

山柘茶中一个新的三萜类化合物

肖炳坤^{1†}, 王伟兰^{2†}, 黄荣清^{1*}, 杨建云¹, 董俊兴¹

(1. 军事医学科学院放射与辐射医学研究所, 北京 100850; 2. 解放军总医院药品保障中心, 北京 100853)

摘要: 为了研究山柘茶 (*Radix Pittospori*) 的化学成分, 运用多种色谱方法进行分离纯化, 从其氯仿提取物中分离得到 2 个三萜类化合物, 并根据理化性质和波谱数据鉴定其结构分别为 22-acetyl-21-(2-acetoxy-2-methylbutanoyl)-R₁-barrigenol (**1**) 和 3 α -hydroxyl-20-demethylisoaleuritolic-14 (15)-ene-28, 30-dioic acid (**2**)。其中, 化合物 **1** 为新的三萜类化合物, 化合物 **2** 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 山柘茶; 三萜; 22-acetyl-21-(2-acetoxy-2-methylbutanoyl)-R₁-barrigenol

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870 (2011) 09-1101-03

A new triterpenoid from *Radix Pittospori*XIAO Bing-kun^{1†}, WANG Wei-lan^{2†}, HUANG Rong-qing^{1*}, YANG Jian-yun¹, DONG Jun-xing¹

(1. Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China;

2. Department of Pharmaceutical Care, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

Abstract: To investigate chemical constituents from *Radix Pittospori*, chloroform extract of the roots was subjected to column chromatography with various chromatographic techniques. The structures were elucidated on the basis of physico-chemical property and spectral analysis. Two triterpenoids were identified as 22-acetyl-21-(2-acetoxy-2-methylbutanoyl)-R₁-barrigenol (**1**) and 3 α -hydroxyl-20-demethylisoaleuritolic-14 (15)-ene-28, 30-dioic acid (**2**). Compound **1** is a new triterpene and compound **2** is isolated from this plant for the first time.

Key words: *Radix Pittospori*; triterpenoid; 22-acetyl-21-(2-acetoxy-2-methylbutanoyl)-R₁-barrigenol

山柘茶 (*Radix Pittospori*) 系海桐花科植物莽草海桐 (*Pittosporum illicioides* Makino) 的干燥根, 主要分布于我国西南、山西、江苏、安徽等地, 植物资源丰富。山柘茶性辛温味苦, 有镇静、降血压功效, 用于神经衰弱、失眠多梦和高血压症, 为贵州少数民族用药^[1]。目前对山柘茶的化学成分研究较少, 仅有 1 个木脂素-丁香树脂醇苷的报道^[2]。为探讨山柘茶的活性成分, 充分利用药材资源和开发民族用药提供科学依据, 本实验拟对山柘茶进行化学成分研究, 从乙醇提取物的三氯甲烷部位分离鉴定了 2 个三萜类化合物, 其中化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **2** 为首次

从该植物中获得。

化合物 **1** 白色粉末, 易溶于甲醇、乙酸乙酯, 熔点大于 300 °C, HR-ESI-MS 显示[M+Na]⁺准分子离子峰 *m/z* 713.420 9 (calcd. C₃₉H₆₂NaO₁₀, 713.423 52), 确定其分子式为 C₃₉H₆₂O₁₀, 不饱和度为 9。

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) 谱在 δ 0.67 (3H, s)、0.80 (3H, s)、0.88 (3H, s)、0.89 (3H, s)、0.90 (3H, s)、0.94 (3H, s) 和 1.29 (3H, s) 处为三萜化合物的 7 个特征角甲基信号, δ 5.34 (1H, t, *J* = 4.0 Hz) 提示该化合物为不饱和三萜类化合物; ¹³C NMR 显示 δ 142.6、124.4 为一组双键碳信号, 推测该化合物的母核为 Δ^{12} -齐墩果烯类。重水交换谱显示 δ 4.61 (1H, d, *J* = 3.2 Hz)、4.55 (1H, t, *J* = 4.2 Hz)、4.32 (1H, d, *J* = 5.0 Hz) 和 3.99 (1H, d, *J* = 7.0 Hz) 峰消失, 说明母核结构中有 4 个醇羟基, 经查阅文献^[3], 该化合物母核

收稿日期: 2011-05-22.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81072613).

[†]为共同第一作者

*通讯作者 Tel / Fax: 86-10-66931341, E-mail: huangrq@tom.com

的碳氢核磁共振数据与 R₁-barrigenol 的 21、22 位酰化的碳氢数据基本一致, R₁-barrigenol 结构有 6 个醇羟基, 而该化合物结构有 4 个醇羟基, 其余 2 个羟基被酰化。因此, 该化合物的母核结构为 R₁-barrigenol, 其 2 个羟基被酰化。

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) 在最低场显示有 3 个酯羰基峰, 在 HMBC 谱中, δ 170.1 与 δ 1.93 (3H, s) 显示远程相关, 推测有乙酰基基团; δ 169.3 与 δ 1.99 (3H, s) 显示远程相关, 推测有另外 1 个乙酰基基团; 在 ¹H-¹H COSY 谱中, δ 0.85 (3H, t, *J* = 8.0 Hz) 与 δ 1.63 (1H, m)、1.87 (1H, m) 显示相关, 且 HMQC 谱显示 δ 1.63 (1H, m)、1.87 (1H, m) 为亚甲基上的 2 个质子, 因与不对称碳相连, 即 2 个质子为化学不等价, 故推测有乙基的存在; 碳信号 δ 80.3 在 HMBC 谱显示与质子 δ 0.85 (3H, t, *J* = 8.0 Hz)、1.63 (1H, m)、1.87 (1H, m)、1.43 (3H, s) 存在远程相关, 故结构中有 CH₃-CH₂-C-CH₃ 片段, 而羰基碳 δ 170.9 在 HMBC 谱显示与质子 δ 1.63 (1H, m)、1.87 (1H, m)、1.43 (3H, s) 存在远程相关, 即羰基 δ 170.9 与 δ 80.3 相连, 推测存在 2-甲基丁酰基片段; 因 δ 80.3 在 DEPT 谱显示为季碳, 且化学位移处在低场, 故推测与电负性大的氧相连, 即与乙酰氧基相连, 故推测该化合物存在 2-乙酰氧基-2-甲基丁酰基片段。因此, 该化合物结构中含有乙酰基和 2-乙酰氧基-2-甲基丁酰基。

叔碳信号 δ 79.0 在 HMBC 谱显示与质子 δ 0.80 (3H, s, H-29)、0.94 (3H, s, H-30) 相关, 推测 δ 79.0 为 21 位碳信号, 根据 HMQC 谱推测 δ 5.65 (1H, d, *J* = 10.4 Hz) 为 21 位质子, 而在 HMBC 谱显示酯羰基碳 δ 170.9 与 21 位质子 δ 5.65 相关, 说明 21 位羟基被丁酰化, 即 21 位碳连接 2-乙酰氧基-2-甲基丁酰氧基。同理, 叔碳信号 δ 72.1 在 HMBC 谱显示与 21 位质子 δ 5.65 相关, 推测 δ 72.1 为 22 位碳信号, 根据 HMQC 谱推测 δ 5.40 (1H, d, *J* = 10.4 Hz) 为 22 位质子, 而在 HMBC 谱显示酯羰基碳 δ 170.1 与 22 位质子 δ 5.40 相关, 证明 22 位碳连接乙酰氧基。

根据以上数据, 确定该化合物为 22-acetyl-21-(2-acetoxy-2-methylbutanoyl)-R₁-barrigenol, 为证明丁酰基的 2-羟基被乙酰化, 采用 1D NOESY 谱对乙酰基质子 δ 1.99 (3H, s) 进行检测, 结果显示 21 位的乙酰氧基的质子 δ 1.93 (3H, s) 出现明显的负峰, 说明此 2 个乙酰基有 NOE 作用, 进一步证实了丁酰基的 2-羟基质子被乙酰化, 化合物 1 的化学结构式及主要的

HMBC 相关见图 1, ¹H NMR、¹³C NMR 数据归属及 HMBC 谱相关信号见表 1; 化合物 2 的化学结构式见图 2。

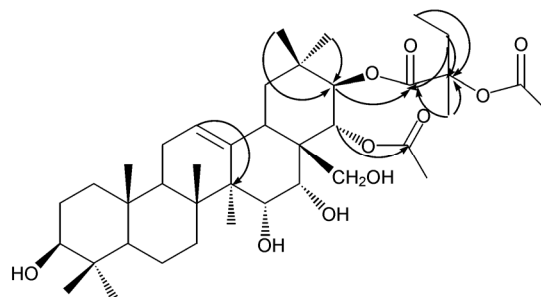


Figure 1 The structure and key HMBC correlations of compound 1

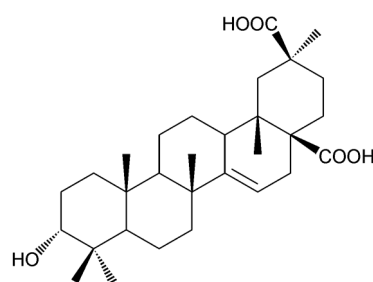


Figure 2 The structure of compound 2

实验部分

1 仪器与试剂

JNM-ECA-400 超导核磁共振仪 (日本电子株式会社); ZabSpec 高分辨质谱仪 (英国 Micromass 公司); Sephadex LH-20 (瑞典 GE Healthcare Bio-Sciences AB 公司); Advantage Max 型液相色谱-质谱联用仪 (美国 Thermo 公司); Apex-Qe-FTMS (德国 Bruker 公司); PolAAR3005 型旋光仪 (英国 OA 公司); AB-8 大孔树脂 (天津南开大学化工厂); RY-1 熔点仪 (天津市分析仪器厂); 柱色谱用硅胶 (200~300 目)、薄层用硅胶 GF₂₅₄ (青岛海洋化工厂)。

山柃茶采集于贵州遵义, 原植物经军事医学科学院李彬副研究员鉴定为海桐花科植物莽草海桐 (*Pittosporum illicioides* Makino) 的根, 标本保存于本所。

2 提取与分离

山柃茶根 10 kg, 粉碎后用 95%乙醇回流提取 2 次, 再加 70%乙醇回流提取 1 次, 回收乙醇得浸膏, 加水分散后用石油醚、氯仿萃取, 得氯仿部位 150 g, 经硅胶柱色谱石油醚-乙酸乙酯 (10:1→0:1) 梯度洗脱, 得到 11 个流分 (Fr.1~11)。Fr.8 经反复硅胶柱

Table 1 NMR data and major correlations from HMBC of compound **1** in DMSO-*d*₆

Position	δ_{H}	δ_{C}	HMBC
1	0.89 (1H, m), 1.58 (1H, m)	38.3	C-10
2	1.45 (2H, m)	27.1	C-1
3	3.00 (1H, m)	76.8	
4		38.4	
5	0.65 (1H, m)	54.6	C-3, C-4
6	0.88 (2H, m)	18.2	
7	1.67 (2H, m)	35.6	
8		40.5	
9	2.50 (1H, m), 1.49 (1H, m)	46.3	
10		36.6	
11	1.82 (2H, m)	23.1	
12	5.34 (1H, t, $J = 4.0$ Hz)	124.4	C-14
13		142.6	
14		46.5	
15	3.62 (1H, m)	66.2	
16	3.74 (1H, m)	72.0	
17		46.6	
18	2.40 (1H, m)	39.7	C-12
19	1.07 (1H, m), 1.52 (1H, m)	46.3	C-18
20		35.8	
21	5.65 (1H, d, $J = 10.4$ Hz)	79.0	C-22, C-1''
22	5.40 (1H, d, $J = 10.4$ Hz)	72.1	C-16, C-17, C-28, C-1'''
23	0.90 (3H, s)	28.2	C-3, C-5, C-24
24	0.88 (3H, s)	16.1	
25	0.67 (3H, s)	15.5	C-5
26	0.89 (3H, s)	17.0	C-9
27	1.29 (3H, s)	20.4	C-8, C-13, C-15
28	3.08 (1H, dd, $J = 10.4, 4.0$ Hz) 2.91 (1H, dd, $J = 10.4, 4.0$ Hz)	62.6	
29	0.80 (3H, s)	28.9	C-20, C-21
30	0.94 (3H, s)	19.4	C-19, C-21, C-29
OH-16	4.61 (1H, d, $J = 3.2$ Hz)		
OH-28	4.55 (1H, t, $J = 4.2$ Hz)		
OH-3	4.32 (1H, d, $J = 5.0$ Hz)		
OH-15	3.99 (1H, d, $J = 7.0$ Hz)		
21-O-(2-acetoxy-2-methylbutanoyl)			
2-acetoxy			
1'		169.3	
2'	1.99 (3H, s)	20.9	C-1'
2-methylbutanoyl			
1''		170.9	
2''		80.3	
3''	1.63 (1H, m), 1.87 (1H, m)	29.8	C-1'', C-2'', C-4''
4''	0.85 (3H, t, $J = 8.0$ Hz)	7.4	C-2'', C-3''
5''	1.43 (3H, s)	21.2	C-1'', C-2'', C-3''
22-O-acetyl			
1'''		170.1	
2'''	1.93 (3H, s)	21.1	C-1'''

色谱 (石油醚-乙酸乙酯 2 : 1→0 : 1)、凝胶柱色谱 (LH-20, 二氯甲烷-甲醇 1 : 1) 分离纯化, 得到化合物 **1** (21 mg)。Fr.6 经反复硅胶柱色谱 (石油醚-乙酸乙酯 5 : 1→1 : 1) 分离纯化, 得化合物 **2** (28 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1 白色粉末, mp > 300 °C, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +5.3$ (*c* 0.242 6, CH₃OH)。IR (KBr) cm⁻¹: 3 507 (br), 2 968, 2 933, 1 744, 1 465, 1 373, 1 258, 1 134, 1 032。EI-MS *m/z*: 690 [M]⁺ (1.4), 672 (12), 612 (8), 512 (20), 422 (24), 322 (42), 207 (100), 190 (89); HR-ESI-MS *m/z*: 713.420 9 (calcd. for C₃₉H₆₂NaO₁₀, 713.423 52)。¹H NMR、¹³C NMR 数据见表 1。

化合物 2 白色无定形粉末, 分子式 C₃₀H₄₆O₅, EI-MS *m/z*: 486 [M]⁺, 468 [M-H₂O], 442 [M-CO₂], 427 [M-CO₂-CH₃]; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.11 (2H, s, COOH-28, 30), 5.53 (1H, t, $J = 4.4$ Hz, H-15), 4.17 (1H, d, $J = 3.2$ Hz, H-3 β), 3.17 (1H, m, H-13), tert Me (0.87, 0.86, 0.82, 0.80, 0.78, 0.74)。¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 32.9 (C-1), 23.7 (C-2), 73.5 (C-3), 36.9 (C-4), 46.2 (C-5), 25.2 (C-6), 33.3 (C-7), 36.7 (C-8), 48.2 (C-9), 36.7 (C-10), 17.7 (C-11), 42.8 (C-12), 46.2 (C-13), 136.5 (C-14), 125.1 (C-15), 23.6 (C-16), 55.1 (C-17), 43.1 (C-18), 31.6 (C-19), 30.3 (C-20), 35.9 (C-21), 22.4 (C-22), 33.0 (C-23), 18.0 (C-24), 15.8 (C-25), 22.2 (C-26), 23.3 (C-27), 178.5 (C-28), 28.6 (C-29), 176.5 (C-30)。通过波谱数据分析并与文献^[4]比较, 鉴定化合物 **2** 为 3 α -hydroxyl-20-demethylisoaleuritolic-14 (15)-ene-28, 30-dioic acid。

References

- [1] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [S]. 77 ed. Part I. Beijing: People's Medical Publishing House, 1977: 48-49.
- [2] Ye P, Mao Q, Shen XD. Separation and appraisal of the lignin component of the *Pittosporum illicioides* Makino [J]. J Guiyang Med Coll (贵阳医学院学报), 1994, 19:327-329.
- [3] Yang HT, Chen YS, Xie JM, et al. Studies on chemical constituents of *Pittosporum brevicalyx* (Oliv) Gagnep [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 1986, 44:946-950.
- [4] Zhu M, Phillipson D, Greengrass PM, et al. Triterpenoids and a triterpene glycoside from *Schefflera bodinieri* leaves [J]. Phytochemistry, 1996, 43: 1307-1311.