

表 1 一口盅挥发油成分及体积分数

Table 1 Compounds and content of essential oil in fruit of *E. globulus*

保留时间 tR/min	化合物名称	质量分数 /%	保留时间 tR/min	化合物名称	质量分数 /%
7.17	(+)-2,6,6-三甲基二环[3,1,1]庚-2-烯	0.52	22.57	1a,2,3,5,6,7,7a,7b-八氢-1,1,4,7-四甲基[1H]环丙基萹	6.91
8.99	α -水芹烯	1.64	23.6	表蓝桉醇	5.87
9.34	α -松油烯	0.26	24.06	愈创木醇	1.37
9.42	1-甲基-3-异丙基苯	0.86	24.59	蓝桉醇	25.02
9.67	1,8-桉叶素	3.83	24.70	1,4-二甲基-3-(2-甲基-1-丙烯基)-4-乙烯基-1-环庚烯	3.69
10.51	1-甲基-4-(1-甲基乙缩醛基)-环己烯	0.17	24.85	2,3,4,4a,5,6,7,8-八氢- α , α ,4a,8-四甲基-2-甲醇基萹	1.09
13.76	4-甲基-1-异丙基-3-环己烯-1-醇	0.3	24.92	十氢-1,1,4,7-四甲基-[1H]环丙基[e]-4-羟基萹	0.97
14.06	α -松油醇	0.19	25.31	2,3,4,4a,5,6,7,8-八氢- α , α ,4a-8 四甲基-2-甲醇基萹	2.06
14.32	2-甲基-5-异丙基单环氧-1,3-环己二烯	0.19	25.40	萹澄茄苦素醇	0.35
15.40	2-甲基-5-异丙基-2-环己烯-1-酮(S)	0.09	25.64	τ -杜松烯醇	0.36
15.56	3-甲基-6-异丙基-2-环己烯-1-酮	0.07	25.81	十氢- α , α ,4a-三甲基-8-亚甲基-2-甲醇基萹	0.4
18.51	蒎烯	1.1	25.89	十氢-1,1,7-三甲基-4-亚甲基-[1H]环丙基萹	1.02
19.57	异喇叭烯	0.44	25.90	τ -衣兰油醇	1.42
20.17	6,10,11,11-四甲基三环[6.3.0.(2,3)]十一-7-烯	0.23	29.33	β -水芹烯	0.33
20.52	1a,2,3,4,4a,5,6,7b-八氢-1,1,4,7-四甲基-[1H]环丙基萹	3.44			
21.31	别香橙烯(十氢化-1,1,7-三甲基-4-亚甲基[1H]环丙基)	26.94			
21.71	十氢-1,1,7-三甲基-4-亚甲基[1H]环丙基萹	3.47			

所鉴定出的 31 个化合物质量占挥发油总量的 94.60%，主要含倍半萜类的别香橙烯 26.94%，蓝桉醇 25.02%，1a,2,3,5,6,7,7a,7b-八氢-1,1,4,7-四甲基-[H]环丙基萹 6.91%，表蓝桉醇 5.87%，愈创木醇 1.37%和单萜类的 1,8-桉叶素 3.83%、 α -水芹烯 1.64%等。蓝桉醇等萹烃氢化产物衍生物是其特征性成分。

2.2 据文献报道^[2]，蓝桉的品种、生境及树叶成熟度均对其叶的挥发油组成和质量分数有影响，但是都含有较高的 1,8-桉叶素 47.7%~75.8%、蒎烯、 α -蒎烯或异丙基环己烯酮。有些作者^[3]认为，桉属植物挥发油的抗菌活性除与高质量分数的 1,8-桉叶素及 α -蒎烯有关外，还与醇、醛、烯、酯和醚等成分的存在有直接关系。而果实的挥发油组成和质量分数与叶有明显

不同，传统上叶和果实作为同味药入药的做法值得考虑；果实的挥发油活性有待于进一步研究。

References:

[1] Xie Z W. *Collection of National Chinese Herbal Medicine* (全国中草药汇编) [M]. 2nd ed. Vol 1. Beijing: People's Medical Publishing House, 1996.
 [2] Silvestre A J D, Cavaleiro J A S, Delmond B, et al. Analysis of the essential oil composition of *Eucalyptus globules* Labill. from Portugal using multivariate statistical analysis [J]. *Ind Crop Prod*, 1997, 6: 27-33.
 [3] Cimanga K, Kambu K, Tona L, et al. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo [J]. *J Ethnopharmacol*, 2002, 79: 213-220.
 [4] Oyedeji A O, Ekundayo O, Olawore O N, et al. Antimicrobial of the essential oils of five *Eucalyptus* species growing in Nigeria [J]. *Fitoterapia*, 1999, 70: 526-528.

总序香茶菜中三萜成分的研究

丁 兰^{1,2}, 汪汉卿^{1*}

(1. 中国科学院兰州化学物理研究所 羰基合成与选择氧化国家重点实验室, 甘肃 兰州 730000;
 2. 西北师范大学生命科学院, 甘肃 兰州 730070)

香茶菜属植物是我国民间广泛使用的草药, 供药用的约有 30 余种。主产于河南的冬凌草和毛叶香

茶菜有明显的抗肿瘤活性, 已作为市售抗菌消炎、抗癌药物在临床上广泛应用^[1]。总序香茶菜 *Rabdosia*

收稿日期: 2004-05-05

作者简介: 丁 兰(1964-), 女, 四川德阳人, 副教授, 博士, 研究方向为天然药物化学及细胞工程。

* 通讯作者 Tel: (0931) 8278319

racemosa (Hemsl.) Hara 为唇形科香茶菜属多年生草本植物,在甘肃省有较为丰富的自然资源,当地民间以其茎叶用于清热解毒,治疗无明显肿痛。刘晨江等^[2]从河南产的总序香茶菜中提取到一种二萜化合物 *rubescensin D*,另未见其他有关总序香茶菜化学成分的报道。为了寻找其活性成分,本实验对甘肃产总序香茶菜的化学成分进行了研究,从其嫩枝叶中分离得到多种结晶成分,经各种波谱技术(IR、MS、¹H-NMR、¹³C-NMR、DEPT)并结合标样对照,共鉴定了10余种萜类化合物,本研究报道分离得到的三萜化合物。

1 材料和仪器

总序香茶菜嫩枝叶于2002年8月采自甘肃省兰州市郊,由西北师范大学生命科学学院孙坤博士鉴定,凭证标本现存于西北师范大学生命科学学院。柱色谱硅胶(200~300目),薄层色谱硅胶H为青岛海洋化工厂生产,显色剂为5%浓硫酸乙醇溶液。红外光谱用IFS-120H型红外光谱仪(德国)测定(KBr压片);熔点用Boetius显微熔点测定仪测定;质谱仪为Finnigan-MAT-95;核磁共振用INOVA-400型(Varian公司),TMS为内标;DMSO-*d*₆(化合物Ⅱ~Ⅴ)和C₅D₅N-D₅(化合物Ⅵ、Ⅶ)为溶剂。

2 提取和分离

取总序香茶菜嫩枝叶,磨成粗粉,95%乙醇浸提3次,每次7d。提取液减压浓缩成浸膏。将浸膏分散于水中,醋酸乙酯萃取3次并浓缩,用100~200目硅胶拌样上柱,分别用氯仿-丙酮和氯仿-甲醇进行梯度洗脱,浓缩洗脱液,反复重结晶得化合物Ⅰ~Ⅶ。

3 结构鉴定

化合物Ⅲ~Ⅶ经Liebermann反应呈阳性,示为三萜化合物。化合物Ⅲ~Ⅴ(DMSO-*d*₆为溶剂)的¹H-NMR于2.105~2.116处有一质子的二重峰,偶合常数为11.2 Hz;化合物Ⅵ和Ⅶ(C₅D₅N-*d*₅为溶剂)的¹H-NMR于2.595和2.598处有一质子的二重峰,偶合常数为11.2 Hz,这是12-烯-28-乌苏酸C₁₈位质子的特征信号,并且在这些化合物的¹³C-NMR谱中,C-12,C-13和C-28的化学位移分别为 δ 124.5~125.4, δ 138.2~139.2和 δ 178.3~180.0,这些数据进一步证实了化合物Ⅲ~Ⅶ具有12-烯-28-乌苏酸骨架^[3,4]。

化合物Ⅰ:无色针晶(石油醚-醋酸乙酯),mp 135~136 °C,IR、¹H-NMR、¹³C-NMR与 β -谷甾醇对照品光谱数据一致,与 β -谷甾醇对照品共TLC,其

Rf值完全一致,故该化合物鉴定为 β -谷甾醇。

化合物Ⅱ:粒状白色固体(甲醇),mp 302~304 °C,与胡萝卜苷对照品IR、¹H-NMR、¹³C-NMR数据一致,并与其对照品TLC作对照,Rf值及色斑相同,故该化合物鉴定为胡萝卜苷。

化合物Ⅲ:无色片状晶体(氯仿-甲醇),mp 238~240 °C,其IR、¹H-NMR和¹³C-NMR光谱数据与熊果酸一致,故确定为熊果酸。

化合物Ⅳ:白色片状结晶(氯仿-甲醇),mp 252~254 °C,EI-MS *m/z*:498[M⁺]。其¹H-NMR与化合物Ⅲ相比,不同之处在于化合物Ⅳ多出一个乙酰甲基信号(δ 2.168),并在 δ 4.45处有一质子信号,而在化合物Ⅲ中此质子信号出现在 δ 3.00处,这是由于 β -OH乙酰化后,同碳质子的化学位移向低场移动^[5]。另¹³C-NMR中也有OAc信号出现(δ 171.12, 21.0)。化合物Ⅳ的核磁数据如下:¹H-NMR谱(DMSO-*d*₆) δ :5.13(1H,s,H-12),4.41(1H,m,H-3 α),2.16(3H,d,7.2,OAc),2.10(1H,d,11.2,H-18),1.05,1.02,0.91,0.89,0.86,0.82,0.75(21H,7 \times Me);¹³C-NMR谱(DMSO-*d*₆) δ :37.66(C-1),22.83(C-2),79.73(C-3),37.23(C-4),54.47(C-5),17.77(C-6),32.48(C-7),43.12(C-8),46.75(C-9),36.41(C-10),22.08(C-11),124.43(C-12),138.24(C-13),41.65(C-14),27.53(C-15),23.78(C-16),46.81(C-17),52.34(C-18),38.49(C-19),37.40(C-20),30.16(C-21),36.31(C-22),27.81(C-23),15.15(C-24),16.87(C-25),16.75(C-26),23.24(C-27),178.29(C-28),17.05(C-29),22.16(C-30),171.12,21.0(OAc)。故化合物Ⅳ确定为3 β -乙酰氧基-12-烯-28-乌苏酸。

化合物Ⅴ:白色粉末(甲醇),mp 260~262 °C,EI-MS、¹H-NMR、¹³C-NMR与文献的光谱数据值^[5]一致,与其对照品作TLC对照,Rf值及色斑相同,故确定为2 α ,3 β -二羟基-12-烯-28-乌苏酸。

化合物Ⅵ:白色粉末,mp 248~250 °C,EI-MS给出的分子离子峰*m/z*:488[M⁺]。化合物Ⅵ的¹H-NMR中C₃上羟基的同碳质子的宽单峰的共振信号(δ :4.140)提示在C₂上也有羟基存在,而且C₂和C₃二质子之间为a-e偶合,即2 α -H和3 α -H或2 β -H和3 β -H。如果为前者,则有C₂去屏蔽,其碳谱化学位移值向低场移动(δ c70左右),但C₂值仅为 δ 66.19,证明应为2 β -H和3 β -H^[6]。 δ 3.91,3.74的相对

(下转第223页)

以氯仿-甲醇-水(7:3.5:0.4)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,于105℃烘5 min,取出,在薄层板上覆盖同板大小的玻璃板,周围用胶布固定,扫描。测定供试品的吸光度积分值与对照品吸光度积分值,按外标二点法计算即得。

2.5 方法学考察

2.5.1 线性关系的考察:用定量毛细管精密吸取黄芪甲苷对照品溶液(0.458 mg/mL) 1、2、3、4、5、6 μ L,分别点于同一硅胶G薄层板上,展开,晾干后,经显色进行扫描测定。以点样量为横坐标,斑点的吸光度积分值为纵坐标,进行回归处理,得回归方程 $Y=1\ 167.938+27\ 044.445 X$, $r=0.998\ 8$,线性范围 0.458~2.748 μ g。

2.5.2 重现性试验:取同批样品,去除薄膜衣,研细后,精密称取5份各4 g,按供试品溶液的制备方法处理后,进行扫描,黄芪甲苷平均质量分数为0.160 mg/片, $RSD=2.410\%$ 。

2.5.3 稳定性试验:以供试品溶液点样,展开,显色后每隔25 min测定斑点吸光度积分值, RSD 为1.98%。结果表明,黄芪甲苷在2 h内基本稳定。

2.5.4 同板精密度试验:分别吸取等量供试品溶液5份,点于同一硅胶G板上,测定斑点吸光度积分值, $RSD=2.48\%$ 。

2.5.5 异板精密度试验:分别吸取等量供试品溶液5份,对照品溶液4、6 μ L,分别点于5块硅胶G薄层板上,测定斑点吸光度积分值,计算样品中黄芪甲

苷的质量分数, $RSD=4.69\%$ 。

2.5.6 回收率试验:精密称取黄芪甲苷0.160 mg/片的样品5份各1.7 g,分别加入黄芪甲苷对照品溶液(0.458 mg/mL)各1 mL,按供试品溶液制备方法操作,测定,结果平均回收率为96.113%, $RSD=1.910\%$ 。

2.6 样品测定:取3批样品,按供试品溶液的制备方法制备溶液,按上述测定方法测定吸光度积分值,两点法计算样品中黄芪甲苷的质量分数,分别为0.125、0.129、0.130 mg/片。

3 讨论

3.1 供试品处理方法的研究:①采用正丁醇萃取后甲醇定容、点样,杂质背景深;②正丁醇萃取, D-101树脂洗脱,蒸干,定容,点样,柱上有残留;③氯仿萃取,正丁醇萃取,蒸干,定容,点样,杂质背景较深;④醋酸乙酯萃取,正丁醇萃取,氨水洗脱,蒸干,定容,点样,效果较为理想。

3.2 薄层板的选择:采用普遍高效硅胶G薄层板,因其显色剂(10%硫酸乙醇)反应加热后面变黑而影响扫描;改用手铺板(以水为黏合剂),板面虽不与显色剂反应,但因板面太软,点样难度加大,误差大。

3.3 展开剂的选择:先后采用氯仿-醋酸乙酯-甲醇-水(15:40:22:10)下层液,氯仿-甲醇-水(13:7:2)下层液为展开剂,经多次试验,发现主斑点的Rf值受展开剂中甲醇和水比例的影响较大,因此将水完全溶解在氯仿-甲醇之中,展开效果甚为理想。

(上接第191页)

较高场外出现一对($J=10.8$ Hz)双峰,这是 C_4 上有平伏亚甲基质子的特征信号^[5]。另 ^{13}C -NMR谱中出现 $\delta 14.20$ 的 $C-24$ 信号,而非 $\delta 23.0$ 左右的 $C-23$ 信号,证明了 $C-23$ 有羟基取代。故而化合物VI确定为 $2\alpha,3\alpha,23$ -三羟基-乌苏-12-烯-28-酸。

化合物VII:白色粉末,mp 263~265℃,EI-MS给出的分子离子峰 $m/z:488[M]^+$ 。化合物VII的 1H -NMR中 C_3 上羟基的同碳质子的二重峰的共振信号 $\delta 3.55(d, J=10.2$ Hz)提示在 C_2 上也有羟基存在,而且 C_2 和 C_3 二质子之间为a-a或e-e偶合,即 $2\alpha-H$ 和 $3\beta-H$ 或 $2\beta-H$ 和 $3\alpha-H$ 。 ^{13}C -NMR谱中的连羟基碳化学位移值: $\delta 68.58(CH)$, $\delta 85.65(CH)$, $\delta 65.63(CH_2)$ 是这类化合物A环上处于 $2\alpha,3\beta$ 和 23 位羟基取代后的连氧碳的化学位移值^[6],故化合物VII确定为 $2\alpha,3\beta,24$ -三羟基-12-烯-28-乌苏酸。

4 讨论

对化合物III~VII进行了体外抗肿瘤试验,结果表明,化合物III~VII均有不同程度的细胞毒活性(所用细胞株:Bel-7402、HO-8910、HL-60),化合物V的细胞毒活性最强,化合物VI的细胞毒活性同化合物VII,但高于化合物III和IV。以上实验说明,总序香茶菜有广泛的开发利用前景。

References:

- [1] Shun H D, Xu Y L, Jiang B. *Biterpenoids from Isodon Species* (香茶菜属植物二萜化合物) [M]. Beijing: Science Press, 2001.
- [2] Liu C Y, Yue Z H. Studies on the chemical constituents of *Rabdosia racemosa* (Hemsl.) Hara [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997, 6(28): 334.
- [3] Bai S, Huang C, Chen X, et al. Studies on the chemical constituents of the aerial parts of *Actinidia eriantha* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997, 28(2): 67-69.
- [4] Shashi B M, Asish P K. ^{13}C -NMR spectra of pentacyclic triterpenoids—a compilation and some salient features [J]. *Phytochemistry*, 1994, 37(6): 1517-1575.
- [5] Huang C S, Zhang Z X, Li G S, et al. Isolation and identification of two new triterpenoids from *Actinidia eriantha* [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 1988, 10(1): 93-100.