

海南五层龙中一个新的甘遂烷型三萜化合物

郭正红¹, 袭荣刚², 王晓波², 吴立军¹, 高慧媛^{1*}

(1. 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016; 2. 中国人民解放军第210医院, 辽宁 大连 116021)

摘要: 为了研究海南五层龙 (*Salacia hainanensis* Chun et How) 根茎的化学成分, 采用硅胶柱色谱, Sephadex LH-20 柱色谱和制备型高效液相色谱 (HPLC) 等方法进行分离纯化, 根据理化性质和波谱数据进行化合物的结构鉴定。从海南五层龙根茎的甲醇提取物中分离得到 9 个化合物, 分别鉴定为 26, 27-dihydroxy-7, 24-tirucalladien-3-one (**1**)、abruslactone A (**2**)、羽扇豆醇 (lupeol, **3**)、21 α , 30-dihydroxy-D: A-friedooleanan-3-one (**4**)、15 α -hydroxyfriedelan-3-one (**5**)、木栓酮 (friedelin, **6**)、芒果苷 (mangiferin, **7**)、表儿茶素 (epicatechin, **8**) 和 β -谷甾醇 (β -sitosterol, **9**)。其中化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **2** 为五层龙属植物中首次分离得到, 化合物 **3**、**4**、**5**、**8** 为从该植物中首次分离得到。

关键词: 海南五层龙; 甘遂烷; 26, 27-dihydroxy-7, 24-tirucalladien-3-one

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2009) 10-1123-04

A new triucallane derivative from *Salacia hainanensis* Chun et How

GUO Zheng-hong¹, XI Rong-gang², WANG Xiao-bo², WU Li-jun¹, GAO Hui-yuan^{1*}

(1. School of Traditional Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China;

2. 210th Hospital of People Liberation Army, Dalian, 116021, China)

Abstract: Chemical constituents of the roots and stem of *Salacia hainanensis* Chun et How were isolated and purified with column chromatography on silica gel, Sephadex LH-20 and preparative HPLC. Their structures were elucidated based on physicochemical and spectral spectroscopic analysis. Depending on the activities of anti- α -glucosidase and inhibiting AGEs (advanced glycation end products, AGEs) formation *in vitro*, nine compounds were identified as 26, 27-dihydroxy-7, 24-tirucalladien-3-one (**1**), abruslactone A (**2**), lupeol (**3**), 21 α , 30-dihydroxy-D: A-friedooleanan-3-one (**4**), 15 α -hydroxyfriedelan-3-one (**5**), friedelin (**6**), mangiferin (**7**), epicatechin (**8**) and β -sitosterol (**9**), separately. Among them, compound **1** is a new compound, and compound **2** was isolated from the *Salacia* genus for the first time, while, compounds **3**, **4**, **5**, **8** were obtained from this plant for the first time.

Key words: *Salacia hainanensis* Chun et How; tirucallane; 26, 27-dihydroxy-7, 24-tirucalladien-3-one

海南五层龙 (*Salacia hainanensis* Chun et How) 为翅子藤科 (Hippocrateaceae) 五层龙属植物, 又名海南杪拉木, 为海南特有的一种攀缘灌木植物。其根可入药, 具有通经活络、祛风除湿的功效, 可用于风湿性关节炎、腰肌劳损、体虚无力等症的治疗^[1]。课

题组在前期研究工作中, 以对 α -葡萄糖酶的抑制活性、抑制晚期糖基化终产物 (advanced glycation end products, AGEs) 的生成为生化指标, 考察了海南五层龙甲醇提取物的活性, 结果显示该提取物对 α -葡萄糖酶及 AGEs 的生成具有显著的抑制活性, 提示该植物具有抑制糖尿病及并发症的活性。为明确其活性物质基础, 采用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱和制备型高效液相色谱等方法从海南五层龙根茎的甲醇提取物中分离得到了 9 个化合物, 分别鉴定为 26,

收稿日期: 2009-05-05.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30772717).

*通讯作者 Tel / Fax: 86-24-23986482.

E-mail: gaohuiyuan1997@yahoo.com.cn

27-dihydroxy-7,24-tirucalladien-3-one (**1**)、abruslactone A (**2**)、羽扇豆醇 (lupeol, **3**)、21 α , 30-dihydroxy-D: A-friedooleanan-3-one (**4**)、15 α -hydroxyl -friedelan-3-one (**5**)、木栓酮 (friedelin, **6**)、芒果苷 (mangiferin, **7**)、表儿茶素 (epicatechin, **8**) 和 β -谷甾醇 (β -sitosterol, **9**)。其中化合物 **1** 为一新化合物, 化合物 **2** 为五层龙属植物中首次分离得到, 化合物 **3**, **4**, **5**, **8** 为从该植物中首次分离得到。

化合物 1 白色粉末 (吡啶), 香草醛/浓硫酸反应、Libermann-Burchard 反应阳性, 推测为三萜类化合物。HR-ESI-MS m/z : 479.349 4 [M+Na]⁺ (calcd. for 479.349 6, C₃₀H₄₈O₃Na), 结合其碳、氢谱数据推测其分子式为 C₃₀H₄₈O₃。¹H NMR (600 MHz, pyridine-*d*₅) 高场区给出 6 组甲基氢信号 δ : 0.83 (3H, s, H-18), 0.87 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-21), 0.92 (3H, s, H-19), 1.00 (3H, s, H-30), 1.05 (3H, s, H-29), 1.10 (3H, s, H-28); 两组连氧仲碳的质子信号 δ : 4.75 (2H, s, H-26), 4.76 (2H, s, H-27), 两个烯氢信号 δ : 5.28 (1H, d, J = 3.0 Hz, H-7), 5.97 (1H, dd, J = 7.8, 6.6 Hz, H-24)。¹³C NMR (125 MHz, pyridine-*d*₅) (表 1) 给出 30 个碳信号, 结合 DEPT 谱确认其中包括一个羰基碳信号 δ 215.4, 4 个烯碳信号 δ 118.3, 146.1, 127.5, 140.8, 两个连氧仲碳信号 δ 58.6, 65.4 和 6 个甲基碳信号等。根据 HSQC 提供的相关信息对该化合物的直接相关的碳氢信号进行了归属 (表 1)。该化合物的 NMR 数据与文献^[2]报道的 (24Z)-27-hydroxy-7, 24-tirucalladien-3-one 的数据十分相近, 主要区别在于 CH₃-26 的碳谱数据由 δ 21.4 向低场位移至 δ 58.6, 说明此位置被羟基化, 此外 C-25、27 也均向低场产生位移, 而 C-24 因 γ -旁氏效应则向高场产生位移, 进一步证明 C-26 被羟甲基化, 确定该化合物的结构为 26, 27-dihydroxy-7, 24-tirucalladien-3-one。采用 ROESY 相关谱, 对其立体结构进行了确证, ROESY 谱显示 (图 1) CH₃-19/CH₃-29、CH₃-19/CH₃-30、CH₃-18/H-9、CH₃-28/H-5 存在 NOE

相关, 因此骨架中环的稠合方式未变, 经查阅文献该化合物为一个未见文献报道的新化合物, 命名为 26, 27-dihydroxy-7, 24-tirucalladien-3-one。

Table 1 ¹H NMR and ¹³C NMR data of compound **1** (pyridine-*d*₅, J in Hz)

No.	δ_c	δ_H	HMBC (H-C)	ROESY
1	38.5	1.38 (1H, dd, J = 9.6, 3.6), 1.85 (1H, m)	C-2, 9	
2	35.2	2.28 (1H, m), 2.75 (1H, m)	C-1, 10, 3, 4	
3	215.4			
4	47.9			
5	52.5	1.73 (1H, overlap)	C-29, 6	H-28
6	24.6	1.98 (2H, m)	C-5, 10, 8	
7	118.3	5.28 (1H, d, J = 3.0)	C-14	
8	146.1			
9	48.6	2.27 (1H, overlap)	C-1, 10	H-18
10	35.2			
11	30.0	1.27 (1H, m), 1.30 (1H, m)		
12	33.9	1.58 (1H, overlap) 1.75 (1H, overlap)	C-13, 14, 18	
13	43.8			
14	51.6			
15	34.3	1.45 (1H, overlap) 1.55 (1H, overlap)	C-14, 16, 9	
16	28.7	1.22 (1H, m), 1.89 (1H, m)	C-13	
17	53.5	1.48 (1H, m)	C-13, 20	
18	22.3	0.83 (3H, s)	C-12, 13, 14, 17	H-9, 20
19	18.5	0.92 (3H, s)	C-1, 5, 9, 10	H-29, 30
20	36.1	1.43 (1H, m)	C-13, 22	H-18
21	18.7	0.87 (3H, d, J = 6.6)	C-17, 20, 22	
22	35.7	1.15 (1H, overlap) 1.78 (1H, overlap)	C-23, 24	
23	25.1	2.22 (1H, m), 2.42 (1H, m)		
24	127.5	5.97 (1H, dd, J = 7.8, 6.6)	C-27	
25	140.8			
26	58.6	4.75 (2H, s)	C-27	
27	65.4	4.76 (2H, s)	C-24, 25, 26	
28	24.9	1.10 (3H, s)	C-3, 4, 5	H-5
29	21.6	1.05 (3H, s)	C-3, 4, 5	H-19
30	27.6	1.00 (3H, s)	C-8, 13, 14, 15	H-19

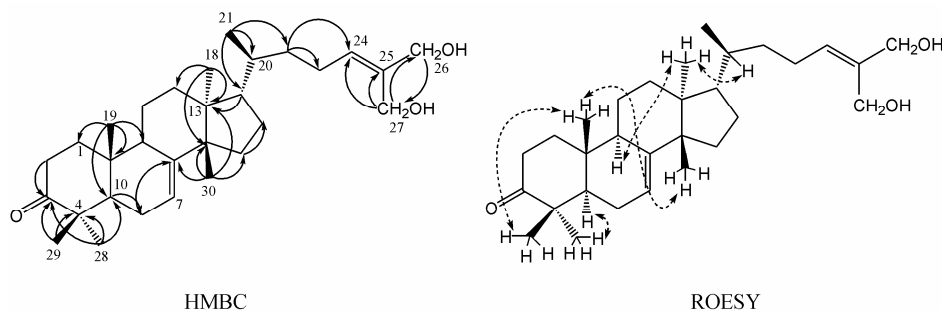


Figure 1 The Key correlations in HMBC and ROESY spectra of compound **1**

实验部分

熔点测定用日本 Yanaco MP-S3 型显微熔点测定仪 (温度未校正); 核磁共振谱测定用 Bruker ARX-300 型及 AV-600 型核磁共振仪测定 (TMS 作内标)。HPLC 用 HITACHI 公司 L-6000 Pump 和 UV Detector L-7400。柱色谱硅胶与薄层色谱硅胶用青岛海洋化工有限公司产品。SephadexLH-20 由 Pharmacia 生产。常规试剂均为分析纯。

海南五层龙于 2006 年 10 月采于海南省保亭县, 由沈阳药科大学中药鉴定教研室孙启时教授鉴定为海南五层龙 (*Salacia hainanensis* Chun et How), 样品保存于沈阳药科大学天然药物化学研究室。

1 提取与分离

海南五层龙干燥根茎粗粉 5.5 kg, 用甲醇加热回流提取 2 次, 每次 4 h, 减压回收溶剂得浸膏 491 g。浸膏用去离子水进行分散, 依次用乙酸乙酯、正丁醇萃取, 取乙酸乙酯组分 (98 g) 经硅胶柱色谱分离, 以不同体积比例的氯仿-甲醇梯度洗脱, 并经 HPLC 纯化, 得到化合物 **1** (5 mg)、**3** (20 mg)、**4** (147 mg)、**6** (6 mg) 和 **9** (160 mg), 乙酸乙酯萃取物的沉淀部分经溶剂洗涤纯化得化合物 **7** (2.3 g)。正丁醇组分 (100 g) 经硅胶柱色谱分离, 以不同体积比例的氯仿-甲醇梯度洗脱, 并经 HPLC 纯化, 得到化合物 **2** (5 mg)、**5** (4 mg) 和 **8** (67 mg)。

2 结构鉴定

化合物 1 白色粉末 (吡啶), 香草醛/浓硫酸反应、Libermann-Burchard 反应阳性。mp 135~138 °C, HR-ESI-MS m/z : 479.349 4 [M+Na]⁺ (calcd. for 479.349 6 C₃₀H₄₈O₃Na)。¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据见表 1。鉴定其为 26, 27-dihydroxy-7, 24-tirucalladien-3-one。

化合物 2 白色粉末 (氯仿), mp >300 °C, 香草醛/浓硫酸反应、Libermann-Burchard 反应阳性。¹H NMR (300 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 0.80 (3H, s, H-28), 0.90 (3H, s, H-23), 0.94 (3H, s, H-24), 1.05 (3H, s, H-25), 1.07 (3H, s, H-26), 1.22 (6H, s, H-27, 30), 3.43 (1H, dd, J = 10.8, 4.8 Hz, H-3), 4.14 (1H, d, J = 5.4 Hz, H-22), 5.30 (1H, br s, H-12)。¹³C NMR (75 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 42.0 (C-1), 27.6 (C-2), 77.4 (C-3), 38.5 (C-4), 55.2 (C-5), 18.2 (C-6), 32.9 (C-7), 38.8 (C-8), 47.3 (C-9), 36.7 (C-10), 23.2 (C-11), 124.3 (C-12), 140.0 (C-13), 39.7 (C-14), 24.1 (C-15), 25.1 (C-16), 34.9 (C-17), 42.8 (C-18), 33.2 (C-19), 39.0 (C-20), 39.1 (C-21), 82.5 (C-22), 28.2 (C-23), 15.3 (C-24), 16.0 (C-25), 16.6 (C-26), 23.5 (C-27), 24.3 (C-28), 181.7 (C-29), 20.6

(C-30)。以上数据与文献^[3,4]报道的数据相比对, 鉴定为 abruslactone A。

化合物 3 白色粉末 (吡啶), mp 186 °C, 香草醛/浓硫酸反应、Libermann-Burchard 反应阳性。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.77 (3H, s, H-24), 0.80 (3H, s, H-28), 0.84 (3H, s, H-25), 0.96 (3H, s, H-23), 0.98 (3H, s, H-27), 1.04 (3H, s, H-26), 1.70 (3H, s, H-30), 2.38 (1H, td, J = 10.9, 5.3 Hz, H-2), 3.20 (1H, dd, J = 10.9, 5.3 Hz, H-2), 4.58 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-30), 4.70 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-30)。¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 38.7 (C-1), 27.4 (C-2), 79.0 (C-3), 38.9 (C-4), 55.3 (C-5), 18.3 (C-6), 34.3 (C-7), 40.8 (C-8), 50.4 (C-9), 37.2 (C-10), 21.0 (C-11), 25.1 (C-12), 38.0 (C-13), 42.8 (C-14), 27.4 (C-15), 35.6 (C-16), 43.0 (C-17), 48.3 (C-18), 48.0 (C-19), 151.0 (C-20), 29.8 (C-21), 40.0 (C-22), 28.0 (C-23), 15.4 (C-24), 16.1 (C-25), 16.0 (C-26), 14.5 (C-27), 18.0 (C-28), 109.3 (C-29), 19.3 (C-30)。以上数据与文献^[5]报道的数据一致, 故鉴定为羽扇豆醇。

化合物 4 白色粉末 (氯仿), mp 280~282 °C, 香草醛/浓硫酸反应、Libermann-Burchard 反应阳性。¹H NMR (300 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 0.67 (3H, s, H-24), 0.76 (3H, s, H-25), 0.82 (3H, s, H-26), 0.95 (3H, d, J = 6.7 Hz, H-23), 1.22 (3H, s, H-27), 1.29 (3H, s, H-28), 1.45 (3H, s, H-29), 3.76 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-30), 3.98 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-30), 4.76 (1H, dd, J = 12.2, 4.4 Hz, H-21)。¹³C NMR (75 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 22.5 (C-1), 41.2 (C-2), 211.9 (C-3), 58.0 (C-4), 42.0 (C-5), 18.5 (C-6), 33.5 (C-7), 51.4 (C-8), 37.6 (C-9), 59.3 (C-10), 35.4 (C-11), 30.3 (C-12), 39.4 (C-13), 39.2 (C-14), 30.3 (C-15), 36.9 (C-16), 30.0 (C-17), 44.7 (C-18), 41.6 (C-19), 40.0 (C-20), 69.1 (C-21), 47.0 (C-22), 7.3 (C-23), 14.7 (C-24), 18.4 (C-25), 17.3 (C-26), 19.5 (C-27), 32.7 (C-28), 21.8 (C-29), 71.9 (C-30)。该化合物与文献^[6]报道的 21 α , 30-dihydroxy-D: A-friedooleanan-3-one 的光谱学数据相一致, 鉴定其为 21 α , 30-dihydroxy-D: A-friedooleanan-3-one。

化合物 5 白色粉末 (氯仿-甲醇) mp 273 °C, ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 0.73 (3H, s, H-24), 0.88 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-23), 0.89 (3H, s, H-25), 0.95 (3H, s, H-30), 0.99 (3H, s, H-27), 1.02 (3H, s, H-29), 1.07 (3H, s, H-26), 1.28 (3H, s, H-28), 3.74 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-15)。¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 22.3 (C-1), 41.5 (C-2), 213.1 (C-3), 58.2 (C-4), 42.0 (C-5), 41.3 (C-6), 20.0 (C-7), 53.4 (C-8), 37.8 (C-9), 59.4 (C-10), 35.6 (C-11), 31.2 (C-12), 40.6 (C-13), 44.1 (C-14), 74.6 (C-15), 48.4 (C-16), 30.2 (C-17), 41.6 (C-18), 35.6

(C-19), 28.1 (C-20), 31.9 (C-21), 38.8 (C-22), 6.8 (C-23), 14.5 (C-24), 18.0 (C-25), 14.1 (C-26), 18.7 (C-27), 32.6 (C-28), 31.0 (C-29), 35.6 (C-30)。该化合物与文献^[7]报道的 15 α -hydroxyfriedelan-3-one 的光谱学数据相一致, 鉴定其为 15 α -hydroxyfriedelan-3-one。

化合物 6 白色针状结晶 (甲醇), mp 266~268 °C, 香草醛/浓硫酸反应阳性, Libermann-Burchard 反应阳性。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.73 (3H, s, H-24), 0.87 (3H, s, H-25), 0.89 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-23), 0.95 (3H, s, H-26), 1.00 (3H, s, H-27), 1.01 (3H, s, H-29), 1.05 (3H, s, H-30), 1.18 (3H, s, H-28)。¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 22.3 (C-1), 41.5 (C-2), 213.3 (C-3), 58.2 (C-4), 42.2 (C-5), 41.3 (C-6), 18.2 (C-7), 53.1 (C-8), 37.5 (C-9), 59.5 (C-10), 35.6 (C-11), 30.5 (C-12), 39.7 (C-13), 38.3 (C-14), 32.4 (C-15), 36.0 (C-16), 30.0 (C-17), 42.8 (C-18), 35.3 (C-19), 28.2 (C-20), 32.8 (C-21), 39.3 (C-22), 6.8 (C-23), 14.7 (C-24), 17.9 (C-25), 20.3 (C-26), 18.7 (C-27), 32.1 (C-28), 35.0 (C-29), 31.8 (C-30)。上述数据与文献^[8]报道的木栓酮的光谱学数据相一致, 鉴定其为木栓酮。

化合物 7 淡黄色针状结晶 (稀乙醇), mp 267~269 °C, FeCl₃ 反应呈阳性。¹H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.36 (1H, s, H-5), 6.81 (1H, s, H-4), 7.34 (1H, s, H-8), 13.8 (1H, s, H-1)。¹³C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 161.8 (C-1), 107.7 (C-2), 163.8 (C-3), 93.3 (C-4), 102.5 (C-5), 154.9 (C-6), 144.7 (C-7), 107.7 (C-8), 179.0 (C-9), 156.2 (C-10), 111.3 (C-11), 101.3 (C-12), 151.1 (C-13), 73.2 (C-1'), 70.7 (C-2'), 79.1 (C-3'), 70.3 (C-4'), 81.6 (C-5'), 61.6 (C-6')。上述数据与文献^[9]报道的芒果苷的光谱学数据相一致, 鉴定其为芒果苷。

化合物 8 淡红色针晶 (甲醇), FeCl₃ 显色反应呈阳性。mp 238~239 °C。EI-MS m/z : 290 [M]⁺。¹H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 2.48 (1H, dd, J = 16.0, 2.5 Hz, H-4b), 2.67 (1H, dd, J = 16.0, 4.5 Hz, H-4a), 3.80 (1H, br d, J = 3.5 Hz, H-3), 4.72 (1H, br s, H-2), 5.70 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 5.87 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 6.65 (2H, m, H-5', 6'), 6.71 (1H, br s, H-2'), 8.70 (OH-3'), 8.78 (OH-4'), 8.88 (OH-7), 9.09 (OH-5)。¹³C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 78.0 (C-2), 64.9 (C-3), 28.1 (C-4),

155.7 (C-5), 95.0 (C-6), 156.5 (C-7), 94.0 (C-8), 156.2 (C-9), 98.4 (C-10), 130.6 (C-1'), 114.7 (C-2'), 144.4 (C-3'), 144.5 (C-4'), 117.9 (C-5'), 114.8 (C-6')。与文献^[10]报道的表儿茶素相一致, 故鉴定为表儿茶素。

化合物 9 理化性质与 β -谷甾醇相一致, 经与 β -谷甾醇标准品共薄层检测, 在三种展开系统中薄层行为均一致, 故鉴定为 β -谷甾醇。

References

- [1] State Chinese Medicine Administration Bureau. Chinese Materia Medica (中华本草) [M]. Shanghai: Shanghai Science Press, 1999: 219.
- [2] Kim HJ, Choi EH, Lee IS. Two lanostane triterpenoids from *Abies koreana* [J]. Phytochemistry, 2004, 65: 2545-2549.
- [3] Chang HM, Chiang TC, Mark TCW. Isolation and structure elucidation of abruslactone A: a new oleanene-type triterpene from the roots and vines of *Abrus precatorius* L [J]. J Chem Soc, Chem Commun, 1982, 1197-1198.
- [4] Duan HQ, Takaishi Y, Momota H, et al. Immunosuppressive terpenoids from extracts of *Tripterygium wilfordii* [J]. Tetrahedron, 2001, 57: 8413-8424.
- [5] Ahmad VU, Bano S, Mohammad FV. Nephehinol - a new triterpene from *Nepeta hindostana* [J]. Planta Med, 1985, 521-523.
- [6] Kumar V, Wijerstne DBT, Abeygunawardena C. 21 α , 30-dihydroxy-D: A-friedooleanan-3-one from *Salacia reticulata* var. β -diandra stem bark [J]. Phytochemistry, 1990, 29: 333-335.
- [7] Hisham A, Kumar GJ, Fujimoto Y, et al. Salacianone and salacianol, two triterpenes from *Salacia Beddomei* [J]. Phytochemistry, 1995, 40: 1227-1231.
- [8] Mahato SB, Kundu AP. ¹³C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids-a compilation and some salient features [J]. Phytochemistry, 1994, 37: 1517.
- [9] Fujita M, Inoue T. Studies on the constituents of *Iris florentina* L. II. c-glucosides of xanthenes and flavones from the leaves [J]. Chem pharm Bull, 1982, 30: 2342-2348.
- [10] Ren HC, Wan DR, Zou ZM. Studies on chemical constituents from roots of *Polygonum amplexicaule* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2009, 34: 183-185.