

雷山产淡黄香茶菜化学成分的研究

刘亚华, 李继新, 辛来香, 赵能武, 潘炉台*

贵阳中医学院, 贵州 贵阳 550025

摘要: 目的 研究淡黄香茶菜 *Isodon flavidus* 枝叶的化学成分。方法 采用硅胶、Sephadex LH-20、MCI 等色谱材料及方法分离纯化, 通过理化性质和波谱数据鉴定化合物的结构。结果 从淡黄香茶菜枝叶 95%乙醇提取物中分离得到 9 个化合物, 分别鉴定为线纹香茶菜酸 (1)、isopimara-7,15-dien-19-oic acid (2)、isopimara-7,15-dien-3 β -ol (3)、rubesanolide D (4)、乌索酸 (5)、 β -谷甾醇 (6)、齐墩果酸 (7)、2 α ,3 α -二羟基-12-烯-28-乌索酸 (8)、芝麻素 (9)。结论 化合物 1~5、8~9 为首次从该植物中分离得到, 化合物 3 为首次从该属植物中分离得到。

关键词: 淡黄香茶菜; 线纹香茶菜酸; 乌索酸; 齐墩果酸; 芝麻素

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)10-1657-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.10.005

Chemical constituents of *Isodon flavidus* produced in Leishan

LIU Ya-hua, LI Ji-xin, XIN Lai-xiang, ZHAO Neng-wu, PAN Lu-tai

Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents of *Isodon flavidus*. **Methods** All compounds were isolated and purified by silica gel, Sephadex LH-20, and MCI column chromatography. Their structures were elucidated by analysis on the physicochemical properties and spectral data. **Results** Nine compounds were obtained from the Miao medicine *I. flavidus* and respectively elucidated as lophanic acid (1), isopimara-7,15-dien-19-oic acid (2), isopimara-7,15-dien-3 β -ol (3), rubesanolide D (4), ursolic acid (5), β -sitosterol (6), oleanolic acid (7), 2 α ,3 α -dihydroxy-12-ene-28-oic acid (8), and sesamin (9). **Conclusion** Compounds 1—5 and 8—9 are isolated from this plant for the first time, compound 3 is isolated from the plants of *Rabdosia* (BL.) Hassk for the first time.

Key words: *Isodon flavidus* (Hand. -Mazz.) Hara.; lophanic acid; ursolic acid; oleanolic acid; sesamin

淡黄香茶菜 *Isodon flavidus* (Hand. -Mazz.) Hara. 系唇形科 (Labiateae) 香茶菜属 *Rabdosia* (BL.) Hassk 植物, 为多年生草本。在贵州, 该植物主要分布于大方、雷山、兴义等地^[1]。相关文献报道, 淡黄香茶菜主要含二萜、三萜、有机酸等天然成分^[2-4], 但未见该植物的活性研究。香茶菜属植物在民间作为抗菌、消炎和抗肿瘤药物被广泛使用, 已有冬凌草含片、咽康舒等产品上市销售。本课题组在雷山县苗族聚居村寨开展苗族医药调研时发现, 当地苗族同胞常用淡黄香茶菜 (苗药音译为啞嘎良) 鲜叶治疗脚气病, 疗效确切, 世代相传。为科学评价其药效, 本课题组对淡黄香茶菜的乙醇提取物抗真菌活性进行了初步研究, 结果显示其醇提物对白色念珠菌最小抑菌浓度 (MIC) 为 62.5 mg/mL、

对红色毛癣菌 MIC 为 61.3 mg/mL, 表明该植物具有一定的抗真菌作用。本实验研究了淡黄香茶菜枝叶 95%乙醇提取物的化学成分, 从中分离到 9 个化合物, 分别鉴定为线纹香茶菜酸 (lophanic acid, 1)、isopimara-7,15-dien-3 β -ol (2)、isopimara-7,15-dien-19-oic acid (3)、rubesanolide D (4)、乌索酸 (ursolic acid, 5)、 β -谷甾醇 (β -sitosterol, 6)、齐墩果酸 (oleanolic acid, 7)、2 α ,3 α -二羟基-12-烯-28-乌索酸 (2 α ,3 α -dihydroxy-12-ene-28-oic acid, 8)、芝麻素 (sesamin, 9)。化合物 1~5、8~9 为首次从该植物中分离到, 化合物 3 为首次从该属植物中分离到。

1 仪器与材料

ECX-500 500 MHz 超导核磁共振谱仪 (日本电子株式会社); JEOL 5973 MSD 质谱仪 (安捷伦公

收稿日期: 2016-01-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81560709); 贵州省科技厅项目 (黔科合 SY 字[2015]3032)

作者简介: 刘亚华 (1978—), 女, 硕士生导师, 副教授, 从事民族药资源与化学的研究。Tel: (0851)88233088 E-mail: lyh_1123@126.com

*通信作者 潘炉台 (1960—), 男, 硕士生导师, 教授, 从事民族药资源与化学的研究。Tel: (0851)88233088 E-mail: lpan@sina.cn

司); XT-4 双目显微熔点测定仪(北京泰克仪器有限公司); Sephadex LH-20(瑞士 Pharmacia & Upjohn 公司); 柱色谱硅胶(200~300 目)、GF₂₅₄ 薄层色谱板(青岛海洋化工公司); 分析和半制备型高效液相色谱仪为 Agilent 1100; 其他试剂均为分析纯或色谱纯。

实验药材于 2011 年 10 月采自贵州雷山县, 经贵阳中医学院陈德媛教授鉴定为唇形科淡黄香茶菜 *Isodon flavidus* (Hand. -Mazz.) Hara., 植物标本(GY20111003)存放于贵阳中医学院中药研究所。

2 提取分离

干燥枝叶 2.6 kg, 粉碎, 用 95%乙醇冷浸提取 3 次, 每次 3 d, 提取液减压浓缩至无醇味, 加水稀释后用适量醋酸乙酯反复萃取, 得浸膏 383 g。浸膏经硅胶柱色谱分离, 以石油醚-二氯甲烷-醋酸乙酯(10:1:0~1:2:1)溶剂系统梯度洗脱, TLC 检查合并得到 5 个部分即 Fr. A~E。

Fr. B 经硅胶柱石油醚-二氯甲烷(10:1→1:1)梯度洗脱, 在石油醚-醋酸乙酯 5:1 部位经 Sephadex LH-20(氯仿-甲醇 1:1)洗脱得一固体, 重结晶后得晶体化合物 2(116 mg); 石油醚-醋酸乙酯 3:1 部位经硅胶柱色谱, 石油醚-二氯甲烷(5:1)反复分离后, 甲醇重结晶得化合物 1(2.5 g)。

Fr. C 经硅胶柱二氯甲烷-醋酸乙酯(20:1→3:1)系统梯度洗脱, 在二氯甲烷-醋酸乙酯 15:1 部位柱色谱后得到化合物 4(94 mg); 在二氯甲烷-醋酸乙酯 9:1 部位析出晶体, 经甲醇重结晶得化合物 3(54 mg)。

Fr. D 和 E 经 MCI 脱色后通过硅胶色谱柱石油醚-醋酸乙酯(9:1→1:1)梯度洗脱, 石油醚-醋酸乙酯 7:1~9:1 部分继续进行硅胶柱色谱得到化合物 5(76 mg); 5:1 部分减压浓缩后得到固体粉末 6(23 mg); 余下部分经 Sephadex LH-20(氯仿-甲醇, 1:1)洗脱得化合物 7(63 mg)。3:1 部分浓缩后再通过硅胶色谱柱石油醚-醋酸乙酯(9:1→1:1)梯度洗脱, 在 1:1 部分得到晶体化合物 9(44 mg); 在 7:1 部分得到化合物 8(16 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 无色方晶(甲醇), mp 169~172 °C; EI-MS m/z : 320 [M]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 12.13 (1H, s, -COOH), 1.23 (6H, d, J = 7.0 Hz, H-16, 17), 1.01 (3H, s, H-18), 1.07 (3H, s, H-19); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 35.3 (C-1), 21.1 (C-2), 42.6

(C-3), 34.2 (C-4), 52.7 (C-5), 18.7 (C-6), 32.7 (C-7), 129.8 (C-8), 131.2 (C-9), 49.2 (C-10), 23.0 (C-11), 33.6 (C-12), 71.3 (C-13), 42.5 (C-14), 34.1 (C-15), 17.5 (C-16), 17.3 (C-17), 32.5 (C-18), 20.9 (C-19), 178.4 (C-20)。以上数据与文献报道基本一致^[5], 故鉴定化合物 1 为线纹香茶菜酸。

化合物 2: 无色方晶(氯仿), mp 159~160 °C; ESI-MS m/z : 302 [M]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.30 (1H, m, H-7), 4.85 (1H, dd, J = 10.8, 1.5 Hz, H-16), 4.95 (1H, dd, J = 10.6, 1.6 Hz, H-16), 0.86 (3H, s, H-17), 1.24 (3H, s, H-18), 0.78 (3H, s, H-20); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 38.0 (C-1), 19.6 (C-2), 37.0 (C-3), 43.8 (C-4), 51.3 (C-5), 24.4 (C-6), 121.5 (C-7), 134.7 (C-8), 51.7 (C-9), 35.9 (C-10), 21.0 (C-11), 36.4 (C-12), 39.9 (C-13), 46.2 (C-14), 50.4 (C-15), 109.3 (C-16), 121.5 (C-17), 29.2 (C-18), 184.5 (C-19), 14.4 (C-20)。以上数据与文献报道基本一致^[6], 故鉴定化合物 2 为 isopimara-7,15-dien-19-oic acid。

化合物 3: 无色晶体(甲醇), EI-MS m/z : 288 [M]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.80 (1H, dd, J = 10.8, 17.6 Hz, H-15), 4.85 (2H, dd, J = 10.8, 1.6 Hz, H-16a), 4.95 (1H, dd, J = 17.6, 1.6 Hz, H-16b), 0.97 (3H, s, H-18), 0.90 (3H, s, H-19), 0.86 (3H, s, H-20), 0.87 (3H, s, H-17); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 38.7 (C-1), 27.4 (C-2), 79.3 (C-3), 37.8 (C-4), 50.1 (C-5), 23.2 (C-6), 121.4 (C-7), 135.3 (C-8), 51.8 (C-9), 36.8 (C-10), 20.1 (C-11), 36.1 (C-12), 35.3 (C-13), 45.9 (C-14), 150.3 (C-15), 109.2 (C-16), 21.3 (C-17), 28.2 (C-18), 15.6 (C-19), 14.8 (C-20)。以上数据与文献报道基本一致^[7], 故鉴定化合物 3 为 isopimara-7,15-dien-3 β -ol。

化合物 4: 无色晶体(甲醇), mp 181~184 °C; EI-MS m/z : 318 [M]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.28 (1H, brs, H-14), 1.04 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-16), 1.03 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-17), 0.92 (3H, s, H-18), 0.91 (3H, s, H-19); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 24.7 (C-1), 18.1 (C-2), 41.2 (C-3), 33.4 (C-4), 41.4 (C-5), 19.8 (C-6), 28.8 (C-7), 81.1 (C-8), 75.1 (C-9), 51.8 (C-10), 26.6 (C-11), 22.2 (C-12), 150.7 (C-13), 117.7 (C-14), 34.7 (C-15), 34.7 (C-16), 20.7 (C-17), 32.1 (C-18), 20.0 (C-19), 178.8 (C-20)。以上数据与文献报道基本一致^[8], 故鉴定化合物 4

为 rubesanolide D。

化合物 **5**: 白色粉末, mp 286~288 °C; MS m/z : 455 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (500 MHz, C_5D_5N) δ : 1.27 (3H, s, H-23), 1.22 (3H, s, H-27), 1.03 (3H, s, H-25), 1.01 (3H, s, H-29), 0.99 (3H, s, H-30), 0.94 (3H, s, H-26), 0.90 (3H, s, H-24); ^{13}C -NMR (125 MHz, C_5D_5N) δ : 38.9 (C-1), 28.8 (C-2), 77.4 (C-3), 39.4 (C-4), 55.5 (C-5), 18.6 (C-6), 33.2 (C-7), 42.8 (C-8), 47.6 (C-9), 37.2 (C-10), 23.8 (C-11), 125.2 (C-12), 138.8 (C-13), 42.3 (C-14), 28.9 (C-15), 24.8 (C-16), 47.4 (C-17), 53.8 (C-18), 34.8 (C-19), 39.3 (C-20), 30.9 (C-21), 37.2 (C-22), 28.8 (C-23), 17.1 (C-24), 16.2 (C-25), 17.9 (C-26), 23.8 (C-27), 179.9 (C-28), 18.0 (C-29), 21.6 (C-30)。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **5** 为乌索酸。

化合物 **6**: 白色针晶 (醋酸乙酯), mp 137~140 °C; EI-MS m/z : 414 $[M]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.34 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-6), 3.52 (1H, m, H-3 α), 0.98 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-26), 0.83 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-21), 0.81 (3H, overlapped, H-29), 0.79 (3H, s, H-27), 0.68 (3H, s, H-18); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 37.2 (C-1), 31.7 (C-2), 71.8 (C-3), 42.3 (C-4), 140.7 (C-5), 121.6 (C-6), 31.7 (C-7), 31.8 (C-8), 50.1 (C-9), 36.0 (C-10), 21.0 (C-11), 39.8 (C-12), 42.4 (C-13), 56.7 (C-14), 24.2 (C-15), 28.3 (C-16), 56.1 (C-17), 11.8 (C-18), 12.2 (C-19), 36.2 (C-20), 18.7 (C-21), 26.3 (C-22), 23.2 (C-23), 45.8 (C-24), 29.3 (C-25), 19.3 (C-26), 19.7 (C-27), 33.8 (C-28), 19.2 (C-29)。以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **6** 为 β -谷甾醇。

化合物 **7**: 白色粉末, mp 307~310 °C; EI-MS m/z : 456 $[M]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.30 (1H, brs, H-12), 3.24 (1H, t, $J = 10.8, 4.9$ Hz, H-3), 2.84 (1H, dd, $J = 13.8, 4.0$ Hz, H-18), 1.01 (3H, s, H-23), 1.15 (3H, s, H-27), 0.93 (3H, s, H-25), 0.90 (3H, s, H-29), 0.77 (3H, s, H-24), 0.75 (3H, s, H-26); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 38.4 (C-1), 27.2 (C-2), 79.1 (C-3), 38.8 (C-4), 55.2 (C-5), 18.3 (C-6), 33.1 (C-7), 39.3 (C-8), 47.7 (C-9), 37.1 (C-10), 23.6 (C-11), 122.7 (C-12), 143.6 (C-13), 41.6 (C-14), 27.7 (C-15), 22.9 (C-16), 46.6 (C-17), 41.0 (C-18), 45.9 (C-19), 30.7 (C-20), 33.8 (C-21), 32.6 (C-22), 28.1

(C-23), 15.6 (C-24), 15.4 (C-25), 17.2 (C-26), 26.0 (C-27), 183.7 (C-28), 32.5 (C-29), 23.4 (C-30)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **7** 为齐墩果酸。

化合物 **8**: 白色粉末, mp 271~273 °C; ESI-MS m/z : 495 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 5.24 (1H, brs, H-12), 3.93 (1H, m, H-2), 3.31 (1H, overlap, H-3), 2.20 (1H, d, $J = 11.1$ Hz, H-18), 0.84 (3H, s, H-26), 0.87 (3H, s, H-23), 0.88 (3H, s, H-24), 0.89 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-29), 0.98 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-30), 0.99 (3H, s, H-25), 1.14 (3H, s, H-27); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 43.4 (C-1), 67.1 (C-2), 80.0 (C-3), 39.3 (C-4), 48.9 (C-5), 19.1 (C-6), 34.2 (C-7), 40.9 (C-8), 47.4 (C-9), 39.5 (C-10), 24.2 (C-11), 126.7 (C-12), 139.8 (C-13), 42.6 (C-14), 29.2 (C-15), 25.3 (C-16), 48.8 (C-17), 54.3 (C-18), 40.4 (C-19), 40.4 (C-20), 31.8 (C-21), 38.1 (C-22), 22.5 (C-23), 29.3 (C-24), 17.0 (C-25), 17.7 (C-26), 24.4 (C-27), 181.9 (C-28), 17.8 (C-29), 21.6 (C-30)。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **8** 为 2 α ,3 α -二羟基-12-烯-28-乌索酸。

化合物 **9**: 无色晶体 (二氯甲烷), mp 122~125 °C, ESI-MS m/z : 377 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.85 (2H, d, $J = 1.5$ Hz, H-2, 2'), 6.80 (2H, dd, $J = 7.9, 1.3$ Hz, H-6, 6'), 6.77 (2H, d, $J = 7.9$ Hz, H-5, 5'), 3.10 (2H, m, H-8, 8'); ^{13}C -NMR (125 Hz, $CDCl_3$) δ : 135.1 (C-1, 1'), 106.5 (C-2, 2'), 147.1 (C-3, 3'), 148.0 (C-4, 4'), 108.2 (C-5, 5'), 119.4 (C-6, 6'), 85.8 (C-7, 7'), 54.4 (C-8, 8'), 71.8 (C-9, 9'), 101.1 (-O-CH₂-O-)。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **9** 为芝麻素。

参考文献

- [1] 《贵州植物志》编辑委员会. 贵州植物志 (第八卷) [M]. 成都: 四川民族出版社, 1988.
- [2] Zhao Q S, Tian J, Yue J M, *et al.* Diterpenoids from *Isodon flavidus* [J]. *Phytochemistry*, 1998, 48(6): 1025-1029.
- [3] 赵明早, 李金强, 张宇, 等. 淡黄香茶菜根茎化学成分研究 [J]. 中药材, 2014, 37(7): 1193-1196.
- [4] 李金强, 赵明早, 张宇, 等. 淡黄香茶菜地下部位化学成分 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(24): 106-109.
- [5] Jiang B, Lu Z Q, Zhang H J, *et al.* Diterpenoids from *Isodon lophan Thoides* [J]. *Fitoterapia*, 2000, 71(4):

- 360-364.
- [6] Rahman A U, Akhtar M N, Choudhary M I, *et al.* New diterpene isopimara-7,15-dien-19-oic acid and its prolyl endopeptidase inhibitory activity [J]. *Nat Prod Res*, 2005, 19(1): 13-22.
- [7] Block S, Baccelli C, Tinant B, *et al.* Diterpenes from the leaves of *Croton zambesicus* [J]. *Phytochemistry*, 2004, 65(8): 1165-1171.
- [8] Zou J, Pan L T, Li Q J, *et al.* Rubesanolides C-E: abietane diterpenoids isolated from *Isodon rubescens* and evaluation of their anti-biofilm activity [J]. *Org Biomol Chem*, 2012, 10(26): 5039-5044.
- [9] Nam J Y, 刘向前, 张承烨, 等. 四川龙胆的三萜成分 [J]. 中草药, 2002, 33(10): 888-889.
- [10] Kamaya R, Masuda K, Suzuki K, *et al.* Fern constituents: sesterterpenoids isolated from fronds of *Aleuritopteris mexicana* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1996, 44(4): 690-694.
- [11] 陈德昌, 鲁 静, 王宝棣, 等. 中药化学对照品工作手册 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002.
- [12] Bandaranayake W M, Gunasekera S P, Karunanayake S. Terpenes of *dipterocarpus* and *Doona species* [J]. *Phytochemistry*, 1975, 14(9): 2043-2048.
- [13] 李显珍, 李春远, 吴伦秀, 等. 苦槛蓝叶化学成分研究 [J]. 中草药, 2011, 42(11): 2204-2207.