鸡矢藤化学成分研究

喻晓雁^{1,2}

1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210046
2. 浙江医药高等专科学校, 浙江 宁波 315100

摘要: 目的 追踪分离鸡矢藤 *Paederia scandens* 的化学成分, 并对分离得到的单体化合物进行抗肿瘤活性测试。方法 以 95%乙醇回流提取, 采用各种色谱技术对提取物进行分离纯化, 通过理化性质和光谱数据确定所得单体化合物的结构。结果 从鸡矢藤中分离并鉴定了 9 个化合物, 分别鉴定为 3 β ,13 β -二羟基-乌索-11-烯-28-油酸 (1)、2 α ,3 β ,13 β -三羟基-乌索-11-烯-28-油酸 (2)、乌索酸 (3)、2 α -羟基乌索酸 (4)、 α -亚麻酸 (5)、二十三碳酸 (6)、棕榈酸 (7)、 β -胡萝卜苷 (8)、 β -谷甾醇 (9)。结论 化合物 1、2、4、6 为首次从该属植物中分离得到。

关键词: 鸡矢藤; 抗肿瘤活性; 3 β ,13 β -二羟基-乌索-11-烯-28-油酸; 2 α ,3 β ,13 β -三羟基-乌索-11-烯-28-油酸; 2 α -羟基乌索酸
中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2011)04-0661-03

Chemical constituents of *Paederia scandens*

YU Xiao-yan^{1,2}

1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China
2. Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo 315100, China

Key words: *Paederia scandens* (Lour.) Merrill; antitumor activity; 3 β ,13 β -dihydroxy-urs-11-en-28-oic acid; 2 α ,3 β ,13 β -trihydroxy-urs-11-en-28-oic acid; 2 α -hydroxyl ursolic acid

鸡矢藤 *Paederia scandens* (Lour.) Merrill 为茜草科鸡矢藤属草本植物, 又名鸡屎藤、牛皮冻、斑鸠饭、清风藤。该属植物全世界约 40 种, 主要分布于印度、印度尼西亚、马来西亚、日本、朝鲜、中国等地。鸡矢藤是我国常见的药用植物, 在陕西、甘肃、山东、江苏、安徽、湖北、湖南、贵州、四川等省区均有分布^[1]。鸡矢藤作为传统的中草药, 对风湿疼痛、腹泻痢疾、脘腹疼痛、无名肿毒、跌打损伤等疾病有疗效^[2]。袁肇金等^[3]报道鸡矢藤的水蒸气蒸馏液有镇痛和抗惊作用。鸡矢藤含有挥发油、环烯醚萜、三萜等化合物^[4-7]。

为了进一步探索其活性成分, 本实验对鸡矢藤进行了化学成分研究, 从中分得了 9 个化合物, 根据理化常数和波谱数据, 分别鉴定为 3 β ,13 β -二羟基-乌索-11-烯-28-油酸 (1)、2 α ,3 β ,13 β -三羟基-乌索-11-烯-28-油酸 (2)、乌索酸 (3)、2 α -羟基乌索酸 (4)、 α -亚麻酸 (5)、二十三碳酸 (6)、棕榈酸 (7)、 β -胡萝卜苷 (8)、 β -谷甾醇 (9)。其中化合物 1、2、

4、6 为首次从该属植物中分离得到。

1 仪器和材料

Bruker AV-400 型核磁共振光谱仪, Bruker Esquire 2000 型质谱仪, 岛津 LC-6A 高效液相色谱仪 (配备 Shimadzu SPD-6AV 型检测器), RE 52AA 型旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂)。Sephadex LH-20 (Pharmacia 公司), ODS (Pharmacia 公司), D-101 大孔吸附树脂 (西安蓝晓科技有限公司), 柱色谱用硅胶 (100~200 目、200~300 目) 和薄层色谱硅胶 GF₂₅₄ 均为青岛海洋化工厂生产。其他试剂均为国产分析纯。

ALB-124 电子天平 (Acculab Sartius Group), 低速离心机 (湖南仪器仪表总厂离心机厂), CHS-213 生物倒置显微镜 (日本 Olympus 公司), 超净工作台 (苏州实验仪器厂), TC2323 型二氧化碳培养箱 (美国 SHELLAB 公司), 全自动立式高压消毒锅 (武汉国光医疗仪器厂), 微量加样器 (Gilson 公司)。

人肝癌细胞株 HepG2、人白血病细胞株 (HL-60

收稿日期: 2010-12-09

作者简介: 喻晓雁 (1975—), 女, 浙江宁波人, 硕士, 讲师, 浙江医药高等专科学校教师, 现在南京中医药大学药学院访问进修, 主要从事药用植物的教学研究工作。Tel: 15067441907 (0574)88222782 E-mail: yuxy@mail.zjpc.net.cn

及 Mata) 购自武汉大学细胞保藏中心, 高糖 DMEM 培养粉 (Sigma 公司产品), 胎牛血清 (杭州四季青公司产品), 胰蛋白酶 (武汉科瑞生物技术公司), 四甲基偶氮唑蓝 (MTT, Sigma 公司), 二甲基亚砜 (DMSO, Sigma 公司)。

鸡矢藤购自安徽亳州, 经南京中医药大学谈猷和教授鉴定为 *Paederia scandens* (Lour.) Merrill。

2 提取与分离

5.5 kg 鸡矢藤用 95% 乙醇加热回流提取 3 次, 每次 2 h, 提取液合并减压浓缩得浸膏。将浸膏分散于蒸馏水中, 依次以氯仿、醋酸乙酯及水饱和的正丁醇萃取, 回收溶剂后得到氯仿部位浸膏 65 g。

氯仿部位进行硅胶柱色谱, 环己烷-醋酸乙酯 (50 : 1、20 : 1、10 : 1、5 : 1、2 : 1、1 : 1) 梯度洗脱, 合并洗脱液为 16 部分 (Fr. 1~16)。Fr. 2 经硅胶柱色谱以环己烷-醋酸乙酯 (100 : 1、50 : 1、20 : 1) 洗脱, 得到化合物 **6** (23.1 mg)、**7** (36.2 mg)、**9** (125.0 mg)。Fr. 3 经重结晶分别得到化合物 **5** (87.0 mg)。Fr. 11 经重结晶分别得到化合物 **3** (182.1 mg)。Fr. 12 经硅胶柱色谱以氯仿-甲醇 (50 : 1、20 : 1、10 : 1、5 : 1、2 : 1、1 : 1、0 : 1) 梯度洗脱及制备 HPLC 分离纯化得到化合物 **1** (5.5 mg)、**2** (7.1 mg)、**4** (6.8 mg)。Fr. 14 经硅胶柱纯化, 以氯仿-甲醇 (15 : 1) 洗脱, 得到化合物 **8** (32.1 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 无色粉末。ESI-MS $[M+H]^+$ m/z : 473。 ^{13}C -NMR (100 MHz, pyridine- d_5) δ : 38.6 (C-1), 23.2 (C-2), 79.0 (C-3), 39.0 (C-4), 54.3 (C-5), 18.7 (C-6), 33.1 (C-7), 41.2 (C-8), 53.5 (C-9), 36.7 (C-10), 133.5 (C-11), 129.0 (C-12), 90.2 (C-13), 27.8 (C-14), 29.1 (C-15), 25.6 (C-16), 45.4 (C-17), 60.3 (C-18), 38.4 (C-19), 39.2 (C-20), 31.1 (C-21), 31.8 (C-22), 28.1 (C-23), 15.3 (C-24), 17.5 (C-25), 19.0 (C-26), 18.5 (C-27), 180.6 (C-28), 16.5 (C-29), 19.7 (C-30)。其 1H -NMR 与 ^{13}C -NMR 数据与文献报道数据基本一致^[8], 故鉴定化合物 **1** 为 3 β ,13 β -二羟基-乌索-11-烯-28-油酸。

化合物 **2**: 无色粉末。ESI-MS $[M+H]^+$ m/z : 489。 ^{13}C -NMR (100 MHz, pyridine- d_5) δ : 48.6 (C-1), 68.7 (C-2), 84.6 (C-3), 40.1 (C-4), 55.8 (C-5), 18.5 (C-6), 33.5 (C-7), 40.8 (C-8), 54.0 (C-9), 37.1 (C-10), 133.1 (C-11), 129.2 (C-12), 90.0 (C-13), 27.6 (C-14), 29.0 (C-15), 25.7 (C-16), 45.3 (C-17), 60.5 (C-18),

38.2 (C-19), 39.0 (C-20), 31.0 (C-21), 31.5 (C-22), 28.6 (C-23), 15.0 (C-24), 18.1 (C-25), 19.3 (C-26), 18.6 (C-27), 180.5 (C-28), 16.7 (C-29), 19.5 (C-30)。其 1H -NMR 与 ^{13}C -NMR 数据与文献报道数据基本一致^[8], 故鉴定化合物 **2** 为 2 α ,3 β ,13 β -三羟基-乌索-11-烯-28-油酸。

化合物 **3**: 无色粉末。ESI-MS $[M+H]^+$ m/z : 457。 ^{13}C -NMR (100 MHz, pyridine- d_5) δ : 39.6 (C-1), 28.2 (C-2), 78.6 (C-3), 39.4 (C-4), 54.0 (C-5), 18.9 (C-6), 31.9 (C-7), 40.8 (C-8), 48.5 (C-9), 37.4 (C-10), 23.6 (C-11), 126.5 (C-12), 139.1 (C-13), 43.0 (C-14), 29.1 (C-15), 25.1 (C-16), 33.6 (C-17), 56.5 (C-18), 39.6 (C-19), 39.8 (C-20), 29.1 (C-21), 37.5 (C-22), 29.0 (C-23), 17.3 (C-24), 16.1 (C-25), 17.2 (C-26), 24.1 (C-27), 180.5 (C-28), 17.5 (C-29), 19.6 (C-30)。其 1H -NMR 与 ^{13}C -NMR 数据与文献报道的乌索酸数据基本一致^[9], 故鉴定化合物 **3** 为乌索酸。

化合物 **4**: 无色粉末。ESI-MS $[M+H]^+$ m/z : 473。 ^{13}C -NMR (100 MHz, pyridine- d_5) δ : 48.3 (C-1), 68.6 (C-2), 84.3 (C-3), 40.4 (C-4), 56.1 (C-5), 18.0 (C-6), 33.9 (C-7), 39.6 (C-8), 48.2 (C-9), 37.8 (C-10), 24.1 (C-11), 125.6 (C-12), 139.6 (C-13), 43.1 (C-14), 29.1 (C-15), 25.3 (C-16), 48.5 (C-17), 53.6 (C-18), 39.0 (C-19), 39.1 (C-20), 31.2 (C-21), 39.8 (C-22), 29.6 (C-23), 17.4 (C-24), 17.2 (C-25), 17.6 (C-26), 24.3 (C-27), 180.2 (C-28), 19.2 (C-29), 21.6 (C-30)。其 1H -NMR 与 ^{13}C -NMR 数据与文献报道数据基本一致^[10], 故鉴定化合物 **4** 为 2 α -羟基乌索酸。

化合物 **5**: 白色蜡状固体。ESI-MS $[M+H]^-$ m/z : 277。 1H -NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 10.9 (s, OH), 5.10-5.50 (6H, m), 2.79 (4H, m), 0.95 (3H, t, $J = 7.3$ Hz)。 ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 180.1 (C-1), 34.0 (C-2), 24.2 (C-3), 29.0 (C-4, 5), 29.1 (C-6), 29.9 (C-7), 27.4 (C-8), 130.5 (C-9), 127.8 (C-10), 25.3 (C-11), 128.6 (C-12, 13), 25.5 (C-14), 127.6 (C-15), 132.3 (C-16), 20.6 (C-17), 14.5 (C-18)。其 1H -NMR 与 ^{13}C -NMR 数据与文献报道数据基本一致^[11], 故鉴定化合物 **5** 为 α -亚麻酸。

化合物 **6** 和 **7** 经 EI-MS 及 1H -NMR、 ^{13}C -NMR 分析, 并与文献对照^[12], 分别鉴定为二十三碳酸和棕榈酸。

化合物 **8** 和 **9** 经与对照品共薄层分析, 分别鉴定为 β -胡萝卜苷和 β -谷甾醇。

4 活性测试结果

采用 MTT 法测定所得化合物的抗肿瘤活性, 结果见表 1。

表 1 鸡矢藤中化合物的抗肿瘤 IC₅₀ 值 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 1 IC₅₀ values of antitumor activity of compounds isolated from *P. scandens* ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

化合物	IC ₅₀ /($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)		
	HepG2	HL-60	Mata
1	1.9±0.2	4.3±0.1	3.0±0.5
2	2.1±0.2	49.0±1.0	40.0±6.0
3	28.7±3.1	65.3±6.8	60.2±5.1
4	2.5±0.3	6.1±0.4	3.1±0.6
5	31.3±3.0	35.0±4.1	66.2±7.6
顺铂	5.6±0.5	2.6±0.4	7.1±0.5

活性测试结果表明, 化合物 1~5 表现出较强的抑制肿瘤细胞增殖活性。其中, 化合物 1 对所测试的 3 种细胞株均表现出很强的抑制增殖作用。化合物 2 和 4 对 HepG2 细胞的抑制作用较为明显。另外, 化合物 4 对 HL-60 及 Mata 细胞株的抑制作用较强。

参考文献

- [1] 中国科学院西北植物研究所. 秦岭植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1988.
- [2] 陕西森林工业管理局. 秦巴山区经济动植物 [M]. 西安: 陕西师范大学出版社, 1990.
- [3] 袁肇金, 游百海, 马凤英, 等. 鸡矢藤镇痛和抗惊作用研究 [J]. 中草药, 1983, 14(3): 21.
- [4] 马养民, 毛 远. 鸡屎藤地上部分化学成分的初步研究 [J]. 陕西林业科技, 2002, 30(2): 73-76.
- [5] Inouye H, Inouye S, Shimokawa N, et al. Iridoid glucosides from *Paederia scandens* [J]. *Tetrahedron Lett*, 1968(6): 683-688.
- [6] Quang D N, Hashimoto T, Tanaka M, et al. Iridoid glucosides from roots of Vietnamese *Paederia scandens* [J]. *Phytochemistry*, 2002, 60(5): 505-514.
- [7] Kim Y L, Chin Y W, Kim J, et al. Two new acylated iridoid glucosides from the aerial parts of *Paederia scandens* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2004, 52(11): 1356-1357.
- [8] He X J, Liu R H. Triterpenoids isolated from apple peels have potent antiproliferative activity and may be partially responsible for apple's anticancer activity [J]. *J Agric Food Chem*, 2007, 55(11): 4366-4370.
- [9] 胡旭佳, 何红平, 孔令义, 等. 光叶绣线菊中的三萜及甾体化合物的研究 [J]. 中草药, 2008, 39(5): 677-678.
- [10] Lee C K. Ursane triterpenoids from leaves of *Melaleuca leucadendron* [J]. *Phytochemistry*, 1998, 49(4): 1119-1122.
- [11] Chuang C Y, Hsu C, Chao C Y, et al. Fractionation and identification of 9c, 11t, 13t-conjugated linolenic acid as an activator of PPAR α in bitter melon (*Momordica charantia* L.) [J]. *J Biomed Sci*, 2006, 13:763-772.
- [12] Spitzer V. GC-MS (chemical ionization and electron impact modes) characterization of the methyl esters and oxazoline derivatives of cyclopropene fatty acids. [J] *J Am Oil Chem Soc*, 1991, 68(12): 963-969.