提物用少量蒸馏水溶解, 依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇进行液-液分配, 得 64.8 g 石油醚萃取物 IP、40.6 g 乙酸乙酯萃取物 IE 和 27.8 g 正丁醇萃取物 IB。

将萃取物 IE 过 ODS-AM 层析柱, 依次用体积分数分别为 90%、95%、100% 的甲醇和 100% 的丙酮洗脱, 得 4 个组分(IE1—IE4)。根据 TLC 分析结果, 选取组分 IE1 过硅胶层析柱, 并用二氯甲烷-丙酮为溶剂系统进行梯度洗脱; 经 TLC 分析, 合并相似组分, 得 8 个组分(IE1a—IE1h)。根据 TLC 分析结果和活性筛选结果, 利用 ODS-A 柱色谱、硅胶柱色谱以及 HPLC 等方法将组分 IE1e 进行分离纯化, 得到化合物 1 (8.7 mg)、2 (3.9 mg)、4 (13.1 mg)、5 (2.9 mg)。采用相同的方法从组分 IE1f 中得到化合物 3 (4.1 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 白色粉末; EI-MS m/z 488 $[\text{M}]^+$; UV(MeOH) λ_{max} (log ϵ) 268 (4.68), 272 (4.66) nm; IR(KBr) ν_{max} 3439, 2932, 1688, 1641, 1454, 1387, 1036 cm^{-1} ; ^1H NMR(CD_3OD , 300 MHz) δ 5.30 (1H, br s, H-12), 3.93 (1H, d, J = 11.2 Hz, H-3), 2.57 (1H, m, H-2), 2.50 (1H, s, H-18), 1.35 (3H, s, 29- CH_3), 1.20 (3H, s, 27- CH_3), 0.99 (6H, s, 23, 26- CH_3), 0.93 (3H, d, J = 6.3 Hz, 30-

CH_3), 0.87 (3H, s, 24- CH_3), 0.79 (3H, s, 25- CH_3); ^{13}C NMR(CD_3OD , 75 MHz) δ 182.5 (s, C-28), 140.2 (s, C-13), 129.5 (d, C-12), 80.2 (d, C-2), 73.7 (s, C-19), 67.3 (d, C-3), 55.2 (d, C-18), 49.4 (d, C-5), 48.3 (d, C-9), 43.2 (d, C-20), 42.9 (s, C-14), 42.6 (t, C-1), 41.4 (s, C-4), 39.6 (s, C-10), 39.5 (s, C-8), 39.2 (t, C-22), 34.2 (t, C-7), 29.7 (t, C-15), 29.4 (q, C-23), 27.4 (t, C-11), 27.2 (q, C-27), 26.7 (t, C-16), 25.0 (q, C-29), 24.8 (t, C-6), 22.6 (q, C-24), 19.4 (t, C-21), 17.7 (q, C-25), 16.9 (q, C-30), 16.8 (q, C-26)。以上数据与文献[5]的报道基本一致, 故鉴定化合物 1 为野鸦椿酸, 其化学结构如图 1 所示。

化合物 2: 白色粉末; (-)-ESI-MS m/z 373 $[\text{M}-\text{H}]^-$; UV(MeOH) λ_{max} (log ϵ) 218 (4.63), 229 (4.57), 251 (4.99), 280 (4.80) nm; IR(KBr) ν_{max} 3346, 1449, 1028 cm^{-1} ; ^1H NMR(CD_3OD , 500 MHz) δ 7.05 (2H, t, J = 2.4 Hz, H-2', 2''), 6.86 (2H, t, J = 8.1 Hz, H-6', 6''), 6.78 (2H, dd, J = 8.1, 2.4 Hz, H-5', 5''), 4.84 (1H, s, H-2), 4.68 (1H, s, H-6), 4.46 (1H, t, J = 2.4 Hz, H-4a), 4.04 (1H, d, J = 9.2 Hz, H-8a), 3.87 (3H, s, 3'- OCH_3), 3.86 (3H, s, 3''- OCH_3), 3.85 (1H, s, H-8b), 3.76 (1H, dd, J = 9.1, 6.2 Hz, H-4b), 3.04 (1H, m, H-5); ^{13}C NMR(CD_3OD , 125 MHz) δ 149.3 (s, C-3''), 148.9 (s, C-3'), 147.7 (s, C-4''), 147.6 (s, C-4'), 133.8 (s, C-1'), 129.2 (s, C-1''), 121.7 (d, C-6''), 120.7 (d, C-6'), 116.2 (d, C-5''), 115.8 (d, C-5'), 112.9 (d, C-2''), 111.5 (d, C-2'), 92.9 (s, C-1), 89.5 (d, C-6), 88.0 (d, C-2), 76.2 (t, C-8), 72.2 (t, C-4), 62.6 (d, C-5), 56.5 (q, C- OCH_3)。以上数据与文献[6]的报道基本一致, 故鉴定化合物 2 为 1-羟基松脂素, 其化学结构如图 1 所示。

化合物 3: 白色粉末; ESI-MS m/z 3350 $[\text{M}+\text{H}]^+$; UV(MeOH) λ_{max} (log ϵ) 235 (5.00) nm; IR(KBr) ν_{max} 3366, 2928, 1728, 1647, 1456, 1398, 1020 cm^{-1} ; ^1H NMR(CDCl_3 , 500 MHz) δ 6.19 (1H, s, H-17), 5.43 (1H, s, H-17), 4.88 (1H, br s, H-14), 4.36 (1H, dd, J = 12.2, 4.1 Hz, H-7), 3.21 (1H, dd, J = 11.6, 4.8 Hz, H-3), 3.09 (1H, br s, H-13), 1.08 (3H, s, 20- CH_3), 1.05 (3H, s, 18-

CH₃), 0.84(3H, s, 19-CH₃); ¹³C NMR(CDCl₃, 125 MHz) δ 208.1(s, C-15), 147.7(s, C-16), 118.3(t, C-17), 78.6(d, C-3), 75.4(d, C-14), 75.1(d, C-7), 61.9(s, C-8), 54.2(d, C-9), 52.7(d, C-5), 46.2(d, C-13), 39.8(s, C-4), 38.9(s, C-10), 38.0(t, C-1), 31.2(t, C-12), 28.6(q, C-18), 27.9(t, C-6), 27.4(t, C-2), 18.3(q, C-20), 17.8(t, C-11), 15.9(q, C-19). 以上数据与参考文献[7]的报道基本一致,故鉴定化合物 3 为川藏香茶菜甲素,其化学结构如图 1 所示。

化合物 4: 白色粉末; (-)-ESI-MS *m/z* 367 [M+Cl]⁻; UV(MeOH) λ_{max}(log ε) 230(4.04) nm; IR(KBr) ν_{max} 3 325, 2 938, 1 726, 1 703, 1 649, 1 458, 1 387, 1 256, 1 092 cm⁻¹; ¹H NMR(CDCl₃, 300 MHz) δ 6.19(1H, s, H-17a), 5.44(1H, s, H-17b), 5.30(1H, br s, —OH), 4.85(1H, s, H-14a), 4.38(1H, br d, *J* = 11.6 Hz, H-7b), 3.11(1H, br s, H-13a), 1.15(3H, s, 20-CH₃), 1.09(6H, s, 18, 19-CH₃); ¹³C NMR(CDCl₃, 75 MHz) δ 216.8(s, C-3), 207.7(s, C-15), 147.4(s, C-16), 118.6(t, C-17), 75.0(d, C-14), 74.4(d, C-7), 61.8(s, C-8), 52.9(d, C-9), 51.8(d, C-5), 46.9(s, C-4), 46.1(d, C-13), 39.0(s, C-10), 38.3(t, C-1), 33.8(t, C-2), 30.9(t, C-12), 29.2(t, C-6), 27.9(q, C-18), 21.1(q, C-19), 18.5(q, C-20), 18.3(t, C-11). 以上数据与文献[5]的报道基本一致,故鉴定化合物 4 为兰萼香茶菜甲素,其化学结构如图 1 所示。

化合物 5: 白色粉末; ESI-MS *m/z* 195.4 [M+H]⁺, 217.3 [M+Na]⁺; UV(MeOH) λ_{max}(log ε) 216(3.85), 243(3.43), 328(3.99) nm; ¹H NMR(CD₃OD, 300 MHz) δ 7.54(1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-3), 7.03(1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-2'), 6.94(1H, dd, *J* = 8.2, 1.9 Hz, H-6'), 6.77(1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-5'), 6.26(1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-2), 3.76(3H, s, —OCH₃); ¹³C NMR(CD₃OD, 75 MHz) δ 169.9(s, C-1), 149.7(s, C-4'), 147.1(d, C-3), 147.0(s, C-3'), 127.8(s, C-1'), 123.1(d, C-6'), 116.6(d, C-5'), 115.3(d, C-2), 115.0(d, C-2'), 52.1(q, —OCH₃). 以上数据与文献[8]的报道基本一致,故鉴定化合物 5 为咖啡酸甲酯,其化学结构如图 1 所示。

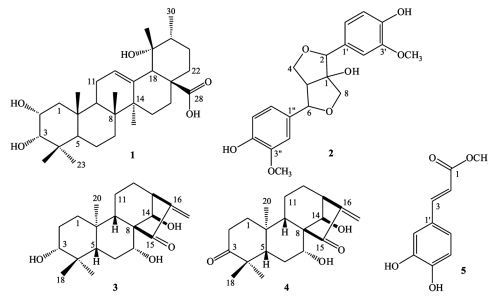


图 1 5 种化合物的化学结构

4 活性实验

以酪氨酸为阳性对照,对 5 个化合物分别进行酪氨酸酶抑制活性实验. 结果表明,化合物 3 和化合物 5 对酪氨酸酶的抑制活性相对较好,其抑制率分别为 51.5% 和 55.0%。

5 结论

本文在长白山区尾叶香茶菜的干燥叶子中,经提取分离得到了 5 种化合物:野鸦椿酸(1)、1-羟基松脂素(2)、川藏香茶菜甲素(3)、兰萼香茶菜甲素(4)、咖啡酸甲酯(5). 其中化合物 3 和 5 对酪氨酸酶具有一定的抑制作用,且化合物 5 为首次在香茶菜属植物中分离得到. 本研究结果可为开发和利用长白山区尾叶香茶菜的药用资源提供参考。

参考文献:

[1] 陈林娇,李植华,赖小平. 世界香茶菜属植物地理分布及其药用前景[J]. 中药材,1996,19(4):169-173.
[2] 孙娟,金英今,徐博,等. 尾叶香茶菜的化学成分及其活性的研究[J]. 延边大学学报(自然科学版), 2014,40(2):186-188.
[3] 李恒,普建新,李捷. 唇形科香茶菜属二萜类化合物分布规律[J]. 植物分类与资源学报,2013,35(1): 81-88.
[4] WANG T, TANG F M, ZHANG Y H, et al. A natural diterpenoid kamebacetal A with anti-tumor activity: theoretical and experimental study[J]. J Mol Struct, 2010,975:317-322.
[5] 孙汉董,许云龙,姜北. 香茶菜属植物二萜化合物[M]. 北京:科学出版社,2001.
[6] GU J Q, WANG Y H, FRANZBLAU S G, et al. Antitubercular constituents of *Valeriana laxiflora* [J]. Planta Med, 2004,70(6):509-514.
[7] ZHAO Y, HUANG S X, YANG L B, et al. Cytotoxic ent-kaurane diterpenoids from *Isodon henryi* [J]. Planta Med, 2009,75(1):65-69.
[8] 郑丹,张晓琦,王英,等. 滇桂艾纳香地上部分的化学成分[J]. 中国天然药物,2007,5(6):421-424.