

文章编号: 1005 - 0108 (2009) 03 - 0195 - 05

细圆藤的三萜类成分及其体外抗肿瘤活性

赵卫权, 崔承彬

(军事医学科学院 毒物药物研究所, 北京 100850)

摘要:目的 研究细圆藤 [*Pericampylus glaucus* (Lam.) Merr.] 的三萜类化学成分及其抗肿瘤活性。方法 采用各种色谱技术分离纯化三萜类化合物, 根据理化性质及波谱数据鉴定结构。采用 MTT 法测试三萜类化合物的抗肿瘤活性。结果 从细圆藤枝叶中分离鉴定了 5 个五环三萜类化合物, 分别是 hopenone-B (1)、hopenol-B (2)、22-hydroxyhopan-3-one (3)、erythrodiol 3-palmitate (4)、5, 24-cyclofriedelan-3-one (5)。化合物 4 对 K562 细胞增殖有抑制作用, 在 $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 质量浓度下抑制率为 47%, 其余化合物无明显抑制作用。结论 化合物 1~5 为首次从细圆藤属植物中分离得到, 其中 4 为细圆藤抗肿瘤活性成分的首例报道, 其抗肿瘤活性也是首次报道。首次报道化合物 2 的 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据以及化合物 1 和 5 的 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据。

关键词: 细圆藤; 结构鉴定; 三萜; 五环三萜; 抗肿瘤活性; MTT 法

中图分类号: R284.1 文献标志码: A

Triterpenoidal constituents of *Pericampylus glaucus* and their antitumor activity in vitro

ZHAO Wei-quan, CUI Cheng-bin

(Beijing Institute of Pharmacology and Toxicology, Beijing 100850, China)

Abstract: **Aim** To investigate triterpenoidal constituents of *Pericampylus glaucus* (Lam.) Merr and to evaluate their antitumor activities **Methods** Various chromatographic means were used for the isolation of triterpenes and the compounds obtained were identified by the spectroscopic method. Antitumor activities were also assayed by MTT method **Results** Five triterpenes were isolated from *Pericampylus glaucus* and identified as hopenone-B (1), hopenol-B (2), 22-hydroxyhopan-3-one (3), erythrodiol 3-palmitate (4), and 5, 24-cyclofriedelan-3-one (5), respectively. Among them, compound 4 inhibited the proliferation of K562 cells with the inhibition rate of 47% at $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, while others did not show inhibitory effect at the concentration tested. **Conclusion** Compounds 1 - 5 were isolated from the genus *Pericampylus* for the first time. Compound 4 is the first reported antitumor constituent of *Pericampylus glaucus* and its antitumor activity was also assayed for the first time. The $^{13}\text{C-NMR}$ data for 2 and the $^1\text{H-NMR}$ and $^{13}\text{C-NMR}$ data for 1 and 5 were reported for the first time.

Key words: *Pericampylus glaucus*; structural identification; triterpene; pentacyclic triterpene; antitumor activity; MTT method

细圆藤 [*Pericampylus glaucus* (Lam.) Merr.] 系防己科细圆藤属植物, 该属植物共有 8 种, 其中 3 种可供药用^[1]。细圆藤又名哈仔

藤^[2], 民间也称广藤、车线藤、土藤等^[3], 其叶、藤、根入药, 用于治疗无名肿毒、疥疮肿毒、毒蛇咬伤、小儿惊风、破伤风等。有关该植物化学成分仅

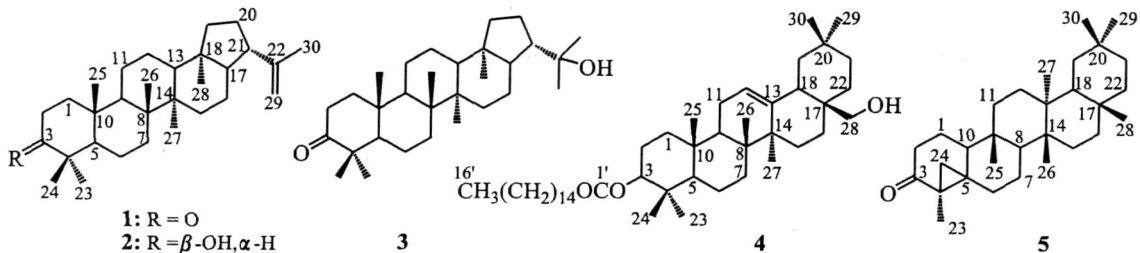
收稿日期: 2008 - 05 - 26

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目 (2006CB504100&1998051113); 国家自然科学基金项目 (39825126)

作者简介: 赵卫权 (1975 -), 男 (汉族), 江苏六合人, 博士研究生, E-mail: weiquanzhao@163.com; 崔承彬 (1956 -), 男, 吉林通化人, 教授, 博士生导师, 主要从事天然活性产物研究, Tel: (010) 66932693, E-mail: cuicb@sohu.com, cuicb@126.com。

见表木栓醇、蜂蜜酸、棕榈酸、硬脂酸、白桦脂酸、胡萝卜苷 6 个化合物的研究报道^[3]。鉴于细圆藤枝叶提取物具有体外抗肿瘤活性^[4]而活性成分尚未见报道,本文作者对其活性部位氯仿萃取物的化学成分进行研究,从中分离鉴定了 5 个化

物,并对其体外抗肿瘤活性进行了初步测试评价,结果表明,化合物 4 具有较强的抗肿瘤活性。化合物 1~5 均为首次从该属植物中分离得到,4 是该植物抗肿瘤活性成分的首例报道,其抗肿瘤活性也是首次筛选报道。



1 实验部分

1.1 仪器与试剂

熔点采用 X-4 型精密显微熔点测定仪(北京天地宇科技有限责任公司)测定,温度未经校正。ESI-MS 谱采用 API-3000 质谱仪(美国 AB 公司)测定, EI-MS 和 FAB-MS 谱分别用 Micromass GCT 和 Micromass ZebSpec 质谱仪测定,甘油作 FAB-MS 测定基质。NMR 谱采用日本电子 JNM-GX400 核磁共振仪测定, TMS 为内标。薄层色谱采用青岛海洋化工集团公司生产的硅胶 GF₂₅₄ 薄层板(20 cm × 10 cm × 0.25 mm),斑点用 254 nm 或 365 nm 紫外线照射或硫酸钼钼酸铵试剂喷洒加热显色。柱色谱采用硅胶 71~154 μ m(青岛海洋化工集团公司)、Sephadex LH-20(Pharmacia 公司)等填料。抗肿瘤活性采用美国 MD 公司 Versamax 型酶标仪测试。

实验材料于 1999 年 8~9 月间采自云南勐腊地区,由沈阳药科大学孙启时教授采集并鉴定为细圆藤(*Pericampylus galucus*)。原植物标本现存于沈阳药科大学中药学院。

1.2 提取分离

将细圆藤干燥枝叶 4 kg 粉碎后用质量分数为 95% 的乙醇室温浸提,每次用 40 L 浸泡 4 d,共提取 3 次,合并浸提液,减压浓缩至不含乙醇,剩余水混悬液依次用等体积的氯仿、乙酸乙酯、正丁醇萃取,得到氯仿萃取物 111 g、乙酸乙酯萃取物 6 g、正丁醇萃取物 30 g。氯仿萃取物(110 g)干法上硅胶减压柱(柱床 7.0 cm × 11 cm),用 bp 60~90 石油醚(P) 氯仿(C) 丙酮(A) 混合溶剂(体积比 100:0:0:0:100)梯度洗脱,结合薄层检测结果,经合并浓缩得到 11 个组分: Fr-1

(1.2 g, 石油醚洗脱部分)、Fr-2(9.8 g, V_p V_c = 1 洗脱部分)、Fr-3(2.0 g, 氯仿洗脱部分)、Fr-4(3.8 g, V_c V_A = 95:5 洗脱部分)、Fr-5(2.2 g, V_c V_A = 10:1 洗脱部分)、Fr-6(5.6 g, V_c V_A = 8:1 洗脱部分)、Fr-7(2.8 g, V_c V_A = 6:1 洗脱部分)、Fr-8(11.1 g, V_c V_A = 5:1 洗脱部分)、Fr-9(3.8 g, V_c V_A = 3:1 洗脱部分)、Fr-10(8.6 g, V_c V_A = 2:1 洗脱部分)、Fr-11(12.5 g, 丙酮洗脱部分)。

将 Fr-2(9.8 g) 用适量氯仿-甲醇(体积比 2:1)溶解,上 Sephadex LH-20 柱(柱床 3.8 cm × 36 cm),用相同溶液洗脱并根据薄层检测结果合并浓缩,按洗脱先后顺序得 4 个组分: Fr-2-1(1.4 g)、Fr-2-2(4.4 g)、Fr-2-3(1.2 g) 和 Fr-2-4(2.2 g)。将 Fr-2-2(4.4 g) 在氯仿-丙酮中重结晶得到化合物 1(600 mg)。将 Fr-2-4(2.2 g) 用制备硅胶薄层色谱分离(bp 60~90 石油醚-氯仿, V_p V_c = 5:1 展开),按 R_f 值大小顺序得到 Fr-2-4-1 和 Fr-2-4-2 两个组分,再将 Fr-2-4-2(360 mg) 在氯仿中重结晶得到化合物 4(210 mg)。

将 Fr-3(2.0 g) 用氯仿溶解并用适量硅胶吸附,干法上硅胶柱(柱床 1.5 cm × 20 cm),用氯仿-乙酸乙酯(EA)(体积比 100:0:0:100)梯度洗脱,根据薄层检测结果合并浓缩得 10 个组分: Fr-3-1(0.2 g, 氯仿洗脱部分)、Fr-3-2(0.1 g, V_c V_{EA} = 95:5 洗脱部分)、Fr-3-3(0.3 g, V_c V_{EA} = 90:10 洗脱部分)、Fr-3-4(0.2 g, V_c V_{EA} = 90:10 洗脱部分)、Fr-3-5(0.1 g, V_c V_{EA} = 80:20 洗脱部分)、Fr-3-6(0.2 g, V_c V_{EA} = 70:30 洗脱部分)、Fr-3-7(0.2 g, V_c V_{EA} = 60:40 洗脱部分)、Fr-3-8(0.3 g, V_c V_{EA} = 1:1 洗脱部分)、Fr-3-9(0.1 g,

$V_C V_{EA} = 1:2$ 洗脱部分)、Fr-3-10 (0.4 g, 乙酸乙酯洗脱部分)。其中 Fr-3-6 (0.2 g) 根据薄层检测结果并入 Fr-4 中。将 Fr-3-3 (0.3 g) 用适量氯仿-甲醇 (体积比 2:1) 溶解, 上 Sephadex LH-20 柱 (柱床 3.8 cm \times 36 cm), 用相同溶液洗脱并根据薄层检测结果合并浓缩, 按洗脱先后顺序得到 3 个组分。将组分 Fr-3-3-3 (75 mg) 在氯仿-甲醇中重结晶得到化合物 2 (18 mg)。

将 Fr-4 (合并 Fr-3-6 后共计 4 g) 用适量氯仿溶解, 加适量硅胶吸附, 上硅胶柱 (柱床 3.0 cm \times 40 cm), 用氯仿-乙酸乙酯-丙酮混合溶剂 (体积比 100:0:0:0:100) 梯度洗脱, 得 8 个组分: Fr-4-1 (0.4 g, 氯仿洗脱部分)、Fr-4-2 (0.6 g, $V_C V_{EA} = 90:10$ 洗脱部分)、Fr-4-3 (0.3 g, $V_C V_{EA} = 80:20$ 洗脱部分)、Fr-4-4 (0.2 g, $V_C V_{EA} = 60:40$ 洗脱部分)、Fr-4-5 (0.3 g, $V_C V_{EA} = 1:1$ 洗脱部分)、Fr-4-6 (0.5 g, 乙酸乙酯洗脱部分)、Fr-4-7 (0.3 g, $V_{EA} V_A = 2:1$ 洗脱部分)、Fr-4-8 (1.1 g, 丙酮洗脱部分)。其中 Fr-4-4 (0.2 g) 用适量氯仿-甲醇 (体积比 2:1) 溶解, 上 Sephadex LH-20 柱 (柱床 1.5 cm \times 40 cm), 用氯仿-甲醇溶液 (体积比 2:1) 洗脱并根据薄层检测结果合并浓缩, 按洗脱先后顺序得到 3 个组分, 将组分 Fr-4-4-3 在氯仿-甲醇中重结晶得到化合物 3 (26 mg)。

将 Fr-6 (5.6 g) 用适量氯仿溶解, 上硅胶柱 (柱床 3.0 cm \times 30 cm), 经氯仿-丙酮 (体积比 100:0:0:100) 梯度洗脱分离得到 12 个组分: Fr-6-1 (0.6 g, 氯仿洗脱部分)、Fr-6-2 (0.5 g, $V_C V_A = 95:5$ 洗脱部分)、Fr-6-3 (0.4 g, $V_C V_A = 90:10$ 洗脱部分)、Fr-6-4 (0.6 g, $V_C V_A = 85:15$ 洗脱部分)、Fr-6-5 (0.4 g, $V_C V_A = 80:20$ 洗脱部分)、Fr-6-6 (0.3 g, $V_C V_A = 75:25$ 洗脱部分)、Fr-6-7 (0.7 g, $V_C V_A = 60:40$ 洗脱部分)、Fr-6-8 (0.1 g, $V_C V_A = 50:50$ 洗脱部分)、Fr-6-9 (0.1 g, $V_C V_A = 40:60$ 洗脱部分)、Fr-6-10 (0.4 g, $V_C V_A = 30:70$ 洗脱部分)、Fr-6-11 (0.2 g, $V_C V_A = 20:80$ 洗脱部分)、Fr-6-12 (1.2 g, 丙酮洗脱部分)。将 Fr-6-6 (0.3 g) 用适量氯仿-甲醇 (体积比 1:1) 溶解, 上 Sephadex LH-20 柱 (柱床 1.5 cm \times 60 cm), 用氯仿-甲醇 (体积比 1:1) 溶液洗脱并根据薄层检测结果合并浓缩, 按洗脱先后顺序得到 3 个组分。将组分 Fr-6-6-3 (120 mg) 在氯仿-甲醇中重结晶得到化合物 5 (15 mg)。

2 结果

2.1 结构鉴定

化合物 1: 无色片状结晶 (氯仿-丙酮), mp 177 ~ 179 $^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_D^{22} = +108.9^{\circ}$ ($c = 1.0$, 氯仿)。阳离子 ESI-MS 谱给出 m/z : 425 $[M + H]^+$ 、447 $[M + Na]^+$ 、871 $[2M + Na]^+$ 等准分子离子峰, 与分子组成为 $C_{30}H_{48}O$ 的相对分子质量相符。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): 4.78 (2H, br s, 29- CH_2)、2.68 (1H, m, 21-H)、2.50 (1H, ddd, $J = 15.7, 10.1, 7.3$ Hz, 2-Ha)、2.40 (1H, ddd, $J = 15.7, 7.3, 4.1$ Hz, 2-He)、1.75 (3H, s, 30- CH_3)、1.07 (3H, s, 23- CH_3)、1.02 (3H, s, 24- CH_3)、1.00 (3H, s, 26- CH_3)、0.95 (3H, s, 27- CH_3)、0.93 (3H, s, 25- CH_3)、0.73 (3H, s, 28- CH_3), 其余氢信号在 2.00 ~ 1.20 区间重叠。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): 218.1 (C-3)、148.6 (C-22)、110.1 (C-29)、54.8 (C-5, 17)、49.6 (C-13)、49.5 (C-9)、47.3 (C-4)、46.3 (C-21)、44.7 (C-18)、42.1 (C-14)、41.9 (C-19)、41.6 (C-8)、39.5 (C-1)、36.8 (C-10)、33.8 (C-15)、34.2 (C-2)、32.5 (C-7)、27.3 (C-20)、26.5 (C-23)、25.0 (C-30)、23.9 (C-12)、21.6 (C-11)、21.5 (C-16)、21.1 (C-24)、19.7 (C-6)、16.5 (C-27)、16.4 (C-26)、16.1 (C-28)、15.7 (C-25)。上述 NMR 谱数据通过解析 DEPT、PFG $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY、PFG-HMQC、PFG-HMBC 图谱予以归属。其中, 4.78 (2H, br s, CH_2) 的烯氢信号与 21 位 -H 构型的 hopene 类化合物的数据^[5-6]一致, 而与其 C-21 差向异构体信号 (两个烯氢信号分别出现在: 4.70、4.68)^[7]不同。碳谱数据则除了 C-17、C-19、C-21、C-30 以外, 其他信号与该 C-21 差向异构体^[7]基本一致, 据此鉴定 1 为 hopenone-B^[8]。该化合物的 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据尚未见文献报道。

化合物 2: 无色针晶 (氯仿-甲醇), mp 170 ~ 172 $^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_D^{22} = +56.0^{\circ}$ ($c = 1.0$, 氯仿)。EIMS m/z : 426 $[M]^+$, 推测其分子式为 $C_{30}H_{48}O$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): 4.77 (2H, br s, 29- CH_2)、3.18 (1H, dd, $J = 11.4, 5.0$ Hz, 3-H)、2.67 (1H, m, 21-H)、1.74 (3H, br s, 30- CH_3)、0.96 (3H, s, 23- CH_3)、0.94 (3H, s, 26- CH_3)、0.91 (3H, s, 27- CH_3)、0.80 (3H, s, 25- CH_3)、0.75 (3H, s, 24- CH_3)、0.70 (3H, s, 28- CH_3), 其余氢信号在

1.90 ~ 0.61 区间重叠。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) : 148.7 (C-22)、110.1 (C-29)、79.0 (C-3)、55.0 (C-17)、54.8 (C-5)、50.3 (C-9)、49.4 (C-13)、46.4 (C-21)、44.7 (C-18)、42.0 (C-19)、41.9 (C-8)、41.6 (C-14)、38.8 (C-1)、38.7 (C-4)、37.1 (C-10)、33.6 (C-15)、33.2 (C-7)、28.0 (C-23)、27.3 (C-20)、27.3 (C-30)、25.0 (C-12)、23.9 (C-16)、21.6 (C-11)、21.0 (C-2)、18.4 (C-6)、16.7 (C-26)、16.6 (C-27)、16.1 (C-28)、15.9 (C-24)、15.4 (C-25)。与化合物 1 的 NMR 数据相比,化合物 2 的 $^1\text{H-NMR}$ 谱中 3.18 (3-H) 信号替代了 1 中 2.50 和 2.40 的 2 个氢信号, $^{13}\text{C-NMR}$ 谱中 79.0 (C-3) 信号替代了 1 中 218.1 的酮羰基 (C-3) 信号,其余信号与 1 相近,表明 2 也是一个 hopene 类化合物。以上数据经与文献 [5, 6, 9] 数据比较, 2 的 $^1\text{H-NMR}$ 谱数据与 hopenolB 的文献值^[6]基本一致, $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据除了 C-3 以外,其余信号与 hopenolB 脂肪酸酯^[5]和 hopenolB 甲醚^[9]中的 hopenolB 部分数据基本一致,故鉴定化合物 2 为 hopenolB,其碳谱数据未见文献报道。

化合物 3: 无色针晶 (氯仿 甲醇), mp 207 ~ 209, $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +63.1^\circ$ ($c = 0.5$, 氯仿)。正离子 ESI-MS m/z : 465 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; 负离子 m/z : 423 $[\text{M} - \text{H}_2\text{O} - \text{H}]^-$, 提示相对分子质量为 442, 推测分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) : 2.50 (1H, ddd, $J = 15.6, 10.2, 7.4$ Hz, 2-Ha)、2.39 (1H, ddd, $J = 15.6, 7.4, 4.5$ Hz, 2-He)、2.23 (1H, m, 21-H)、1.21 (3H, s, 30- CH_3)、1.18 (3H, s, 29- CH_3)、1.07 (3H, s, 23- CH_3)、1.02 (3H, s, 24- CH_3)、1.00 (3H, s, 26- CH_3)、0.96 (3H, s, 27- CH_3)、0.93 (3H, s, 25- CH_3)、0.77 (3H, s, 28- CH_3), 其余氢信号在 2.00 ~ 1.22 区间重叠。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) : 218.2 (C-3)、73.9 (C-22)、54.8 (C-5)、53.9 (C-17)、51.0 (C-21)、49.9 (C-13)、49.5 (C-9)、47.4 (C-4)、44.0 (C-18)、41.9 (C-14)、41.6 (C-8)、41.2 (C-19)、39.5 (C-1)、36.8 (C-10)、34.4 (C-15)、34.2 (C-2)、32.5 (C-7)、30.9 (C-30)、28.7 (C-29)、26.6 (C-23)、26.5 (C-20)、24.0 (C-12)、21.8 (C-16)、21.5 (C-11)、21.1 (C-24)、19.7 (C-6)、16.9 (C-27)、16.4 (C-26)、16.2 (C-28)、15.7 (C-25)。将 3 的 NMR 数据与 1 比较,化合物 1 中异丙烯基的 sp^2 杂化碳氢信号在 3 中消失,出现了一个与氧相连

sp^3 季碳信号和一个甲基的碳氢信号,提示 3 可能为 1 的双键加成羟基化产物。经与文献 [10] 数据对照,其 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据与 22-hydroxyhopan-3-one 的文献值吻合,故鉴定化合物 3 为 22-hydroxyhopan-3-one。

化合物 4: 无色针晶 (氯仿), mp 129 ~ 131, $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +51.6^\circ$ ($c = 0.67$, 氯仿)。正离子 FAB-MS (基质为甘油) m/z : 681 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 、773 $[\text{M} + 92 (\text{甘油})]^+$ 、425 $[\text{M} - \text{C}_{16}\text{H}_{31}\text{O}_2 (\text{脂肪酸根})]^+$, 提示相对分子质量为 680, 推测分子式为 $\text{C}_{46}\text{H}_{80}\text{O}_3$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) : 5.19 (1H, dd, $J = 3.4, 3.1$ Hz, 12-H)、4.50 (1H, dd, $J = 8.4, 7.6$ Hz, 3-H)、3.56 (1H, d, $J = 10.9$ Hz, 28-Ha)、3.21 (1H, d, $J = 10.9$ Hz, 28-Hb)、2.30 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, 2- CH_2)、1.25 (20H, br s, 脂肪链上的氢信号)、1.16 (3H, s, 27- CH_3)、0.96 (3H, s, 26- CH_3)、0.94 (3H, s, 25- CH_3)、0.89 (3H, s, 29- CH_3)、0.88 (3H, s, 30- CH_3)、0.87, 0.86 (9H, 23, 24, 16- CH_3), 其余氢信号在 2.05 ~ 0.92 区间重叠。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) : 173.9 (C-1)、144.3 (C-13)、122.3 (C-12)、80.6 (C-3)、69.8 (C-28)、55.3 (C-5)、47.5 (C-9)、46.5 (C-19)、42.4 (C-18)、41.7 (C-14)、39.8 (C-8)、38.3 (C-4)、37.8 (C-1)、37.0 (C-10)、36.9 (C-17)、35.0 (C-2)、34.1 (C-21)、33.3 (C-29)、32.6 (C-7)、32.0 (C-20)、31.1 (C-22)、31.0 (C-14)、29.8 ~ 29.4 (10C, C-4 ~ C-13)、29.3 (C-23)、28.1 (C-2)、26.0 (C-27)、25.6 (C-15)、25.3 (C-3)、23.7 (C-30)、23.6 (C-11)、22.8 (C-15)、22.0 (C-16)、18.3 (C-6)、16.9 (C-26)、16.8 (C-25)、15.7 (C-24)、14.3 (C-16)。 $^1\text{H-NMR}$ 数据与文献 [11] 中 erythrodiol 3-palmitate 以及文献 [12] 中的 5 个 erythrodiol 的 C-3 位脂肪酸酯类化合物的数据基本吻合, $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据也与文献 [12] 中 5 个 erythrodiol 的 C-3 位脂肪酸酯类化合物数据一致,据此鉴定化合物 4 为 erythrodiol 3-palmitate。

化合物 5: 无色片状结晶 (氯仿), mp 230 ~ 232, $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +61.3^\circ$ ($c = 1.0$, 氯仿)。低分辨 EI-MS m/z : 424 $[\text{M}]^+$, 高分辨 EI-MS 谱确定分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}$ (测定值 424.3700, 理论计算值 424.3705)。其 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱呈典型的无氧取代的饱和三萜酮化合物的图谱特征: $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) 谱信号主要集中在 2.50 ~ 0.65 区域,除了高场区有 7 个特征性

tert-甲基氢信号 : 0.94 (3H, s, 25-CH₃)、0.95 (3H, s, 30-CH₃)、1.00 (3H, s, 29-CH₃)、1.03 (3H, s, 27-CH₃)、1.06 (3H, s, 26-CH₃)、1.18 (3H, s, 28-CH₃)、1.21 (3H, s, 23-CH₃) 和 5 组相互分离的氢信号 : 2.40 (1H, ddd, J = 18.8, 5.9, 1.4 Hz, 2-H_e)、2.04 (1H, ddd, J = 18.8, 12.9, 7.5 Hz, 2-H_a)、1.79 (1H, br td, J = 13.0, 3.7 Hz, 6-H_a)、1.63 (1H, br d, J = 5.4 Hz, 24-H_a)、0.69 (1H, d, J = 5.4 Hz, 24-H_b) 以外,其余氢信号全部都在狭窄的 1.65 ~ 1.15 区间重叠。¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) 谱中除了一个酮羰基碳信号 210.6 (C-3) 以外其余全部为不连氧的 sp³ 杂化

碳信号,其中,除 51.9 (C-8)、49.5 (C-10) 两个碳以外其余碳信号均出现在 42.8 ~ 13.5 区间,DEPT 谱表明,它们分别为 7 个甲基、12 个亚甲基、3 个次甲基、7 个季碳信号 (见表 1)。在氢谱信号中 1.63 (1H, br d, J = 5.4 Hz, 24-H_a) 和 0.69 (1H, d, J = 5.4 Hz, 24-H_b) 为三元碳环上一个孤立亚甲基的特征信号。最终经详细解析其 PFG ¹H-¹H COSY、PFG HMQC、PFG HMBC 谱 (表 1),鉴定 5 为 5,24-cyclofriedelan-3-one^[13]。该化合物的结构经单晶 X 射线衍射予以确定^[13],NMR 谱数据尚未见报道。

Table 1 NMR data for 5 in CDCl₃ solution

Position	c	H	HMBC	Position	c	H	HMBC
1	16.8 (t)	1.59, 1.37	H-2, 10	16	35.9 (t)	1.53, 1.37	H-15, 18, 28
2	36.6 (t)	2.40, 2.04	H-1	17	29.6 (s)	-	H-15, 19, 21, 28
3	210.6 (s)	-	H-1, 2, 23, 24	18	42.7 (d)	1.55	H-16, 18, 19, 27, 28
4	30.9 (s)	-	H-6, 10, 23, 24	19	35.2 (t)	1.37, 1.22	H-18, 21, 29, 30
5	32.9 (s)	-	H-1, 6, 7, 10, 23, 24	20	28.2 (s)	-	H-19, 21, 20, 30
6	33.7 (t)	1.79, 1.48	H-10, 24	21	32.8 (t)	1.40, 1.32	H-19, 21, 29, 30
7	20.6 (t)	1.57, 1.48		22	39.2 (t)	1.47, 0.95	H-16, 28
8	52.0 (d)	1.43	H-6, 7, 11, 15, 25, 26	23	13.9 (q)	1.21	H-24
9	37.9 (s)	-	H-1, 7, 8, 10, 25	24	24.1 (t)	1.63, 0.69	H-6, 10, 23
10	49.5 (d)	1.56	H-1, 2, 6, 11, 25	25	15.7 (q)	0.94	H-8, 10, 11
11	33.8 (t)	1.48, 1.34	H-8, 12, 25	26	20.4 (q)	1.06	H-8, 15
12	30.3 (t)	1.33	H-27	27	18.5 (q)	1.03	H-12, 18
13	38.3 (s)	-	H-8, 11, 15, 19, 26, 27	28	32.1 (q)	1.18	H-16, 18, 22
14	39.5 (s)	-	H-7, 12, 15, 16, 26, 27	29	31.8 (q)	1.00	H-19, 21, 30
15	32.6 (t)	1.52, 1.27	H-8, 16, 26	30	34.9 (q)	0.95	H-21, 29

Signal assignments were based on the results of DEPT, PFG ¹H-¹H COSY, PFG HMQC and PFG HMBC spectroscopy; Numbers in the column indicate the protons that showed HMBC correlations with the carbon on the line

2.2 化合物 1~5 的抗肿瘤活性

采用文献 [14] 所述的 MTT 法对化合物 1~5 进行了抗肿瘤活性测试,结果表明,化合物 4 对人慢性髓性白血病 K562 细胞的增殖有一定抑制作用,在 100 μg · mL⁻¹ 质量浓度下的抑制率为 47%,其余化合物在所试质量浓度下均无明显的抑制作用。

活性测试结果显示,只有长链脂肪酸酯类化合物 4 对 K562 细胞有一定抑制作用,而其余化合物则无相关活性。文献 [5] 曾报道与本文结构类似的三萜酯类化合物对卵巢癌细胞有细胞毒活性,本文中化合物 4 的活性测试结果与之吻合。

致谢:细圆藤植物材料由沈阳药科大学孙启时教授采集鉴定。

参考文献:

- [1] 连文琰. 中国防己科药用植物的初步调查 [J]. 植物分类学报, 1975, 13 (1): 32 - 53.
- [2] 冉先德. 中华药海 [M]. 哈尔滨: 哈尔滨出版社, 1993: 1925.
- [3] 梁培瑜, 周琦, 周法兴. 细圆藤的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 1998, 23 (1): 39 - 40.
- [4] 李长伟. 南酸枣抗肿瘤活性成分的研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2005.
- [5] CHATURVEDULA V S P, SCHILLING J K, MILLER J S, et al. Two new triterpene esters from the twigs of *Brachylaena ramiflora* from the Madagascar rain-forest [J]. J Nat Prod, 2002, 65 (8): 1222 - 1224.

(下转第 211 页)

Table 1 ^{13}C -NMR data of compounds 1, 2, 3 (CDC $_3$) and 7 (C $_5$ D $_5$ N)

Position	Compd				Position	Compd			
	1	2	3	7		1	2	3	7
1	38.7	38.4	38.4	38.9	19	48.8	49.3	46.5	46.5
2	27.5	27.4	27.2	26.5	20	150.5	150.4	30.7	31.0
3	79.0	79.0	79.0	88.8	21	29.8	29.7	33.8	34.2
4	38.9	38.7	38.8	39.5	22	34.0	37.0	32.4	33.2
5	55.4	55.4	55.2	55.9	23	28.0	28.0	27.7	28.0
6	18.3	18.3	18.3	18.5	24	15.4	15.3	15.6	17.0
7	34.3	34.4	32.6	33.2	25	16.0	16.0	15.3	15.5
8	41.0	40.7	39.3	39.8	26	16.1	16.1	17.1	17.4
9	50.5	50.5	47.6	48.1	27	14.8	14.9	25.9	26.2
10	37.4	37.2	37.1	37.1	28	60.6	179.9	182.8	180.2
11	20.9	20.9	23.6	23.8	29	19.1	19.3	33.1	33.3
12	25.3	25.5	122.6	122.5	30	109.7	109.7	23.4	23.8
13	37.2	38.9	143.8	144.8	Ara-1				107.5
14	42.8	42.5	41.6	42.2	2				72.9
15	27.1	30.6	28.1	28.3	3				74.6
16	29.2	32.2	23.0	23.7	4				69.5
17	47.8	56.3	45.9	46.7	5				66.7
18	47.8	46.9	41.0	42.0					

参考文献:

- [1] 李书心. 辽宁植物志 (上册) [M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1992: 511 - 513
- [2] 谢宗万, 余友琴. 全国中草药名鉴 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 132
- [3] SHOLICHIN M, YAMASAKI K, KASAI R, et al ^{13}C -nuclear magnetic resonance of lupane-type triterpenes, lupeol, betulin and betulonic acid [J]. Chem Pharm Bull, 1980, 28(3): 1006 - 1008
- [4] 王俊儒, 彭树林, 王明奎, 等. 大火草的化学成分 [J]. 植物学报, 1999, 41(1): 107 - 110
- [5] 国家医药管理局中草药情报中心站. 植物药有效成分手册 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986: 786
- [6] 吴凤镔, 朱子清. 中药竹节香附的化学成分研究 () [J]. 高等学校化学学报, 1983, 4(5): 595 - 599
- [7] ZHENG Quan, KOIKE K, HAN Li-kun, et al. New biologically active triterpenoid saponins from Scabiosa tschiliensis [J]. J Nat Prod, 2004, 67(4): 604 - 613
- [6] MATSUNAGA S, MORIITA R. Hopanol B, a triterpene alcohol from Euphorbia supina [J]. Phytochemistry, 1983, 22(2): 605 - 606
- [7] MCLEAN S, PERPICIN-DUMONT M, REYNOLDS W F, et al. Unambiguous structural and nuclear magnetic resonance spectral characterization of two triterpenoids of Maprounea guianensis by two-dimensional nuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. Can J Chem, 1987, 65(11): 2519 - 2525
- [8] TSUDA Y, HATTORI M. Total synthesis of hydroxyhopanone [J]. Chem Pharm Bull, 1967, 15(7): 1073 - 1075
- [9] ROWAN D D, RUSSELL G B. 3-Methoxy-hop-22(29)-ene from Chionochoa cheesemanii [J]. Phytochemistry, 1992, 31(2): 702 - 703
- [10] WILKINS A L, RONALDSON K J, JAGER P M, et al. ^{13}C NMR study of some oxygenated hopane triterpenes [J]. Aust J Chem, 1987, 40(10): 1713 - 1721
- [11] NAKANO T, HASEGAWA M. Isolation of erythrodiol 3-palmitate from Bumelia obtusifolia [J]. Planta Med, 1975, 27(1): 89 - 91
- [12] WANDJI J, TILLEQUIN F, MULHOLLAND D A, et al. Fatty acid esters of triterpenoids and steroid glycosides from Gambeya africana [J]. Planta Med, 2002, 68(9): 822 - 826
- [13] CONNOLLY J D, FREER A A, ANJANEYULU V, et al. Structure of 5, 24-cyclofriedelan-3-one, a novel hexacyclic triterpenoid in space group P1 [J]. Acta Cryst, 1986, C42: 1352 - 1354
- [14] 王海燕, 蔡兵, 崔承彬, 等. 蔓荆子活性成分 vitexicapsin 诱导 K562 细胞凋亡的机制 [J]. 药学报, 2005, 40(1): 27 - 31

(上接第 199 页)