

连钱草化学成分研究

舒任庚^{1*}, 蔡慧¹, 王晓敏¹, 邓慧云², 屠鹏飞^{3*}

1. 江西中医药大学药学院, 江西南昌 330004
2. 南昌济生制药厂, 江西南昌 330115
3. 北京大学药学院, 北京 100083

摘要: 目的 研究连钱草 *Glechoma longituba* 全草的化学成分。方法 采用有机溶剂提取, 硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱、半制备 HPLC 及重结晶等方法进行分离纯化, 通过理化性质和波谱数据鉴定化合物的结构。结果 从连钱草 75%乙醇中分离得到 13 个化合物, 分别鉴定为熊果酸(1)、齐墩果酸(2)、原儿茶醛(3)、白桦脂酸(4)、木犀草素(5)、 β -谷甾醇(6)、芦丁(7)、丁香酸(8)、乙酰丁香酸(9)、2,5-二甲氧基对苯二甲酸(10)、(E)-3-[4-(carboxymethoxy)-3-methoxyphenyl] acrylic acid(11)、大黄素(12)、黑麦交酯(13)。结论 化合物 8~10、12 为首次从该植物中分离得到, 化合物 11、13 为首次从活血丹属植物中分离得到。

关键词: 连钱草; 熊果酸; 丁香酸; 大黄素; 黑麦交酯

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)20-4215-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.20.014

Chemical constituents of *Glechoma longituba*

SHU Ren-geng¹, CAI Hui¹, WANG Xiao-min¹, DENG Hui-yun², TU Peng-fei³

1. School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China
2. Nanchang Jisheng Pharmaceutical Factory, Nanchang 330115, China
3. School of Pharmacy, Peking University, Beijing 100083, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents of *Glechoma longituba*. **Methods** Chemical constituents were extracted by organic solvents, isolated and purified by chromatographic techniques with silica gel, Sephadex LH-20, semi-preparative HPLC, and recrystallization. Their structures were elucidated on the basis of physiochemical and spectral analyses. **Results** Thirteen compounds were obtained and elucidated as ursolic acid (1), asoleanolic acid (2), protocatechualdehyde (3), betulinic acid (4), luteolin (5), β -sitosterol (6), lutin (7), syringic acid (8), 4-acetoxy-3,5-dimethoxybenzoic acid (9), 2,5-dihydroxy-1,4-benzenedicarboxylic acid (10), (E)-3-[4-(carboxymethoxy)-3-methoxyphenyl] acrylic acid (11), emodin (12), and loliolide (13). **Conclusion** Compounds 8—10 and 12 are isolated from this plant for the first time. Compounds 11 and 13 are isolated from the plants of *Glechoma* Linn. for the first time.

Key words: *Glechoma longituba* (Nakai) Kupr.; ursolic acid; syringic acid; emodin; loliolide

连钱草为唇形科植物活血丹 *Glechoma longituba* (Nakai) Kupr. 的干燥地上部分。我国除甘肃、青海、新疆及西藏外, 各地均有分布。春至秋季采收, 除去杂质, 晒干。其性辛, 微苦, 微寒, 归肝、肾、膀胱经, 有利湿通淋、清热解毒、散瘀消肿的功能。临幊上主要用于利小便, 治疗膀胱结石、肾结石、输尿管结石、肾炎水肿、湿热黄疸、

胆囊炎、胆石症、腮腺炎、烧伤等。现代药理研究证实, 连钱草具有利尿利胆、调血脂、溶石、降血糖、抗炎、抗菌、抗癌等作用^[1]。本课题组从连钱草全草中分离得到 13 个化合物, 根据理化性质和波谱数据分别鉴定为熊果酸(ursolic acid, 1)、齐墩果酸(asoleanolic acid, 2)、原儿茶醛(protocatechualdehyde, 3)、白桦脂酸(betulinic acid, 4)、木

收稿日期: 2017-05-12

基金项目: 江西省科技支撑计划项目(2010BSA17600); 国家自然科学基金资助项目(81360631)

*通信作者 舒任庚(1964—), 男, 博士生导师, 教授, 研究方向为中药活性成分及新药开发。Tel: (0791)87118993 E-mail: shurg@163.com

屠鹏飞(1963—), 男, 博士生导师, 研究方向为中药活性成分及中药复方。Tel: (010)82802750 E-mail: pengfeitu@bjmu.edu.cn

犀草素 (luteolin, **5**)、 β -谷甾醇 (β -sitosterol, **6**)、芦丁 (lutein, **7**)、丁香酸 (syringic acid, **8**)、乙酰丁香酸 (4-acetoxy-3,5-dimethoxybenzoic acid, **9**)、2,5-二甲氧基对苯二甲酸 (2,5-dihydroxy-1,4-benzene-dicarboxylic acid, **10**)、(*E*)-3-[4-(carboxymethoxy)-3-methoxyphenyl] acrylic acid (**11**)、大黄素 (emodin, **12**)、黑麦交酯 (loliolide, **13**)。其中化合物 **8~10**、**12** 为首次从该植物中分离得到, 化合物 **11**、**13** 为首次从活血丹属植物中分离得到。

1 仪器与材料

Bruker Avance-600 FT NMR (Bruker 公司); Agilent 1200 series LC-MSD-Trap 6320 (Agilent 公司); X-4 型显微熔点测定仪 (北京泰克仪器有限公司); GZX-9140 MBF 数显鼓风干燥箱 (上海博迅实业有限公司); SHE-DC (III) 循环水真空泵 (巩义市英峪生化仪器厂); KQ-250DB 超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); 柱色谱硅胶(200~300 目)、薄层色谱硅胶 GF₂₅₄ 购于青岛海洋化工厂; Sephadex LH-20 (Pharmacia 公司); 其余试剂均为分析纯。实验用连钱草由南昌济生制药厂提供, 经江西中医药大学药用植物教研室葛菲教授鉴定为活血丹属植物连钱草 *Glechoma longituba* (Nakai) Kupr. 的全草。

2 提取与分离

干燥的连钱草 17 kg, 切碎, 体积分数为 75% 乙醇煮提 3 次, 每次 2 h, 合并煮提液, 浓缩, 得粗提物浸膏 3.7 kg。浸膏用水分散, 依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取, 减压浓缩, 得各部分浸膏。醋酸乙酯部位 112 g 经硅胶柱色谱分离, 以氯仿-丙酮 (20:1→1:1) 梯度洗脱, TLC 跟踪, 将相似成分合并后得到 I (23.5 g)、II (18.9 g)、III (11.2 g)、IV (13.4 g)、V (22.7 g)、VI (8.3 g) 共 6 个部分。部分 I 经过反复硅胶柱色谱得到浅黄色油状物 (尚未鉴定) 和化合物 **6** (10.5 mg)。部分 II 经反复硅胶柱色谱、Sephadex-LH 20 色谱分离得到化合物 **4** (5.6 mg)、**1** (22.6 mg) 和 **2** (13.3 mg)。部分 III 经过反复 Sephadex-LH 20 和硅胶柱色谱分离纯化得到化合物 **13** (9.5 mg) 和 **12** (5.9 mg)。部分 IV 经过反复硅胶柱色谱和 Sephadex-LH 20 分离纯化得到化合物 **5** (19.5 mg) 和 **7** (32.8 mg)。部分 V 经过反复硅胶柱色谱和重结晶分离纯化得到化合物 **3** (39.1 mg)、**9** (10.0 mg)、**8** (8.2 mg) 和 **10** (12.0 mg)。部分 VI 经过反复硅胶、凝胶柱色谱及半制备

液相色谱分离得到化合物 **11** (8.7 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 无色针状结晶 (甲醇), mp 285~287 °C, ESI-MS *m/z*: 455 [M-H]⁻。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 0.75 (3H, s, 26-CH₃), 0.82 (3H, d, *J* = 6.0 Hz, 29-CH₃), 0.87 (3H, s, 24-CH₃), 0.91 (3H, d, *J* = 4.0 Hz, 30-CH₃), 1.04 (3H, s, 25-CH₃), 3.00 (2H, m, H-11), 4.28 (1H, d, *J* = 4.5 Hz, H-3), 5.13 (1H, t, *J* = 3.4 Hz, H-12); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 38.2 (C-1), 27.0 (C-2), 76.8 (C-3), 38.3 (C-4), 54.7 (C-5), 18.0 (C-6), 32.7 (C-7), 39.5 (C-8), 47.0 (C-9), 36.2 (C-10), 23.2 (C-11), 124.5 (C-12), 128.2 (C-13), 41.6 (C-14), 27.5 (C-15), 24.3 (C-16), 46.8 (C-17), 52.3 (C-18), 21.0 (C-19), 33.2 (C-20), 30.1 (C-21), 36.5 (C-22), 28.2 (C-23), 15.2 (C-24), 16.0 (C-25), 16.9 (C-26), 3.8 (C-27), 178.2 (C-28), 17.0 (C-29), 22.8 (C-30)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[2], 故鉴定化合物 **1** 为熊果酸。

化合物 **2**: 白色无定形粉末 (甲醇), mp 280~282 °C, ESI-MS *m/z*: 455 [M-H]⁻, ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 0.78 (3H, s, 24-CH₃), 0.82 (3H, s, 23-CH₃), 0.91 (3H, s, 26-CH₃), 0.96 (3H, s, 27-CH₃), 0.94 (3H, s, 25-CH₃), 0.98 (3H, s, 29-CH₃), 1.16 (3H, s, 30-CH₃), 3.15 (1H, dd, *J* = 16.5, 6.5 Hz, H-3), 5.24 (1H, t, *J* = 7.5 Hz, H-12); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 39.9 (C-1), 28.9 (C-2), 79.9 (C-3), 40.0 (C-4), 56.9 (C-5), 19.7 (C-6), 34.2 (C-7), 40.7 (C-8), 48.8 (C-9), 37.7 (C-10), 24.1 (C-11), 123.8 (C-12), 145.4 (C-13), 43.0 (C-14), 29.0 (C-15), 24.2 (C-16), 47.8 (C-17), 42.9 (C-18), 47.4 (C-19), 31.8 (C-20), 35.0 (C-21), 34.0 (C-22), 28.0 (C-23), 16.5 (C-24), 16.0 (C-25), 17.9 (C-26), 26.5 (C-27), 182.0 (C-28), 33.7 (C-29), 24.7 (C-30)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[3], 故鉴定化合物 **2** 为齐墩果酸。

化合物 **3**: 白色结晶 (甲醇), mp 151~153 °C, ESI-MS *m/z*: 137 [M-H]⁻, ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.07 (1H, s, 4-OH), 9.72 (1H, s, -CHO), 9.52 (1H, s, 3-OH), 7.28 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.5 Hz, H-6), 7.23 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, H-2), 6.90 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 128.9 (C-1), 115.5 (C-2), 145.9 (C-3), 152.1 (C-4), 114.4 (C-5), 124.4 (C-6), 191.0 (C-7)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[4], 故鉴定化合物 **3** 为原儿茶醛。

化合物4:白色结晶(甲醇), mp 249~251 °C, ESI-MS m/z : 455 [M-H]⁻, ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 0.75 (3H, s, 24-CH₃), 0.82 (3H, s, 25-CH₃), 0.93 (3H, s, 23-CH₃), 0.97 (CH₃, s, H-26), 0.98 (3H, s, 27-CH₃), 1.69 (3H, s, 30-CH₃), 3.20 (1H, dd, *J* = 4.6, 11.3 Hz, H-3), 4.61 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, H-29a), 4.74 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, H-29b); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 38.5 (C-1), 27.1 (C-2), 76.8 (C-3), 39.0 (C-4), 54.9 (C-5), 17.9 (C-6), 33.9 (C-7), 40.2 (C-8), 49.9 (C-9), 37.6 (C-10), 20.5 (C-11), 25.1 (C-12), 38.2 (C-13), 42.0 (C-14), 30.1 (C-15), 31.7 (C-16), 55.4 (C-17), 46.6 (C-18), 48.5 (C-19), 150.3 (C-20), 29.2 (C-21), 36.7 (C-22), 28.1 (C-23), 15.7 (C-24), 15.8 (C-25), 15.9 (C-26), 14.4 (C-27), 177.2 (C-28), 109.6 (C-29), 18.9 (C-30)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[5], 故鉴定化合物4为白桦脂酸。

化合物5:黄色粉末(甲醇), mp 330~331 °C, 易溶于醋酸乙酯、乙醇、甲醇, TLC薄层上喷1% AlCl₃乙醇溶液置紫外灯下显鲜黄色荧光。ESI-MS m/z : 285 [M-H]⁻, ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.19 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, H-6), 6.44 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, H-8), 6.66 (1H, s, H-3), 6.90 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-5'), 7.42 (2H, dd, *J* = 8.5, 2.0 Hz, H-2', 6'), 12.98 (1H, s, 5-OH); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 181.6 (C-4), 164.1 (C-7), 163.8 (C-9), 161.4 (C-5), 157.2 (C-3'), 149.6 (C-2), 145.7 (C-4'), 121.5 (C-1'), 118.9 (C-6'), 116.0 (C-2'), 113.3 (C-5'), 103.7 (C-10), 102.8 (C-3), 98.8 (C-6), 93.8 (C-8)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[6], 故鉴定化合物5为木犀草素。

化合物6:白色结晶(氯仿), mp 130~135 °C, Liebermann-Burchard反应阳性。TLC显色行为和Rf值与β-谷甾醇对照品完全一致, 其MS和¹H-NMR数据与文献报道基本一致^[7], 故鉴定化合物6为β-谷甾醇。

化合物7:黄色粉末(甲醇), mp 185~189 °C, 易溶于乙醇、甲醇, TLC薄层上喷1% AlCl₃乙醇溶液置紫外灯下显鲜黄色荧光, Molish反应阳性。ESI-MS m/z : 609 [M-H]⁻, ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.59 (1H, brs, 5-OH), 7.55 (2H, dd, *J* = 8.0, 2.5 Hz, H-2', 6'), 6.83 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5'), 6.38 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.19 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6), 5.34 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-1"), 4.38 (1H, brs, H-1''), 1.00 (3H, d, *J* = 6.0 Hz, CH₃); ¹³C-NMR (125

MHz, DMSO-*d*₆) δ : 177.3 (C-4), 164.0 (C-7), 161.2 (C-5), 156.6 (C-9), 156.4 (C-2), 148.4 (C-3'), 144.7 (C-4'), 133.3 (C-3), 121.6 (C-6'), 121.2 (C-1'), 116.2 (C-5'), 115.2 (C-2'), 103.9 (C-10), 101.2 (C-1''), 100.7 (C-1'''), 98.6 (C-6), 93.6 (C-8), 76.4 (C-3''), 75.9 (C-5''), 74.1 (C-2''), 71.8 (C-4''), 70.5 (C-4''), 70.4 (C-2''), 70.0 (C-3''), 68.2 (C-5''), 67.0 (C-6''), 17.7 (C-6'')”。以上波谱数据与文献报道基本一致^[8], 故鉴定化合物7为芦丁。

化合物8:白色针晶(甲醇), mp 205~212 °C, ESI-MS m/z : 197 [M-H]⁻, ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.40 (2H, s, H-2, 6), 3.98 (6H, s, 2×-OCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 171.1 (COOH), 146.7 (C-3, 5), 140.0 (C-4), 120.0 (C-1), 107.3 (C-2, 6), 56.5 (2×-OCH₃)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物8为丁香酸。

化合物9:淡黄色结晶(甲醇), mp 171~175 °C, ESI-MS m/z : 239 [M-H]⁻, ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 2.76 (3H, s, OOCCH₃), 3.97 (6H, s, 2×-OCH₃), 7.40 (2H, s, H-2, 6), 8.45 (1H, s, COOH); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 120.0 (C-1), 107.3 (C-2), 146.7 (C-3), 140.0 (C-4), 146.7 (C-5), 107.3 (C-6), 56.5 (OCH₃), 29.55 (CH₃), 170.7 (CH₃CO-), 177.3 (COOH)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物9为乙酰丁香酸。

化合物10:白色结晶(甲醇), mp 201~203 °C, ESI-MS m/z : 225 [M-H]⁻, ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 3.88 (6H, s, 2×OCH₃), 7.31 (2H, s, H-3, 6); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 121.4 (C-1, 4), 148.0 (C-2, 5), 107.9 (C-3, 6), 56.7 (OCH₃), 169.6 (2×COOH)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物10为2,5-二甲氧基对苯二甲酸。

化合物11:黑色结晶(甲醇), mp 213~217 °C, ESI-MS m/z : 251 [M-H]⁻, ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.55 (1H, d, *J* = 15.5 Hz, H-3), 7.09 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-6'), 7.04 (1H, dd, *J* = 7.5, 2.0 Hz, H-5'), 6.78 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-3'), 6.36 (1H, d, *J* = 15.5 Hz, H-2), 4.75 (2H, s, OCH₂), 3.68 (3H, s, OCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 165.9 (C-1), 115.7 (C-2), 145.5 (C-3), 125.2 (C-1'), 112.7 (C-2'), 148.7 (C-3'), 146.3 (C-4'), 114.9 (C-5'), 121.6 (C-6'), 51.8 (OCH₃), 60.4 (OCH₂), 168.4 (COOH)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物

11 为 (*E*)-3-[4-(carboxymethoxy)-3-methoxyphenyl] acrylic acid。

化合物 **12**: 橘红色结晶(乙醇), mp 256~257 °C, ESI-MS *m/z*: 269 [M-H]⁻, ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.19 (1H, s, 1-OH), 12.15 (1H, s, 8-OH), 7.60 (1H, s, H-4), 7.27 (1H, brs, H-5), 7.20 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-2), 6.67 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-7), 2.50 (3H, s, CH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 189.5 (C-9), 181.6 (C-10), 164.5 (C-1), 161.4 (C-6), 148.2 (C-3), 135.1 (C-10a), 132.9 (C-4a), 124.1 (C-4), 120.5 (C-2), 113.5 (C-9a), 109.1 (C-5), 108.0 (C-7), 21.5 (CH₃)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **12** 为大黄素。

化合物 **13**: 白色结晶(甲醇), mp 330~331 °C, ESI-MS *m/z*: 197 [M+H]⁺, ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 5.70 (1H, s, H-7), 4.34 (1H, q, *J*=3.5 Hz, H-3), 2.46 (1H, dt, *J*=14.5, 2.5 Hz, H-4b), 1.98 (1H, dt, *J*=14.5, 2.5 Hz, H-2b), 1.77 (1H, m, H-4a), 1.77 (3H, s, H-11), 1.52 (1H, dd, *J*=14.5, 4.0 Hz, H-2a), 1.48 (3H, s, H-9), 1.28 (3H, s, H-10); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 182.5 (C-6), 172.0 (C-8), 112.9 (C-7), 86.9 (C-5), 66.8 (C-3), 47.3 (C-2), 45.6 (C-4), 35.9 (C-1), 30.6 (C-9), 27.0 (C-11), 26.5 (C-10)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 **13** 为黑麦交酯。

参考文献

- [1] 陈利华, 李欣. 连钱草化学成分及药理作用研究 [J]. 中草药, 2012, 37(9): 1249-1252.
- [2] 颜佩芳, 刘桂英, 赵士敏, 等. 平车前化学成分的研究 [J]. 中国药学杂志, 2009, 44(1): 19-21.
- [3] 郭启雷, 杨峻山. 掌叶覆盆子的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(3): 198-200.
- [4] 毛华丽, 占扎君, 钱捷. 黑面神化学成分的研究 [J]. 中草药, 2009, 40(增刊): 100-102.
- [5] 杨秀伟, 郭庆梅. 蓝桉果实化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(6): 496-500.
- [6] Asada H, Miyase T, Fukushima S. Sesquiterpene lactones from *Ixeris tamagawaensis* KITAM [J]. Chem Pharm Bul, 1984, 32(5): 1724-1728.
- [7] 徐润生, 袁珂, 殷明文, 等. 羽芒菊化学成分研究 [J]. 中草药, 2009, 40(7): 1015-1018.
- [8] 夏新中, 周思祥, 屠鹏飞. 细梗胡枝子化学成分的研究 (II) [J]. 中草药, 2010, 41(9): 1432-1435.
- [9] 李明潺, 唐生安, 段宏泉. 野雉尾金粉蕨化学成分研究 [J]. 中草药, 2010, 41(5): 685-688.
- [10] 张治针, 果德安, 李长龄, 等. 滇白珠化学成分的研究 (I) [J]. 中草药, 1998, 29(8): 508-511.
- [11] 郭国建, 吴立军, 冀克俭, 等. 2,5-二羟基对苯二甲酸结构与性能表征 [J]. 化学分析计量, 2011, 20(3): 46-49.
- [12] Basak A, Rudra K R, Ghosh S C, et al. Active site mapping of porcine liver esterase (PLE) and porcine pancreatic lipase (PPL) [J]. Indian J Chem Section B: Org Chem Including Med Chem, 2001, 40B: 974-980.
- [13] 魏华, 何春年, 彭勇, 等. 川木香化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(9): 1249-1252.
- [14] 崔锡强, 王洪庆, 刘超, 等. 蚕沙化学成分的研究 [J]. 中草药, 2007, 38(4): 501-502.