

• 化学成分 •

毛萼香茶菜中1个新的对映-贝壳杉烷二萜类化合物

蔡灵巧^{1,2}, 严冬³, 郭敏³, 芦达⁴, 王庆³, 饶正云³, 张健^{2*}, 殷志琦^{5*}

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

2. 南京中医药大学附属中西医结合医院 转化医学实验室, 江苏 南京 210028

3. 昆明生达制药有限公司, 云南 昆明 650033

4. 红云制药股份有限公司, 四川 成都 610200

5. 中国药科大学中药学院 天然药物活性组分与药效国家重点实验室, 江苏 南京 210009

摘要: 目的 对毛萼香茶菜 *Isodon eriocalyx* 茎叶的化学成分进行研究。方法 采用多种色谱方法进行分离纯化, 通过理化性质及光谱数据对化合物进行结构鉴定。结果 从毛萼香茶菜茎叶中分离得到1个二萜类化合物, 鉴定为15 β -乙酰氧基-1 α -羟基-7 α ,20-环氧-对映-贝壳杉-16-烯-6-酮。结论 该化合物为新的对映-贝壳杉烷二萜类化合物, 命名为毛萼辛素。

关键词: 毛萼香茶菜; 香茶菜属; 对映-贝壳杉烷二萜; 代谢产物; 毛萼辛素

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)23-5496-03

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.23.002

A new *ent*-kaurane diterpenoid from *Isodon eriocalyx*CAI Ling-qiao^{1,2}, YAN Dong³, GUO Min³, LU Da⁴, WANG Qing³, RAO Zheng-yun³, ZHANG Jian², YIN Zhi-qi⁵

1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Laboratory of Translational Medicine, Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

3. Kunming Lifetech Pharmaceutical Co., Ltd., Kunming 650033, China

4. Hongyun Pharmaceutical Co., Ltd., Chengdu 610200, China

5. School of Chinese Materia Medica, TCMs Pharmaceuticals & State Key Laboratory of Natural Medicines, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from the stems and leaves of *Isodon eriocalyx*. **Methods** The chemical constituent of *I. eriocalyx* was separated and purified by chromatographic methods and structurally elucidated by physicochemical characteristics and spectral data. **Results** One new compound was isolated from the stems and leaves of *I. eriocalyx*, and it was identified as 15 β -acetoxy-1 α -hydroxy-7 α ,20-epoxy-*ent*-kaur-16-en-6-one (**1**). **Conclusion** Compound **1** is a new *ent*-kaurane diterpenoid named as eriocalyxin H.

Key words: *Isodon eriocalyx* (Dunn) Hara; *Isodon* (Schrad. ex Benth.) Spach; *ent*-kaurane diterpene; metabolites; eriocalyxin H

毛萼香茶菜 *Isodon eriocalyx* (Dunn) Hara 是唇形科香茶菜属多年生草本植物或灌木, 主要分布于我国四川、云南、广西、贵州等省, 民间常用于治疗感冒头痛、风湿痹痛、泻痢腹痛、疝气、脚气、痛疮肿毒、刀伤、急性黄疸型肝炎和急性胆囊炎等疾病^[1-4]。现代研究表明毛萼香茶菜中主要含二萜、

三萜及黄酮类化合物, 尤其富含对映-贝壳杉烷二萜。而该类二萜成分作为香茶菜属植物的主要代谢产物, 具有广泛的生物活性如抗菌、抗炎及抗肿瘤等^[5-6], 具有较好的应用前景。本实验深入挖掘毛萼香茶菜活性成分, 从其茎叶乙醇提取物中获得1个新的对映-贝壳杉烷二萜, 鉴定为15 β -乙酰氧基-1 α -

收稿日期: 2018-08-17

作者简介: 蔡灵巧, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药化学成分及活性研究。E-mail: 1689777164@qq.com

*通信作者 张健, 研究员。E-mail: zjwonderful@hotmail.com

殷志琦, 教授。E-mail: chyzq2005@126.com

羟基-7 α ,20-环氧-对映-贝壳杉-16-烯-6-酮 (15 β -acetoxy-1 α -hydroxy-7 α ,20-epoxy-ent-kaur-16-en-6-one), 命名为毛萼辛素。

1 仪器与材料

JASCO P-1020 型数字旋光仪 (日本 Jasco 公司); X-4 型数字显示显微熔点测定仪 (北京泰克仪器有限公司); Shimadzu UV-2501 PC 型紫外可见分光光谱仪 (日本 Shimadzu 公司); Bruker Tensor 27 型红外光谱仪、AmaZon SL 离子阱液相色谱联用仪 (德国 Bruker 公司); Agilent Q-TOF 6520 型质谱仪和 Agilent 1260 Infinity 高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); LabAlliance 半制备液相色谱仪 (美国 LabAlliance 公司); 半制备柱为 Phecda C₁₈ (江苏汉邦科技有限公司); 柱色谱硅胶 (青岛海洋化工厂); 薄层色谱板 Silica gel 60 F₂₅₄、ODS 柱色谱填料 (德国 Merck 公司); Sephadex LH-20 (Amersham Pharmacia Biotech AB); Flash 快速制备色谱 (美国 Grace 公司); 流动相所用试剂为色谱纯; 其他化学试剂均为分析纯。

毛萼香茶菜乙醇提取物 (85%乙醇) 由昆明生达制药有限公司提供, 原植物采自云南澄江, 由该公司所属集团公司红云制药股份有限公司高级工程师芦达鉴定为毛萼香茶菜 *Isodon eriocalyx* (Dunn) Hara, 标本保存于昆明生达制药有限公司。

2 提取与分离

干燥的毛萼香茶菜茎叶 140 kg, 粉碎后用 85% 乙醇加热回流提取 3 次, 第 1 次加 10 倍量溶剂, 提取 3 h, 第 2 次加 8 倍量溶剂, 提取 2 h, 第 3 次加 8 倍量溶剂, 提取 1 h, 合并提取液, 滤过, 减压浓缩至浸膏。将该浸膏加水混悬, 分别用石油醚、醋酸乙酯和正丁醇萃取, 得到 3 个萃取部位。取 800 g 醋酸乙酯部位浸膏, 经硅胶柱色谱, 以氯仿-丙酮 (1:0 $\rightarrow$ 0:1) 梯度洗脱, 得到 7 个流分 (Fr. A~G)。Fr. A 再次经硅胶柱, 以石油醚-醋酸乙酯 (1:0 $\rightarrow$ 0:1) 梯度洗脱, 获得 6 个流分 (Fr. A-1~A-6)。Fr. A-3 经 Sephadex LH-20, 用三氯甲烷-甲醇 (1:1) 洗脱除去色素, 再经 Flash C₁₈ 快速制备, 甲醇-水 (76:24、100:0) 梯度洗脱, 得到 2 个流分 (Fr. A-3-1~A-3-2)。Fr. A-3-1 进一步经硅胶柱色谱, 用石油醚-异丙醇 (30:1 $\rightarrow$ 8:1) 梯度洗脱, 得到 5 个流分 (Fr. A-3-1-1~A-3-1-5)。Fr. A-3-1-3 经 ODS 反相柱, 甲醇-水 (10:90 $\rightarrow$ 100:0) 梯度洗脱得到 8 个流分 (Fr. A-3-1-3-1~A-3-1-3-8)。Fr. A-3-1-3-4 再经半制

备 HPLC 分离, 乙腈-水 (52:48) 洗脱, 得到化合物 **1** (22.6 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 浅黄色结晶 (甲醇), mp 175~177 °C, $[\alpha]_D^{20}$ -103° (*c* 0.100, MeOH), 易溶于甲醇、吡啶等有机试剂, 在 254 nm 下无暗斑, 香草醛-浓硫酸反应显紫红色。HR-TOF-MS 显示准分子离子峰 *m/z*: 375.216 5 [M+H]⁺ (计算值 375.217 1, C₂₂H₃₁O₅), 确定其分子式为 C₂₂H₃₀O₅, 相对分子质量为 374。紫外光谱显示其在 220 nm 处有最大吸收峰。红外光谱显示有羟基吸收峰 (3 444 cm⁻¹)、羰基吸收峰 (1 742、1 700 cm⁻¹)、C=C 键伸缩振动吸收峰 (1 663 cm⁻¹) 和 C-O 键伸缩振动吸收峰 (1 236、1 163 cm⁻¹)。

¹H-NMR 谱 (表 1) 中显示, δ 6.41 (1H, d, *J* = 2.5 Hz)、 δ 4.53 (1H, s) 和 δ 4.09 (1H, brs) 为 3 个连氧次甲基氢信号, δ 5.14 (1H, brs) 和 δ 5.10 (1H, d, *J* = 3.0 Hz) 为环外双键上的氢信号, δ 4.26 (1H, d, *J* = 8.5 Hz)、3.88 (1H, d, *J* = 8.5 Hz) 为 1 组连氧亚甲基氢信号, 3 个甲基单峰氢信号 (δ 1.99、1.08、0.95)。¹³C-NMR (DEPT) 谱显示 22 个碳信号, 包括 6 个季碳、6 个次甲基、7 个亚甲基、3 个甲基。¹³C-NMR 谱中 δ 208.0 为 1 个羰基碳信号, δ 170.7、21.2 为 1 组乙酰氧基碳信号, δ 154.1、108.8 为环外双键碳信号, δ 84.5、79.8、70.9、63.6 为 4 个连氧碳信号, 推测其为贝壳杉烷型二萜。

将化合物 **1** 的碳氢数据与文献报道的化合物 trichokaurin 的数据^[7]对比, 发现两者信号相似, 不同之处在于化合物 **1** 的 B 环少了 1 个 δ 75.6 的连氧碳信号, 多了 1 个 δ 208.0 的羰基碳信号, 且 C-7 的信号由 δ 95.9 变为 δ 84.5, 推测化合物 **1** 的 6 位为羰基, 且 C-7 只连有 1 个含氧取代基。另外其 C-1 信号与 trichokaurin 相差 δ 1.9, 推测 C-1 构型与之不同, 1 位羟基为 α 构型。

化合物 **1** 的 ¹H-¹H COSY 谱 (图 1) 中, δ_{H-1} 4.09 (1H, brs)、 δ_{H-2a} 1.99 (1H, m)、 δ_{H-2b} 1.85 (1H, m)、 δ_{H-3a} 2.16 (1H, brs) 和 δ_{H-3b} 1.21 (1H, dt, *J* = 3.0, 13.0 Hz) 之间有相关信号, 结合碳谱信号, 说明 H-1 与氧相连, 且形成 H-1/H₂-2/H₂-3 的连接方式。HMBC 谱 (图 1) 中 H-5、H-7 与 C-6 均有相关信号, 提示化合物 **1** 的 C-6 被氧化为羰基; H-7 与 C-5、C-8、C-20 均有相关信号, 说明化合物中存在 7,20 环氧结构, 且 C-7 没有连接额外的羟基。在 NOESY 谱 (图 2)

表 1 化合物 1 的 ^{13}C -和 ^1H -NMR 数据 (125/500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)
Table 1 ^{13}C - and ^1H -NMR data of compound 1 (125/500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)

碳位	δ_{C}	δ_{H}	碳位	δ_{C}	δ_{H}
1	63.6, d	4.09 (1H, brs)	12	33.0, t	1.96 (1H, overlapped), 1.62 (1H, m)
2	27.9, t	1.99 (1H, overlapped), 1.85 (1H, m)	13	39.4, d	2.68 (1H, brs)
3	33.7, t	2.16 (1H, brs), 1.21 (1H, dt, $J = 3.0, 13.0$ Hz)	14	36.6, t	2.13 (1H, brs), 1.77 (1H, dd, $J = 4.0, 12.0$ Hz)
4	31.9, s	—	15	79.8, d	6.41 (1H, t, $J = 2.5$ Hz)
5	54.0, d	1.96 (1H, overlapped)	16	154.1, s	—
6	208.0, s	—	17	108.8, t	5.14 (1H, brs), 5.10 (1H, d, $J = 3.0$ Hz)
7	84.5, d	4.53 (1H, s)	18	33.7, q	0.95 (3H, s)
8	56.7, s	—	19	23.9, q	1.08 (3H, s)
9	38.6, d	3.34 (1H, t, $J = 6.5$ Hz)	20	70.9, t	4.26 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 3.88 (1H, d, $J = 8.5$ Hz)
10	53.7, s	—	OAc	21.2, q	1.99 (3H, overlapped)
11	17.4, t	2.03 (1H, overlapped), 1.83 (1H, overlapped)	OAc	170.7, s	—

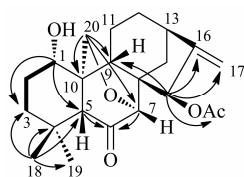


图 1 化合物 1 的重要 ^1H - ^1H COSY (—) 和 HMBC ($\text{H} \rightarrow \text{C}$) 相关

Fig. 1 Key ^1H - ^1H COSY (—) and HMBC ($\text{H} \rightarrow \text{C}$) correlations of compound 1

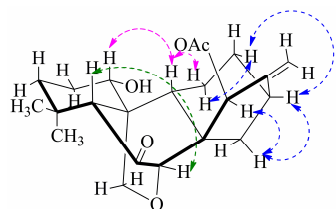


图 2 化合物 1 的主要 NOESY 相关

Fig. 2 Key NOESY correlations of compound 1

中可观察到 H-1 与 H-9 有相关信号, 提示 H-1 为 β 构型, 1-OH 为 α 构型。H-7 与 H-5 有相关信号, 提示 H-7 为 β 构型; H-9、H-11a、H-11b、H-13、H-14a 和 H-15 之间的 NOESY 相关信号提示 H-13 和 H-15 为 α 构型。综合以上数据, 鉴定化合物 1 为 15 β -乙

酰氧基-1 α -羟基-7 α ,20-环氧-对映-贝壳杉-16-烯-6-酮, 为新化合物, 命名为毛萼素酮。

化合物 1 为 1 个新的 6 位为羰基的 7,20 环氧型贝壳杉烷二萜, 这在已知的香茶菜属二萜中较为少见。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
- [2] 吴征镒. 新华本草纲要 (第一册) [M]. 上海: 科学技术出版社, 1988.
- [3] 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, 1989.
- [4] 叶林虎, 杨小生, 马琳, 等. 贵州产毛萼香茶菜中非二萜化学成分 [J]. 中国药理学杂志, 2010, 45(8): 571-574.
- [5] Sun H D, Huang S X, Han Q B. Diterpenoids from *Isodon* species and their biological activities [J]. *Nat Prod Rep*, 2006, 38(5): 673-698.
- [6] Miao L, Wei G W, Sun H D, et al. Diterpenoids from *Isodon* species: An update [J]. *Nat Prod Rep*, 2006, 34(9): 1090-1140.
- [7] Han Q B, Li R T, Li M L, et al. Ent-kauranoids from *Isodon rubescens* var. *taihangensis* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2005, 7(1): 31-36.