

## 茺蔚子中神经营养活性成分

刘玉红\*, 张文玉, 蒋海强  
(山东中医药大学, 济南 250355)

**[摘要]** 目的:对茺蔚子中神经营养活性部位的化学成分进行分离,追踪活性成分。方法:采用硅胶、Sephadex LH-20、高效制备液相等方法进行分离纯化,根据质谱、核磁共振技术鉴定化合物结构,通过 PC12 细胞神经轴突生长促进作用测定神经营养活性。结果:分离得到 5 个化合物,分别鉴定为橙黄胡椒酰胺乙酸酯(1), auraptinol(2), 1-亚油酸单甘油酯(3), 刺槐素(4)和  $\beta$ -谷甾醇葡萄糖苷(5),其中化合物 1 可以明显促进 PC12 细胞神经轴突的生长。结论:化合物 1~5 均为首次从该属植物中分离得到,化合物 1 显示良好的神经营养活性。

**[关键词]** 茺蔚子; 化学成分; 神经营养

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)08-0067-03

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015080067

**Chemical Constituents from the Fruits of *Leonurus japonicus* and Their Neurotrophic Activity**  
LIU Yu-hong\*, ZHANG Wen-yu, JIANG Hai-qiang (Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

**[Abstract]** **Objective:** To isolate neurotrophic activity compounds from the fruits of *Leonurus japonicus*. **Method:** Silica gel, Sephadex LH-20 and preparative HPLC were used for isolation and purification. The structures of compounds were elucidated by MS and NMR spectra. Neurotrophic activity was evaluated on the neurite outgrowth of PC12 cells. **Result:** Five compounds were obtained and identified as aurantiamide acetate (1), auraptinol (2), 1-monolinolein (3), acacetin (4), and  $\beta$ -sitosterol glucopyranoside (5). Compound 1 could significantly enhance the neurite outgrowth of PC12 cells. **Conclusion:** Compounds 1-5 were isolated for the first time from the genus *Leonurus*, compound 1 exhibited neurotrophic activity.

**[Key words]** *Leonurus japonicus*; chemical constituent; neurotrophic activity

茺蔚子具活血调经、清肝明目之功,临床用于治疗月经不调、经闭、痛经、产后瘀血腹痛、目赤肿痛、头晕胀痛等。现代药理学研究表明,茺蔚子能够抗氧化、降血脂、降血压,改善大脑中动脉堵塞大鼠记忆功能<sup>[1-3]</sup>。茺蔚子中富含脂肪酸与氨基酸<sup>[4]</sup>;除了几个环肽<sup>[5-7]</sup>和螺环三萜<sup>[8]</sup>外,其他类型化学成分的研究报道较少。在对几十种中药提取物活性筛选过程中,首次发现了茺蔚子甲醇提取物具有显著的神经营养活性,跟踪分离了其中的化学成分,获得化合物橙黄胡椒酰胺乙酸酯(1), auraptinol(2), 1-亚油酸单甘油酯(3), 刺槐素(4)和  $\beta$ -谷甾醇葡萄糖苷(5)。所有化合物均为首次从该属植物中分离得到。对化合物 1~5 进行神经营养活性测定,其中

化合物 1 可以明显促进 PC12 细胞神经轴突的生长,显示良好的神经营养活性。

### 1 材料

600 MHz 核磁共振仪(美国 Varian 公司);MS 采用 MStation JMS-700 和 JMX-AX 500 型质谱仪,硅胶柱色谱(Merck 公司),Sephadex LH-20(Pharmacia 公司);COSMOSIL C<sub>18</sub>-MS-II 反相制备柱(10 mm × 250 mm, 15  $\mu$ m),所用试剂均为分析纯。

茺蔚子由济南药业集团中药饮片厂提供,经山东中医药大学药学院徐凌川教授鉴定为唇形科植物益母草 *Leonurus japonicus* 的干燥成熟果实,标本(1810FR)保存于山东中医药大学药学院中药标本室。

**[收稿日期]** 20140720(007)

**[基金项目]** 日本德岛文理大学博士后基金项目(2013012);山东省高等学校优秀青年教师国内访问学者项目(201426)

**[通讯作者]** \*刘玉红, 博士,副教授,从事天然药物活性成分与质量控制研究, Tel:0531-89628273, E-mail:liuyuhongwu@126.com

## 2 提取分离

取益母草的干燥果实茺蔚子 1 kg, 室温下甲醇浸泡 30 d, 浸提液浓缩后得浸膏 30 g。浸膏经硅胶柱色谱, 依次用二氯甲烷 (A:100%), 二氯甲烷-乙酸乙酯 (B:9:1, C:5:5), 乙酸乙酯 (D:100%), 乙酸乙酯-甲醇 (E:9:1, F:7:3) 和甲醇 (G:100%) 梯度洗脱得到组分 A ~ G, 组分 C (1.5 g) 经 Sephadex LH-20 柱色谱, 甲醇洗脱获得组分 Fr. c1 ~ Fr. c6。Fr. c4 进一步上硅胶柱色谱, 正己烷-乙酸乙酯 (6:4) 洗脱得组分 Fr. c7 ~ Fr. c15。Fr. c11 经反相柱制备型高效液相分离得化合物 1 (1.8 mg); Fr. c13 由反相柱制备型高效液相分离获得化合物 2 (1.3 mg); Fr. c14 经反相柱制备型高效液相分离得化合物 3 (3.3 mg)。化合物 4 (2.1 mg) 由反相柱制备型高效液相分离纯化获得 Fr. c5。组分 E (1.0 g) 经硅胶柱色谱, 三氯甲烷-甲醇-水 (80:20:0.2) 洗脱获得 Fr. e1 ~ Fr. e4, Fr. e4 经三氯甲烷-甲醇 (1:1) 反复重结晶得化合物 5 (13 mg)。

## 3 结构鉴定

化合物 1 白色粉末; CI-MS  $m/z$  (rel. int.) 445  $[M + H]^+$  (43), 252 (96), 224 (39), 194 (100), 105 (49)。 $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 600 MHz)  $\delta$ : 7.71 (2H, dd,  $J = 7.9, 1.2$  Hz, H-2', 6'), 7.53 (1H, tt,  $J = 7.7, 1.2$  Hz, H-4'), 7.44 (2H, t,  $J = 7.9$  Hz, H-3', 5'), 6.71 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz, H-8), 5.89 (1H, d,  $J = 8.6$  Hz, H-5), 4.75 (1H, m, H-7), 4.35 (1H, m, H-4), 3.93 (1H, dd,  $J = 11.3, 4.3$  Hz, H-3b), 3.83 (1H, dd,  $J = 11.3, 4.3$  Hz, H-3a), 3.22 (1H, dd,  $J = 13.7, 5.9$  Hz, H-10b), 3.05 (1H, dd,  $J = 13.7, 8.6$  Hz, H-11a), 2.77 (1H, dd,  $J = 13.8, 6.9$  Hz, H-10b), 2.73 (1H, dd,  $J = 13.8, 7.5$  Hz, H-10a), 2.03 (3H, s,  $CH_3$ -1);  $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 600 MHz)  $\delta$ : 170.8 (C-2), 170.2 (C-6), 167.1 (C-9), 136.7 (C-1''), 136.6 (C-1'''), 133.6 (C-1'), 131.9 (C-4'), 129.3 (C-2'', 6''), 129.1 (C-2''', 6'''), 128.8 (C-3', 5'), 128.6 (C-3'', 5''), 128.6 (C-3''', 5'''), 127.1 (C-2', 6'), 127.1 (C-4''), 126.7 (C-4'''), 64.6 (C-3), 55.0 (C-7), 49.4 (C-4), 20.8 (C-1)。以上数据与文献[9]报道数据一致, 鉴定化合物 1 为橙黄胡椒酰胺乙酸酯。

化合物 2 白色粉末; CI-MS  $m/z$  (rel. int.) 261  $[M + H]^+$  (17), 243 (100), 190 (58)。 $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 600 MHz)  $\delta$ : 7.63 (1H, d,  $J = 9.4$

Hz, H-4), 7.35 (1H, d,  $J = 8.7$  Hz, H-5), 6.87 (1H, d,  $J = 8.7$  Hz, H-6), 6.25 (1H, d,  $J = 9.4$  Hz, H-3), 4.90 (1H, m, H-4'a), 4.81 (1H, m, H-4'b), 4.36 (1H, m, H-2'), 3.94 (3H, s,  $OCH_3$ ), 3.20 (1H, dd,  $J = 13.6, 4.7$  Hz, H-1'a), 3.10 (1H, dd,  $J = 13.6, 8.5$  Hz, H-1'b), 1.90 (3H, m,  $CH_3$ -5');  $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 600 MHz)  $\delta$ : 161.0 (C-2), 160.7 (C-7), 153.5 (C-9), 147.2 (C-3'), 143.7 (C-4), 127.0 (C-5), 115.1 (C-8), 113.2 (C-10), 113.1 (C-3), 110.5 (C-4'), 107.3 (C-6), 75.3 (C-2'), 56.2 ( $OCH_3$ ), 29.4 (C-1'), 18.1 (C-5')。以上数据与文献[10]报道数据基本一致, 鉴定化合物 2 为 auraptanol。

化合物 3 无色油状物; EI-MS  $m/z$  (rel. int.) 354  $[M]^+$  (18), 262 (100), 81 (58), 67 (66), 55 (39)。 $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 500 MHz)  $\delta$ : 5.35 (4H, m, H-9, 10, 12, 13), 4.18 (1H, dd,  $J = 11.7, 4.8$  Hz, H-1'a), 4.14 (1H, dd,  $J = 11.7, 6.1$  Hz, H-1'b), 3.93 (1H, m, H-2'), 3.69 (1H, dd,  $J = 11.5, 3.9$  Hz, H-3'a), 3.59 (1H, dd,  $J = 11.5, 5.9$  Hz, H-3'b), 2.77 (2H, t,  $J = 6.5$  Hz, H-11), 2.35 (2H, t,  $J = 7.5$  Hz, H-2), 2.03 (4H, m, H-8, 14), 1.61 (2H, m, H-3), 1.39 ~ 1.25 (14H, m,  $7 \times CH_2$ );  $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 500 MHz)  $\delta$ : 174.4 (C-1), 130.2 (C-9), 130.0 (C-13), 128.1 (C-12), 127.9 (C-13), 70.2 (C-2'), 65.5 (C-1'), 63.4 (C-3'), 34.1 ~ 22.6 ( $7 \times CH_2$ ), 14.1 (C-18)。以上数据与文献[11]报道数据基本一致, 鉴定化合物 3 为 1-亚油酸单甘油酯。

化合物 4 淡黄色粉末。 $^1H$ -NMR ( $CD_3COCD_3$ , 500 MHz)  $\delta$ : 12.97 (1H, s, 5-OH), 7.96 (2H, m, H-2', 6'), 6.92 (2H, m, H-3', 5'), 6.85 (1H, s, H-3), 6.77 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-8), 6.37 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-6), 3.86 (3H, s, 4'- $OCH_3$ );  $^{13}C$ -NMR ( $CD_3COCD_3$ , 500 MHz)  $\delta$ : 182.0 (C-4), 165.2 (C-7), 164.1 (C-4), 161.5 (C-2), 161.2 (C-9), 157.3 (C-5), 128.6 (C-2', 6'), 121.0 (C-1'), 116.1 (C-3', 5'), 104.7 (C-5), 103.0 (C-10), 98. (C-6), 92.7 (C-6), 56.1 (4'- $OCH_3$ )。以上数据与文献[12]报道数据基本一致, 鉴定化合物 4 为刺槐素。

化合物 5 无定形粉末; FAB-MS  $m/z$  615  $[M + K]^+$ 。 $^1H$ -NMR (pyridine- $d_5$ , 500 MHz)  $\delta$ : 5.07 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz, H-1'), 4.58 (1H, dd,  $J = 11.6, 2.3$

Hz, H-6'b), 4.43 (1H, dd,  $J = 11.6, 4.8$  Hz, H-6'a), 4.31 (2H, m, H-3', H-4'), 4.08 (1H, t,  $J = 8.0$  Hz, H-2'), 4.01 (1H, m, H-5'), 4.00 (1H, m, H-3), 1.01-2.78 (36H, m, CH<sub>2</sub>), 0.98 (3H, d,  $J = 6.3$  Hz, CH<sub>3</sub>-21), 0.93 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 0.85-0.91 (9H, m, CH<sub>3</sub>-26,27,29), 0.65 (3H, s, CH<sub>3</sub>-18); <sup>1</sup>C-NMR (pyridine-*d*<sub>5</sub>, 500 MHz)  $\delta$ : 140.9 (C-5), 121.9 (C-6), 102.5 (C-1'), 78.6 (C-3'), 78.5 (C-5'), 78.0 (C-3), 75.3 (C-2'), 71.6 (C-4'), 62.8 (C-6'), 56.8 (C-14), 56.2 (C-17), 50.3 (C-9), 46.0 (C-24), 42.4 (C-13), 39.9 (C-12), 39.3 (C-4), 37.4 (C-1), 36.9 (C-10), 36.4 (C-20), 34.2 (C-22), 32.1 (C-7), 32.0 (C-8), 30.2 (C-2), 29.4 (C-25), 28.5 (C-16), 26.3 (C-23), 24.5 (C-15), 23.3 (C-28), 21.3 (C-11), 20.0 (C-26), 19.4 (C-27), 19.2 (C-19), 19.0 (C-21), 12.1 (C-29), 11.9 (C-18)。以上数据与文献[13]报道数据基本一致,鉴定化合物**5**为 $\beta$ -谷甾醇葡萄糖苷。

#### 4 神经营养活性测定

按文献[14]方法分别测定化合物**1**~**5**对PC12细胞神经轴突生长的促进作用,结果表明,在0.5  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的NGF存在下,化合物**1**可以促进神经轴突的生长,形态学观察结果见图1。进行定量分析,在1,10,30  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度时,PC12细胞神经轴突的平均长度分别为31.3,26.2,23.8  $\mu\text{m}$ ,与对照组(平均长度为18.2  $\mu\text{m}$ )比较具有显著性差异。说明化合物**1**具有较好的神经营养活性。对其进一步研究,可望开发神经退行性疾病如阿尔默茨病治疗的候选药物。

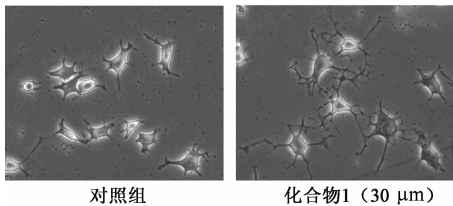


图1 化合物**1**对PC12细胞神经轴突生长的促进作用  
Fig. 1 Neurite outgrowth-promoting effect of compound **1** on PC12 cells

#### [参考文献]

[1] 王灿,李寒冰,齐向云,等. 益母草与茺蔚子体外抗

氧化活性比较[J]. 中国实验方剂学杂志,2013, 19 (12):179-181.

[2] 冯有为. 川芎茺蔚子对MCAO大鼠学习记忆及脑神经细胞iNOS基因表达的影响[D]. 济南:山东中医药大学,2003:4-9.

[3] 张莲珠,王会弟. 茺蔚子研究进展[J]. 长春中医药大学学报,2012, 28(5):920-921.

[4] 林文群,陈宏靖,陈忠. 茺蔚子化学成分的研究[J]. 福建师范大学学报:自然科学版,2001,17(2):84-87.

[5] Morita H, Gonda A, Takeya K, et al. Cycloleonoripeptides A, B and C, three new proline-rich cyclic nonapeptides from *Leonurus heterophyllus* [J]. Bioorg Med Chem Lett, 1996, 6(7):767-770.

[6] Morita H, Gonda A, Takeya K, et al. Cycloleonoripeptide D, A new proline-rich cyclic decapeptide from *Leonurus heterophyllus* [J]. Tetrahedron, 1997, 53(5):1617-1626.

[7] Morita H, Iizuka T, Gonda A, et al. Cycloleonoripeptides E and F, cyclic nonapeptides from *Leonurus heterophyllus*[J]. J Nat Prod, 2006, 69(5): 839-841.

[8] 郑玉清,闫合,韩婧,等. 中药茺蔚子中一个新C-28降三萜[J]. 中国中药杂志,2012, 37(14): 2088-2091.

[9] Tang J, Tewtrakul S, Wang Z T, et al. Aurantiamide acetate from stems of *Zanthoxylum dissitum* Hemsley [J]. Chin Pharm Sci, 2003, 12(4):231-233.

[10] Cai J N, Basnet P, Wang Z T, et al. Coumarins from the fruits of *Cnidium monnieri* [J]. J Nat Prod, 2000, 63(4):485-488.

[11] 曾浩洋,阿布拉江·克依木,刘艳,等. 宽裂龙蒿地上部分化学成分研究[J]. 中草药,2013, 44(9): 1096-1100.

[12] 马柱坤,牛宝静,张蓓蓓,等. 斑唇马先蒿化学成分的研究[J]. 中草药,2013, 44(4):403-407.

[13] Bayoumi SAL, Rowan M G, Beeching J R, et al. Constituents and secondary metabolite natural products in fresh and deteriorated cassava roots [J]. Phytochemistry, 2010, 71(5/6):598-604.

[14] Liu Y, Kubo M, Fukuyama Y. Nerve growth factor-potentiating benzofuran derivatives from the medicinal fungus *Phellinus ribis*[J]. J Nat Prod, 2012, 75(12): 2152-2157.

[责任编辑 顾雪竹]