

四季青中三萜类化学成分的研究

李若斐, 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 *Ilex chinensis* 中的三萜类化学成分。方法 应用多种色谱分离技术进行分离, 通过核磁、质谱等波谱方法鉴定化合物的结构。结果 从四季青 70%乙醇提取物中分离得到 13 个三萜类化合物, 分别鉴定为 3 β ,23-二羟基乌苏-12-烯-28-酸-28-*O*- β -D-吡喃葡萄糖酯苷 (1)、quadranside IV (2)、玉叶金花苷 R (3)、monepaloside F (4)、冬青苷 XXVII (5)、冬青苷 XXXVII (6)、冬青苷 XXXVIII (7)、冬青苷 XLI (8)、niga-ichigoside F1 (9)、kalidiumoside D (10)、竹节参苷 IVa (11)、长圆果冬青苷 M (12)、23-羟基-白桦酸-28-*O*- β -D-吡喃葡萄糖酯苷 (13)。结论 化合物 1、10、13 为首次从冬青属植物中分离得到, 化合物 2~8、11、12 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 四季青; 三萜皂苷; 3 β ,23-二羟基乌苏-12-烯-28-酸-28-*O*- β -D-吡喃葡萄糖酯苷; 玉叶金花苷 R; kalidiumoside D; 23-羟基-白桦酸-28-*O*- β -D-吡喃葡萄糖酯苷

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)07-1513-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.07.005

Triterpenoids from leaves of *Ilex chinensis*

LI Ruo-fei, 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 study the triterpenoids 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** Thirteen triterpenoid saponins were isolated from 70% ethanol extracts in the leaves of *I. chinensis* and identified as 3 β ,23-dihydroxyurs-12-en-28-oic acid 28-*O*- β -D-glucopyranoside (1), quadranside IV (2), mussaendoside R (3), monepaloside F (4), ilexoside XXVII (5), ilexoside XXXVII (6), ilexoside XXXVIII (7), ilexoside XLI (8), niga-ichigoside F1 (9), kalidiumoside D (10), chikusetsusaponin IVa (11), oblonganoside M (12), and 23-hydroxy-betulinic acid-28-*O*- β -D-glucopyranoside (13). **Conclusion** Compounds 1, 10, and 13 are isolated from the genus *Ilex* for the first time. Compounds 2—8, 11, and 12 are isolated from this plant for the first time.

Key words: *Ilex chinensis* Sims; triterpenoid saponins; 3 β ,23-dihydroxyurs-12-en-28-oic acid 28-*O*- β -D-glucopyranoside; mussaendoside R; kalidiumoside D; 23-hydroxy-betulinic acid-28-*O*- β -D-glucopyranoside

四季青为冬青科 (Aquifoliaceae) 冬青属 *Ilex* L. 植物冬青 *Ilex chinensis* Sims 的干燥叶, 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^[1]。三萜类化学成分是冬青属植物的主要成分^[2-3]。三萜类成分以乌苏烷型和齐墩果烷型为主^[4], 也有少量的羽扇豆烷型^[5-6]和木栓烷型^[7-8]三萜。现代药理活性研究表明, 从冬青属植物中分离得到的三萜类成分具有多种药理活性, 主要包括抗炎^[9]、保肝^[10]、抗

血栓^[11-12]、对心血管的作用^[13]、调血脂^[14]、细胞毒活性^[15-16]、抗菌^[17-18]、抗病毒^[19]等作用。为了从四季青中寻找和发现有活性的三萜类成分, 对四季青中的三萜类化学成分进行了深入细致的研究, 在已有化学成分研究^[20]的基础上, 又从其 70%乙醇提取部位中分离得到了 13 个三萜类化合物, 分别鉴定为 3 β ,23-二羟基乌苏-12-烯-28-酸-28-*O*- β -D-吡喃葡萄糖酯苷 (3 β ,23-dihydroxyurs-12-en-28-oic acid 28-*O*- β -D-glucopyranoside, 1)、quadranside IV (2)、玉

收稿日期: 2017-12-21

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程-天然产物系统创新与应用研究 (CAMS-I2M-1-010)

作者简介: 李若斐, 男, 在读硕士, 研究方向为中药药效物质基础研究。E-mail: lirofeif@imm.ac.cn

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

叶金花苷 R (mussaendoside R, **3**)、monepaloside F (**4**)、冬青苷 XXVII (ilexoside XXVII, **5**)、冬青苷 XXXVII (ilexoside XXXVII, **6**)、冬青苷 XXXVIII (ilexoside XXXVIII, **7**)、冬青苷 XLI (ilexoside XLI, **8**)、niga-ichigoside F1 (**9**)、kalidiumoside D (**10**)、竹节参苷 IVa (chikusetsusaponin IVa, **11**)、长圆果冬青苷 M (oblonganoside M, **12**)、23-羟基白桦酸-28-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖酯苷 (23-hydroxy-betulinic acid-28-*O*- β -*D*-glucopyranoside, **13**)。其中, 化合物 **1**、**10**、**13** 为首次从冬青属植物中分离得到, 化合物 **2**~**8**、**11**、**12** 为首次从该植物中分离得到。

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、VNS-600 (美国 Varian 公司); BRUKER AV500-III 型核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司); Shimadzu LC-6AD 高效液相色谱泵配备 SPD-20A 双波长紫外吸收检测器 (日本 Shimadzu 公司); 半制备柱 RP₁₈ (250 mm×10 mm, 5 μ m)、ODS 柱色谱填料 (日本 YMC 公司); 大孔吸附树脂 HP-20、MCI HP-20 (日本三菱化学株式会社); 葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 (瑞典 GE Healthcare Bio-Science AB 公司); 薄层硅胶预制板 (烟台市化学工业研究所); 柱色谱用硅胶 (100~200、200~300 目, 青岛海洋化工集团); 所用溶剂均购自北京化工厂, 均为分析纯或色谱纯。

四季青于 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浸膏 460 g, 经硅胶柱色谱分离, 石油醚-丙酮 (4 : 1、3 : 1、2 : 1、1.5 : 1、1 : 1) 梯度洗脱, 得到 12 个组分 A~L。组分 H (80.6 g) 与 I (7.8 g) 合并后经硅胶柱色谱, 二氯甲烷-甲醇-水 (10 : 1 : 0.1~7 : 3 : 0.5) 梯度洗脱, 得到 9 个亚组分, 其中亚组分 H6 (4.7 g) 经 Sephadex LH-20 柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (1 : 1) 等度洗脱, 得到了 3 个组分 (H6A~H6C)。亚组分 H6B (3.6 g) 经 ODS 中压柱分离, 50%~100%

甲醇梯度洗脱得到了 15 个组分 (H6B1~H6B15)。其中 H6B14 经 HPLC 半制备 (流动相为 75% 甲醇) 分离得到化合物 **1** (3 mg) 和 **13** (3 mg)。亚组分 H9 (5.7 g) 经 Sephadex LH-20 色谱, 二氯甲烷-甲醇 (1 : 1) 为流动相, 分离得到 5 个组分 (H9A~H9E)。H9B (2.3 g) 经 ODS 中压柱分离, 50%~100% 甲醇梯度洗脱, 得到 12 个组分 (H9B1~H9B12)。H9B3 经 HPLC 半制备 (流动相为 60% 甲醇) 分离得到化合物 **9** (20 mg)。H9B6 经 HPLC 半制备 (流动相为 58% 甲醇) 分离得到化合物 **10** (6.5 mg)。H9B10 经 HPLC 半制备 (流动相为 65% 甲醇) 分离得到化合物 **2** (25 mg)。

经醋酸乙酯萃取后剩余水部位浸膏经大孔吸附树脂 HP-20 柱分离, 依次用水和 20%、50%、95% 乙醇进行洗脱, 得到 4 个部分。其中 50% 乙醇洗脱部分 (300 g), 经 MCI HP-20 柱色谱, 依次用水和 40%、70%、95% 乙醇进行洗脱。其中 70% 乙醇洗脱部位经硅胶柱色谱分离, 二氯甲烷-甲醇-水 (10 : 1 : 0.1~5 : 1 : 0.1) 梯度洗脱, 得到 10 个组分 (WC3A~WC3J)。组分 WC3C 经 ODS 中压柱色谱, 50%~100% 甲醇梯度洗脱, 得到 3 个组分 (WC3C1~WC3C3)。其中 WC3C3 经 HPLC 半制备分离 (流动相为 65% 甲醇) 得到化合物 **4** (45 mg)。组分 WC3E 经 ODS 中压柱色谱, 50%~100% 甲醇梯度洗脱, 得到 4 个组分 (WC3E1~WC3E4)。其中 WC3E3 经 HPLC 半制备分离 (流动相为 50% 乙腈) 得到化合物 **3** (8 mg)、**5** (3 mg)、**12** (45 mg)。组分 WC3G 经 ODS 中压柱色谱, 50%~100% 甲醇梯度洗脱, 得到 3 个组分 (WC3G1~WC3G3)。其中 WC3G2 经 HPLC 半制备分离 (流动相为 40% 乙腈) 得到化合物 **6** (109 mg)、**7** (47 mg)、**8** (15 mg)。组分 WC3I 经 ODS 中压柱色谱, 50%~100% 甲醇梯度洗脱, 得到 5 个组分 (WC3I1~WC3I5)。其中 WC3I4 经 HPLC 半制备分离 (流动相为 80% 甲醇, 含 0.1% 乙酸) 得到化合物 **11** (61 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 657.3 [$M+Na$]⁺。¹H-NMR (400 MHz, C₅D₅N) δ : 6.30 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-1'), 5.49 (1H, t, J = 3.2 Hz, H-12), 4.20 (1H, overlapped, H-23a), 4.19 (1H, overlapped, H-3), 3.72 (1H, d, J = 10.4 Hz, H-23b), 2.54 (1H, d, J = 11.2 Hz, H-18), 1.22 (3H, s, H-26), 1.15 (3H, s, H-27), 1.07 (3H, s, H-24), 0.96 (3H, d, J = 6.4 Hz, H-29), 0.89

(3H, brs, H-30); ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 39.0 (C-1), 27.8 (C-2), 73.3 (C-3), 42.9 (C-4), 48.1 (C-5), 18.6 (C-6), 33.3 (C-7), 40.2 (C-8), 48.5 (C-9), 36.8 (C-10), 23.7 (C-11), 126.2 (C-12), 138.5 (C-13), 42.5 (C-14), 28.7 (C-15), 24.7 (C-16), 48.4 (C-17), 53.4 (C-18), 39.3 (C-19), 39.1 (C-20), 30.8 (C-21), 37.1 (C-22), 67.7 (C-23), 13.2 (C-24), 17.4 (C-25), 17.8 (C-26), 23.8 (C-27), 176.2 (C-28), 16.3 (C-29), 21.3 (C-30), 95.8 (C-1'), 74.1 (C-2'), 79.0 (C-3'), 71.2 (C-4'), 79.3 (C-5'), 62.3 (C-6')。以上数据与文献报道一致^[21], 故鉴定化合物 **1** 为 3 β ,23-二羟基乌苏-12-烯-28-酸-28-*O*- β -D-吡喃葡萄糖酯苷。

化合物 **2**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 673.3 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 6.28 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1'), 5.44 (1H, brt, $J = 3.5$ Hz, H-12), 4.24 (1H, overlapped, H-2), 4.29 (1H, overlapped, H-3), 4.23 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-23a), 3.72 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-23b), 2.52 (1H, d, $J = 11.5$ Hz, H-18), 1.20 (3H, s, H-26), 1.12 (3H, s, H-25), 1.10 (3H, s, H-27), 1.07 (3H, s, H-24), 0.92 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-29), 0.88 (3H, brs, H-30); ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 48.1 (C-1), 68.9 (C-2), 78.1 (C-3), 43.7 (C-4), 48.1 (C-5), 18.5 (C-6), 33.2 (C-7), 40.3 (C-8), 47.8 (C-9), 38.3 (C-10), 23.9 (C-11), 126.1 (C-12), 138.5 (C-13), 42.6 (C-14), 28.7 (C-15), 24.6 (C-16), 48.4 (C-17), 53.3 (C-18), 39.3 (C-19), 39.1 (C-20), 30.8 (C-21), 36.8 (C-22), 66.4 (C-23), 14.5 (C-24), 17.7 (C-25), 17.8 (C-26), 23.8 (C-27), 176.2 (C-28), 17.4 (C-29), 21.3 (C-30), 95.7 (C-1'), 74.1 (C-2'), 78.9 (C-3'), 71.1 (C-4'), 79.3 (C-5'), 62.2 (C-6')。以上数据与文献报道一致^[22], 故鉴定化合物 **2** 为 quadranoside IV。

化合物 **3**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 819.3 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 6.32 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1'), 5.57 (1H, brt, $J = 3.2$ Hz, H-12), 4.95 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1'), 3.40 (1H, dd, $J = 11.6, 4.4$ Hz, H-3), 2.95 (1H, s, H-18), 1.72 (3H, s, H-27), 1.43 (3H, s, H-29), 1.32 (3H, s, H-23), 1.20 (3H, s, H-26), 1.08 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-30), 1.03 (3H, s, H-24), 0.91 (3H, s, H-25); ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 38.9 (C-1), 26.7 (C-2), 89.0 (C-3), 39.6 (C-4), 55.9 (C-5), 18.7 (C-6), 33.5 (C-7), 40.5 (C-8), 47.7 (C-9), 37.8 (C-10), 24.0 (C-11), 128.4 (C-12), 139.3 (C-13), 42.2 (C-14), 29.3 (C-15), 26.1 (C-16), 48.7 (C-17),

54.5 (C-18), 72.6 (C-19), 42.1 (C-20), 26.6 (C-21), 36.9 (C-22), 28.3 (C-23), 17.0 (C-24), 15.7 (C-25), 17.4 (C-26), 24.6 (C-27), 177.0 (C-28), 27.0 (C-29), 16.8 (C-30), 107.1 (C-1'), 75.8 (C-2'), 79.4 (C-3'), 71.9 (C-4'), 78.8 (C-5'), 63.1 (C-6'), 95.9 (C-1''), 74.1 (C-2''), 79.0 (C-3''), 71.2 (C-4''), 78.4 (C-5''), 62.3 (C-6'')。以上数据与文献报道一致^[23], 故鉴定化合物 **3** 为玉叶金花苷 R。

化合物 **4**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 789.3 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 6.30 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-1'), 5.55 (1H, brt, $J = 3.0$ Hz, H-12), 4.82 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1'), 3.33 (1H, dd, $J = 11.5, 4.0$ Hz, H-3), 2.93 (1H, s, H-18), 1.69 (3H, s, H-27), 1.38 (3H, s, H-29), 1.29 (3H, s, H-23), 1.19 (3H, s, H-26), 1.06 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-30), 1.00 (3H, s, H-24), 0.91 (3H, s, H-25); ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 38.9 (C-1), 26.8 (C-2), 88.8 (C-3), 39.6 (C-4), 56.0 (C-5), 18.7 (C-6), 33.5 (C-7), 40.6 (C-8), 47.8 (C-9), 37.8 (C-10), 24.1 (C-11), 128.5 (C-12), 139.3 (C-13), 42.2 (C-14), 29.3 (C-15), 26.2 (C-16), 48.7 (C-17), 54.5 (C-18), 72.7 (C-19), 42.1 (C-20), 26.7 (C-21), 37.0 (C-22), 28.3 (C-23), 17.0 (C-24), 15.7 (C-25), 17.5 (C-26), 24.6 (C-27), 177.0 (C-28), 27.1 (C-29), 16.7 (C-30), 107.7 (C-1'), 75.6 (C-2'), 79.0 (C-3'), 71.3 (C-4'), 67.2 (C-5'), 95.9 (C-1''), 74.1 (C-2''), 79.3 (C-3''), 71.3 (C-4''), 78.7 (C-5''), 62.4 (C-6'')。以上数据与文献数据报道一致^[24], 故鉴定化合物 **4** 为 monepaloside F。

化合物 **5**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 805.6 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 6.33 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1'), 5.57 (1H, brs, H-12), 4.99 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1'), 4.27 (1H, brd, $J = 12.0$ Hz, H-23a), 3.73 (1H, brd, $J = 12.0$ Hz, H-23b), 2.94 (1H, s, H-18), 1.65 (3H, s, H-27), 1.39 (3H, s, H-29), 1.23 (3H, s, H-26), 1.07 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-30), 1.03 (3H, s, H-24), 0.96 (3H, s, H-25); ^{13}C -NMR (150 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 38.9 (C-1), 26.2 (C-2), 81.9 (C-3), 43.5 (C-4), 47.6 (C-5), 18.4 (C-6), 33.2 (C-7), 40.6 (C-8), 47.9 (C-9), 37.0 (C-10), 24.1 (C-11), 128.5 (C-12), 139.3 (C-13), 42.1 (C-14), 29.3 (C-15), 26.1 (C-16), 48.6 (C-17), 54.4 (C-18), 72.6 (C-19), 42.1 (C-20), 26.7 (C-21), 37.8 (C-22), 64.5 (C-23), 13.6 (C-24), 16.3 (C-25), 17.5 (C-26), 24.6 (C-27), 177.0 (C-28),

27.0 (C-29), 16.7 (C-30), 106.7 (C-1'), 73.1 (C-2'), 74.8 (C-3'), 69.7 (C-4'), 67.0 (C-5'), 95.9 (C-1''), 74.1 (C-2''), 79.3 (C-3''), 71.2 (C-4''), 79.0 (C-5''), 62.3 (C-6''). 以上数据与文献报道一致^[25], 故鉴定化合物 **5** 为冬青苷 XXVII。

化合物 **6**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 835.6 $[M+Na]^+$ 。¹H-NMR (400 MHz, C₅D₅N) δ : 6.32 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-1''), 5.56 (1H, brs, H-12), 5.15 (1H, d, J = 7.0 Hz, H-1'), 4.24 (1H, brd, J = 10.0 Hz, H-23a), 3.73 (1H, brd, J = 10.0 Hz, H-23b), 2.94 (1H, s, H-18), 1.66 (3H, s, H-27), 1.40 (3H, s, H-29), 1.23 (3H, s, H-26), 1.07 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-30), 1.01 (6H, s, H-24, 25); ¹³C-NMR (125 MHz, C₅D₅N) δ : 38.8 (C-1), 25.9 (C-2), 82.2 (C-3), 43.5 (C-4), 47.7 (C-5), 18.4 (C-6), 33.2 (C-7), 40.6 (C-8), 47.8 (C-9), 36.9 (C-10), 24.1 (C-11), 128.4 (C-12), 139.3 (C-13), 42.1 (C-14), 29.3 (C-15), 26.1 (C-16), 48.6 (C-17), 54.5 (C-18), 72.6 (C-19), 42.1 (C-20), 26.7 (C-21), 37.8 (C-22), 64.8 (C-23), 13.7 (C-24), 16.3 (C-25), 17.5 (C-26), 24.6 (C-27), 177.0 (C-28), 27.0 (C-29), 16.7 (C-30), 105.9 (C-1'), 75.9 (C-2'), 78.7 (C-3'), 71.7 (C-4'), 78.4 (C-5'), 62.9 (C-6'), 95.8 (C-1''), 74.1 (C-2''), 79.0 (C-3''), 71.2 (C-4''), 79.3 (C-5''), 62.3 (C-6'')。以上数据与文献报道一致^[26], 故鉴定化合物 **6** 为冬青苷 XXXVII。

化合物 **7**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 835.6 $[M+Na]^+$ 。¹H-NMR (500 MHz, C₅D₅N) δ : 6.32 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-1''), 5.56 (1H, brs, H-12), 4.93 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-1'), 4.06 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-23a), 4.01 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-23b), 2.94 (1H, s, H-18), 1.61 (3H, s, H-27), 1.41 (3H, s, H-29), 1.21 (3H, s, H-26), 1.07 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-30), 1.03 (3H, s, H-24), 0.99 (3H, s, H-25); ¹³C-NMR (125 MHz, C₅D₅N) δ : 38.6 (C-1), 27.5 (C-2), 72.5 (C-3), 42.9 (C-4), 48.8 (C-5), 18.8 (C-6), 33.3 (C-7), 40.5 (C-8), 47.7 (C-9), 37.2 (C-10), 24.0 (C-11), 128.4 (C-12), 139.3 (C-13), 42.1 (C-14), 29.2 (C-15), 26.1 (C-16), 48.6 (C-17), 54.4 (C-18), 72.7 (C-19), 42.1 (C-20), 26.7 (C-21), 37.7 (C-22), 75.5 (C-23), 13.2 (C-24), 16.1 (C-25), 17.5 (C-26), 24.7 (C-27), 177.0 (C-28), 27.1 (C-29), 16.7 (C-30), 105.5 (C-1'), 75.2 (C-2'), 78.7 (C-3'), 71.7 (C-4'), 78.5 (C-5'), 62.9 (C-6'), 95.9 (C-1''), 74.1 (C-2''), 79.0 (C-3''), 71.3 (C-4''), 79.3 (C-5''), 62.3

(C-6'')。以上数据与文献报道一致^[26], 故鉴定化合物 **7** 为冬青苷 XXXVIII。

化合物 **8**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 835.6 $[M+Na]^+$ 。¹H-NMR (400 MHz, C₅D₅N) δ : 6.26 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-1'), 5.56 (1H, t, J = 3.0 Hz, H-12), 5.46 (1H, d, J = 4.0 Hz, H-1''), 4.18 (1H, dd, J = 10.0, 3.0 Hz, H-23a), 3.72 (1H, dd, J = 10.0, 3.0 Hz, H-23b), 3.09 (1H, td, J = 13.5, 4.5 Hz, H-16 α), 2.47 (1H, td, J = 13.5, 4.5 Hz, H-15 β), 2.96 (1H, s, H-18), 1.65 (3H, s, H-27), 1.36 (3H, s, H-29), 1.26 (3H, s, H-26), 1.09 (3H, s, H-24), 1.09 (3H, s, H-25), 1.04 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-30); ¹³C-NMR (125 MHz, C₅D₅N) δ : 39.0 (C-1), 27.8 (C-2), 73.6 (C-3), 42.9 (C-4), 48.7 (C-5), 18.8 (C-6), 33.3 (C-7), 40.6 (C-8), 47.9 (C-9), 37.3 (C-10), 24.1 (C-11), 128.5 (C-12), 139.4 (C-13), 42.1 (C-14), 29.4 (C-15), 26.0 (C-16), 48.8 (C-17), 54.3 (C-18), 72.7 (C-19), 42.0 (C-20), 26.7 (C-21), 37.7 (C-22), 67.9 (C-23), 13.1 (C-24), 16.2 (C-25), 17.5 (C-26), 24.6 (C-27), 177.1 (C-28), 27.0 (C-29), 16.7 (C-30), 95.6 (C-1'), 73.8 (C-2'), 78.9 (C-3'), 71.7 (C-4'), 77.1 (C-5'), 68.0 (C-6'), 100.5 (C-1''), 74.2 (C-2''), 75.5 (C-3''), 72.0 (C-4''), 74.0 (C-5''), 62.7 (C-6'')。以上数据与文献报道一致^[27], 故鉴定化合物 **8** 为冬青苷 XLI。

化合物 **9**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 689.2 $[M+Na]^+$ 。¹H-NMR (500 MHz, C₅D₅N) δ : 6.31 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-1'), 5.54 (1H, brs, H-12), 4.20 (1H, overlapped, H-3), 4.19 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-23a), 3.71 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-23b), 2.92 (1H, s, H-18), 1.61 (3H, s, H-27), 1.37 (3H, s, H-29), 1.24 (3H, s, H-26), 1.14 (3H, s, H-25), 1.08 (3H, s, H-24), 1.06 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-30); ¹³C-NMR (125 MHz, C₅D₅N) δ : 47.9 (C-1), 69.0 (C-2), 78.3 (C-3), 43.7 (C-4), 48.0 (C-5), 18.8 (C-6), 33.2 (C-7), 40.7 (C-8), 48.0 (C-9), 38.4 (C-10), 24.2 (C-11), 128.4 (C-12), 139.3 (C-13), 42.1 (C-14), 29.2 (C-15), 26.1 (C-16), 48.6 (C-17), 54.4 (C-18), 72.6 (C-19), 42.2 (C-20), 26.7 (C-21), 37.8 (C-22), 66.6 (C-23), 14.4 (C-24), 17.6 (C-25), 17.6 (C-26), 24.6 (C-27), 177.0 (C-28), 27.0 (C-29), 16.7 (C-30), 95.9 (C-1'), 74.1 (C-2'), 79.0 (C-3'), 71.3 (C-4'), 79.3 (C-5'), 62.4 (C-6')。以上数据与文献报道一致^[28], 故鉴定化合物 **9** 为 niga-ichigoside F1。

化合物 **10**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 673.2 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, C_5D_5N) δ : 6.38 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-1'), 5.51 (1H, brs, H-12), 4.18 (1H, dd, $J=10.5, 4.0$ Hz, H-23a), 3.71 (1H, dd, $J=10.5, 4.0$ Hz, H-23b), 1.23 (3H, s, H-27), 1.19 (3H, s, H-30), 1.10 (3H, s, H-24), 1.07 (3H, s, H-25), 1.01 (3H, s, H-26); ^{13}C -NMR (125 MHz, C_5D_5N) δ : 38.8 (C-1), 27.7 (C-2), 73.7 (C-3), 42.9 (C-4), 48.6 (C-5), 18.6 (C-6), 32.9 (C-7), 40.0 (C-8), 48.2 (C-9), 37.3 (C-10), 23.9 (C-11), 123.1 (C-12), 144.3 (C-13), 42.2 (C-14), 28.4 (C-15), 23.5 (C-16), 47.5 (C-17), 41.2 (C-18), 41.0 (C-19), 36.4 (C-20), 28.9 (C-21), 32.1 (C-22), 68.0 (C-23), 13.1 (C-24), 16.1 (C-25), 17.6 (C-26), 26.1 (C-27), 176.5 (C-28), 73.5 (C-29), 19.7 (C-30), 95.8 (C-1'), 74.2 (C-2'), 79.0 (C-3'), 71.1 (C-4'), 79.4 (C-5'), 62.2 (C-6')。以上数据参照文献报道^[29]的 nipponoside D 归属, 鉴定其结构与文献中报道^[30]的 kalidiumoside D 结构一致。

化合物 **11**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 817.6 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, C_5D_5N) δ : 6.34 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-1''), 5.42 (1H, brs, H-12), 5.04 (1H, d, $J=7.2$ Hz, H-1'), 3.39 (1H, brd, $J=8.0$ Hz, H-3), 1.31 (3H, s, H-23), 1.28 (3H, s, H-27), 1.10 (3H, s, H-24), 1.00 (3H, s, H-26), 0.92 (3H, s, H-29), 0.89 (3H, s, H-30), 0.83 (3H, s, H-25); ^{13}C -NMR (125 MHz, C_5D_5N) δ : 38.6 (C-1), 26.6 (C-2), 89.0 (C-3), 39.5 (C-4), 55.7 (C-5), 18.5 (C-6), 32.5 (C-7), 39.9 (C-8), 48.0 (C-9), 36.9 (C-10), 23.4 (C-11), 122.9 (C-12), 144.1 (C-13), 42.1 (C-14), 28.3 (C-15), 23.8 (C-16), 47.0 (C-17), 41.7 (C-18), 46.2 (C-19), 30.8 (C-20), 34.0 (C-21), 33.1 (C-22), 28.2 (C-23), 17.0 (C-24), 15.5 (C-25), 17.5 (C-26), 26.1 (C-27), 176.5 (C-28), 33.2 (C-29), 23.6 (C-30), 107.3 (C-1'), 75.6 (C-2'), 78.2 (C-3'), 73.5 (C-4'), 77.9 (C-5'), 173.2 (C-6'), 95.8 (C-1''), 74.2 (C-2''), 78.9 (C-3''), 71.0 (C-4''), 79.4 (C-5''), 62.1 (C-6'')。以上数据与文献报道一致^[31], 故鉴定化合物 **11** 为竹节参苷 IVa。

化合物 **12**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 805.3 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, C_5D_5N) δ : 6.40 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-1'), 5.52 (1H, brs, H-12), 5.08 (1H, d, $J=7.2$ Hz, H-1''), 4.34 (1H, overlapped, H-3), 3.54 (1H, brs, H-18), 1.59 (3H, s, H-27), 1.19 (3H, s, H-29), 1.16 (3H, s, H-26), 1.00 (3H, s, H-25), 0.99 (3H, s,

H-30), 0.98 (3H, s, H-24); ^{13}C -NMR (125 MHz, C_5D_5N) δ : 38.7 (C-1), 26.2 (C-2), 81.9 (C-3), 43.6 (C-4), 48.5 (C-5), 18.4 (C-6), 32.9 (C-7), 40.3 (C-8), 47.7 (C-9), 37.1 (C-10), 24.2 (C-11), 123.1 (C-12), 144.3 (C-13), 42.1 (C-14), 28.0 (C-15), 28.9 (C-16), 46.5 (C-17), 44.6 (C-18), 81.0 (C-19), 35.6 (C-20), 29.1 (C-21), 33.1 (C-22), 64.4 (C-23), 13.6 (C-24), 16.1 (C-25), 17.7 (C-26), 24.7 (C-27), 177.3 (C-28), 28.8 (C-29), 24.9 (C-30), 106.8 (C-1'), 75.7 (C-2'), 78.6 (C-3'), 71.1 (C-4'), 67.2 (C-5'), 95.9 (C-1''), 74.2 (C-2''), 79.0 (C-3''), 71.3 (C-4''), 79.3 (C-5''), 62.2 (C-6'')。以上数据通过与文献报道一致^[32], 故鉴定化合物 **12** 为长圆果冬青苷 M。

化合物 **13**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 657.3 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, C_5D_5N) δ : 6.42 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-1'), 4.85 (1H, brs, H-29a), 4.71 (1H, brs, H-29b), 3.68 (1H, brd, $J=9.2$ Hz, H-3), 3.39 (1H, td, $J=11.2, 4.4$ Hz, H-19), 1.71 (3H, s, H-30), 1.15 (3H, s, H-26), 1.01 (3H, s, H-27), 0.95 (3H, s, H-24), 0.87 (3H, s, H-25); ^{13}C -NMR (125 MHz, C_5D_5N) δ : 39.1 (C-1), 27.9 (C-2), 73.1 (C-3), 43.0 (C-4), 48.5 (C-5), 18.5 (C-6), 34.3 (C-7), 41.1 (C-8), 50.9 (C-9), 36.8 (C-10), 21.1 (C-11), 26.0 (C-12), 38.3 (C-13), 42.7 (C-14), 30.8 (C-15), 32.2 (C-16), 56.9 (C-17), 47.4 (C-18), 49.7 (C-19), 150.8 (C-20), 30.1 (C-21), 37.3 (C-22), 67.5 (C-23), 12.9 (C-24), 16.7 (C-25), 16.3 (C-26), 14.8 (C-27), 174.9 (C-28), 110.1 (C-29), 19.3 (C-30), 95.4 (C-1'), 74.3 (C-2'), 78.9 (C-3'), 71.0 (C-4'), 79.5 (C-5'), 62.1 (C-6')。以上数据参照文献报道^[33]的 pulsatilloside B 归属, 鉴定化合物结构与文献中报道^[34]的 23-羟基-白桦酸-28-O- β -D-吡喃葡萄糖酯苷一致。

4 讨论

本研究从四季青中分离得到了 13 个三萜皂苷。其中化合物 **1**~**9** 为乌苏烷型三萜皂苷; 化合物 **10**~**12** 为齐墩果烷型三萜皂苷; 化合物 **13** 为羽扇豆烷型三萜皂苷, 该类型三萜在冬青属植物中发现较少。这些三萜皂苷 C-28 位均为羧基, 且与葡萄糖结合形成酯苷, 此外, 化合物 **3**~**6**、**11** 的 C-3 位羟基还与葡萄糖、木糖、阿拉伯糖、葡萄糖醛酸结合形成氧苷, 化合物 **7** 的 C-23 位羟基与葡萄糖结合形成氧苷。

文献报道化合物 **4** 具有抗单纯疱疹病毒-1 (HSV-1) 的活性^[19]。化合物 **9** 具有镇痛活性^[35]。化

合物 **11** 具有多种药理活性,能延长血浆复钙时间及活化部分凝血活酶时间,对于抗血栓形成具有一定作用^[12];对脂多糖诱导单核巨噬细胞 THP-1 的炎症反应具有抑制作用^[36];还具有心脏保护作用^[37]。化合物 **13** 具有抑制组织因子促凝血的作用^[34]。因此,四季青发挥清热解毒、消肿祛瘀的传统功效可能与其所含的上述化合物的活性有关,研究四季青中的三萜类化学成分对阐明其药效物质基础具有重要价值。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 王从周, 刘 荣, 欧阳明安. 冬青属植物化学成分研究进展 (综述) [J]. 亚热带植物科学, 2006, 35(3): 61-69.
- [3] 罗秀秀, 郑夏生, 詹若挺, 等. 近 5 年冬青属药用植物化学成分及药理作用研究进展 [J]. 广州中医药大学学报, 2013, 30(6): 931-934.
- [4] 谢郁峰, 孙 琦. 冬青属植物成分及活性研究的进展 [J]. 中药材, 1997, 20(5): 260-264.
- [5] 吴 弢, 程志红, 刘和平, 等. 中药枸骨叶脂溶性化学成分的研究 [J]. 中国药学杂志, 2005, 40(19): 1460-1462.
- [6] Kim D K, Nam I Y, Kim J W, *et al.* Pentacyclic triterpenoids from *Ilex macropoda* [J]. *Arch Pharm Res*, 2002, 25(5): 617-620.
- [7] 许 睿, 高幼衡, 魏志雄, 等. 救必应化学成分研究 (I) [J]. 中草药, 2011, 42(12): 2389-2393.
- [8] 李路军, 杜 鹏, 张 鹏, 等. 榕叶冬青叶的化学成分研究 [J]. 中草药, 2013, 44(5): 519-523.
- [9] Che Y Y, Zhang L, Li N, *et al.* Triterpenoid saponins from *Ilex mamillata* C. Y. Wu ex C. J. Tseng [J]. *Nat Prod Res*, 2012, 26(21): 1991-1995.
- [10] Cui W X, Yang J, Chen X Q, *et al.* Triterpenoid-rich fraction from *Ilex hainanensis* Merr. attenuates non-alcoholic fatty liver disease induced by high fat diet in rats [J]. *Am J Chin Med*, 2013, 41(3): 487-502.
- [11] Han Y N, Song J I, Rhee I K. Anticoagulant activity of ilexoside D, a triterpenoid saponin from *Ilex pubescens* [J]. *Arch Pharm Res*, 1993, 16(3): 209-212.
- [12] Dahmer T, Berger M, Barlette A G, *et al.* Antithrombotic effect of chikusetsusaponin IVa isolated from *Ilex paraguariensis* (Mate) [J]. *J Med Food*, 2012, 15(12): 1073-1080.
- [13] 刘英姿, 刘浩然. 苦丁茶总皂苷对大鼠胸主动脉的舒张作用及其机制初探 [J]. 湖南中医药大学学报, 2009, 29(6): 40-42.
- [14] Jiao Z, Li T, Xian X D, *et al.* Inhibitory effect of triterpenoid saponins from the leaves of *Ilex kudingcha* on aggregated LDL-induced lipid deposition in macrophages [J]. *Planta Med*, 2009, 75(13): 1410-1414.
- [15] Wang C Q, Wang L, Fan C L, *et al.* Illelic acids A and B, two unusual triterpenes with a seven-membered ring from *Ilex latifolia* [J]. *Org Lett*, 2012, 14(16): 4102-4105.
- [16] 程齐来, 李洪亮, 孙立波. 山绿茶中 RA 对 HepG2 肿瘤细胞抑制作用的实验研究 [J]. 时珍国医国药, 2012, 23(9): 2153-2155.
- [17] 陈晓军, 陈学芬, 禰瑞生. 广西壮族民间用药苦丁冬青降火茶的抑菌抗炎作用研究 [J]. 中国民族民间医药, 2005, 74(3): 158-160.
- [18] Haraguchi H, Kataoka S, Okamoto S, *et al.* Antimicrobial triterpenes from *Ilex integra* and the mechanism of antifungal action [J]. *Phytotherapy Res*, 1999, 13(2): 151-156.
- [19] Zhou M, Xu M, Ma X X, *et al.* Antiviral triterpenoid saponins from the roots of *Ilex asprella* [J]. *Planta Med*, 2012, 78(15): 1702-1705.
- [20] 夏文绮, 崔保松, 李 帅. 四季青化学成分的研究 [J]. 中草药, 2016, 47(8): 1272-1277.
- [21] Yang H, Jeong E J, Kim J, *et al.* Antiproliferative triterpenes from the leaves and twigs of *Juglans sinensis* on HSC-T6 cells [J]. *J Nat Prod*, 2011, 74(4): 751-756.
- [22] Adnyana I K, Tezuka Y, Banskota A H, *et al.* Quadransides I-V, new triterpene glucosides from the seeds of *Combretum quadrangulare* [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63(4): 496-500.
- [23] Zhao W, Wang P, Xu R, *et al.* Saponins from *Mussaenda pubescens* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 39(1): 191-193.
- [24] Wei T R, Yan X H, Wang Z D, *et al.* Four new ursane-type saponins from *Morina nepalensis* var. *alba* [J]. *Magn Reson Chem*, 2002, 40: 603-608.
- [25] Yano I, Nishiizumi C, Yoshikawa K, *et al.* Triterpenoid saponins from *Ilex integra* [J]. *Phytochemistry*, 1993, 32(2): 417-420.
- [26] Amimoto K, Yoshikawa K, Arihara S. Triterpenes and triterpene glycosides from the leaves of *Ilex rotunda* [J]. *Phytochemistry*, 1993, 33(6): 1475-1480.
- [27] Amimoto K, Yoshikawa K, Arihara S. Triterpenoid saponins of Aquifoliaceae plants. XI. Ilexosides XLI-XLV from the leaves of *Ilex rotunda* Thunb [J]. *Chem Pharm Bull*, 1993, 41(1): 39-42.
- [28] Um B H, Pouplin T, Lobstein A, *et al.* Saponins from *Strasburgeria robusta* [J]. *Fitoterapia*, 2001, 72(5): 591-593.
- [29] Miyakoshi M, Shirasuna K, Hirai Y, *et al.* Triterpenoid saponins of *Acanthopanax nipponicus* leaves [J]. *J Nat Prod*, 1999, 62(3): 445-448.

- [30] Shaheen S B, Zhymabekovna K Z, Shahmanovna B G, *et al.* Chemical constituents of the aerial parts of *Kalidium foliatum* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2007, 55(9): 1356-1360.
- [31] Mizui F, Kasai R, Ohtani K, *et al.* Saponins from bran of quinoa, *Chenopodium quinoa* Willd. II [J]. *Chem Pharm Bull*, 1990, 38(2): 375-377.
- [32] 文 思, 管希锋, 黄晓君, 等. 岗梅根中 1 个新的齐墩果烷型三萜皂苷 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(13): 2503-2509.
- [33] Ye W C, Ji N N, Zhao S X, *et al.* Triterpenoids from *Pulsatilla chinensis* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 42(3): 799-802.
- [34] Wang W W, Xu S H, Zhao Y Z, *et al.* Microbial hydroxylation and glycosylation of pentacyclic triterpenes as inhibitors on tissue factor procoagulant activity [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, 27(4): 1026-1030.
- [35] Niero R, Cechinel F V, Souza M M, *et al.* Antinociceptive activity of niga-ichigoside F1 from *Rubus imperialis* [J]. *J Nat Prod*, 1999, 62(8): 1145-1146.
- [36] Wang H, Qi J, Li L, *et al.* Inhibitory effects of Chikusetsusaponin IVa on lipopolysaccharide-induced pro-inflammatory responses in THP-1 cells [J]. *Int J Immunopath Pharm*, 2015, 28(3): 308-317.
- [37] Duan J, Yin Y, Wei G, *et al.* Chikusetsu saponin IVa confers cardioprotection via SIRT1/ERK1/2 and Homer1a pathway [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 18123.