

DOI:10.3724/SP.J.1008.2013.01121

• 研究快报 •

蓝萼香茶菜的三萜和黄酮类化学成分

刘洪川, 金永生*, 陈海生*

第二军医大学药学院天然药物化学教研室, 上海 200433

[摘要] **目的** 对蓝萼香茶菜(*Rabdosia japonica*)的化学成分进行分离及鉴定。**方法** 利用硅胶色谱、Sephadex LH-20 色谱以及反相高效液相色谱等手段进行分离纯化,应用质谱、磁共振等光谱方法对分得的化合物进行结构鉴定。**结果** 共分离并鉴定 10 个化合物,其中包括 4 个三萜:齐墩果酸(oleanolic acid, **1**)、熊果酸(ursolic acid, **2**)、2 α -羟基熊果酸(2 α -hydroxyursolic acid, **3**)、2 α , 23-二羟基熊果酸(2 α , 23-dihydroxyursolic acid, **4**); 6 个黄酮类化合物:槲皮素(quercetin, **5**)、芹菜素(apigenin, **6**)、木犀草素(luteolin, **7**)、芦丁(rutin, **8**)、异鼠李素(isorhamnetin, **9**)、小麦黄素(tricin, **10**)。**结论** 化合物 **9**、**10** 为首次从该植物中分离得到。

[关键词] 蓝萼香茶菜;三萜类;黄酮类;分离和提纯;结构鉴定

[中图分类号] R 284.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2013)10-1121-04

Study on triterpenoid and flavonoid contents of *Rabdosia japonica*

LIU Hong-chuan, JIN Yong-sheng*, CHEN Hai-sheng*

Department of Natural Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To extract and identify the chemical constituents of *Rabdosia japonica*. **Methods** The constituents were isolated and purified by chromatography on silica gel, Sephadex LH-20 and HPLC. The structures of the compounds were determined by mass spectrometry (MS) and nuclear magnetic resonance (NMR) spectral analysis. **Results** Totally 10 compounds were isolated and their structures were identified as four triterpenoids: oleanolic acid (**1**), ursolic acid (**2**), 2 α -hydroxyursolic acid (**3**), 2 α , 23-dihydroxyursolic acid (**4**); six flavonoids: quercetin (**5**), apigenin (**6**), luteolin (**7**), rutin (**8**), isorhamnetin (**9**), and tricrin (**10**). **Conclusion** Isorhamnetin (**9**) and tricrin (**10**) had been isolated from this plant for the first time

[Key words] *Rabdosia japonica*; triterpenoid; flavones; isolation and purification; structure identification

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2013, 34(10):1121-1124]

蓝萼香茶菜 [*Rabdosia japonica* (Burm. f.) Hara var. *glaucocalyx* (Maxim.) Hara] 为唇形科香茶菜属植物,又名回菜花、倒根野苏、山苏子等。主要分布于我国东北、华北、西北地区,其资源极为丰富。其全草或叶入药,是我国传统民族用药。其味苦、性温、无毒,具有清热解毒、活血化瘀的功效,对急性黄疸肝炎的治疗效果显著,并且对各种癌症初起也有一定的治疗作用^[1]。关于蓝萼香茶菜的化学成分研究相对较少,已有的少量研究报道了其含有贝壳杉烷型二萜、三萜、黄酮及一些其他成分^[2-6]。我们的前期研究中,从蓝萼香茶中分离鉴定了 7 个二萜类化合物^[7]。为了更好地阐明其活性成分,我

们对蓝萼香茶菜中非二萜类化合物进行化学成分研究,从中分离得到 10 个化合物。

1 仪器、试剂和药材

天津分析仪器厂 RY-2 型熔点仪(温度未校正); Bruker DRX-600 型核磁共振仪; Q-ToF micro (ESI-MS) 质谱仪; 高效液相色谱仪(HPLC)为岛津 LC-2010HT 型; 色谱柱: C₁₈ 反相柱(Dikma 250 mm × 4.6 mm, 5 μ m); 色谱用硅胶(200~300 目)以及薄层硅胶板均为青岛海洋化工厂生产; Sephadex LH-20 为 Pharmacia 公司产品。TLC 显色剂: 20% H₂SO₄ 乙醇, 碘蒸气。提取用溶剂为工业级 90% 乙醇, 其余试

[收稿日期] 2013-04-01 **[接受日期]** 2013-07-02

[基金项目] 国家自然科学基金(21272269). Supported by National Natural Science Foundation of China (21272269).

[作者简介] 刘洪川, 硕士生. E-mail: xiyoul6ff@163.com

* 通信作者(Corresponding authors). Tel: 021-81871227, E-mail: ysjin@smmu.edu.cn; Tel: 021-81871250, E-mail: hschen2012@163.com

剂均为分析纯,购于国药集团化学试剂有限公司。所用植物于2011年8月采于辽宁省新宾市,经第二军医大学药学院生药学教研室张汉明教授鉴定为香茶菜属植物蓝萼香茶菜[*Rabdosia japonica* (Burm. f.) Hara var. *glaucocalyx* (Maxim.) Hara]干燥地上部分。

2 方法和结果

2.1 提取和分离 蓝萼香茶菜干燥地上部分6 kg,用50 L 90%乙醇加热回流提取3次,提取液减压浓缩得浸膏,超声下用水(5 L)分散,后依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取(各萃取8次,每次5 L)。乙酸乙酯萃取部位经正、反相硅胶柱色谱、Sephadex LH-20柱色谱、制备薄层色谱以及反相HPLC,分离得到10个化合物。

2.2 化合物结构鉴定

2.2.1 化合物1 白色无定型粉末, m. p. 240~243°C。ESI-MS m/z : 457 $[M + H]^+$ 。据 $^1\text{H NMR}$ 、 $^{13}\text{C NMR}$ 及DEPT谱(600 MHz, CDCl_3)推测其分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$,预测为三萜。 $^1\text{H NMR}$: 5.29 (1H, brs, H-12), 3.23 (1H, dd, $J=11.4, 4.2$ Hz, H-3), 2.83 (1H, dd, $J=13.2, 4.2$ Hz, H-18), 1.14 (3H, s, H-27), 1.00 (3H, s, H-23), 0.94 (3H, s, H-25), 0.92 (3H, s, H-29), 0.91 (3H, s, H-30), 0.78 (3H, s, H-24), 0.76 (3H, s, H-26); $^{13}\text{C NMR}$: 39.8 (C-1), 29.1 (C-2), 80.5 (C-3), 40.7 (C-4), 56.6 (C-5), 19.7 (C-6), 34.0 (C-7), 40.2 (C-8), 49.1 (C-9), 38.5 (C-10), 24.3 (C-11), 124.0 (C-12), 145.0 (C-13), 43.0 (C-14), 28.6 (C-15), 24.8 (C-16), 47.9 (C-17), 42.4 (C-18), 47.3 (C-19), 32.1 (C-20), 35.2 (C-21), 33.8 (C-22), 29.5 (C-23), 16.9 (C-24), 16.7 (C-25), 18.6 (C-26), 27.3 (C-27), 185.0 (C-28), 34.5 (C-29), 25.0 (C-30)。以上数据与文献^[8]比对,确定该化合物为齐墩果酸(oleanolic acid)。

2.2.2 化合物2 白色粉末, m. p. 259~261°C, ESI-MS m/z : 457 $[M + H]^+$, 455 $[M - H]^-$; 根据 $^1\text{H NMR}$ 、 $^{13}\text{C NMR}$ 及DEPT谱(600 MHz, DMSO-d_6)推测其分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$ 。 $^1\text{H NMR}$: 5.12 (1H, brs, H-12), 3.00 (1H, m, H-3), 2.10 (1H, d, $J=9.0$ Hz, H-18), 1.04 (3H, s, H-27), 0.91 (3H, s, H-26), 0.89 (3H, s, H-23), 0.86 (3H, s, H-25), 0.81 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H-29),

0.75 (3H, s, H-30), 0.67 (3H, s, H-24); $^{13}\text{C NMR}$: 38.9 (C-1), 27.4 (C-2), 77.2 (C-3), 38.7 (C-4), 55.1 (C-5), 18.4 (C-6), 33.1 (C-7), 39.4 (C-8), 47.4 (C-9), 36.9 (C-10), 23.2 (C-11), 124.9 (C-12), 138.5 (C-13), 42.0 (C-14), 27.9 (C-15), 24.2 (C-16), 47.2 (C-17), 52.7 (C-18), 38.8 (C-19), 38.6 (C-20), 30.5 (C-21), 36.7 (C-22), 28.6 (C-23), 15.6 (C-24), 16.4 (C-25), 17.3 (C-26), 23.6 (C-27), 178.6 (C-28), 17.4 (C-29), 21.4 (C-30)。以上数据与文献^[9-10]比对,确定该化合物为熊果酸(ursolic acid)。

2.2.3 化合物3 白色粉末, m. p. 272~275°C, ESI-MS m/z : 473 $[M + H]^+$; 根据 $^1\text{H NMR}$ 、 $^{13}\text{C NMR}$ 及DEPT谱(600 MHz, CD_3OD)推测其分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_4$ 。 $^1\text{H NMR}$: 5.25 (1H, brs, H-12), 3.94 (1H, d, $J=12.0$ Hz, H-2), 3.32 (1H, brs, H-3), 2.21 (1H, d, $J=11.4$ Hz, H-18), 1.15 (3H, s, H-27), 1.01 (3H, overlapped, H-23), 1.00 (3H, overlapped, H-26), 0.98 (3H, overlapped, H-25), 0.87 (3H, overlapped, H-29), 0.85 (3H, overlapped, H-30), 0.82 (3H, overlapped, H-24); $^{13}\text{C NMR}$: 42.6 (C-1), 67.2 (C-2), 80.0 (C-3), 39.5 (C-4), 49.3 (C-5), 19.1 (C-6), 34.2 (C-7), 40.4 (C-8), 48.5 (C-9), 39.4 (C-10), 25.3 (C-11), 126.8 (C-12), 139.8 (C-13), 43.4 (C-14), 29.2 (C-15), 24.4 (C-16), 46.7 (C-17), 54.4 (C-18), 40.9 (C-19), 39.5 (C-20), 31.8 (C-21), 38.1 (C-22), 29.2 (C-23), 24.2 (C-24), 17.0 (C-25), 17.8 (C-26), 22.5 (C-27), 181.7 (C-28), 17.6 (C-29), 21.5 (C-30)。以上数据与文献^[9-10]比对,确定该化合物为2 α -羟基熊果酸(2 α -hydroxyursolic acid)。

2.2.4 化合物4 白色粉末, m. p. 292~294°C, ESI-MS m/z : 489 $[M + H]^+$; 根据 $^1\text{H NMR}$ 、 $^{13}\text{C NMR}$ 及DEPT谱(600 MHz, CD_3OD)推测其分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_5$ 。 $^1\text{H NMR}$: 5.37 (1H, s, H-12), 4.13 (1H, d, $J=12.0$ Hz, H-2), 3.79 (1H, brs, H-3), 3.64 (1H, d, $J=11.4$ Hz, H-23 α), 3.47 (1H, d, $J=11.4$ Hz, H-23 β), 2.23 (1H, d, $J=11.4$ Hz, H-18), 1.13 (3H, s, H-27), 1.04 (3H, s, H-26), 0.95 (3H, s, H-24), 0.92 (3H, s, H-29), 0.83 (3H, s, H-30), 0.81 (3H, s, H-25); $^{13}\text{C NMR}$: 42.3 (C-1), 66.5 (C-2), 79.5 (C-3),

43.8 (C-4), 47.2 (C-5), 18.2 (C-6), 33.2 (C-7), 40.1 (C-8), 48.4 (C-9), 38.4 (C-10), 23.5 (C-11), 126.0 (C-12), 139.1 (C-13), 42.9 (C-14), 28.5 (C-15), 25.6 (C-16), 48.8 (C-17), 53.4 (C-18), 39.9 (C-19), 39.6 (C-20), 31.2 (C-21), 38.0 (C-22), 71.2 (C-23), 14.5 (C-24), 17.0 (C-25), 18.3 (C-26), 23.4 (C-27), 180.8 (C-28), 17.0 (C-29), 21.3 (C-30)。以上数据与文献^[9]比对,确定该化合物为2 α ,23-二羟基熊果酸(2 α ,23-dihydroxyursolic acid)。

2.2.5 化合物**5** 淡黄色粉末, m. p. 312~315°C, ESI-MS m/z: 301 [M-H]⁻, 303 [M+H]⁺, 325 [M+Na]⁺, 据¹H NMR、¹³C NMR及DEPT谱(600 MHz, CD₃OD)推测其分子式为C₁₅H₁₀O₇。¹H NMR: 6.18 (d, J=1.8 Hz, H-6), 6.39 (d, J=1.8 Hz, H-8), 7.74 (d, J=1.8 Hz, H-2'), 6.89 (d, J=8.4 Hz, H-5'), 7.64 (dd, J=8.4, 1.8 Hz, H-6'); ¹³C NMR: 148.0 (C-2), 137.2 (C-3), 177.3 (C-4), 162.5 (C-5), 99.2 (C-6), 165.6 (C-7), 94.4 (C-8), 158.2 (C-9), 104.5 (C-10), 124.1 (C-1'), 116.0 (C-2'), 146.2 (C-3'), 148.7 (C-4'), 116.2 (C-5'), 121.7 (C-6')。以上数据与文献^[11]比对,确定该化合物为槲皮素(quercetin)。

2.2.6 化合物**6** 黄色粉末, m. p. 185~186°C, ESI-MS m/z: 633 [M+Na]⁺, 611 [M+H]⁺, 609 [M-H]⁻, 盐酸-镁粉反应阳性, Molish反应呈阳性, 为黄酮苷类化合物。根据¹H NMR、¹³C NMR及DEPT谱(600 MHz, CD₃OD)推测其分子式为C₂₇H₃₀O₁₆。¹H NMR: 5.19 (1H, s, H-6), 6.99 (1H, s, H-8), 7.19 (1H, s, H-2'), 6.14 (1H, d, J=6.0 Hz, H-5'), 7.65 (1H, d, J=6.0 Hz, H-6'); ¹³C NMR: 157.3 (C-2), 134.2 (C-3), 178.2 (C-4), 161.8 (C-5), 99.4 (C-6), 162.1 (C-7), 94.3 (C-8), 157.4 (C-9), 104.8 (C-10), 122.5 (C-1'), 115.9 (C-2'), 145.3 (C-3'), 149.0 (C-4'), 117.0 (C-5'), 122.1 (C-6'), 102.1 (C-1'), 74.8 (C-2'), 77.1 (C-3'), 71.2 (C-4'), 76.7 (C-5'), 67.8 (C-6'), 101.5 (C-1'), 70.7 (C-2'), 71.1 (C-3'), 72.6 (C-4'), 69.0 (C-5'), 18.4 (C-6')。以上数据与文献^[12]比对,确定该化合物为芦丁(rutin)。

2.2.7 化合物**7** 黄色粉末, m. p. 330~332°C, 三氯化铁反应阳性, ESI-MS m/z: 287 [M+H]⁺, 根

据¹H NMR、¹³C NMR及DEPT谱(600 MHz, DM-SO-d₆)推测其分子式为C₁₅H₁₀O₆, 为黄酮类化合物。¹H NMR: 6.66 (1H, s, H-3), 6.18 (d, J=2.4 Hz, H-6), 6.43 (d, J=2.4 Hz, H-8), 7.39 (1H, d, J=8.4 Hz, H-2'), 6.88 (1H, d, J=8.4 Hz, H-5'), 7.41 (1H dd, J=8.4, 2.4 Hz, H-6'); ¹³C NMR: 157.6 (C-2), 104.0 (C-3), 182.0 (C-4), 164.2 (C-5), 99.2 (C-6), 164.5 (C-7), 94.2 (C-8), 161.8 (C-9), 103.2 (C-10), 121.9 (C-1'), 113.7 (C-2'), 146.1 (C-3'), 150.0 (C-4'), 116.4 (C-5'), 119.3 (C-6')。以上数据与文献^[1]比对,确定该化合物为木犀草素(luteolin)。

2.2.8 化合物**8** 黄色粉末, m. p. 352~354°C, 三氯化铁反应阳性, ESI-MS m/z: 271 [M+H]⁺, 根据¹H NMR、¹³C NMR及DEPT谱(DMSO-d₆, 600 MHz)推测其分子式为C₁₅H₁₀O₅, 为黄酮类化合物。¹H NMR: 6.72 (1H, s, H-3), 6.18 (d, J=2.4 Hz, H-6), 6.46 (d, J=2.4 Hz, H-8), 7.88 (1H, d, J=9.0 Hz, H-2'), 6.91 (1H, d, J=9.0 Hz, H-3'), 6.91 (1H, d, J=9.0 Hz, H-5'), 7.89 (1H, d, J=9.0 Hz, H-6'); ¹³C NMR: 165.7 (C-2), 104.7 (C-3), 183.5 (C-4), 162.8 (C-5), 100.5 (C-6), 165.5 (C-7), 95.7 (C-8), 163.0 (C-9), 105.5 (C-10), 123.1 (C-1'), 130.2 (C-2'), 117.6 (C-3'), 159.2 (C-4'), 117.6 (C-5'), 130.2 (C-6')。以上数据与文献^[13]比对,确定该化合物为芹菜素(apigenin)。

2.2.9 化合物**9** 黄色粉末, m. p. 307~309°C, ESI-MS m/z: 317 [M+H]⁺, 315 [M-H]⁻, 根据¹H NMR、¹³C NMR及DEPT谱(DMSO-d₆, 600 MHz)推测其分子式为C₁₆H₁₂O₇。¹H NMR: 12.42 (1H, s, 5-OH), 9.63 (1H, s, 3-OH), 6.18 (1H, d, J=2.0 Hz, H-6), 6.47 (1H, d, J=2.0 Hz, H-8), 7.74 (1H, d, J=2.0 Hz, H-2'), 6.93 (1H, d, J=8.5 Hz, H-5'), 7.68 (1H, d, J=9 Hz, H-6'), 9.53 (1H, s, 4'-OH), 3.80 (3H, s, 3'-OCH₃); ¹³C NMR: 143.7 (C-2), 135.7 (C-3), 175.8 (C-4), 160.6 (C-5), 98.2 (C-6), 163.9 (C-7), 93.5 (C-8), 156.1 (C-9), 103.0 (C-10), 122.0 (C-1'), 111.9 (C-2'), 146.6 (C-3'), 148.8 (C-4'), 115.5 (C-5'), 121.7 (C-6'), 55.8 (OCH₃)。以上数据与文献^[14]比对,确定该化合物为异鼠李素(isorhamnetin)。

2.2.10 化合物 **10** 淡黄色针晶, m. p. 293 ~ 295°C, 盐酸-镁粉反应阳性, AlCl₃ 试剂显黄绿色荧光, ESI-MS(m/z): 331 [M+H]⁺, 329 [M-H]⁻, 根据¹H NMR、¹³C NMR 及 DEPT 谱(DMSO-d₆, 600 MHz)推测其分子式为 C₁₇H₁₄O₇。¹H NMR: 12.96 (1H, s, 5-OH), 6.99 (1H, s, 3-OH), 6.19 (1H, d, J=2.1 Hz, H-6), 6.55 (1H, d, J=2.1 Hz, H-8), 7.32 (1H, s, H-2'), 7.32 (1H, s, H-6'), 3.87 (6H, s, 3'-OCH₃); ¹³C NMR: 163.7 (C-2), 103.8 (C-3), 181.8 (C-4), 157.4 (C-5), 98.8 (C-6), 164.2 (C-7), 94.2 (C-8), 161.4 (C-9), 120.4 (C-10), 139.8 (C-1'), 104.4 (C-2'), 148.2 (C-3'), 164.2 (C-4'), 148.2 (C-5'), 103.6 (C-6'), 56.4 (OCH₃), 56.4 (OCH₃)。以上数据与文献^[15] 比对, 确定该化合物为小麦黄素(tricin)。

化合物 **1~10** 的结构式见图 1。

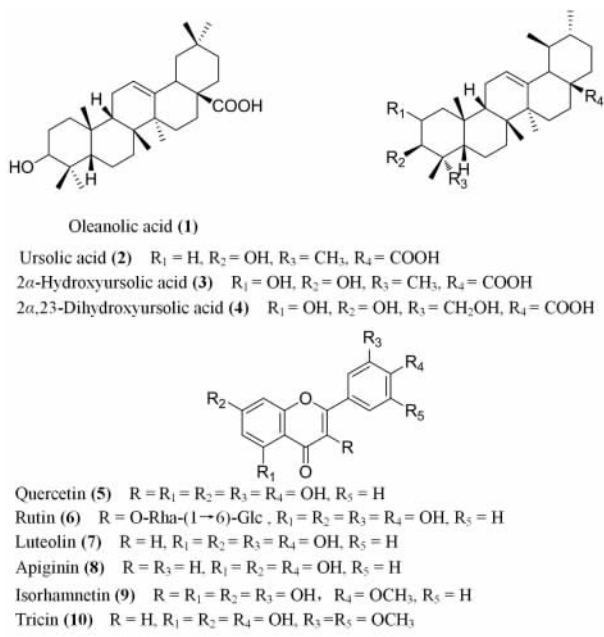


图 1 化合物 **1~10** 的结构式

Fig 1 Structures of compounds 1-10

3 讨论

蓝萼香茶菜为唇形科香茶菜属植物, 具有抗炎、抗病毒、抗肿瘤等多种药理作用。贝壳杉二萜类化合物是其所含有的主要抗肿瘤活性成分。我们在前期研究工作中分离鉴定了 5 个具有抗肿瘤活性的二萜类化合物^[7]。近年研究还发现, 蓝萼香茶菜中的黄酮醇类成分对经典途径的补体激活具有不同程度的抑制作用^[16]。因此对其非二萜化学成分和生物活性等都值得深入研究。本实验在前期研究的基础上,

进一步对其非二萜类成分进行分离鉴定, 共分得 10 个单体化合物, 其中小麦黄素和异鼠李素为首次从本植物中分离得到。目前相关活性测试仍在进行中。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[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,1999:147.
- [2] 桂明玉,金永日,王宝珍.蓝萼香茶菜化学成分研究[J].中国药理学杂志,1999,34:516-518.
- [3] 桂明玉,金永日,刘松艳,木内文之,太田富久.蓝萼香茶菜化学成分研究 II [J].中国药理学杂志,2000,35:374-375.
- [4] 孙汉董,许云龙,姜北.香茶菜属植物二萜化合物[M].北京:科学出版社,2001.
- [5] Kim D S, Chang R G, Shen X Y, Chen Y P, Sun H D. Diterpenoids from *Rabdosia japonica* [J]. Phytochemistry, 1992, 31: 697-699.
- [6] 丁兰,王炜,王丽,汪涛,汪汉卿.甘肃产蓝萼香茶菜二萜化学成分研究[J].广西植物,2008,28:265-268.
- [7] Xiang Z B, Shen X, Tang Y, Yao G, Li X H. Cytotoxic activity of diterpenoids from *Rabdosia japonica* var. glaucocalyx [J]. Asian J Chem, 2011, 23: 3761-3762.
- [8] 王建忠,王峰鹏.细锥香茶菜的化学成分研究[J].天然产物研究与开发,1998,10:15-17.
- [9] 王福东,丁兰,汪汉卿.蓝萼香茶菜三萜成分的研究[J].中国中药杂志,2005,30:1929-1932.
- [10] 杨秀伟,赵静.蓝萼香茶菜化学成分的研究[J].天然产物研究与开发,2003,15:490-493.
- [11] 项光亚,杨瑜,阮金兰.金丝桃化学成分研究[J].同济医科大学学报,2001,30:481-483.
- [12] 柴兴云,李萍,唐力英.山银花化学成分研究[J].中国中药杂志,2004,29:865-867.
- [13] 唐人九.人字草黄酮类化学成分研究[J].华西药理学杂志,1996,11:5-7.
- [14] 何春年,王春兰,郭顺星,杨峻山,肖培根.福建金线莲的化学成分研究[J].中国药理学杂志,2005,40:581-583.
- [15] 尚明英,蔡少青,韩键.中药胡芦巴的黄酮类成分研究[J].中国中药杂志,1998,23:614-616.
- [16] 姚士,徐乃玉,褚纯隽,张健,陈道峰.蓝萼香茶菜的抗补体活性成分研究[J].中国中药杂志,2013,38:199-203.

[本文编辑] 尹茶