

## 5 讨论

鬼臼毒素与苦鬼臼毒素, 鬼臼毒酮、苦鬼臼毒酮与异苦鬼臼毒酮, 去氧鬼臼毒素与去氧苦鬼臼毒素, 3组化合物互为同分异构体, 硅胶柱色谱不易将它们有效分离, 并且这3组化合物重结晶时易形成共结晶, 通过重结晶难于达到有效纯化目的。而通过制备高效液相色谱制备, 可以得到纯度大于98%的产品。所分离的7个化合物中, 去氧苦鬼臼毒素为首次从桃儿七中分离得到。

从分离得率来看, 上述3组同分异构体均以同组第一个化合物的得率最高, 表明该化合物在药材中量最高; 从结构式可以推知, 3组同分异构体均以同组第一个化合物的稳定性最强。

一般认为, 单一化学成分的 $IC_{50}$ 小于 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 可认为该化学成分在体外对该细胞有抑制作用。本试验中7个鬼臼毒素类化合物除异苦鬼臼毒酮对L929(小鼠成纤维)的 $IC_{50}$ 大于 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ 外, 其他

化合物的 $IC_{50}$ 均小于 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ , 可认为均有细胞毒性作用, 说明这些化合物均具有较强的抗癌活性。其中, 去氧鬼臼毒素的 $IC_{50}$ 值最小, 表明该化合物的抑制作用最强, 说明其抗癌活性最强。

## 参考文献:

- [1] 中国医学科学院药物研究所. 中药志[M]. 第一册. 北京: 人民卫生出版社, 1982
- [2] 刘海军, 徐艳, 苏国庆, 等. 桃儿七的研究进展[J]. 中草药, 2004, 35(1): 98-100
- [3] 蒋子华, 陈泗英. 川八角莲的化学成分[J]. 云南植物研究, 1989, 11(4): 479-481
- [4] 马辰, 杨峻山, 罗淑荣. 山荷叶中木脂素成分的研究[J]. 药学学报, 1993, 28(9): 690-694
- [5] 马辰, 罗淑荣. 鬼臼类植物中木脂素类化合物的研究进展[J]. 中草药, 1992, 23(5): 271-277
- [6] Rahman A U, Choudhary M I. New natural products from medicinal plants of Pakistan [J]. *Pure Appl Chem*, 1998, 70(2): 385-389
- [7] He Y, Ma W Y, Zhang C N. 4-Desoxyprocopodophyllin and 4-demethyl-4-desoxyprocopodophyllin obtained from system  $(\text{CH}_3)_3\text{SiCl}/\text{Na}/\text{MeCN}$  [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2001, 10(3): 161-163

## 三叶蔓荆化学成分研究(II)

闫利华<sup>1</sup>, 张启伟<sup>1</sup>, 王智民<sup>1</sup>, 徐丽珍<sup>2\*</sup>, 杨世林<sup>3\*</sup>

- (1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 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; 3. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330006)

**摘要:**目的 研究三叶蔓荆 *Vitex trifolia* 茎和叶的化学成分。方法 采用硅胶和 Sephadex LH 20 柱色谱进行分离纯化, 根据波谱数据结合理化性质解析化合物结构。结果 从三叶蔓荆茎和叶的乙醇提取物中分离得到9个化合物, 分别鉴定为牡荆内酯(vitexilactone, 1)、前牡荆内酯(previtexilactone, 2)、乌苏酸(3)、3 $\beta$ -乙酰氧基-12-烯-28-乌苏酸(4)、白桦脂酸(5)、3,4-二羟基苯甲酸(6)、对羟基苯甲酸(7)、 $\beta$ -谷甾醇(8)、胡萝卜苷(9)。结论 化合物3~5为首次从该植物中分离得到, 所有化合物均为首次从该植物的茎和叶中分离得到。

**关键词:** 三叶蔓荆; 牡荆属; 牡荆内酯; 前牡荆内酯

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)10-1622-03

三叶蔓荆 *Vitex trifolia* L. 为马鞭草科牡荆属植物, 在我国主要分布于云南、广东、广西、福建、台湾等省。果实名蔓荆子, 始载于《神农本草经》, 列为上品, 有疏散风热、清利头目之功用, 用于外感头痛、眩晕、目痛、湿痹拘挛。除果实外, 蔓荆的茎和叶亦供药用, 有消肿止痛的功效, 内服或外敷可治头风、刀伤止血、跌打损伤、风湿疼痛等<sup>[1]</sup>; 临床应用也较广泛, 如傣族验方雅叫哈顿散中, 即以蔓荆茎和叶作主治药<sup>[2]</sup>。然而, 目前国内外对该植物的研究多局

限于对果实的研究, 对其茎和叶的研究少有报道, 为了寻找活性成分, 进一步开发利用该植物的药用资源, 本实验对三叶蔓荆茎和叶的化学成分进行研究。前文已报道了从三叶蔓荆茎和叶中分离到的8个化合物<sup>[3]</sup>。本实验继续对其化学成分进行研究, 又从中分离得到9个化合物, 分别鉴定为牡荆内酯(vitexilactone, 1)、前牡荆内酯(previtexilactone, 2)、乌苏酸(3)、3 $\beta$ -乙酰氧基-12-烯-28-乌苏酸(4)、白桦脂酸(5)、3,4-二羟基苯甲酸(6)、对羟基苯甲酸(7)、 $\beta$ -

①收稿日期: 2010-04-15

作者简介: 闫利华(1980-), 女, 博士, 助理研究员。Tel: (010) 84047332 E-mail: yanlh2829@hotmail.com

\* 通讯作者 杨世林 Tel: (010) 62899705 E-mail: yangshilin9705@hotmail.com

徐丽珍 E-mail: xulizhen2002@hotmail.com

谷甾醇(8)、胡萝卜苷(9)。化合物3~5为首次从该植物中分离得到,所有化合物均为首次从该植物的茎和叶中分离得到。

### 1 仪器与材料

熔点用 Fisher Johns 熔点测定仪测定,核磁用 Varian UNITY INOVA-600 型超导核磁共振仪测定,质谱用 Micromass ZabSpec 磁质谱仪测定。溶剂均为分析纯,为北京化工厂产品,色谱硅胶均为青岛海洋化工厂产品。

三叶蔓荆 *Vitex trifolia* L. 茎和叶采自云南西双版纳,由中国医学科学院药用植物研究所郭宝林教授鉴定。

### 2 提取与分离

三叶蔓荆干燥茎和叶 10 kg,粉碎,用 95% 乙醇回流提取 3 次,每次 2 h。回收乙醇,将浓缩的提取物分散于水中,依次用石油醚、氯仿、醋酸乙酯、正丁醇萃取。氯仿萃取部分经硅胶柱色谱分离,以石油醚-醋酸乙酯-甲醇(P-E-M)系统梯度洗脱,收集各流分合并后得到 27 个组分(Fr. 1~ Fr. 27)。Fr. 5 (P-E 85: 15 洗脱得到)经 Sephadex LH-20 柱色谱分离,再经中压硅胶柱色谱,以石油醚-丙酮(100: 1.6)等度洗脱,得到化合物 4(10 mg); Fr. 7(P-E 85: 15 洗脱得到)经 Sephadex LH-20 柱色谱分离纯化得到化合物 8(10 mg)。Fr. 8[P-E(85: 15)洗脱得到]先经 Sephadex LH-20 柱色谱分离,再经中压硅胶柱色谱,以石油醚-丙酮(100: 0.5)等度洗脱,得到化合物 2(20 mg)。Fr. 10[P-E(8: 2)洗脱得到]和 Fr. 12[P-E(8: 2)洗脱得到]分别经 Sephadex LH-20 柱色谱分离纯化得到化合物 5(50 mg)和 3(20 mg)。Fr. 16[P-E(6: 4)洗脱得到]经 Sephadex LH-20 柱色谱分离纯化得到化合物 1(200 mg)和 6(20 mg)。Fr. 19[P-E-M(6: 4: 0.2)洗脱物]经 Sephadex LH-20 柱色谱分离纯化得到化合物 7(10 mg)。Fr. 24(P-E-M 6: 4: 2 洗脱得到)经 Sephadex LH-20 柱色谱分离纯化得到化合物 9(100 mg)。

### 3 结构鉴定

化合物 1: 白色针晶, mp 144~ 146 °C; EIMS  $m/z$ : 318 ( $M^+ - CH_3COOH$ , 100), 303 ( $M^+ - CH_3COOH - CH_3$ , 23)。 $^1H$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz)  $\delta$ : 5.84(1H, t,  $J=1.8$  Hz, H-14), 5.39(1H, d,  $J=2.4$  Hz, H-6), 4.76(2H, brs, H-16), 2.51(2H, m, H-12), 2.14(1H, m, H-8), 2.05(3H, s, CH<sub>3</sub>CO), 1.98(1H, m, H $\alpha$ 11), 1.75(1H, m, H $\beta$ 11), 1.64(1H, m, H $\alpha$ 2), 1.59(2H, m, H-7), 1.58

(1H, d,  $J=3.0$  Hz, H-5), 1.52(1H, m, H $\beta$ 2), 1.50(1H, m, H $\alpha$ 1), 1.43(1H, m, H $\beta$ 1), 1.35(1H, br. d,  $J=12.0$  Hz, H $\alpha$ 3), 1.26(3H, s, CH<sub>3</sub>-20), 1.16(1H, td,  $J=12.0, 3.0$  Hz, H $\beta$ 3), 1.01(3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 0.97(3H, s, CH<sub>3</sub>-18), 0.90(3H, d,  $J=6.6$  Hz, CH $\beta$ -17)。 $^{13}C$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)  $\delta$ : 174.0 (C-15), 171.1 (C-13), 170.4 (CH<sub>3</sub>CO), 114.9 (C-14), 76.4 (C-9), 73.1 (C-16), 69.7 (C-6), 47.6 (C-5), 43.7 (C-10), 43.5 (C-3), 36.0 (C-7), 34.0 (C-4), 33.5 (C-1, 18), 32.0 (C-8), 31.6 (C-11), 25.4 (C-12), 23.6 (C-19), 21.9 (CH<sub>3</sub>CO), 18.9 (C-20), 18.5 (C-2), 16.0 (C-17)。以上数据与文献报道<sup>[4]</sup>一致,故鉴定化合物 1 为牡荆内酯(vitexilactone)。

化合物 2: 白色针晶, mp 214~ 215 °C; EIMS  $m/z$ : 318 ( $M^+ - CH_3COOH$ , 100), 303 ( $M^+ - CH_3COOH - CH_3$ , 4)。 $^1H$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz)  $\delta$ : 5.38(1H, dd,  $J=3.0, 5.4$  Hz, H-6), 4.37(1H, d,  $J=9.0$  Hz, H $\alpha$ 16), 4.18(1H, d,  $J=9.0$  Hz, H $\beta$ 16), 2.91(1H, d,  $J=16.8$  Hz, H $\alpha$ 14), 2.51(1H, d,  $J=16.8$  Hz, H $\beta$ 14), 2.13(1H, m, H-8), 2.04(3H, s, CH<sub>3</sub>CO), 1.58(1H, d,  $J=3.0$  Hz, H-5), 1.24(3H, s, CH<sub>3</sub>-20), 0.99(3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 0.95(3H, s, CH<sub>3</sub>-18), 0.80(3H, d,  $J=6.6$  Hz, CH $\beta$ -17)。 $^{13}C$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)  $\delta$ : 174.8 (C-15), 170.4 (CH<sub>3</sub>CO), 93.9 (C-9), 85.8 (C-13), 78.4 (C-16), 70.3 (C-6), 48.9 (C-5), 43.9 (C-3, 14), 42.9 (C-10), 37.8 (C-12), 36.5 (C-7), 34.2 (C-1), 34.1 (C-4), 33.1 (C-18), 31.2 (C-8), 29.3 (C-11), 23.7 (C-19), 21.9 (CH<sub>3</sub>CO), 19.8 (C-20), 18.7 (C-2), 17.2 (C-17)。以上数据与文献报道<sup>[5]</sup>一致,故鉴定化合物 2 为前牡荆内酯(previtexilactone)。

化合物 3: 白色无定形粉末, mp 259~ 261 °C; EIMS  $m/z$ : 456 ( $M^+$ , 5), 438 (4), 423 (2), 248 (100), 203 (35), 189 (12), 133 (20)。 $^1H$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz)  $\delta$ : 5.25(1H, m, H-12), 3.21(1H, m, H-3), 2.19(1H, d,  $J=11.4$  Hz, H-18), 1.26, 1.08, 0.99, 0.93, 0.86, 0.79, 0.77(各 3H, CH<sub>3</sub>  $\times$  7)。 $^{13}C$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)  $\delta$ : 182.2 (C-28), 137.9 (C-13), 125.9 (C-12), 79.1 (C-3), 55.2 (C-5), 52.7 (C-18), 47.9 (C-17), 47.6 (C-9), 42.0 (C-14), 39.5 (C-19), 39.1 (C-20), 38.8 (C-1, 8), 38.6 (C-4), 37.0 (C-10), 36.7 (C-22), 33.0 (C-7), 30.6 (C-21), 28.1 (C-15), 28.0 (C-23), 27.2 (C-

2), 24 2 (C-16), 23 6 (C-11), 23 3 (C-27), 21 2 (C-30), 18 3 (C-6), 17 0 (C-26, 29), 15 6 (C-25), 15 5 (C-24)。以上数据与文献报道<sup>[6]</sup>一致, 故鉴定化合物 **3** 为乌苏酸(ursolic acid)。

化合物 **4**: 白色无定形粉末, mp 252~ 254 °C; EFMS  $m/z$ : 498 ( $M^+$ , 3), 483 (1), 452 (10), 423 (5), 392 (10), 248 (100), 203 (45), 190 (30), 133 (25), 95 (10), 81 (10)。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) & 5. 25 (1H, s, H-12), 4. 50 (1H, m, H-3), 2. 05 (3H, s, CH<sub>3</sub>CO), 2. 19 (1H, d,  $J=11.4$  Hz, H-18), 1. 26, 1. 08, 0. 97, 0. 95, 0. 87, 0. 85, 0. 79 (各 3H, CH<sub>3</sub> × 7)。<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz) & 182. 0 (C-28), 171. 0 (CH<sub>3</sub> C=O), 138. 0 (C-13), 125. 8 (C-12), 80. 9 (C-3), 55. 3 (C-5), 52. 7 (C-18), 47. 9 (C-17), 47. 5 (C-9), 42. 0 (C-14), 39. 5 (C-8), 39. 1 (C-20), 38. 8 (C-19), 38. 3 (C-1), 37. 7 (C-4), 36. 9 (C-10), 36. 7 (C-22), 32. 9 (C-7), 30. 6 (C-21), 28. 1 (C-23), 28. 0 (C-15), 24. 2 (C-16), 23. 6 (C-2, 27), 23. 3 (C-11), 21. 3 (C-30), 21. 2 (CH<sub>3</sub>CO), 18. 2 (C-6), 17. 1 (C-29), 17. 0 (C-26), 16. 7 (C-25), 15. 5 (C-24)。以上数据与文献报道<sup>[7]</sup>一致, 故鉴定化合物 **4** 为 3 $\beta$ -乙酰氧基-12-烯-28-乌苏酸(3 $\beta$ -acetyloxy-12-ene-28-ursolic acid)。

化合物 **5**: 白色针晶, mp 282~ 284 °C; EFMS  $m/z$ : 456 ( $M^+$ , 50), 438 (30), 423 (20), 395 (15), 248 (40), 207 (60), 203 (30), 189 (100), 135 (45), 95 (40), 81 (40)。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) & 4. 74 (1H, br s, H $\alpha$ -29), 4. 61 (1H, br s, H $\beta$ -29), 3. 19 (1H, dd,  $J=11.4, 4.8$  Hz, H-3), 1. 69, 0. 98, 0. 97, 0. 94, 0. 82, 0. 76 (各 3H, s, CH<sub>3</sub> × 6)。<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz) & 180. 2 (C-28), 150. 4 (C-20), 109. 7 (C-29), 79. 0 (C-3), 56. 3 (C-17), 55. 4 (C-5), 50. 5 (C-9), 49. 3 (C-19), 46. 9 (C-18), 42. 4 (C-14), 40. 7 (C-8), 38. 9 (C-4), 38. 7 (C-1), 38. 4 (C-13), 37. 2 (C-10), 37. 0 (C-22), 34. 3 (C-7), 32. 1 (C-16), 30. 5 (C-15), 29. 7 (C-21), 28. 0 (C-23), 27. 4 (C-2), 25. 5 (C-12), 20. 9 (C-11), 19. 4 (C-30), 18. 3 (C-6), 16. 1 (C-26), 16. 0 (C-25), 15. 3 (C-24), 14. 7 (C-27)。以上数据与文献报道<sup>[8]</sup>一致, 故鉴定化合物 **5** 为白桦脂酸(betulinic acid)。

化合物 **6**: 无色针晶, mp 204~ 206 °C; EFMS  $m/z$ : 154 ( $M^+$ , 100), 137 (95), 109 (25), 81 (12), 63

(10), 53 (10)。<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz) & 7. 43 (1H, d,  $J=1.8$  Hz, H-2), 7. 42 (1H, dd,  $J=8.4, 1.8$  Hz, H-6), 6. 79 (1H, d,  $J=8.4$  Hz, H-5)。<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 150 MHz) & 170. 3 (C-7), 151. 5 (C-4), 146. 0 (C-3), 123. 9 (C-1), 123. 1 (C-6), 117. 7 (C-2), 115. 8 (C-5)。以上数据与文献报道<sup>[9]</sup>一致, 故鉴定化合物 **6** 为 3, 4-二羟基苯甲酸(3, 4-dihydroxybenzoic acid)。

化合物 **7**: 无色针晶, mp 210~ 211 °C; EFMS  $m/z$ : 138 ( $M^+$ , 90), 121 (100), 93 (25), 65 (18)。<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz) & 7. 86 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-2, 6), 6. 80 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-3, 5), 4. 84 (1H, br s, 4-OH)。<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 150 MHz) & 170. 1 (C-7), 163. 4 (C-4), 133. 0 (C-2, 6), 122. 8 (C-1), 116. 0 (C-3, 5)。以上数据与文献报道<sup>[10]</sup>一致, 故鉴定化合物 **7** 为对羟基苯甲酸(4-hydroxybenzoic acid)。

化合物 **8**: 无色针晶, mp 141~ 142 °C; EFMS  $m/z$ : 414 [ $M^+$ ]<sup>+</sup>。与 $\beta$ -谷甾醇对照品混合熔点不下降, 用 TLC 鉴别, 其 R<sub>f</sub> 值和对照品完全一致。故鉴定化合物 **8** 为 $\beta$ -谷甾醇( $\beta$ -sitosterol)。

化合物 **9**: 白色无定形粉末, mp 295~ 297 °C; EFMS  $m/z$ : 414 [ $M-162$ ]<sup>+</sup>。与胡萝卜苷对照品混合熔点不下降, 用 TLC 鉴别, 其 R<sub>f</sub> 值和对照品完全一致。故鉴定化合物 **9** 为胡萝卜苷(daucosterol)。

#### 参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 下册. 上海: 上海人民出版社, 1975
- [2] 中国药典[S]. 一部. 2005
- [3] 闫利华, 徐丽珍, 林佳, 等. 三叶蔓荆化学成分研究(I)[J]. 中草药, 2009, 40(4): 531-533
- [4] Msateru O, Megumi Y, Takako Y, et al. Ten new labdane type diterpenes from the fruits of *Vitex rotundifolia* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2001, 49(1): 82-86
- [5] Yoshikazu K, Kyoko S, Shigeo N. Studies on the constituents of *Vitex rotundifolia* L. fil [J]. *Chem Pharm Bull*, 1986, 34(11): 4829-4832
- [6] 李全, 许琼明, 郝丽莉, 等. 紫丁香叶化学成分研究[J]. 中草药, 2009, 40(3): 369-371
- [7] 王福东, 丁兰, 汪汉卿. 蓝萼香茶菜三萜成分研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(24): 1929-1932
- [8] 任冬梅, 姜红祥, 季梅. 岩青兰化学成分的研究(II)[J]. 中国药学杂志, 2005, 40(22): 1695-1696
- [9] 罗永明, 刘爱华, 余邦伟, 等. 中药草珊瑚的化学成分研究[J]. 中国药学杂志, 2005, 40(17): 1296-1298
- [10] 童胜强, 黄娟, 王冰岚, 等. 肿节风化学成分研究[J]. 中草药, 2010, 41(2): 198-201