

显脉香茶菜中 1 个新的二萜类化合物

刘丹丹, 魏志雄*

东莞市食品药品检验所, 广东 东莞 523109

摘要:目的 对显脉香茶菜 *Isodon nervosus* 茎叶的化学成分进行研究。方法 采用硅胶及葡聚糖凝胶柱色谱进行分离纯化, 通过理化性质和光谱数据对化合物进行结构鉴定。结果 从显脉香茶菜 95%乙醇提取物中分离得到 1 个化合物, 其结构鉴定为 15 α ,20 β / α -二羟基-6 β -甲氧基-6,7-断裂-6,20-环氧-1 α ,7-内酯-对映-贝壳杉-16-烯 (1)。结论 化合物 1 为新的二萜类化合物, 命名为显脉香茶菜素 K。

关键词: 显脉香茶菜; 二萜; 显脉香茶菜素 K; 对映贝壳杉烷二萜; 波谱分析

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)13-2232-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.13.005

A new diterpenoid from *Isodon nervosus*

LIU Dan-dan, WEI Zhi-xiong

Dongguan Institute for Food and Drug Control, Dongguan 523109, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from the stems and leaves of *Isodon nervosus*. **Methods** The chemical constituent was isolated and purified by chromatographic methods and structurally identified by physicochemical characteristics and spectral data. **Results** One new compound was isolated from 95% ethanol extract of *I. nervosus*, the structure was identified as 15 α ,20 β / α -dihydroxy-6 β -methoxy-6,7-*seco*-6,20-epoxy-1 α ,7-olide-*ent*-kaur-16-ene. **Conclusion** A new diterpenoid was identified and named as rabdonervosin K.

Key words: *Isodon nervosus* (Hemsl.) Kudô; diterpenoid; rabdonervosin K; *ent*-kaurane diterpene; spectral analysis

显脉香茶菜 *Isodon nervosus* (Hemsl.) Kudô 为唇形科香茶菜属多年生草本植物, 广泛分布于河南、四川、江西及我国其他省份, 民间常以茎、叶入药, 用于治疗急性传染性肝炎、毒蛇咬伤、皮肤瘙痒等疾病^[1]。对映贝壳杉烷二萜类成分为香茶菜属植物的主要代谢产物, 具广泛的抗菌、抗炎及抗肿瘤活性^[2]。许美娟等^[3]、Yan 等^[4]及 Li 等^[5]对不同产地的显脉香茶菜进行成分研究, 结果表明由于生长环境不同, 所得到的次生代谢产物有明显差异。本课题组对江西宜丰地区产显脉香茶菜进行了化学成分研究, 前期从中分离得到多种二萜类成分^[6-13], 本实验从显脉香茶菜中分离得到的 1 个新的二萜类化合物, 结构鉴定为 15 α ,20 β / α -二羟基-6 β -甲氧基-6,7-断裂-6,20-环氧-1 α ,7-内酯-对映-贝壳杉-16-烯 (15 α ,20 β / α -dihydroxy-6 β -methoxy-6,7-*seco*-6,20-epoxy-1 α ,7-

olide-*ent*-kaur-16-ene, 1), 命名为显脉香茶菜素 K。结构见图 1。

1 仪器与材料

XT-4A 显微熔点测定仪 (北京泰克仪器有限公司), Perkin Elmer 341 polarimeter 旋光仪 [珀金埃尔

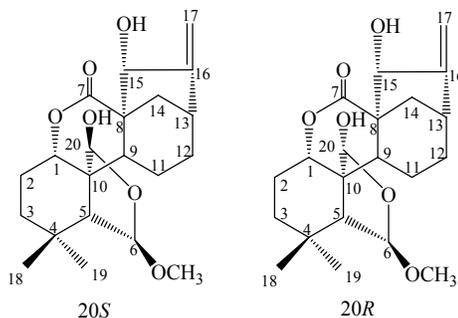


图 1 化合物 1 的结构

Fig. 1 Structure of compound 1

收稿日期: 2016-03-15

作者简介: 刘丹丹 (1984—), 女, 中药学硕士, 主管中药师, 研究方向为保健食品、化妆品及药品检验及质量标准研究, 中药及天然药物的研究与开发。Tel: (0769)22017096

*通信作者 魏志雄, 博士。E-mail: weizhixiong83@sina.cn

默仪器(上海)有限公司], EQUINOXTM55-A590/3F 型红外分光光度计(德国 Bruker 公司), Bruker AVANCE-400 超导核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司); 柱色谱硅胶和薄层色谱用硅胶(青岛海浪化工厂); Pharmadex LH-20(安玛西亚生物技术上海有限公司); 化学试剂均为分析纯。

显脉香茶菜药材于 2007 年 7 月采自江西宜丰地区, 经江西中医药大学赖学文教授鉴定为显脉香茶菜 *Isodon nervosus* (Hemsl.) Kudô。

2 提取与分离

干燥的显脉香茶菜茎和叶 10 kg, 以 95%乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h, 合并提取液, 并减压浓缩至稠膏, 用甲醇溶解, 滤除不溶物, 滤液加 4%的活性炭加热煮沸脱色 3 次, 抽滤, 滤液浓缩为浸膏(800 g)。与硅藻土 1:1 拌样, 置改良索氏提取器分为石油醚(50 g)、醋酸乙酯(270 g)、丙酮(200 g)、甲醇(230 g) 4 个部位。醋酸乙酯部分(150 g)经硅胶柱色谱, 以三氯甲烷-甲醇(50:1→10:1)梯度洗脱, 分为 6 个流分。流分 6(10:1 部分)以三氯甲烷-丙酮(20:1→3:1)梯度洗脱, 12:1 部分经过 Sephadex LH-20 柱, 以三氯甲烷-甲醇(1:1)洗脱得到化合物 1。

3 结构鉴定

化合物 1: 无色针状结晶(丙酮-甲醇), mp 218~220 °C, $[\alpha]_D^{20} -143.3^\circ$ (c 0.13, CH₃OH), 易溶于醋酸乙酯、三氯甲烷、丙酮及甲醇。IR 光谱中, 3 373 cm⁻¹ 吸收峰提示可能含-OH。薄层色谱及液相色谱(PDA 检测器)均显示其为单一成分, 但以氘代吡啶为溶剂测定一维核磁数据时, 其 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR、DEPT 均出现 2 套可清晰辨别的信号, 一大一小, 比例约为 4:1(通过 ¹H-NMR 基准氢的积分面积判断)。

对比例较大的成分数据进行分析, 发现其 ¹³C-NMR (DEPT) 谱中出现 21 个碳信号, 包括 3 个甲基(含 1 个甲氧基), 6 个亚甲基(含 1 个双键烯碳亚甲基), 7 个次甲基(含 4 个连氧取代次甲基)和 5 个季碳(含 1 个内酯羰基季碳, 1 个含烯键季碳), 且根据香茶菜属中分离得到的二萜类成分可以判断其为对映-6,7-断裂-贝壳杉烷二萜中的延命素型骨架^[13-14]。¹H-NMR 中 δ_H 3.30 (3H, s) 提示结构含有甲氧基取代, 而 δ_H 5.43 (1H, m)、5.18 (1H, m) 为明显环外末端双键 H₂-17 信号; 结合紫外 254、365 nm 下无吸收, 提示母核不含 α -亚甲基环戊酮共轭结构, 故 C-15 亦被含氧基团取代; 该骨架中的

H₂-20 信号一般出现在低场区 (δ_H 3.6~5.0, d, $J \approx 9.0$ Hz), 但该特征氢信号消失, 表明其 C-20 被含氧基团取代。

对比例较小的成分数据进行分析, 发现其 ¹³C-NMR (DEPT) 谱中同样出现 21 个碳信号, 且类型与比例较大的成分完全一样, 化学位移非常接近; ¹H-NMR 同样出现甲氧基信号 3.26 (3H, s), 同样未出现特征的 H₂-20 信号。

结合文献报道^[15], 推测当 C-20 被连氧基团取代后, C-20 成为手性碳原子, 此时可能出现构型异构现象, 结构可以是 C-20R 或 C-20S, 故推测化合物为 C-20 差向异构体二萜, 对其进行其他测试。

结合 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR、DEPT 推断分子式为 C₂₁H₃₀O₆, 并通过 HR-ESI-MS 验证 ($[M+Na]^+$, C₂₁H₃₀O₆Na⁺, 实验值 401.192 0, 计算值 401.194 0), 不饱和度为 7。结合延命素型基本骨架分析, 结构中含有 2 个羟基及 1 个甲氧基取代, 连接位置可能为 C-6、C-15 及 C-20。通过 ¹H-NMR 及 HSQC 中较好辨别的 H-6 α (20S/20R, δ_H 4.77/5.26, s) 确定 C-6 (20S/20R, δ_C 105.2/108.6)。而在 HMBC (图 2) 中, 甲氧基信号 (20S/20R, δ_H 3.30/3.26) 分别与 C-6 (20S/20R) 相关表明甲氧基连接在 C-6; 此外, H-15 (20S/20R, δ_H 5.64/5.54 brs) 与 C-7 (20S/20R, δ_C 176.1/176.7), C-9 (20S/20R, δ_C 32.2/37.7), C-17 (20S/20R, δ_C 108.9/108.5) 相关; 且 H-20 (20S/20R, δ_H 6.06/6.42) 与 C-6、C-9 相关, 表明 C-15、20 均为羟基取代。

根据文献报道^[15], C-20 的构型可通过 ROESY 谱来阐明, 即 H-20 与 19-CH₃ 有 ROESY 偶合, C-20 为 S 型(即 20 β -OH); 如果 H-20 与 H-9 α 有 ROESY 偶合, C-20 为 R 型(即 20 α -OH)。ROESY 图谱(图 3)

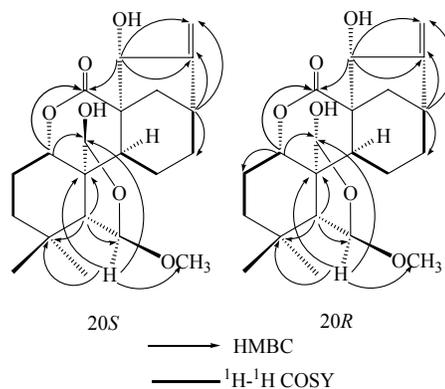


图 2 化合物 1 的重要 ¹H-¹H COSY 和 HMBC 相关关系
Fig. 2 Key ¹H-¹H COSY and HMBC correlation of compound 1

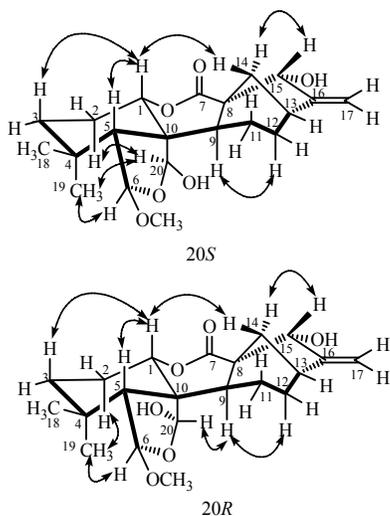


图 3 化合物 1 的主要 ROESY 相关图
Fig. 3 Key ROESY correlation of compound 1

中, δ_H 6.06 (1H, d, $J = 10.4$ Hz, H-20) 与 δ_H 0.98 (3H, s, 19-CH₃) 相关; 同时另一个 δ_H 6.42 (1H, d, $J = 4.5$ Hz, H-20) 与 δ_H 3.01 (1H, dd, $J = 5.5, 13.1$ Hz, H-9 α) 相关, 这证实了该化合物为一对 C-20 异构的对映体, 且其中比例较大的为 C-20S (20 β -OH), 较小的为 C-20R (20 α -OH)。

根据 ROESY 谱, H-15 (20S/20R, δ_H 5.64/5.54) 与 H-14 β (20S/20R, δ_H 2.02/2.09) 相关且与 H-9 α 无相关, 这表明 C-15 为 α 羟基取代; 结合 1D 和 2D 图谱对该化合物的氢碳信号进行全归属 (表 1)。

为进一步了解在不同氘代试剂中的 2 个对映体的比例, 将样品溶于 CDCl₃, 测定 ¹H-NMR, 结果发现 C-20S 占绝对优势 (约为 95%), C-20R 信号因几近消失而无法识别出; 将样品回收后以氘代吡啶为溶剂, 测定 ¹H-NMR, 结果发现 C-20S/C-20R 仍

表 1 化合物 1 的氢谱及碳谱数据 (400/100 MHz, C₅D₅N)

Table 1 ¹H-NMR and ¹³C-NMR data of compound 1 (400/100 MHz, C₅D₅N)

碳位	20R		20S	
	δ_C (DEPT)	δ_H	δ_C (DEPT)	δ_H
1	76.8 d	4.72 (1H, overlapped)	76.0 d	4.72 (1H, m)
2	25.8 t	2.85 (1H, m), 2.02~1.85 (1H, overlapped)	24.5 t	2.02~1.85 (2H, overlapped)
3	38.0 t	2.02~1.85 (1H, overlapped), 1.45~1.20 (1H, overlapped)	37.8 t	1.45~1.20 (2H, overlapped)
4	31.9 s	—	31.6 s	—
5	54.1 d	2.25~2.20 (1H, overlapped)	54.7 d	2.25~2.20 (1H, overlapped)
6	108.6 d	5.26 (1H, s)	105.2 d	4.77 (1H, s)
7	176.7 s	—	176.1 s	—
8	53.5 s	—	52.9 s	—
9	37.7 d	3.01 (1H, dd, $J = 5.5, 13.1$ Hz)	32.2 d	3.35 (1H, dd, $J = 5.8, 12.7$ Hz)
10	51.9 s	—	49.7 s	—
11	19.1 t	2.02~1.85 (1H, overlapped), 1.45~1.20 (1H, overlapped)	19.7 t	2.02~1.85 (1H, overlapped), 1.45~1.20 (1H, overlapped)
12	33.3 t	2.25~2.20 (1H, overlapped), 1.75~1.60 (1H, overlapped)	32.6 t	2.25~2.20 (1H, overlapped), 1.75~1.60 (1H, overlapped)
13	38.0 d	2.71 (1H, m)	37.8 d	2.71 (1H, dd, $J = 4.8, 8.2$ Hz)
14	34.2 t	2.09 (1H, d, $J = 11.5$ Hz), 1.75~1.60 (1H, overlapped)	34.4 t	2.03 (1H, d, $J = 11.7$ Hz), 1.75~1.60 (1H, overlapped)
15	78.6 d	5.54 (1H, brs)	78.5 d	5.64 (1H, brs)
16	160.4 s	—	159.8 s	—
17	108.5 t	5.43 (1H, overlapped), 5.15 (1H, m)	108.9 t	5.43 (1H, m), 5.18 (1H, m)
18	34.5 q	1.11 (3H, s)	33.2 q	0.99 (3H, s)
19	23.8 q	1.54 (3H, s)	23.6 q	0.98 (3H, s)
20	105.5 d	6.42 (1H, d, $J = 4.5$ Hz)	102.9 d	6.06 (1H, d, $J = 10.4$ Hz)

以4:1比例存在,故认为在氘代吡啶中该化合物中一定量的C-20S转化为C-20R,并最终稳定比例(约4:1)存在于溶剂中。

因此该化合物鉴定为15 α ,20 β / α -二羟基-6 β -甲氧基-6,7-断裂-6,20-环氧-1 α ,7-内酯-对映-贝壳杉-16-烯,为1个新的差向异构体二萜,命名为显脉香茶菜素K。

参考文献

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2004.
- [2] Sun H D, Huang S X, Han Q B. Diterpenoids from *Isodon* species and their biological activities [J]. *Nat Prod Rep*, 2006, 23(5): 673-698.
- [3] 许美娟, 程培元. 显脉香茶菜化学成分研究 [J]. 植物学报, 1993, 35(2): 161-164.
- [4] Yan F L, Guo L Q, Zhang J X, et al. New ent-kaurane-type diterpenoids from *Isodon nervosus* [J]. *Chin Chem Lett*, 2008, 19(4): 441-443.
- [5] Li L M, Li G Y, Ding L S, et al. ent-Kaurane diterpenoids from *Isodon nervosus* [J]. *Nat Prod*, 2008, 71(4): 684-688.
- [6] 高幼衡, 吴顺华, 钟瑞健, 等. 显脉香茶菜化学成分的研究 [J]. 中草药, 1996, 27(10): 579-580.
- [7] 高幼衡, 程怡, 吴顺华, 等. 显脉香茶菜化学成分的研究 [J]. 中草药, 1999, 30(6): 407-409.
- [8] 高幼衡, 程怡, 叶会呈. 显脉香茶菜化学成分的研究 [J]. 中草药, 2000, 31(9): 645-646.
- [9] 魏志雄, 高幼衡, 候媛芳, 等. 显脉香茶菜化学成分研究 III [J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(1): 76-78.
- [10] Wei Z X, Gao Y H, Yang F, et al. Three new diterpenoids from *Isodon nervosus* [J]. *Helv Chim Acta*, 2011, 94(7): 1320-1325.
- [11] 魏志雄, 倪林, 候媛芳, 等. 显脉香茶菜化学成分的研究 (V) [J]. 广州中医药大学学报, 2011, 28(5): 516-518.
- [12] 魏志雄, 高幼衡, 卢海啸, 等. 显脉香茶菜中二萜类成分研究 [J]. 中草药, 2012, 43(2): 247-250.
- [13] Gao Y H, Wei Z X, Cheng Y, et al. Cytotoxic ent-Kaurane diterpenoids from *Isodon nervosus* [J]. *Chem Biodiver*, 2013, 10(8): 1487-1493.
- [14] Yan F L, Guo L Q, Bai S P, et al. Two new diterpenoids and other constituents from *Isodon nervosus* [J]. *Chin Chem Soc*, 2008, 55(4): 933-936.
- [15] Sun H D, Qiu S X, Lobkovsky E B, et al. Crystal and molecular structures of a natural equimolecular mixture of two epimeric diterpenes [J]. *Tetrahedron*, 2001, 57(1): 65-70.