

37.9(C-10), 24.0(C-11), 125.7(C-12), 139.8(C-13), 43.4(C-14), 27.9(C-15), 24.9(C-16), 47.9(C-17), 53.8(C-18), 40.5(C-19), 39.9(C-20), 31.5(C-21), 37.7(C-22), 20.5(C-23), 64.4(C-24), 16.8(C-25), 17.0(C-26), 23.9(C-27), 179.6(C-28), 17.5(C-29), 21.5(C-30)。p-coumaroyl: 126.3(C-1), 130.6(C-2, 6), 116.8(C-3, 5), 161.0(C-4), 145.6(C-a), 116.0(C-b), 168.2(C=O)。其波谱数据与文献报道基本一致^[8], 故确定为 3 β -(反式-p-香豆素酰基)-2 α , 24-二羟基-12-烯-28-乌苏酸 [3 β -(trans-p-coumaroyloxy)-2 α , 24-dihydroxyurs-12-en-28-oic acid]。

化合物 VI: 淡黄色粉末, 易溶于甲醇和氯仿的混合溶剂, 氯仿-浓硫酸(Salkowski)反应氯仿层显红色, 硫酸层呈现绿色荧光, 硫酸-甲醇显粉红色, EI-MS m/z : 635[M+H]⁺。¹H-NMR数据与化合物 VI 比较相似, 可能为同一类化合物。¹³C-NMR (100 MHz, DMSO) δ : 48.5(C-1), 66.7(C-2), 80.4(C-3), 43.7(C-4), 48.0(C-5), 18.3(C-6), 33.3(C-7), 40.0(C-8), 48.2(C-9), 37.9(C-10), 24.0(C-11), 125.4(C-12), 139.2(C-13), 43.0(C-14), 28.9(C-15), 24.9(C-16), 47.9(C-17), 53.8(C-18), 40.5(C-19), 39.9(C-20), 31.5(C-21), 37.7(C-22), 64.8(C-23), 14.8(C-24), 16.8(C-25), 17.0(C-26), 23.9(C-27), 180.0(C-28), 17.5(C-29), 21.5(C-30)。p-coumaroyl: 126.2(C-1), 130.6(C-2, 6), 116.8(C-3, 5), 161.4(C-4), 145.6(C-a), 116.8(C-b), 168.5(C=O)。其波谱数据与文献报道基本一致^[6], 故确定为 3 β -(反式-p-香豆素酰基)-2 α , 23-二羟基-12-烯-28-乌苏酸 [3 β -(trans-p-coumaroyloxy)-2 α , 23-dihydroxyurs-12-en-28-oic acid]。

oyloxy)-2 α , 23-dihydroxyurs-12-en-28-oic acid]。

化合物 VII: 白色结晶, mp 234~236 °C, 氯仿-浓硫酸(Salkowski)反应氯仿层显红色, 硫酸层呈现绿色荧光, 硫酸-甲醇显粉红色, EI-MS、¹H-NMR 和 ¹³C-NMR数据与文献报道基本一致^[9], 鉴定该化合物为熊果酸(ursolic acid)。

化合物 IX: 白色针状结晶(氯仿), 溶于甲醇, mp 138~140 °C, 茴香醛-硫酸喷雾后加热显紫色。在薄层板上与 β -谷甾醇对照品对照 R_f 值相同, 测定混合熔点不下降, 故鉴定该化合物为 β -谷甾醇(β -sitosterol)。

化合物 X: 白色无定形粉末, 易溶于甲醇, mp 282~283 °C, Liebermann-Burchard 反应阳性, Molish 反应阳性, 5%的硫酸甲醇液显紫色。化合物 X 与胡萝卜苷对照品进行 TLC 检识, R_f 值相同, 显色相同。鉴定该化合物为胡萝卜苷(daucosterol)。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1984.
- [2] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编(上册) [M]. 北京: 科学出版社, 1975.
- [3] 袁珂, 俞莉. 真空薄膜浓缩装置的研制及应用研究 [J]. 分析化学, 2005, 33(9): 1358-1360.
- [4] 黄初升, 张壮鑫, 李干孙, 等. 毛花猕猴桃中的两个新三萜化合物 [J]. 云南植物研究, 1988, 10(1): 93-96.
- [5] Seo S. Carbon-13 NMR Spectra of urs-12-enes and application to structural assignments of components of *Isodon japonicus* Hara tissue cultures [J]. *Tetrahedron Lett*, 1975, 1: 7.
- [6] Yutaka S, Kazunori O, Noriaki M. Triterpenoids from the fruit galls of *Actinidia Polygama* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(8): 2801-2804.
- [7] 张国林, 周正质, 李伯刚. 圆萼刺参的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 1997, 9(4): 10-13.
- [8] Yutaka S, Kazunori O, Noriaki M, et al. Triterpenoids from the fruit galls of *Actinidia polygama* [J]. *Phytochemistry*, 1994, 35(2): 377-380.
- [9] 李春, 孙玉茹, 孙有富. 中药路路通化学成分的研究 [J]. 药学报, 2002, 37(4): 23-26.

白花蛇舌草中苷类成分的研究

斯建勇, 陈迪华, 潘瑞乐, 赵晓宏

(中国医学科学院 中国协和医科大学药用植物研究所, 北京 100094)

摘要:目的 研究白花蛇舌草 *Hedyotis diffusa* 的化学成分, 为阐明其有效成分提供依据。方法 利用硅胶柱色谱、HPLC 进行分离, 根据化合物的光谱数据(IR、UV、MS、¹H-NMR、¹³C-NMR)鉴定其结构。结果 从其乙醇提取物中分离得到 9 个苷类化合物, 分别鉴定为: 车叶草苷(asperuloside, I)、鸡屎藤次苷甲酯(scandoside methyl ester, II)、去乙酰车叶草酸甲酯(deacetyl asperulosidic acid methyl ester, III)、车叶草酸(asperulosidic acid, IV)、Z-6-O-*p*-阿魏酰鸡屎藤次苷甲酯(Z-6-O-*p*-feruloyl-scandosidemethyl ester, V)、E-6-O-*p*-阿魏酰鸡屎藤次苷甲酯(E-6-

收稿日期: 2007-06-10

基金项目: 科技部国家重点科技(攻关)项目(99-929-01-29)

作者简介: 斯建勇(1963-), 男, 博士, 硕士生导师。 Tel: (010)62899748 E-mail: jysi@implad.ac.cn

O-*p*-feruloyl-scandosidemethyl ester, VI)、*E*-6-*O*-*p*-对甲氧基桂皮酰鸡尿藤次苷甲酯(*E*-6-*O*-*p*-methoxycinnamoyl scandoside ester, VII)、*E*-6-*O*-对羟基桂皮酰鸡尿藤次苷甲酯(*E*-6-*O*-*p*-coumaroyl scandoside ester, VIII)、槲皮素-3-*O*-[2-*O*-(6-*O*-*E*-阿魏酰基)- β -D-吡喃葡萄糖- β -D-吡喃葡萄糖苷](quercetin-3-*O*-[2-*O*-(6-*O*-*E*-feruloyl)- β -D-glucopyranosyl- β -D-glucopyranoside], IX)。结论 化合物 III 为首次从该属植物中分离得到。

关键词:白花蛇舌草;苷类成分;去乙酰车叶草酸甲酯

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)04-0507-03

白花蛇舌草 *Hedyotis diffusa* Willd. 为茜草科耳草属植物,全草入药,有清热、解毒、活血、利尿的功效。近年研究表明,白花蛇舌草具有增强非特异性免疫作用及抗氧化作用,临床上用于治疗各种癌症及炎症^[1,2]。为阐明其有效成分,建立药材的质量标准,笔者对其化学成分进行了研究,采用各种分离方法包括常压硅胶柱色谱、中压硅胶柱色谱、凝胶色谱和反相柱色谱等色谱分离方法,从白花蛇舌草正丁醇萃取物中分得 9 个苷类成分,通过理化性质和谱学分析确定了其结构,分别鉴定为:车叶草苷(asperuloside, I)、鸡尿藤次苷甲酯(scandoside methyl ester, II)、去乙酰车叶草酸甲酯(deacetyl asperulosidic acid methyl ester, III)、车叶草酸(asperulosidic acid, IV)、*Z*-6-*O*-*p*-阿魏酰鸡尿藤次苷甲酯(*Z*-6-*O*-*p*-feruloyl-scandosidemethyl ester, V)、*E*-6-*O*-*p*-阿魏酰鸡尿藤次苷甲酯(*E*-6-*O*-*p*-feruloyl-scandosidemethyl ester, VI)、*E*-6-*O*-*p*-对甲氧基桂皮酰鸡尿藤次苷甲酯(*E*-6-*O*-*p*-methoxycinnamoyl scandoside ester, VII)、*E*-6-*O*-对羟基桂皮酰鸡尿藤次苷甲酯(*E*-6-*O*-*p*-coumaroyl scandoside ester, VIII)、槲皮素-3-*O*-[2-*O*-(6-*O*-*E*-阿魏酰基)- β -D-吡喃葡萄糖- β -D-吡喃葡萄糖苷](quercetin-3-*O*-[2-*O*-(6-*O*-*E*-feruloyl)- β -D-glucopyranosyl- β -D-glucopyranoside], IX)。其中化合物 III 为首次从耳草属植物中分离得到。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器: Fisher-Johns 熔点测定仪; Peking-Elmer983G 型红外光谱仪(溴化钾压片); Bruker AM-500 和 Inova-500 型核磁共振仪(内标为 TMS); VG ZAB-2F 型质谱仪; 色谱用硅胶(100~200 目, 硅胶 H 等)均为青岛海洋化工厂产品。所用试剂均为分析纯。制备型高压液相色谱仪; JASCO PU 1580 型双泵, JASCO PU 1575 型紫外检测器, 制备柱: Zorbax C₁₈(250 mm×21.2 mm, 8 μ m); 白花蛇舌草采自江西省赣州地区, 由本所资源室标本馆林寿全教授鉴定为茜草科耳草属植物白花蛇舌草 *H. diffusa* Willd. 全草。

1.2 提取与分离: 白花蛇舌草 30 kg, 90%乙醇回

流提取 3 次, 合并提取液回收溶剂后得浸膏 2.0 kg, 将浸膏溶于适量水中, 依次以石油醚、醋酸乙酯和正丁醇萃取, 其中正丁醇洗脱物 500 g (Fr. C)。Fr. C 经硅胶柱色谱, 氯仿-甲醇(90:10~0:100)梯度洗脱, 分为 Fr. 1~60 个部分。Fr. 18 部分经反复硅胶柱色谱(氯仿-甲醇-水 7.5:2.5:1), 重结晶得到化合物 I (210 mg)、II (21 mg)。Fr. 20 部分经反复硅胶柱色谱(氯仿-甲醇-水 7:3:1), 重结晶得化合物 III (25 mg), IV (15 mg)。Fr. 21 部分经 HPLC 制备, 甲醇-水(52:48)得到化合物 V (15 mg)、VI (5 mg)、VII (12 mg)、VIII (9 mg)。Fr. 30 份经 HPLC 制备, 甲醇-水(30:70)得到化合物 IX (30 mg)。

2 结构鉴定

化合物 I: 白色结晶 (MeOH), mp 124~125 °C, 茴香醛-硫酸试剂显蓝色。FAB-MS、IR、¹³C-NMR 和 ¹H-NMR 数据与文献报道的车叶草苷的数据基本相符^[3]。

化合物 II: 白色粉末, 茴香醛-硫酸试剂显蓝色, FAB-MS、IR、¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据与文献报道的鸡尿藤次苷甲酯数据基本相符^[3]。

化合物 III: 白色粉末, 茴香醛-硫酸试剂显蓝色; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 480 (OH), 2 880, 1 700, 1 635, 1 248; FAB-MS: 427 (M⁺ + Na); ¹H-NMR (500 MHz) δ : 7.63 (1H, brs, H-3), 5.96 (1H, brs, H-7), 4.91 (1H, d, *J* = 9 Hz, H-1), 4.78 (1H, m, H-6), 4.18, 4.38 (各 1H, d, *J* = 16 Hz, H-10), 3.3~3.7 (6H, 糖中含氧碳的偕氢), 3.67 (3H, s, OCH₃), 3.06 (1H, t, *J* = 6 Hz, H-5), 2.58 (1H, t, *J* = 7 Hz, H-9); ¹³C-NMR (125 MHz) (D₂O) δ : 172.5 (C-11), 157.7 (C-3), 151.8 (C-8), 131.4 (C-7), 109.4 (C-4), 103.3 (C-1), 78.8 (C-3), 78.3 (C-5), 76.7 (C-6), 75.4 (C-2), 72.1 (C-4), 63.2 (C-6), 62.7 (C-10), 54.5 (OCH₃), 47.0 (C-9), 43.0 (C-5)。上述数据与文献报道的去乙酰车叶草酸甲酯数据基本相符^[4]。

化合物 IV: 白色粉末, 茴香醛-硫酸试剂显蓝色; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 425 (OH), 2 880, 1 700, 1 635, 1 248, 1 076; FAB-MS: 455 (M⁺ + Na); ¹H-NMR (500 MHz) δ : 7.52 (1H, d, *J* = 1.1 Hz, H-3), 5.96

(1H, d, $J=1.5$ Hz, H-7), 4.82(1H, d, $J=9$ Hz, H-1), 4.75(1H, d, $J=14.9$ Hz, H-10), 4.72(1H, d, $J=14.9$ Hz, H-10), 4.70(dd, $J=2.8, 6.3$ Hz, H-6), 4.69(d, $J=8$ Hz, H-1'), 3.71(1H, dd, $J=1.9, 12.4$ Hz, H-6'), 3.52(1H, dd, $J=5.7, 12.4$ Hz, H-6'), 3.35(1H, t, $J=9.0$ Hz, H-3'), 3.28~3.17(1H, m, 3H, H-2', 4', 5'), 2.95(1H, td, $J=1.4, 6.8$ Hz, H-5), 2.58(1H, t, $J=8.2$ Hz, H-9), 1.98(3H, s)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz)(D_2O) δ : 176.7(MeCOO), 173.7(C-11), 157.8(C-3), 146.8(C-8), 133.8(C-7), 109.8(C-4), 103.1(C-1), 101.8(C-1'), 78.9(C-5'), 78.5(C-3'), 76.5(C-6), 72.4(C-4'), 65.5(C-10), 63.7(C-6'), 47.3(C-9), 43.0(C-5), 23.1(AcO)。上述数据与文献报道的车叶草酸数据基本相符^[3]。

化合物 V: mp 122~125 °C; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 200~3 500(OH), 1 710, 1 635, 1 605, 1 495, 845; FAB-MS: 603($\text{M}^+ + \text{Na}$); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz) δ : 5.20(d, $J=6.2$ Hz, H-1), 7.42(s, H-3), 3.24(d, $J=6.6$ Hz, H-5), 5.55(m, H-6), 5.70(m, H-7), 2.90(dd, $J=6.2, 6.6$ Hz, H-9), 4.26(d, $J=15.6$ Hz, H-10), 4.16(d, $J=15.6$ Hz, H-10), 3.50(s, H-12), 7.55(d, $J=1.9$ Hz, H-2''), 7.10(dd, $J=1.9, 8.2$ Hz, H-6''), 6.69(d, $J=8.2$ Hz, H-3''), 4.58(d, $J=7.9$ Hz, H-1'), 3.12~3.19(4H, m, H-2'~5'), 3.79(d, $J=12.2$ Hz, H-6'), 3.55(d, m, H-6'), 6.78(d, $J=13.0$ Hz, H- α), 5.73(d, $J=13.0$ Hz, H- β), 3.77(s)。上述数据与文献报道的 Z-6-O-*p*-阿魏酰鸡屎藤次苷甲酯数据基本相符^[5,6]。

化合物 VI: mp 128~129 °C; IR、FAB-MS、 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据与文献报道的 E-6-O-*p*-阿魏酰鸡屎藤次苷甲酯数据基本相符^[5,6]。

化合物 VII: mp 115~117 °C; IR、FAB-MS、 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据与文献报道的 E-6-O-*p*-对甲氧基桂皮酰鸡屎藤次苷甲酯数据基本相符^[5,6]。

化合物 VIII: mp 138~117 °C; IR、FAB-MS、 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据与文献报道的 E-6-O-*p*-对羟基桂皮酰鸡屎藤次苷甲酯数据基本相符^[5,6]。

化合物 IX: 黄色粉末, mp 208~210 °C, HCl-Mg 反应阳性。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 420, 1 655, 1 605, 1 509, 1 360, 1 190, 1 100。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm: 254, 354。

NaOMe: 268, 320, 406; 加 AlCl_3 : 270, 333(sh), 446; AlCl_3/HCl : 265, 354, 422; 加入 NaOAc: 270, 322(sh), 378; 加 NaOAc/ H_3BO_3 : 260, 300(sh), 374。FAB-MS m/z : 803[$\text{M} + \text{H}$] $^+$; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6) δ : 12.65(1H, s, 5-OH), 7.60(1H, dd, $J=2.8, 3$ Hz, H-6'), 7.55(1H, d, $J=2$ Hz, H-2'), 7.36(1H, d, $J=15.9$ Hz, H- γ), 7.10(1H, d, $J=1.3$ Hz, H-2'''), 6.86(1H, dd, $J=8.6, 1.3$ Hz, H-6'''), 6.82(1H, d, $J=8.3$ Hz, H-5'), 6.70(1H, d, $J=8.1$ Hz, H-5'''), 6.30(1H, d, $J=2$ Hz, H-8), 6.18(1H, d, $J=15.9$ Hz, H- β), 6.14(1H, d, $J=2$ Hz, H-6), 5.63(1H, d, $J=7.5$ Hz, H-1''), 4.63(1H, d, $J=7.6$ Hz, H-1'''), 3.74(3H, s), 2.5~4.5(m, sugar protons)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz) δ : 177.4(C-4), 166.5(C- α), 163.8(C-7), 161.2(C-5), 156.1(C-9), 155.2(C-2), 149.2(C-4'''), 148.5(C-4'), 147.8(C-3'''), 145.0(C- γ), 144.8(C-3'), 133.0(C-3), 125.5(C-1'''), 122.2(C-6'''), 121.8(C-6'), 121.1(C-1'), 115.9(C-5'), 115.3(C-2'), 115.2(C-5'''), 114.1(C- β), 111.0(C-2'''), 104.7(C-1''), 103.8(C-10), 98.2(C-1''), 97.9(C-6), 93.3(C-8), 83.6(C-2''), 77.8(C-3''), 76.6(C-5''), 76.3(C-3''), 74.6(C-2''), 73.9(C-5''), 69.4(C-4''), 69.1(C-4'), 63.2(C-6''), 60.5(C-6''), 55.6(OCH_3)。上述数据与文献报道的槲皮素 3-O-[2-O-(6-O-E-阿魏酰基)- β -D-吡喃葡萄糖- β -D-吡喃葡萄糖苷]的一致^[7,8]。

参考文献:

- [1] 秦风华, 谢蜀生, 张文仁. 白花蛇舌草对小鼠免疫功能的增强作用 [J]. 上海免疫学杂志, 1990, 10(6): 321-323.
- [2] 于新, 杜志坚, 陈悦桥. 白花蛇舌草提取物抗氧化作用研究 [J]. 仪器与发酵工业, 2002, 28(3): 10-12.
- [3] 彭江南, 冯孝章, 梁晓天. 耳草属植物的化学研究 I. 黄毛耳草中环烯醚萜苷的分离和鉴定 [J]. 药学报, 1997, 32(12): 908-911.
- [4] 王钢力, 赵淑杰, 陈德昌, 等. 大黄栀子果实化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 1999, 24(1): 38-40.
- [5] Wu H M, Tao X L, Chen Q, et al. Iridoids From *Hedyotis diffusa* [J]. *J Nat Prod*, 1991, 54(1): 254-256.
- [6] Nishihama Y, Masuda K, Takagi S, et al. Three New Iridoid Glucosides From *Hedyotis diffusa* [J]. *Plant Med*, 1981, 43: 28-33.
- [7] Yongleem Kim, Eun Jung Park, Jinwoong Kim, et al. Neuroprotective Constituents from *Hedyotis diffusa* [J]. *J Nat Prod*, 2001, 64: 75-78.
- [8] 任凤芝, 刘刚叁, 张丽, 等. 白花蛇舌草黄酮类成分研究 [J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(7): 502-504.