

## • 化学成分 •

## 积雪草化学成分研究

张蕾磊<sup>1</sup>, 王海生<sup>2</sup>, 姚庆强<sup>1\*</sup>, 刘拥军<sup>1</sup>, 栾 阳<sup>1</sup>, 王秀丽<sup>1</sup>

(1. 山东省医学科学院药物所, 山东 济南 250062; 2. 山东大学第二医院, 山东 济南 250062)

**摘要:**目的 研究积雪草 *Centella asiatica* 的化学成分。方法 采用各种色谱技术进行分离纯化, 通过理化性质和波谱分析进行结构鉴定。结果 从积雪草中共分离得到 14 个化合物, 其结构鉴定为:  $\beta$ -谷甾醇(I)、二十六醇辛酸酯(II)、山柰酚(III)、槲皮素(IV)、胡萝卜苷(V)、香草酸(VI)、丁二酸(VII)、积雪草酸(VIII)、羟基积雪草酸(IX)、terminolic acid(X)、积雪草苷(XI)、积雪草二糖苷(XII)、羟基积雪草苷(XIII)、积雪草苷-B(XIV)。结论 化合物 XII 为一新化合物; 羟基积雪草酸和 terminolic acid、羟基积雪草苷和积雪草苷-B 为两对同分异构体。

关键词: 积雪草; 积雪草二糖苷; 皂苷类

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)12-1761-03

Chemical constituents from whole plant of *Centella asiatica*ZHANG Lei-lei<sup>1</sup>, WANG Hai-sheng<sup>2</sup>, YAO Qing-qiang<sup>1</sup>, LIU Yong-jun<sup>1</sup>, LUAN Yang<sup>1</sup>, WANG Xiu-li<sup>1</sup>

(1. Institute of Materia Medica, Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250062, China; 2. The Second Hospital, Shandong University, Jinan 250062, China)

**Abstract; Objective** To study the chemical constituents in *Centella asiatica*. **Methods** Isolation by use of various chromatographic techniques, structure identification by their physico-chemical properties as well as various spectral data. **Results** The structures of 14 constituents in *C. asiatica* were determined, which were  $\beta$ -sitosterol (I), hexacosanol octanoate (II), kaempferol (III), quercetin (IV), daucosterol (V), vanillic acid (VI), succinic acid (VII), asiatic acid (VIII), madecassic acid (IX), terminolic acid (X), asiaticoside (XI), asiaticodiglycoside (XII), madecassoside (XIII), asiaticoside-B (XIV). **Conclusion** Compound XII is a new compound. Madecassic acid and terminolic acid, madecassoside and asiaticoside-B are two couples of isomeric compounds.

Key words: *Centella asiatica* (L.) Urban; asiaticodiglycoside; saponins

积雪草为伞形科植物积雪草 *Centella asiatica* (L.) Urban 的干燥全草或带根全草, 又称落得打、崩大碗、半边钱, 始载于《神农本草经》, 列为中品, 性寒, 味苦、辛, 具有清热利湿、解毒消肿之功效, 临床上用于跌打损伤、传染性肝炎、流行性脑脊髓膜炎等<sup>[1]</sup>。近年来研究发现积雪草具有抗氧化、抗胃溃疡、抑制肿瘤细胞增生的作用<sup>[2-4]</sup>。为了进一步寻找其活性成分, 更好地开发和利用植物资源, 本实验对积雪草的全草进行了系统的化学成分研究, 从中分离得到 14 个化合物, 并鉴定了其结构, 分别是:  $\beta$ -谷甾醇(I)、二十六醇辛酸酯(II)、山柰酚(III)、槲皮素(IV)、胡萝卜苷(V)、香草酸(VI)、丁二酸(VII)、积雪草酸(VIII)、羟基积雪草酸(IX)、terminolic acid

(X)、积雪草苷(XI)、积雪草二糖苷(XII)、羟基积雪草苷(XIII)、积雪草苷-B(XIV)。其中化合物 XII 为一新化合物; 羟基积雪草酸与 terminolic acid、羟基积雪草苷与积雪草苷-B 为两对同分异构体, 未能分离开, 但通过光谱分析鉴定了其结构。

## 1 仪器与试剂

X-6 型显微熔点测定仪, Nicolet Nexus 670 FT-IR 型红外分光光度计, Bruker Avance-600、Varian Inova-500 型核磁共振仪, Micromass Zab-Spec 高分辨磁质谱仪, Vgzab-Zf 型质谱仪, Agilent 1100 型 LC-MS 液质联用仪, JFSD-100 粉碎机(上海市嘉定粮油检测仪器厂); 柱色谱硅胶和薄层硅胶(青岛海洋化工厂), Sephadex LH-20

收稿日期: 2005-04-06

作者简介: 张蕾磊(1979-), 女, 陕西人, 硕士, 主要从事中药新药研究。

\* 通讯作者 姚庆强 E-mail: yqingqiang@yahoo.com

(Pharmacia); 积雪草购自重庆市药物种植研究所, 经易思荣教授鉴定为 *C. asiatica* (L.) Urban, 标本存放于山东省医学科学院药物研究所。

## 2 提取与分离

积雪草干燥全草 10 kg, 粉碎, 95% 乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h, 减压回收乙醇得浸膏, 加入适量水混悬后, 分别用石油醚、氯仿、水饱和和正丁醇进行萃取。石油醚部位经反复硅胶柱色谱分离, 石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱, 薄层色谱监控, 相同组分合并, 分离得到化合物 I 和 II; 氯仿部位, 经反复硅胶柱色谱分离, 氯仿-甲醇梯度洗脱, 薄层色谱监控, 相同组分合并, 分离得到化合物 III ~ X; 正丁醇部位经反复硅胶柱色谱分离, 氯仿-甲醇-水分配色谱梯度洗脱, 并采用制备薄层以及 Sephadex LH-20 柱色谱, 分离得到化合物 XI ~ XIV。

## 3 鉴定

化合物 I ~ VI 分别为:  $\beta$ -谷甾醇、二十六醇辛酸酯、山柰酚、槲皮素、胡萝卜苷、香草酸和丁二酸。

化合物 VII: 白色粉末 (氯仿-甲醇), mp 243 ~ 245 °C。硅胶 TLC 检查为一紫色斑点。Liebermann-Burchard 反应阳性。IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3 417, 1 693, 和 1 460。ESI-MS 给出准分子离子峰  $m/z$  511  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。<sup>13</sup>C-NMR 中有 30 个碳, 推断该化合物为三萜类苷元。根据双键与结构母核的关系, 该化合物含有两个烯碳, <sup>13</sup>C-NMR 显示化学位移值分别为  $\delta$  125、139, 确定该化合物为  $\Delta^{12}$ -乌苏烯型五环三萜。同时可看到羰基碳化学位移  $\delta$  179, 以及化学位移  $\delta$  60 以上的 3 个连氧碳化学位移  $\delta$ : 78、68、66, 显示苷元上结合 3 个羟基。其碳谱数据与文献报道的积雪草酸的碳谱数据<sup>[5]</sup>一致, 故化合物 VII 鉴定为积雪草酸 (asiatic acid)。

化合物 IX 和化合物 X: 白色粉末 (CHCl<sub>3</sub>-MeOH), mp 279 ~ 283 °C, Liebermann-Burchard 反应阳性。IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3 441 (OH), 1 693 (C=O), 1 377 (CH<sub>3</sub>)。在 ESI-MS 中可看到准分子离子峰  $m/z$  527 (M+Na)<sup>+</sup>, 及脱水和脱羧基的碎片  $m/z$ : 509 和 483, 故其相对分子质量为 504。从 <sup>1</sup>H-NMR 和 <sup>13</sup>C-NMR 均未看到糖信号, 初步推测该化合物为三萜。在 <sup>13</sup>C-NMR 中可看到两个酰基碳  $\delta$  181.9 和 181.6, 烯碳区有 4 个烯碳 ( $\delta$  123.8、144.7、127.1 和 139.1), 同时还发现碳数为 55 个, 约为三萜碳数的 2 倍, 因此推测该化合物为两个三萜的混合物。进一步进行 HPLC 分析, 在 205 nm 检测波长下, 流动相无论是恒比例洗脱或梯度洗脱均显示单一色谱峰。

这表明两者理化性质非常相似。HPLC 色谱条件下不能将其分开, 故推测两者为同分异构体。4 个烯碳为两组烯碳, 一组为  $\delta$ : 123.8 和 144.7, 符合  $\Delta^{12}$ -齐墩果烷型三萜母核中烯碳的化学位移特征, 另一组为  $\delta$  127.1 和 139.1, 符合  $\Delta^{12}$ -乌苏烷型三萜母核中烯碳的化学位移特征。进一步推测其为乌苏烷型和齐墩果烷型的结构异构的同分异构体, 同时有关积雪草化学成分研究的相关文献也报道积雪草中三萜酸和三萜苷存在多对乌苏烷型和齐墩果烷型的结构异构的同分异构体<sup>[6]</sup>。化合物 IX 和化合物 X 的碳谱数据与文献报道的碳谱数据<sup>[7]</sup>一致, 故化合物 IX 和化合物 X 鉴定为羟基积雪草酸 (madecassic acid) 和 terminolic acid。

化合物 XI: 白色针状结晶 (CHCl<sub>3</sub>-MeOH), mp 230 ~ 233 °C, Liebermann-Burchard 反应阳性。Molish 反应阳性。ESI-MS 可看到准分子离子峰  $m/z$  981.4  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 其二级质谱 (+MS2) 可看到准分子离子峰  $m/z$  981 (M+Na)<sup>+</sup> 和脱去三糖的碎片离子 493 (M+Na-146-162-162-18)<sup>+</sup>。IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3 417 (OH), 2 925, 1 735 (C=O), 1 638, 1 455, 1 379, 1 269, 1 062 (C-O), 962。<sup>1</sup>H-NMR 谱中 6 个角甲基信号  $\delta$ : 0.85, 0.89, 1.06, 1.08, 1.12 和 1.18, 提示该化合物可能为五环三萜。<sup>13</sup>C-NMR 谱中有  $\delta$ : 137.1、127.3 烯碳特征信号,  $\delta$  177.5 羰基碳信号以及 3 组六碳糖信号, 因此推测化合物 XI 为具有 Ursane-12-en 基本骨架的三萜皂苷, 且具有 1 个羧基。碳谱数据与文献报道的积雪草苷数据<sup>[5]</sup>一致。化合物 XI 鉴定为积雪草苷 (asiaticoside)。

化合物 XII: 无色针晶 (CHCl<sub>3</sub>-MeOH), mp 225 ~ 227 °C, Liebermann-Burchard 和 Molish 反应阳性。1 mol/L 硫酸回流 4 h 进行酸水解, 单糖薄层仅检出 D-葡萄糖。正离子 ESI-MS 给出准分子离子峰  $m/z$  835 (M+Na)<sup>+</sup> 及  $m/z$  813 (M+H)<sup>+</sup> 以及分别脱去一糖, 二糖的碎片离子峰  $m/z$ : 651 (M+H-162)<sup>+</sup> 和 489 (M+H-162-162)<sup>+</sup>。IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 1 739 和 1 658 是酯羰基的振动吸收峰; 3 405 和 1 064 是寡糖基团的振动吸收峰。<sup>1</sup>H-NMR 谱中 6 个角甲基信号  $\delta$ : 0.81, 0.87, 1.06, 1.08, 1.11 和 1.18, 提示化合物 XII 为五环三萜。<sup>13</sup>C-NMR 谱中  $\delta$ : 138.5 和 126.0 为烯碳特征信号,  $\delta$  176.3 为羰基碳信号, 还出现两组六碳糖信号, 因此推断化合物 XII 为具有 Ursane-12-en 基本骨架的三萜皂苷, 且具有一个羧基。在化合物 XII 的 <sup>1</sup>H-NMR (500 Hz, pyridine-

$\delta$  5.03 (1H, d,  $J=8$  Hz, H-1'') 和  $\delta$  6.24 (1H, d,  $J=6$  Hz, H-1') 为两个端基H, 可知该化合物为二糖苷, 且糖苷键均为 $\beta$ 构型。化合物XI的 $^{13}\text{C}$ -NMR (500 Hz, pyridine- $d_5$ ) 共有42个碳信号峰,  $\delta$  105.3 和 95.6 是糖端基碳信号, 两者在DEPT谱上均显示为叔碳信号, 在 $\delta$  95~110 只有两个碳信号, 也说明该化合物是带有两个糖的苷。化合物的HMBC谱中酯羰基 $\delta$  176.3 碳信号与 $\delta$  6.24  $^1\text{H}$ -NMR信号呈远程相关, 这表明 $\delta$  6.24 的H是直接和苷元相连的葡萄糖的端基质子。还看到末端糖的端基质子H信号 $\delta$  5.03 与首位糖的6位碳信号 $\delta$  69.6 呈远程相关, 这表明首位糖是通过碳6位与末端葡萄糖相连。根据 $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY、HSQC、DEPT及HMBC谱, 对碳信号、重要的氢信号及其相互连接位置进行了归属。化合物XI酸水解后的主斑点与积雪草酸薄层色谱的Rf值和斑点颜色均一致; 同时化合物XI苷元部分的碳谱数据与积雪草酸的碳谱数据基本一致, 这表明化合物XI的苷元为积雪草酸。将该化合物的碳谱数据与积雪草苷去鼠李糖部分碳谱数据相比, 发现两者的碳谱基本一致, 这表明二者的结构相同。最终化合物XI鉴定为2 $\alpha$ , 3 $\beta$ , 23-三羟基齐墩果-12-烯-28-酸-28-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖酯, 即积雪草二糖苷(asiaticodiglycoside), 为一新化合物。

化合物XIII和化合物XIV: 白色粉末( $\text{CHCl}_3$ -MeOH), mp 217~219  $^{\circ}\text{C}$ , Libermann-Burchard反应阳性。IR  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3 423(OH)、1 733(C=O)、1 378( $\text{CH}_3$ )。正离子ESI-MS中可看到准分子离子峰  $m/z$ : 975( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ 、( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  及脱去三糖的碎片离子  $m/z$  487( $\text{M}+\text{H}-146-162-162-18$ ), 故其分子量为974。 $^{13}\text{C}$ -NMR中可看到烯碳区有4个烯碳( $\delta$ : 123.3, 126.4, 143.5 和 137.8), 同时还发现碳数为70个, 因此推测该化合物为两个三萜皂苷的

混合物。进一步进行HPLC分析, 在205 nm检测波长下, 流动相在恒组分洗脱和梯度洗脱均显示单一色谱峰, 这表明两者理化性质非常相似, HPLC不能将其分开, 推测两者为同分异构体。4个烯碳为两组烯碳, 一组为 $\delta$  123.3 和 143.5, 符合 $\Delta^{12}$ -齐墩果烷型三萜母核中烯碳的化学位移特征, 另一组为 $\delta$  126.4 和 137.8, 符合 $\Delta^{12}$ -乌苏烷型三萜母核中烯碳的化学位移特征。进一步推测其为乌苏烷型和齐墩果烷型的结构异构的同分异构体, 同时有关积雪草化学成分研究的相关文献也报道积雪草中三萜酸和三萜皂苷存在多对乌苏烷型和齐墩果烷型的结构异构的同分异构体<sup>[7]</sup>。化合物XIII和化合物XIV的碳谱数据与文献报道的碳谱数据<sup>[7]</sup>基本一致, 故化合物XIII和化合物XIV鉴定为羟基积雪草苷(madecassoside)和积雪草苷-B(asiaticoside-B)。

#### References:

- [1] Qin L P, Zhuang W G, Zheng H C, et al. Advances in study on *Centella asiatica* [J]. *World Notes: Phytomed* (国外医药: 植物药分册), 1997, 12(4): 154-157.
- [2] Zainol M K, ABD-Hamid A, Yusof S, et al. Antioxidative activity and total phenolic compounds of leaf, root and petiole of four accessions of *Centella asiatica* (L.) Urban [J]. *Food Chem*, 2003, 81: 575-581.
- [3] Cheng L, Guo J S, Luk J, et al. The healing effects of *Centella* extract and asiaticoside on acetic acid induced gastric ulcers in rats [J]. *Life Sci*, 2004, 74: 2237-2249.
- [4] Babu T D, Uttan G K, Padikkala J. Cytotoxic and anti-tumor properties of certain taxa of Umbelliferae with special reference to *Centella asiatica* (L.) [J]. *J Ethnopharmacol*, 1995, 48: 53-57.
- [5] Mabato S B, Sahu N P, Luger P, et al. Stereochemistry of a trisaccharide from *Centella asiatica*. X-Ray determination of the structure of asiaticoside [J]. *J Chem Soc Perkin Trans II*, 1987(10): 1509.
- [6] Matsuda H, Morikawa T, Ueda H, et al. Medicinal food-stuffs. XXVI. Saponin constituents of Gotu Kola (2): Structures of new ursane and oleanane-type triterpene oligoglycosides, centellasaponins B, C, and D, from *Centella asiatica* cultivated in Sri Lanka [J]. *Chem Pharm Bull*, 2001, 49(10): 1368-1371.
- [7] Sahu N P, Roy S K, Mahato S B. Spectroscopic determination of structures of triterpenoid trisaccharides from *Centella asiatica* [J]. *Phytochemistry*, 1989, 28(10): 2852-2854.

## 藏药大果大戟中的巨大戟烷型二萜酯类成分

李玉林<sup>1,2</sup>, 索有瑞<sup>1</sup>

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810001; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

**摘要:**目的 研究藏药大果大戟 *Euphorbia wallichii* 丙酮提取物中的化学成分。方法 用溶剂提取, 常规硅胶柱色谱分离和葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 纯化, 采用化学方法和现代波谱分析技术(包括 IR, HRESIMS, HRSIMS,

收稿日期: 2005-03-16

基金项目: 中国科学院“西部之光”人才培养计划项目; 中国科学院知识创新工程特别支持项目(CXLY-2002-8)

作者简介: 索有瑞(1960-), 男, 博士, 研究员, 博士生导师。E-mail: yrsuo@mail.nwipb.ac.cn