

四季青化学成分的研究

夏文绮, 崔保松, 李 帅*

中国医学科学院 北京协和医学院药物研究所 天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 北京 100050

摘要: 目的 研究四季青(冬青 *Ilex chinensis* 叶)的化学成分。方法 应用多种色谱技术进行分离纯化, 根据化合物的波谱数据进行结构鉴定。结果 从四季青 70%乙醇提取物中分离得到 15 个三萜及其皂苷类化合物, 分别鉴定为 2 α ,3 β -二羟基-23-去甲-4(24)-12(13)-二烯-齐墩果酸(1)、29-羟基常春藤皂苷元(2)、ilexosapogenin A(3)、救必应酸-3,23-缩丙酮(4)、2 α ,3 β -二羟基-23-去甲-4(24)-12-二烯-乌索酸(5)、23-羟基乌索酸(6)、3 β ,23-二羟基-12,18-二烯-乌索酸(7)、积雪草酸(8)、泰国树脂酸-28-*O*- β -D-葡萄糖酯苷(9)、28-*O*- β -D-glucopyranoside spathodic acid(10)、坡模酸-28-*O*- β -D-葡萄糖酯苷(11)、rotungenoside(12)、3 β ,23-二羟基-12,18-二烯-乌索酸-28-*O*- β -D-葡萄糖酯苷(13)、3 β ,23-二羟基-12,19-二烯-乌索酸-28-*O*- β -D-葡萄糖酯苷(14)、3 β ,23-二羟基-12,19(29)-二烯-乌索酸-28-*O*- β -D-葡萄糖酯苷(15)。结论 化合物 1、2 为首次从冬青属植物中分离得到, 所有化合物均为首次从该植物中分离得到。

关键词: 冬青; 三萜; 2 α ,3 β -二羟基-23-去甲-4(24)-12(13)-二烯-齐墩果酸; 29-羟基常春藤皂苷元; 积雪草酸

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)08-1272-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.08.004

Chemical constituents from leaves of *Ilex chinensis*

XIA Wen-qi, CUI Bao-song, LI Shuai

State Key Laboratory of Bioactive Substance and Function of Natural Medicines, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China

Abstract: **Objective** To investigate the chemical constituents from the leaves of *Ilex chinensis*. **Methods** The constituents were isolated and purified by various chromatographic methods, and the structures were elucidated by spectroscopic analysis. **Results** Fifteen triterpenoid compounds were isolated from 70% ethanol extract in the leaves of *I. chinensis* and identified as 2 α ,3 β -dihydroxy-23-norolean-4(24)-12(13)-dien-28-oic acid (1), 29-hydroxyhederagenin (2), ilexosapogenin A (3), rotundic acid isopropylidene (4), 2 α ,3 β -dihydroxy-23-norurs-4(24)-12-dien-28-oic acid (5), 23-hydroxyursolic acid (6), 3 β ,23-dihydroxyursa-12,18-dien-28-oic acid (7), asiatic acid (8), 28-*O*- β -D-glucopyranoside siarsinolic acid (9), 28-*O*- β -D-glucopyranoside spathodic acid (10), 28-*O*- β -D-glucopyranoside pomolic acid (11), rotungenoside (12), 3 β ,23-dihydroxyurs-12,18-dien-28-*O*- β -D-glucopyranosyl ester (13), 3 β ,23-dihydroxyurs-12,19-dien-28-*O*- β -D-glucopyranosyl ester (14), and 3 β ,23-dihydroxyurs-12,19(29)-dien-28-*O*- β -D-glucopyranosyl ester (15). **Conclusion** Compounds 1 and 2 are isolated from the plants of *Ilex* L. for the first time. All compounds are isolated from this plant for the first time.

Key words: *Ilex chinensis* Sims; triterpenes; 2 α ,3 β -dihydroxy-23-norolean-4(24)-12(13)-dien-28-oic acid; 29-hydroxyhederagenin; asiatic acid

四季青为冬青科(Aquifoliaceae)冬青属 *Ilex* L. 植物冬青 *Ilex chinensis* Sims 的干燥叶, 主要分布于秦岭南坡、长江流域及其以南广大地区^[1], 秋、冬二季采收, 晒干。四季青具有清热解毒、消肿祛瘀的功效, 用于肺热咳嗽、咽喉肿痛、痢疾、胁痛、

热淋; 外治烧烫伤、皮肤溃疡^[2]。现代药理实验也证明其具有抗菌^[3]、抗炎^[4-5]、治疗烧烫伤^[6]等作用。目前对四季青的研究报道多为粗提物的药理活性研究, 对其传统药效物质基础的研究尚不充分, 仅报道了 13 个三萜类化合物^[7-9], 8 个酚酸类化合物^[10-12],

收稿日期: 2015-12-30

基金项目: “十二五”重大专项“中药新药发现与评价技术平台”(2012ZX09301002-002)

作者简介: 夏文绮, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药有效成分及标准物质的研究。E-mail: xiawenqi@imm.ac.cn

*通信作者 李 帅 Tel: (010)63164628 E-mail: lishuai@imm.ac.cn

5个黄酮及3个甾体类化合物^[13]。《中国药典》2015年版以其主要成分长梗冬青苷为定量测定依据,本研究在研制长梗冬青苷对照品的基础上,为进一步寻找和阐明其活性成分,对其化学成分进行了深入的研究,在已有化学成分研究报道的基础上,又从其70%乙醇提取物中分离得到8个三萜:2 α ,3 β -二羟基-23-去甲-4(24)-12(13)-二烯-齐墩果酸[2 α ,3 β -dihydroxy-23-norolean-4(24)-12(13)-dien-28-oic acid, 1]、29-羟基常春藤皂苷元(29-hydroxyhederagenin, 2)、ilexosapogenin A (3)、救必应酸-3,23-缩丙酮(rotundic acid isopropylidene, 4)、2 α ,3 β -二羟基-23-去甲-4(24)-12-二烯-乌索酸[2 α ,3 β -dihydroxy-23-norurs-4(24)-12-dien-28-oic acid, 5]、23-羟基乌索酸(23-hydroxyursolic acid, 6)、3 β ,23-二羟基-12,18-二烯-乌索酸(3 β ,23-dihydroxyursa-12,18-dien-28-oic acid, 7)、积雪草酸(asiatic acid, 8);7个三萜皂苷:泰国树脂酸-28-*O*- β -D-葡萄糖酯苷(28-*O*- β -D-glucopyranoside siaresinolic acid, 9)、28-*O*- β -D-glucopyranoside spathodic acid (10)、坡模酸-28-*O*- β -D-葡萄糖酯苷(28-*O*- β -D-glucopyranoside pomolic acid, 11)、rotungenoside (12)、3 β ,23-二羟基-12,18-二烯-乌索酸-28-*O*- β -D-葡萄糖酯苷(3 β ,23-dihydroxyurs-12,18-dien-28-*O*- β -D-glucopyranosyl ester, 13)、3 β ,23-二羟基-12,19-二烯-乌索酸-28-*O*- β -D-葡萄糖酯苷(3 β ,23-dihydroxyurs-12,19-dien-28-*O*- β -D-glucopyranosyl ester, 14)、3 β ,23-二羟基-12,19(29)-二烯-乌索酸-28-*O*- β -D-葡萄糖酯苷[3 β ,23-dihydroxyurs-12,19(29)-dien-28-*O*- β -D-glucopyranosyl ester, 15]。以上化合物均为首次从该植物中分离得到,化合物1、2为首次从冬青属植物中分离得到。

1 仪器与材料

Aglient 1000 series LC-MSD-trap-SL 型 ESI-MS 质谱仪(美国 Aglient 公司),Mercury-400、Inova-500 型核磁共振光谱仪(美国 Varian 公司),Shimadzu LC-6AD 高效液相色谱泵(日本 Shimadzu 公司)配备 SPD-20A 双波长紫外吸收检测器,制备色谱柱为 RP₁₈ (250 mm×10 mm, 5 μ m) 半制备柱(日本 YMC 公司和 Cosmosil 公司)。葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 为瑞典 GE Healthcare Bio-Science AB 公司产品,硅胶预制板为烟台市化学工业研究所产品,色谱用硅胶为青岛海洋化工集团公司生产。所用试剂均购自北京化工厂,均为分析纯或色谱纯。

冬青叶于2010年3月采自江西省九江县,经江

西省科学院生物资源研究所九江县森林植物研究所谭策铭研究员鉴定为冬青 *Ilex chinensis* Sims 的干燥叶。植物标本(ID-22233)保存于中国医学科学院药物研究所标本室。

2 提取与分离

冬青干燥叶 20 kg,用5倍量的70%乙醇加热回流提取3次,每次2 h,提取液减压回收。加适量水使浸膏分散溶解,用醋酸乙酯萃取得醋酸乙酯部位。醋酸乙酯部位浸膏 460 g,经硅胶柱色谱,石油醚-丙酮梯度洗脱,得到12个组分 A~L。组分 D (12.5 g) 经硅胶柱色谱,石油醚-丙酮(4:1、3:1、2:1、1.5:1、1:1) 梯度洗脱得到10个亚组分,其中亚组分 DH(5.7 g) 经反复硅胶、Sephadex LH-20 柱色谱及 HPLC 制备分离得到化合物 1 (10 mg)、3 (17 mg)、4 (32 mg)、5 (9 mg)、6 (42 mg)、7 (3 mg)。组分 G (52.9 g) 经硅胶柱色谱,氯仿-甲醇(50:1→5:1) 梯度洗脱得到7个亚组分,其中亚组分 GC (6.3 g)、GD (3.4 g)、GE (9.8 g) 经反复硅胶、Sephadex LH-20 柱色谱及 HPLC 制备分离得到化合物 2 (8 mg)、8 (6 mg)、9 (6 mg)、10 (6 mg)、11 (14 mg)、12 (20 mg)、13 (217 mg)、14 (33 mg)、15 (20 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 白色粉末。ESI-MS m/z : 479 [M+Na]⁺。¹H-NMR (500 MHz, C₅D₅N) δ : 5.86 (1H, s, H-24a), 5.50 (1H, t, J = 3.5 Hz, H-12), 4.95 (1H, s, H-24b), 4.36 (1H, d, J = 9.0 Hz, H-3), 4.05 (1H, m, H-2), 3.32 (1H, dd, J = 13.5, 4.5 Hz, H-18), 1.27 (3H, s, H-27), 1.06 (3H, s, H-30), 1.02 (3H, s, H-29), 0.97 (3H, s, H-26), 0.83 (3H, s, H-25); ¹³C-NMR (125 MHz, C₅D₅N) δ : 47.2 (C-1), 73.9 (C-2), 79.9 (C-3), 150.7 (C-4), 51.1 (C-5), 26.5 (C-6), 33.6 (C-7), 40.3 (C-8), 46.8 (C-9), 39.3 (C-10), 21.9 (C-11), 123.0 (C-12), 145.5 (C-13), 42.8 (C-14), 28.6 (C-15), 24.2 (C-16), 48.5 (C-17), 42.6 (C-18), 46.0 (C-19), 32.1 (C-20), 31.4 (C-21), 34.7 (C-22), 105.1 (C-24), 15.6 (C-25), 17.9 (C-26), 25.2 (C-27), 178.5 (C-28), 33.7 (C-29), 24.2 (C-30)。以上数据与文献报道一致^[14],故鉴定化合物 1 为 2 α ,3 β -二羟基-23-去甲-4(24)-12-二烯-齐墩果酸。

化合物 2: 白色粉末。ESI-MS m/z : 511 [M+Na]⁺。¹H-NMR (500 MHz, C₅D₅N) δ : 5.56 (1H, t-like, H-12), 4.20 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-23a), 4.21 (1H, m,

H-3), 3.73 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-23b), 3.60 (1H, d, $J = 12.5$ Hz, H-30a), 3.45 (1H, d, $J = 12.5$ Hz, H-30b), 1.28 (3H, s, H-27), 1.24 (3H, s, H-29), 1.08 (6H, s, H-24, H-25), 1.00 (3H, s, H-26); ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 39.2 (C-1), 28.2 (C-2), 74.3 (C-3), 43.4 (C-4), 49.1 (C-5), 19.1 (C-6), 33.4 (C-7), 40.2 (C-8), 48.6 (C-9), 37.7 (C-10), 24.3 (C-11), 123.1 (C-12), 145.5 (C-13), 42.7 (C-14), 28.9 (C-15), 24.3 (C-16), 47.6 (C-17), 41.9 (C-18), 41.7 (C-19), 37.1 (C-20), 29.6 (C-21), 33.2 (C-22), 68.5 (C-23), 13.6 (C-24), 16.4 (C-25), 18.0 (C-26), 26.6 (C-27), 180.7 (C-28), 73.9 (C-29), 20.2 (C-30)。以上数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 **2** 为 29-羟基常春藤皂苷元。

化合物 **3**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 511 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 5.25 (1H, t, $J = 3.5$ Hz, H-12), 3.55 (1H, dd, $J = 10.5, 5.0$ Hz, H-3), 3.47 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-23a), 3.28 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-23b), 3.19 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-19), 3.00 (1H, brs, H-18), 1.24 (3H, s, H-27), 0.91 (6H, s, H-29, 30), 0.88 (3H, s, H-25), 0.71 (3H, s, H-26), 0.65 (3H, s, H-24); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 39.3 (C-1), 27.4 (C-2), 74.1 (C-3), 43.3 (C-4), 48.6 (C-5), 19.3 (C-6), 33.5 (C-7), 40.7 (C-8), 48.4 (C-9), 38.1 (C-10), 24.8 (C-11), 124.9 (C-12), 144.6 (C-13), 42.6 (C-14), 28.7 (C-15), 29.5 (C-16), 46.8 (C-17), 45.2 (C-18), 82.5 (C-19), 36.0 (C-20), 29.5 (C-21), 34.1 (C-22), 67.5 (C-23), 12.7 (C-24), 16.1 (C-25), 17.8 (C-26), 25.1 (C-27), 181.0 (C-28), 29.5 (C-29), 25.2 (C-30)。以上数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 **3** 为 *ilxosapogenin A*。

化合物 **4**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 551 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 5.59 (1H, brs, H-12), 3.64 (1H, dd, $J = 11.5, 3.5$ Hz, H-3), 3.61 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-23a), 3.54 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-23b), 1.72 (3H, s, H-27), 1.52 (3H, s, H-29), 1.47 (3H, s, H-33), 1.45 (3H, s, H-26), 1.14 (3H, s, H-31), 1.12 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-30), 1.07 (3H, s, H-25), 0.86 (3H, s, H-24); ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 39.1 (C-1), 24.9 (C-2), 78.0 (C-3), 42.3 (C-4), 54.8 (C-5), 18.2 (C-6), 33.2 (C-7), 37.6 (C-8), 47.9 (C-9), 37.2 (C-10), 24.0 (C-11), 128.0 (C-12), 140.1 (C-13), 40.7 (C-14), 29.5 (C-15), 27.1 (C-16), 48.5 (C-17), 51.8 (C-18), 72.9 (C-19), 42.6 (C-20), 24.2 (C-21),

38.7 (C-22), 72.8 (C-23), 17.3 (C-24), 13.1 (C-25), 17.0 (C-26), 26.6 (C-27), 180.8 (C-28), 27.3 (C-29), 16.8 (C-30), 19.8 (C-31), 99.2 (C-32), 30.5 (C-33)。以上数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 **4** 为救必应酸-3,23-缩丙酮。

化合物 **5**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 479 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 5.86 (1H, s, H-24a), 5.50 (1H, brs, H-12), 4.95 (1H, s, H-24b), 4.37 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-3), 4.05 (1H, m, H-2), 2.65 (1H, d, $J = 11.5$ Hz, H-18), 1.22 (3H, s, H-27), 1.09 (3H, s, H-26), 1.00 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-29), 0.96 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-30), 0.82 (3H, s, H-25); ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 48.5 (C-1), 73.9 (C-2), 80.0 (C-3), 150.7 (C-4), 51.1 (C-5), 21.9 (C-6), 32.4 (C-7), 40.0 (C-8), 45.9 (C-9), 39.1 (C-10), 24.3 (C-11), 124.3 (C-12), 140.0 (C-13), 43.2 (C-14), 29.0 (C-15), 25.1 (C-16), 48.7 (C-17), 54.1 (C-18), 39.9 (C-19), 40.5 (C-20), 31.5 (C-21), 25.3 (C-22), 105.1 (C-24), 15.7 (C-25), 17.9 (C-26), 24.3 (C-27), 180.4 (C-28), 18.0 (C-29), 21.9 (C-30)。以上数据与文献报道一致^[18], 故鉴定化合物 **5** 为 2 α ,3 β -二羟基-23-去甲-4(24)-12(13)-二烯-乌索酸。

化合物 **6**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 495 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 5.25 (1H, t, $J = 3.5$ Hz, H-12), 3.63 (1H, dd, $J = 11.0, 4.5$ Hz, H-3), 3.55 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-23a), 3.31 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-23b), 2.22 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, H-18), 1.15 (3H, s, H-27), 1.01 (3H, s, H-25), 0.99 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-29), 0.91 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-30), 0.87 (3H, s, H-26), 0.73 (3H, s, H-24); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 39.7 (C-1), 27.5 (C-2), 73.9 (C-3), 43.3 (C-4), 48.0 (C-5), 19.1 (C-6), 33.8 (C-7), 40.4 (C-8), 48.0 (C-9), 37.9 (C-10), 24.1 (C-11), 126.9 (C-12), 139.7 (C-13), 43.3 (C-14), 29.2 (C-15), 25.3 (C-16), 48.6 (C-17), 54.4 (C-18), 40.8 (C-19), 40.4 (C-20), 31.8 (C-21), 38.1 (C-22), 67.4 (C-23), 12.8 (C-24), 16.4 (C-25), 17.7 (C-26), 24.4 (C-27), 181.6 (C-28), 17.8 (C-29), 21.6 (C-30)。以上数据与文献报道一致^[19], 故鉴定化合物 **6** 为 23-羟基乌索酸。

化合物 **7**: 淡黄色粉末。ESI-MS m/z : 493 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 5.33 (1H, t, $J = 4.0$ Hz, H-12), 3.57 (1H, dd, $J = 11.6, 5.2$ Hz, H-3), 3.47 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-23a), 3.23 (1H, d, $J = 11.2$

Hz, H-23b), 1.68 (3H, s, H-29), 1.04 (3H, d, $J = 8.5$ Hz, H-30), 0.97 (3H, s, H-25), 0.94 (3H, s, H-27), 0.89 (3H, s, H-26), 0.65 (3H, s, H-24); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 40.1 (C-1), 27.6 (C-2), 73.8 (C-3), 43.3 (C-4), 49.1 (C-5), 19.1 (C-6), 35.3 (C-7), 40.1 (C-8), 49.3 (C-9), 37.8 (C-10), 24.1 (C-11), 127.1 (C-12), 140.0 (C-13), 45.8 (C-14), 29.3 (C-15), 29.8 (C-16), 49.6 (C-17), 132.7 (C-18), 136.8 (C-19), 35.7 (C-20), 27.6 (C-21), 32.5 (C-22), 67.2 (C-23), 12.9 (C-24), 17.0 (C-25), 18.7 (C-26), 22.3 (C-27), 180.6 (C-28), 19.8 (C-29), 19.0 (C-30)。以上数据与文献报道一致^[20-21], 故鉴定化合物 **7** 为 $3\beta, 23$ -二羟基-12, 18-二烯-乌索酸。

化合物 **8**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 487 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 5.48 (1H, t-like, H-12), 4.23~4.30 (3H, m, H-2, 3, 23a), 3.75 (1H, d, $J = 10.5$ Hz, H-23b), 2.64 (1H, d, $J = 11.5$ Hz, H-18), 1.15 (3H, s, H-24), 1.09 (9H, s, H-25~27), 0.98 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-29), 0.93 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-30); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 48.3 (C-1), 66.9 (C-2), 78.6 (C-3), 44.1 (C-4), 48.4 (C-5), 19.0 (C-6), 33.6 (C-7), 40.5 (C-8), 48.5 (C-9), 38.8 (C-10), 24.2 (C-11), 126.0 (C-12), 139.9 (C-13), 43.0 (C-14), 29.1 (C-15), 25.4 (C-16), 48.6 (C-17), 54.0 (C-18), 39.9 (C-19), 39.9 (C-20), 31.6 (C-21), 38.0 (C-22), 69.4 (C-23), 15.0 (C-24), 18.0 (C-25), 18.0 (C-26), 24.3 (C-27), 180.5 (C-28), 18.1 (C-29), 21.9 (C-30)。以上数据与文献报道一致^[22], 故鉴定化合物 **8** 为积雪草酸。

化合物 **9**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 657 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 6.39 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1'), 5.53 (1H, t, $J = 3.0$ Hz, H-12), 3.58~3.60 (2H, m, H-18, H-19), 3.42 (1H, dd, $J = 11.5, 4.0$ Hz, H-3), 1.62 (3H, s, H-27), 1.22 (3H, s, H-23), 1.18 (3H, s, H-29), 1.14 (3H, s, H-30), 1.04 (3H, s, H-26), 0.98 (3H, s, H-24), 0.95 (3H, s, H-25); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 39.3 (C-1), 28.6 (C-2), 78.6 (C-3), 39.9 (C-4), 56.4 (C-5), 19.5 (C-6), 33.7 (C-7), 40.7 (C-8), 48.9 (C-9), 38.0 (C-10), 24.7 (C-11), 123.5 (C-12), 144.8 (C-13), 42.6 (C-14), 29.6 (C-15), 28.5 (C-16), 47.0 (C-17), 45.1 (C-18), 81.6 (C-19), 36.0 (C-20), 29.4 (C-21), 33.5 (C-22), 29.3 (C-23), 17.0 (C-24), 16.0 (C-25), 18.1 (C-26), 25.1 (C-27), 177.7 (C-28), 29.2 (C-29), 25.4 (C-30), 96.4 (C-1'), 74.7

(C-2'), 79.8 (C-3'), 71.6 (C-4'), 79.5 (C-5'), 62.6 (C-6')。以上数据与文献报道一致^[23], 故鉴定化合物 **9** 为泰国树脂酸-28- O - β - D -葡萄糖酯苷。

化合物 **10**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 673 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 6.41 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1'), 5.54 (1H, t, $J = 3.0$ Hz, H-12), 4.53 (1H, d, $J = 10.5$ Hz, H-24a), 4.32 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, H-3'), 3.71 (1H, d, $J = 10.5$ Hz, H-24b), 3.62 (2H, m, H-3, 19), 3.56 (1H, s, H-18), 1.64 (3H, s, H-27), 1.56 (3H, s, H-23), 1.16 (6H, s, H-26, 29), 1.01 (3H, s, H-30), 0.95 (3H, s, H-25); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 38.4 (C-1), 28.2 (C-2), 80.0 (C-3), 42.9 (C-4), 56.3 (C-5), 19.1 (C-6), 33.3 (C-7), 40.0 (C-8), 48.2 (C-9), 37.1 (C-10), 24.4 (C-11), 122.9 (C-12), 144.1 (C-13), 41.8 (C-14), 28.8 (C-15), 27.8 (C-16), 46.3 (C-17), 44.4 (C-18), 80.9 (C-19), 35.4 (C-20), 28.7 (C-21), 32.8 (C-22), 23.4 (C-23), 64.3 (C-24), 15.8 (C-25), 17.3 (C-26), 24.2 (C-27), 177.0 (C-28), 28.5 (C-29), 24.7 (C-30), 95.7 (C-1'), 74.0 (C-2'), 78.8 (C-3'), 70.9 (C-4'), 79.2 (C-5'), 61.9 (C-6')。以上数据与文献报道一致^[24], 故鉴定化合物 **10** 为 28- O - β - D -glucopyranoside spathodic acid。

化合物 **11**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 657 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 6.34 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-1'), 5.60 (1H, t-like, H-12), 3.45 (1H, dd, $J = 12.0, 4.5$ Hz, H-3), 2.97 (1H, s, H-18), 1.72 (3H, s, H-27), 1.44 (3H, s, H-29), 1.25 (6H, s, H-23, H-26), 1.09 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-30), 1.07 (3H, s, H-24), 0.99 (3H, s, H-25); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 39.6 (C-1), 28.6 (C-2), 78.7 (C-3), 39.9 (C-4), 56.4 (C-5), 19.5 (C-6), 34.1 (C-7), 41.1 (C-8), 48.3 (C-9), 38.2 (C-10), 24.6 (C-11), 128.9 (C-12), 139.8 (C-13), 42.6 (C-14), 29.8 (C-15), 26.6 (C-16), 49.1 (C-17), 55.0 (C-18), 73.1 (C-19), 42.2 (C-20), 27.2 (C-21), 37.9 (C-22), 29.3 (C-23), 17.0 (C-24), 16.2 (C-25), 17.9 (C-26), 25.1 (C-27), 177.4 (C-28), 27.5 (C-29), 17.2 (C-30), 96.3 (C-1'), 74.6 (C-2'), 79.8 (C-3'), 71.7 (C-4'), 79.5 (C-5'), 62.8 (C-6')。以上数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 **11** 为坡模酸-28- O - β - D -葡萄糖酯苷。

化合物 **12**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 673 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 6.33 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-1'), 5.58 (1H, t-like, H-12), 4.53 (1H, d, $J =$

10.0 Hz, H-24a), 3.70 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-24b), 3.64 (1H, m, H-3), 2.96 (1H, s, H-18), 1.70 (3H, s, H-27), 1.55 (3H, s, H-23), 1.43 (3H, s, H-29), 1.20 (3H, s, H-26), 1.09 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-30), 0.96 (3H, s, H-25); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 39.3 (C-1), 28.9 (C-2), 80.8 (C-3), 43.6 (C-4), 56.9 (C-5), 19.8 (C-6), 34.3 (C-7), 41.0 (C-8), 48.4 (C-9), 37.6 (C-10), 24.8 (C-11), 128.8 (C-12), 139.8 (C-13), 42.6 (C-14), 29.7 (C-15), 26.6 (C-16), 49.1 (C-17), 54.9 (C-18), 73.1 (C-19), 42.5 (C-20), 27.2 (C-21), 38.2 (C-22), 24.1 (C-23), 65.1 (C-24), 16.6 (C-25), 17.8 (C-26), 25.0 (C-27), 177.4 (C-28), 27.5 (C-29), 17.2 (C-30), 96.3 (C-1'), 74.6 (C-2'), 79.8 (C-3'), 71.7 (C-4'), 79.5 (C-5'), 62.8 (C-6')。以上数据与文献报道一致^[25], 故鉴定化合物 **12** 为 rotungenoside。

化合物 **13**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 655 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 6.36 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-1'), 5.78 (1H, t-like, H-12), 4.20 (1H, m, H-3), 4.01 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-23a), 3.74 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-23b), 1.83 (3H, s, H-29), 1.22 (3H, s, H-25), 1.08 (3H, s, H-27), 1.07 (3H, s, H-26), 1.05 (3H, s, H-24), 1.04 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-30); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 39.8 (C-1), 27.2 (C-2), 73.6 (C-3), 43.4 (C-4), 48.8 (C-5), 19.2 (C-6), 35.1 (C-7), 39.9 (C-8), 49.1 (C-9), 37.5 (C-10), 24.0 (C-11), 127.2 (C-12), 139.2 (C-13), 45.4 (C-14), 31.4 (C-15), 29.6 (C-16), 50.4 (C-17), 134.4 (C-18), 136.4 (C-19), 35.8 (C-20), 28.3 (C-21), 35.3 (C-22), 68.1 (C-23), 13.8 (C-24), 17.3 (C-25), 18.9 (C-26), 22.6 (C-27), 175.2 (C-28), 20.0 (C-29), 19.2 (C-30), 96.3 (C-1'), 74.6 (C-2'), 79.4 (C-3'), 71.6 (C-4'), 79.7 (C-5'), 62.7 (C-6')。以上数据与文献报道一致^[21], 故鉴定化合物 **13** 为 3 β ,23-二羟基-12,18-二烯-乌索酸-28-*O*- β -D-葡萄糖酯苷。

化合物 **14**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 655 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 6.37 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-1'), 5.69 (1H, t-like, H-12), 4.20 (1H, m, H-3), 4.04 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-23a), 3.72 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-23b), 3.55 (1H, s, H-18), 1.66 (3H, s, H-30), 1.59 (3H, s, H-29), 1.18 (3H, s, H-25), 1.07 (3H, s, H-27), 1.04 (3H, s, H-26), 1.02 (3H, s, H-24); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 39.7 (C-1), 28.3 (C-2), 73.8 (C-3), 43.4 (C-4), 49.1 (C-5), 19.0 (C-6),

34.4 (C-7), 40.3 (C-8), 48.8 (C-9), 37.6 (C-10), 24.2 (C-11), 128.2 (C-12), 138.3 (C-13), 44.2 (C-14), 24.1 (C-15), 29.1 (C-16), 47.8 (C-17), 50.9 (C-18), 129.2 (C-19), 124.3 (C-20), 29.0 (C-21), 33.4 (C-22), 68.3 (C-23), 13.7 (C-24), 17.1 (C-25), 18.7 (C-26), 22.7 (C-27), 176.7 (C-28), 17.8 (C-29), 20.8 (C-30), 96.3 (C-1'), 74.7 (C-2'), 79.4 (C-3'), 71.6 (C-4'), 79.8 (C-5'), 62.7 (C-6')。以上数据与文献报道一致^[21], 故鉴定化合物 **14** 为 3 β ,23-二羟基-12,19-二烯-乌索酸-28-*O*- β -D-葡萄糖酯苷。

化合物 **15**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 655 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 6.35 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-1'), 5.58 (1H, t-like, H-12), 5.21 (1H, brs, H-29a), 5.06 (1H, brs, H-29b), 4.20 (1H, m, H-3), 3.82 (1H, brs, H-18), 4.07 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-23a), 3.73 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-23b), 1.21 (3H, s, H-27), 1.20 (3H, s, H-25), 1.08 (3H, s, H-26), 1.07 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-30), 1.03 (3H, s, H-24); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 39.4 (C-1), 26.3 (C-2), 73.9 (C-3), 43.3 (C-4), 49.2 (C-5), 19.1 (C-6), 33.7 (C-7), 40.3 (C-8), 48.6 (C-9), 37.8 (C-10), 24.4 (C-11), 129.1 (C-12), 138.0 (C-13), 43.4 (C-14), 28.2 (C-15), 29.6 (C-16), 50.3 (C-17), 52.8 (C-18), 153.9 (C-19), 38.0 (C-20), 31.1 (C-21), 37.6 (C-22), 68.3 (C-23), 13.6 (C-24), 16.7 (C-25), 17.9 (C-26), 26.7 (C-27), 176.5 (C-28), 110.9 (C-29), 19.9 (C-30), 96.4 (C-1'), 74.6 (C-2'), 79.4 (C-3'), 71.6 (C-4'), 79.9 (C-5'), 62.7 (C-6')。以上数据与文献报道一致^[21], 故鉴定化合物 **15** 为 3 β ,23-二羟基-12,19(29)-二烯-乌索酸-28-*O*- β -D-葡萄糖酯苷。

4 讨论

本研究从四季青中分离得到 15 个化合物, 其中包括 8 个三萜苷元和 7 个三萜皂苷类化合物, 其中, 化合物 **1~3** 为齐墩果酸型三萜; **4~8** 为乌苏酸型三萜; **9~10** 为齐墩果酸的三萜皂苷; **11~15** 为乌苏酸的三萜皂苷, 三萜皂苷均为 28 位羧基与葡萄糖结合成的酯苷。化合物 **1** 和 **5** 为 23 位降碳, 24 位成环外双键的三萜; 化合物 **4** 为 3 和 23 位羟基与丙酮形成缩酮结构; 化合物 **7**、**13~15** 为含两个双键的乌苏烷型三萜, 其中化合物 **7**、**13** 为共轭双键, 化合物 **15** 为 29 位成环外双键。

据文献报道化合物 **5** 对炎症因子的产生具有明显的抑制作用^[26]; 化合物 **6**、**8** 可以较好地消除巴豆油导致的小鼠耳肿胀^[27]。此外, 四季青中已报道的

成分救必应酸^[9]具有明显的抗菌和抗炎活性^[28-29], 原儿茶酸也具有较好的抗炎作用^[30-31]。因此, 四季青的清热解毒、消肿祛瘀的传统功效可能与其所含的三萜和酚酸类活性成分有关, 两类成分之间是否存在协同作用值得进一步深入研究。

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 (第45卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [3] 江雅萍, 陈同钧. 十一种中草药对细菌的体外抑菌作用分析 [J]. 上海医学检验杂志, 1995, 14(4): 206-207.
- [4] 覃仁安. 四季青水提液和乙醇提取液对小鼠急性炎症的影响 [J]. 贵州医药, 1999, 23(6): 416-417.
- [5] 应利晏. 四季青治疗单纯型慢性化脓性中耳炎 92 例 [J]. 中国全科医学杂志, 2000, 3(3): 219.
- [6] 潘秋文. 四季青鲜汁治疗烫伤的实验研究 [J]. 中草药, 2004, 35(8): 924-925.
- [7] Inada A, Kobayashi M, Murata H, et al. Triterpenoid glycosides from leaves of *Ilex chinensis* Sims [J]. *Chem Pharm Bull*, 1987, 35(2): 841-845.
- [8] 赵浩如, 王明时, 周国平, 等. 四季青的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 1993, 18(4): 226-228.
- [9] 廖立平, 毕志明, 李 萍, 等. 四季青中的三萜类化学成分 [J]. 中国天然药物, 2005, 3(6): 344-346.
- [10] 解军波, 李 萍. 四季青酚酸类化学成分研究 [J]. 中国药科大学学报, 2002, 33(1): 76-77.
- [11] 廖立平, 毕志明, 李 萍, 等. 四季青中一个新的酚性化合物 [J]. 林产化学与工业, 2005, 25(3): 13-15.
- [12] 张玉梅, 李春华, 盛秀涛. 中药四季青的化学成分研究 [J]. 杏林中医药, 2010, 30(3): 252-253.
- [13] 廖立平, 李 萍. 四季青叶化学成分研究 [J]. 中国药科大学学报, 2004, 35(3): 205-206.
- [14] 赖作企, 董 勇. 中药路路通化学成分的研究 (I): 一种新的五环三萜的结构测定 [J]. 中山大学学报: 自然科学版, 1996, 35(4): 64-69.
- [15] Miyakoshi M, Shirasuna K, Hirai Y, et al. Triterpenoid saponins of *Acanthopanax nipponicus* leaves [J]. *J Nat Prod*, 1999, 62(3): 445-448.
- [16] Amimoto K, Yoshikawa K, Arihara S. Triterpenoid saponins of aquifoliaceous plants. VIII. ¹⁾ Ilexosides XXIX-XXXII from the leaves of *Ilex rotunda* Thunb.²⁾ [J]. *Chem Pharm Bull*, 1992, 40(12): 3138-3141.
- [17] 文东旭, 陈仲良. 救必应化学成分的研究 (I) [J]. 中草药, 1991, 22(6): 246-248.
- [18] Nishimura K, Fukuda T, Miyase T, et al. Activity-guided isolation of triterpenoid acyl CoA cholesteryl acyl transferase (ACAT) inhibitors from *Ilex kudincha* [J]. *J Nat Prod*, 1999, 62(7): 1061-1064.
- [19] Inada A, Yamada M, Murata H, et al. Phytochemical studies of seeds of medicinal plants. I. Two sulfated triterpenoid glycosides, sulfapatrinosides I and II, from seeds of *Patrinia scabiosaefolia* Fischer [J]. *Chem Pharm Bull*, 1988, 36(11): 4269-4274.
- [20] Nakatani M, Hatanaka S, Komura H, et al. The structure of rotungenoside, a new bitter triterpene glucoside from *Ilex rotunda* [J]. *Bull Chem Soc Jpn*, 1989, 62(2): 469-473.
- [21] Wu Z J, Ouyang M A, Wang C Z, et al. Six new triterpenoid saponins from the leaves of *Ilex oblonga* and their inhibitory activities against TMV replication [J]. *Chem Pharm Bull*, 2007, 55(3): 422-427.
- [22] 姚志容, 李 军, 周思祥, 等. 枸骨叶中的三萜类成分 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(8): 999-1001.
- [23] Wu Z J, Ouyang M A, Wang C Z, et al. Anti-tobacco mosaic virus (TMV) triterpenoid saponins from the leaves of *Ilex oblonga* [J]. *J Agric Food Chem*, 2007, 55(5): 1712-1717.
- [24] Zhang A L, Ye Q, Li B G, et al. Phenolic and triterpene glycosides from the stems of *Ilex litseaefolia* [J]. *J Nat Prod*, 2005, 68(10): 1531-1535.
- [25] Amimoto K, Yoshikawa K, Arihara S. Triterpenoid saponins of aquifoliaceous plants. XI ¹⁾ Ilexosides XLI-XLV from the leaves of *Ilex rotunda* Thunb. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1993, 41(1): 39-42.
- [26] Thuong P T, Jin W Y, Lee J P, et al. Inhibitory effect on THF- α -induced IL-8 production in the HT29 cell of constituents from the leaf and stem of *Weigela subsessilis* [J]. *Arch Pharm Res*, 2005, 28(10): 1135-1141.
- [27] De Felice A, Bader A, Leone A, et al. New polyhydroxylated triterpenes and anti-inflammatory activity of *Salvia hierosolymitana* [J]. *Planta Med*, 2006, 72(7): 643-649.
- [28] Haraguchi H, Kataoka S, Okamoto S, et al. Antimicrobial triterpenes from *Ilex integra* and the mechanism of antifungal action [J]. *Phytother Res*, 1999, 13(2): 151-156.
- [29] Thang T D, Kuo P C, Yu C S, et al. Chemical constituents of the leaves of *Glochidion obliquum* and their bioactivity [J]. *Arch Pharm Res*, 2011, 34(3): 383-389.
- [30] 李 英, 刘伯年, 陈忠樑, 等. RP-HPLC 测定四季青片中原儿茶酸的含量 [J]. 中草药, 2002, 33(5): 395-396.
- [31] Lende A B, Kshirsagar A D, Deshpande A D, et al. Anti-inflammatory and analgesic activity of protocatechuic acid in rats and mice [J]. *Inflammopharmacology*, 2011, 19(5): 255-263.