

布渣叶保护急性心肌缺血损伤有效部位化学成分研究

李坤平¹, 陈艳芬², 岳春华¹, 杨超燕², 袁旭江³

1. 广东药学院药科学院, 广东 广州 510006

2. 广东药学院中药学院, 广东 广州 510006

3. 广东药学院中药开发研究所, 广东 广州 510006

摘要: 目的 对布渣叶 *Microcos paniculata* 保护异丙肾上腺素致急性心肌缺血损伤有效部位化学成分进行研究。方法 采用硅胶、Sephadex LH-20 柱色谱以及制备液相色谱等方法进行分离纯化, 根据其波谱数据鉴定结构。结果 从布渣叶保护急性心肌缺血活性部位分离得到 11 个化合物, 分别鉴定为牡荆苷(1)、异牡荆苷(2)、异鼠李素(3)、山柰酚(4)、槲皮素(5)、5, 6, 7, 8, 4'-五甲氧基黄酮(6)、5, 6, 7, 8, 3', 4'-六甲氧基黄酮(7)、香草酸(8)、咖啡酸(9)、阿魏酸(10)、芥酸酰胺(11)。结论 化合物 6、7、9、11 均为首次从该属植物中分离得到, 其中化合物 11 为首次从该属植物中分离得到的脂肪酰胺类化合物, 化合物 6、7 为首次从该属植物中分离得到的多甲氧基黄酮类化合物。

关键词: 布渣叶; 急性心肌缺血; 牡荆苷; 5, 6, 7, 8, 4'-五甲氧基黄酮; 咖啡酸; 芥酸酰胺

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2014)23-3373-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.23.003

Chemical constituents from effective fraction of leaves of *Microcos paniculata* with protection on acute myocardial ischemia injury

LI Kun-ping¹, CHEN Yan-fen², YUE Chun-hua¹, YANG Chao-yan², YUAN Xu-jiang³

1. Department of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

2. Department of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

3. R&D Institute of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from the effective fraction of the leaves of *Microcos paniculata*, which can protect acute myocardial ischemia injury induced by isoprenaline. **Methods** The chemical constituents were isolated and purified by combined using chromatography on silica gel, and Sephadex LH-20 column, and preparative HPLC. The structures of the isolated compounds were elucidated by NMR and MS spectral data. **Results** Eleven compounds were isolated from the effectively protective fraction with the protection on acute myocardial ischemia injury and identified as vitexin (1), isovitexin (2), isorhamnetin (3), kaempferol (4), quercetin (5), 5, 6, 7, 8, 4'-pentamethoxyflavone (6), nobiletin (7), vanillic acid (8), caffeic acid (9), ferulic acid (10), and erucicamide (11). **Conclusion** Compounds 6, 7, 9 and 11 are isolated from the plants in *Microcos* Linn. for the first time. Compound 11 is the firstly reported fatty acid amide and compounds 6 and 7 are the firstly reported polymethoxylated flavonoids with the obvious anti-inflammatory activity in this genus.

Key words: leaves of *Microcos paniculata*; acute myocardial ischemia; vitexin; 5, 6, 7, 8, 4'-pentamethoxyflavone; caffeic acid; erucicamide

布渣叶为椴树科(Tiliaceae)破布叶属 *Microcos* Linn. 植物破布树 *Microcos paniculata* L. 的干燥叶, 亦称破布叶、烂布渣等, 收载于《中国药典》2010 年版, 亦被批准为凉茶饮料原料使用, 是华南地区特色药食两用植物^[1]。在前期研究中, 本课题

组报道了以异丙肾上腺素诱导大鼠急性心肌缺血损伤模型^[2], 观察布渣叶总黄酮对急性心肌缺血大鼠的心电图、心肌组织形态、抗氧化能力相关指标的影响, 发现布渣叶总黄酮高、中剂量均能明显抑制大鼠心肌乳酸脱氢酶(LDH)和肌酸激酶(CK)的

收稿日期: 2014-08-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31300273); 广东高校优秀青年创新人才培养计划项目(LYM10092)

作者简介: 李坤平(1978—), 男, 博士, 副教授, 从事中药制药方面的教学与研究。Tel: (020)39352118 E-mail: lkpchina@hotmail.com

增加,有效调节血清心肌酶,同时能提高缺血时心肌组织超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性,减少丙乙醛(MDA)的产生,从而减轻心肌细胞膜脂质过氧化反应,减弱心肌组织缺血损伤,表明布渣叶总黄酮部位对急性心肌缺血损伤有良好的保护作用。为了明确该有效部位的药效物质基础,为进一步的药效作用机制研究提供参考,本实验对布渣叶保护急性心肌缺血活性部位进行研究,采用多种色谱技术分离得到了11个化合物,分别鉴定为牡荆苷(vitexin, **1**)、异牡荆苷(isovitexin, **2**)、异鼠李素(isorhamnetin, **3**)、山柰酚(kaempferol, **4**)、槲皮素(quercetin, **5**)、**5, 6, 7, 8, 4'**-五甲氧基黄酮(**5, 6, 7, 8, 4'**-pentamethoxyflavone, **6**)、**5, 6, 7, 8, 3', 4'**-六甲氧基黄酮(nobiletin, **7**)、香草酸(vanillic acid, **8**)、咖啡酸(caffeic acid, **9**)、阿魏酸(ferulic acid, **10**)、芥酸酰胺(erucicamide, **11**)。其中,化合物**6**、**7**、**9**、**11**均为首次从该属植物中分离得到。

1 仪器与材料

高效液相色谱仪(WatersTM 600 泵, Waters 2998 PDA 检测器, Empower 2.0 色谱工作站, Waters 公司); 半制备色谱柱为 Phenomenex[®] Luna Silica 100A(250 mm×10 mm, 5 μm)和 Phenomenex[®] Luna C₁₈ 100A(250 mm×10 mm, 5 μm)。AV-400 核磁共振谱仪(Bruker 公司); 液相色谱质谱联用仪(Acquity UPLC-Xevo Q-TOFTM, Waters 公司), 气相色谱质谱联用仪(7890A/5975C, Agilent 公司)。Sephadex LH-20 为 Pharmacia 产品, 柱色谱硅胶(40~63 μm)为 J. T. Baker 产品, 薄层色谱硅胶板为 Merck 产品。HPLC 用色谱甲醇、乙腈、二氯甲烷、正己烷、异丙醇、水均为 Fisher Scientific 产品。HPLC 用甲酸为 Fluka 产品。其他试剂均为市售分析纯。

布渣叶保护异丙肾上腺素致急性心肌缺血有效部位为课题组自制, 制备方法参考文献报道^[3]: 布渣叶 10 kg, 用 TN100 提取浓缩机组加 10 倍量水加热回流提取 2 次, 每次 2 h, 合并提取液, 减压浓缩至约 20 L, 用 AB-8 大孔树脂吸附后, 顺次用水、20%乙醇、95%乙醇洗脱, 将 95%乙醇洗脱液减压浓缩, 加适量去离子水后用醋酸乙酯萃取, 回收溶剂后真空干燥得醋酸乙酯萃取部位约 90 g。

2 提取与分离

取上述有效部位 13 g, 经硅胶柱色谱分离, 正己烷-二氯甲烷-甲醇梯度洗脱, 得到 5 个部分 Fr. 1~

5。Fr. 1 经半制备色谱以正己烷-二氯甲烷与甲醇混合溶液(20:1)洗脱得化合物**6**(23.5 mg)、**7**(17.4 mg); Fr. 2 半制备色谱以正己烷-二氯甲烷与甲醇混合溶液(20:1)洗脱得化合物**8**(4.6 mg)、**9**(2.5 mg)、**10**(6.5 mg)、**11**(21.9 mg); Fr. 3 经液相制备色谱以乙腈-水(含 0.02%甲酸)洗脱得化合物**3**(19.1 mg)、**4**(7.7 mg)、**5**(6.3 mg); Fr. 4 经 Sephadex LH-20 分离及制备色谱, 以甲醇-水(0.02%甲酸)洗脱得化合物**1**(33.6 mg)、**2**(8.2 mg)。

3 结构鉴定

化合物**1**: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 431.099 5 $[M-H]^-$, 分子式 C₂₁H₂₀O₁₀。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.02 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2', 6'), 6.91 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3', 5'), 6.77 (1H, s, H-3), 6.30 (1H, s, H-6); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 182.2 (C-4), 164.0 (C-2), 162.7 (C-7), 161.2 (C-5), 160.5 (C-4'), 156.1 (C-9), 129.0 (C-2', 6'), 121.7 (C-1'), 115.9 (C-3', 5'), 104.7 (C-8), 104.1 (C-10), 102.5 (C-3), 98.2 (C-6), 81.9 (C-5''), 78.7 (C-3''), 73.5 (C-1''), 70.9 (C-2''), 70.6 (C-4''), 61.4 (C-6'')。以上波谱数据与文献报道一致^[4-5], 故鉴定化合物**1**为牡荆苷。

化合物**2**: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 413.098 2 $[M-H]^-$, 分子式 C₂₁H₂₀O₁₀。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.91 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-2', 6'), 6.92 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.76 (1H, s, H-3), 6.50 (1H, s, H-8); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 182.0 (C-4), 163.7 (C-2), 163.4 (C-7), 161.3 (C-5), 160.7 (C-4'), 156.3 (C-9), 128.5 (C-2', 6'), 121.1 (C-1'), 116.1 (C-3', 5'), 109.0 (C-6), 103.3 (C-3), 102.8 (C-10), 93.7 (C-8), 81.6 (C-5''), 79.1 (C-1''), 73.1 (C-2''), 70.7 (C-3''), 70.3 (C-4''), 61.5 (C-6'')。以上波谱数据与文献报道一致^[4-5], 故鉴定化合物**2**为异牡荆苷。

化合物**3**: 黄色结晶(甲醇), ESI-MS m/z : 315.05 $[M-H]^-$ 。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.50 (1H, s, 5-OH), 7.75 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 7.68 (1H, d, J = 8.3 Hz, H-6'), 6.94 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5'), 6.47 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 6.19 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 3.84 (3H, s, 3'-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 55.9 (-OCH₃), 93.7 (C-8), 98.3 (C-6), 103.1 (C-10), 111.8 (C-2'), 115.6 (C-5'), 121.8 (C-1'), 122.1 (C-6'), 135.9 (C-3), 146.7 (C-4'), 147.5 (C-2), 148.9 (C-3'), 156.3 (C-9), 160.8 (C-5), 164.0

(C-7), 175.9 (C-4)。以上波谱数据与文献报道一致^[5], 故鉴定化合物 **3** 为异鼠李素。

化合物 **4**: 黄色结晶(甲醇), ESI-MS m/z : 285.04 $[M-H]^-$ 。¹H-NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.50 (1H, s, 5-OH), 8.04 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-2', 6'), 6.93 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.43 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-8), 6.19 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-6); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 175.9 (C-4), 164.0 (C-7), 160.7 (C-5), 159.2 (C-4'), 156.2 (C-9), 150.4 (C-6), 149.3 (C-3), 146.8 (C-2), 135.6 (C-3), 129.5 (C-2', 6'), 121.7 (C-1'), 115.4 (C-3', 5'), 103.0 (C-10), 98.2 (C-6), 93.4 (C-8)。以上波谱数据与文献报道一致^[5-6], 故鉴定化合物 **4** 为山柰酚。

化合物 **5**: 黄色结晶(甲醇), ESI-MS m/z : 301.20 $[M-H]^-$ 。¹H-NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.50 (1H, s, 5-OH), 7.73 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 7.52 (1H, dd, J = 2.0, 8.0 Hz, H-6'), 6.91 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 6.42 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-8); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 175.7 (C-4), 164.0 (C-7), 160.8 (C-9), 156.2 (C-5), 147.7 (C-4'), 146.6 (C-2), 145.0 (C-3'), 135.6 (C-3), 121.9 (C-1'), 120.2 (C-6'), 115.8 (C-5'), 115.4 (C-2'), 103.0 (C-10), 98.4 (C-6), 93.4 (C-8)。以上波谱数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物 **5** 为槲皮素。

化合物 **6**: 无色结晶(氯仿), ESI-MS m/z : 371.361 0 $[M-H]^-$, 分子式 $C_{20}H_{20}O_7$ 。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.90 (2H, d, J = 8.9 Hz, H-2', 6'), 7.00 (2H, d, J = 8.9 Hz, H-3', 5'), 6.60 (1H, s, H-3), 4.10, 4.00, 3.94, 3.94, 3.90 (各 3H, s, 5, 6, 7, 8, 4'-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 177.5 (C-4), 162.4 (C-2), 161.3 (C-4'), 151.5 (C-7), 148.5 (C-9), 147.8 (C-8), 144.2 (C-5), 138.2 (C-6), 127.8 (C-2'), 127.8 (C-6'), 123.9 (C-10), 115.0 (C-10), 114.6 (C-3'), 114.6 (C-5'), 106.8 (C-3), 62.4, 62.1, 61.9, 61.8, 55.6 (5, 6, 7, 8, 4'-OCH₃)。以上波谱数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 **6** 为 5, 6, 7, 8, 4'-五甲氧基黄酮。

化合物 **7**: 无色结晶(氯仿), ESI-MS m/z : 401.387 0 $[M-H]^-$, 分子式 $C_{21}H_{22}O_8$ 。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.50 (1H, dd, J = 1.9, 8.4 Hz, H-6'), 7.40 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2'), 6.90 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5'), 6.60 (1H, s, H-3), 4.08, 4.00, 3.95, 3.93, 3.93, 3.93 (各 3H, s, 5, 6, 7, 8, 3', 4'-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 177.4 (C-4), 161.0 (C-2), 152.0

(C-4'), 151.5 (C-7), 149.4 (C-3'), 148.5 (C-9), 147.8 (C-8), 144.1 (C-5), 138.0 (C-6), 124.0 (C-1'), 119.7 (C-6'), 114.9 (C-10), 111.3 (C-5'), 108.6 (C-2'), 106.9 (C-3), 62.3, 62.0, 61.9, 61.7, 56.2, 56.0 (5, 6, 7, 8, 3', 4'-OCH₃)。以上波谱数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 **7** 为 5, 6, 7, 8, 3', 4'-六甲氧基黄酮。

化合物 **8**: 白色结晶(氯仿), ESI-MS m/z : 167.14 $[M-H]^-$ 。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.56~7.54 (2H, m, H-2, 6), 6.84 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-5), 3.90 (3H, s, 4-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 170.2 (C-O), 152.6 (C-3), 148.6 (C-4), 125.2 (C-1), 123.3 (C-6), 115.8 (C-5), 113.8 (C-2), 56.4 (-OCH₃)。以上波谱数据与文献报道一致^[9-10], 故鉴定化合物 **8** 为香草酸。

化合物 **9**: 白色结晶(氯仿), ESI-MS m/z : 179.15 $[M-H]^-$ 。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.06 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-2), 6.94 (1H, dd, J = 1.5, 8.0 Hz, H-5), 6.80 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-6), 7.56 (1H, d, J = 15.5 Hz, H-7), 6.26 (1H, d, J = 15.5 Hz, H-8); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 171.3 (C=O), 127.8 (C-1), 115.1 (C-2), 146.7 (C-3), 149.4 (C-4), 116.5 (C-5), 122.9 (C-6), 147.0 (C-7), 115.7 (C-8)。以上波谱数据与文献报道一致^[9-10], 故鉴定化合物 **9** 为咖啡酸。

化合物 **10**: 白色结晶(氯仿), ESI-MS m/z : 193.05 $[M-H]^-$ 。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.59 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-3), 7.17 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-5), 7.06 (1H, dd, J = 8.2, 1.8 Hz, H-9), 6.81 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-8), 6.31 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-2), 3.88 (3H, s, 6-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 171.1 (C-9), 150.4 (C-6), 149.3 (C-3), 146.8 (C-7), 127.8 (C-1), 123.9 (C-6), 116.4 (C-5), 116.0 (C-8), 111.6 (C-2), 56.4 (-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[9-10], 故鉴定化合物 **10** 为阿魏酸。

化合物 **11**: 白色针晶(氯仿), ESI-MS m/z : 336.327 1 $[M-H]^-$, 分子式 $C_{22}H_{43}NO$ 。GC-MS 碎片 59, 72, 83, 97, 112, 126, 140, 154, 168, 184, 198, 212, 226, 240, 254, 277, 294, 320, 检索 NIST 质谱数据库与芥酸酰胺匹配率 92%。¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 176.2 (C=O), 130.0 (C=C), 129.9 (C=C), 36.1, 32.0, 29.9, 29.7, 29.7, 29.6, 29.6, 29.6, 29.5, 29.4, 29.4, 29.4, 29.4, 29.3, 27.3, 27.3, 25.7, 22.8, 14.2。以上波谱数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **11** 为芥酸酰胺。

4 讨论

黄酮和酚酸类成分具有广泛的生物活性,一直是心血管药物研发的对象之一^[12]。从布渣叶黄酮保护急性心肌损伤有效部位的化学成分研究结果来看,牡荆苷、异牡荆苷、山柰酚、槲皮素、异鼠李素、5,6,7,8,4'-五甲氧基黄酮、5,6,7,8,3',4'-六甲氧基黄酮、阿魏酸、咖啡酸等具有抗氧化、抗自由基、抗炎和心血管保护活性^[13-16],从而证实了上述黄酮及酚酸类化合物是其保护急性心肌损伤活性的物质基础。但由于成分比较复杂,以提取物(或有效部位)为基础的植物药(天然药物)药效作用机制的研究还亟待深入,同时,抗氧化、抗自由基、抗炎与心血管保护活性之间也有着紧密的联系^[17],在下一步的研究中,本课题组将对布渣叶黄酮/酚酸组合物保护心肌缺血损伤的药效作用机制进行深入探讨。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 陈艳芬, 杨超燕, 李坤平, 等. 布渣叶总黄酮对大鼠急性心肌缺血的保护作用及其机制 [J]. 中草药, 2013, 44(8): 1003-1007.
- [3] 李坤平, 潘天玲, 高崇凯, 等. 大孔吸附树脂富集纯化布渣叶总黄酮的研究 [J]. 中药材, 2009, 35(4): 601-604.
- [4] Peng X F, Zheng Z P, Cheng K W, *et al.* Inhibitory effect of mung bean extract and its constituents vitexin and isovitexin on the formation of advanced glycation endproducts [J]. *Food Chem*, 2008, 106(2): 475-481.
- [5] 杨茵, 李硕果, 叶文才, 等. 布渣叶的化学成分研究 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(11): 2790-2792.
- [6] 胡婷, 李军, 屠鹏飞. 布渣叶的化学成分研究 [J]. 中草药, 2012, 43(5): 844-846.
- [7] 吴威, 王春枝, 李夏, 等. 珍珠菜抗肿瘤有效部位化学成分研究 [J]. 中草药, 2011, 42(1): 38-41.
- [8] Hamdan D, El-Readi M Z, Tahrani A, *et al.* Chemical composition and biological activity of *Citrus jambhiri* Lush. [J]. *Food Chem*, 2011, 127(2): 394-403.
- [9] 陶华明, 王隶书, 赵大庆, 等. 羊齿天门冬根中酚酸类化学成分研究 [J]. 中草药, 2011, 42(11): 2181-2185.
- [10] Sakushima A, Cokun M, Maoka T. Hydroxybenzoic acids from *Boreava rientalis* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 40(1): 257-261.
- [11] Cravatt B F, Garcia O P, Siuzdak G, *et al.* Chemical characterization of a family of brain lipids that induce sleep [J]. *Science*, 1995, 268(9): 1506-1509.
- [12] van Dam R M, Nasheen N, Rikard L. Dietary flavonoids and the development of type 2 diabetes and cardiovascular diseases: review of recent findings [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2013, 24(1): 25-33.
- [13] Choi J S, Islama M N, Alia M Y, *et al.* Effects of C-glycosylation on anti-diabetic, anti-Alzheimer's disease and anti-inflammatory potential of apigenin [J]. *Food Chem Toxicol*, 2014, 64(1): 27-33.
- [14] 陈永钧, 龙晓英, 潘素静, 等. 黄酮类化合物的药效机制及构效关系研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(11): 337-344.
- [15] Tominari T, Hirata M, Matsumoto C, *et al.* Polymethoxy flavonoids, nobiletin and tangeretin, prevent lipopolysaccharide-induced inflammatory bone loss in an experimental model for periodontitis [J]. *J Pharm Sci*, 2012, 119(4): 390-394.
- [16] 乔丽萍, 傅瑜, 叶兴乾, 等. 酚酸生物活性研究进展 [J]. 中国食品学, 2013, 13(10): 144-151.
- [17] Pende A, Dallegrì F. Anti-inflammatory approaches to reduce acute cardiovascular events: not only benefits [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2012, 13(1): 27-36.