四棱草中两个新的齐墩果烷型三萜

杨德兰^a 郭大乐^b 周燕^b 梅文莉^{*,a} 肖世基^{*,b,c}^(a) 中国热带农业科学院热带生物技术研究所 农业部热带作物生物学与遗传资源利用重点实验室 海口 571101)^(b) 中国科学院成都生物研究所 成都 610041)^(c) 遵义医学院药学院 遵义 563000)

摘要 从中国特有四棱草属药用植物四棱草中分离得到两个新的齐墩果烷型三萜, 命名为 $2\beta,3\beta,24$ -三羟基-13(18)-齐墩果烯(1)和 3β -羟基-13(18)-烯-24-齐墩果酸(2), 其结构通过 HR-ESIMS, 1D 和 2D NMR 等光谱技术确定。

关键词 四棱草属; 四棱草; 齐墩果烷型; 三萜

Two New Oleanane-Type Triterpenes from *Schnabelia oligophylla*Yang, Delan^a Guo, Dale^b Zhou, Yan^b Mei, Wenli^{*,a} Xiao, Shiji^{*,b,c}^(a) Key Laboratory of Biology and Genetic Resources of Tropical Crops, Ministry of Agriculture, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agriculture Sciences, Haikou 571101)^(b) Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041)^(c) School of Pharmacy, Zunyi Medical University, Zunyi 563000)

Abstract Two new oleanane-type triterpenes, named $2\beta,3\beta,24$ -trihydroxyolean-13(18)-ene (1) and 3β -hydroxyolean-13(18)-en-24-oic acid (2) were isolated from the aerial parts of *Schnabelia oligophylla*. The structures of the new compounds were established by means of HR-ESIMS, 1D and 2D NMR.

Keywords *Schnabelia*; *Schnabelia oligophylla*; oleanane-type; triterpene

四棱草(*Schnabelia oligophylla* Hand.-Mazz.)又名四棱筋骨草、假马鞭草、四方草,为唇形科中我国特有的四棱草属草本植物。四棱草属植物共有 2 个种:四棱草和四齿四棱草(*Schnabelia tetradonta* (Sun) C. Y. Wu et C. Chen)。本特有属植物民间常作药用,煎水服有清热、解毒和下火的功用,也治风湿筋骨疼痛^[1]。四棱草主要产于我国福建、江西、湖南、广东、广西和四川等省;生长于山谷溪旁、石灰岩上、河边林下、疏林中、石边等海拔约 700 m 的地方;全草可入药,有活血通经之效,单用水煎或同猪肉蒸内服,可治妇女闭经^[2]。四棱草属植物的化学成分研究表明其主要含萜类和肽类。窦辉等^[3~7]从四齿四棱草中分离得到 50 个化合物,其中包括有环肽、二萜、三萜和黄酮等类别的化合物。周燕等^[8]分离得到的环肽类化合物四棱草肽(*Schnabeptide*)具有抑制 Con A 和 LPS 淋巴细胞分裂的生理活性。李帮经等^[9]从四齿四棱草水提取物中分离得到 11 个化合物。为

了更加深入地研究四棱草的化学成分,我们对产自重庆金佛山地区的四棱草的化学成分进行了研究,从中分离纯化出 2 个新化合物,运用 HR-ESIMS, 1D 和 2D NMR 等光谱技术确定它们的结构为: $2\beta,3\beta,24$ -三羟基-13(18)-齐墩果烯(1)和 3β -羟基-13(18)-烯-24-齐墩果酸(2)。

1 结果与讨论

1.1 化合物 1 的结构鉴定

白色粉末,HR-ESIMS 给出化合物的分子式为 $C_{30}H_{50}O_3$ (测量值 m/z 481.3650 $[M+Na]^+$, 计算值为 481.3652), 提示有 6 个不饱和度。¹H NMR (400 MHz, C_5D_5N)上有 7 个角甲基信号 [δ_H 1.65 (s, 3H), 1.54 (s, 3H), 1.23 (s, 3H), 1.07 (s, 3H), 0.99 (s, 3H), 0.90 (s, 3H), 0.77 (s, 3H)], 推测可能为齐墩果烷型的三萜化合

* E-mail: sjxiao@zmc.edu.cn

Received March 18, 2015; revised April 13, 2015; published online April 17, 2015.

Project supported by the National Natural Sciences Foundation of China (Nos. 30973634, 21302180).

国家自然科学基金(Nos. 30973635, 21302180)资助项目。

图1 化合物1和2的结构图

Figure 1 Structures of compounds 1 and 2

物^[10~12], ^{13}C NMR 谱和 DEPT 上显示有 2 个 sp^2 的季碳在 δ_{C} 133.3 (C) 和 134.9 (C), HMBC 谱中 H_3 -27 和 δ_{C} 134.9 (C) 有相关, H_3 -28 和 δ_{C} 133.3 (C) 有相关, 说明双键位置处在 13 和 18 位^[3,13]; ^{13}C NMR 和 HSQC 谱显示其有 3 个偕氧的碳信号 [δ_{C} 66.3 (CH_2), 71.6 (CH), 81.0 (CH)]. HMBC 谱中(图 2) δ_{H} 4.53 (m, 1H) 和 C-4 及 δ_{C} 81.0 有相关, δ_{H} 3.70 (d, $J=3.3$ Hz, 1H) 和 C-4, C-23 及 δ_{C} 71.6 有相关, 推测 C-2 和 C-3 位分别有羟基取代; δ_{H} 5.52 (d, $J=10.1$ Hz, 1H), 3.93 (d, $J=10.1$ Hz, 1H) 和 C-23, C-3, C-4 有相关, 推测有羟基处在 C-24 位上; NOESY 谱(图 2)中 H_3 -24 和 H_3 -25 有相关, H_3 -23 和 H-5 有相关, 确证羟基处在 C-24 位上, 而非 C-23 位上; H-3 和 H_3 -23 有相关, 说明 H-3 和 H_3 -23 处于同面, H-3 处于 α 键 α 位, 即 C-3 位的羟基处于 e 键 β 位上. 进一步因为 H-2 和 H-3 的邻位偶合常数为 3.3 Hz, 说明 H-2 处于 e 键 α 位, 即 C-2 位的羟基处于 α 键 β 位上. 综上所述, 化合物 1 的结构鉴定为 2 β ,3 β ,24-三羟基-13(18)-齐墩果烯.

1.2 化合物 2 的结构鉴定

白色粉末, ESI-MS m/z 455 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 479 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; HR-ESI-MS m/z 479.3492 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (计算值 479.3496), 得出其分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$, 有 7 个不饱和度; ^1H NMR (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) 上有 7 个角甲基信号 [δ_{H} 0.78, 0.94, 0.98, 1.05, 1.13, 1.24, 1.75 (各 s, 3H)], 推测为齐墩果烷型的三萜化合物; ^{13}C NMR 谱上有 30 个 C 信号, 通过和化合物 1 对比 DEPT 和 HMBC 谱, 推测化合物 2 和化合物 1 结构相似有 13(18)-齐墩果烯骨架. ^{13}C NMR 和 HSQC 谱显示其有 1 个偕氧的碳信号 [δ_{C} 78.3 (CH), δ_{H} 3.42 (dd, $J=11.9, 4.4$ Hz, 1H)]. ^{13}C NMR 谱和 DEPT 上显示有羰基信号在 δ_{C} 180.9 (C), HMBC 谱(图 3)中 δ_{H} 1.75 (s, 3H) 和 C-3, C-4, C-5, δ_{C} 180.9 (C) 有相关, 说明羰基连在 23 或者 24 位上. NOESY 谱(图 3)中 δ_{H} 1.75 (s, 3H) 和 H-5 有相关, 说明 δ_{H} 1.75 (s, 3H) 为 23 位氢信

图2 化合物1的主要的 HMBC (↗↘) 和 NOESY (↔) 相关

Figure 2 Key HMBC (↗↘) and NOESY (↔) correlations of compound 1

号, 即羰基处在 C-24 位上. δ_{H} 3.43 (dd, $J=11.9, 4.4$ Hz, 1H, H-3) 和 C-2, C-4, C-23 有 HMBC 相关, 说明有羟基连在 C-3 上; NOESY 谱中 H_3 -23 和 H-3 有相关, H_3 -23 和 H-5 有相关, 说明 H_3 -23, H-3 和 H-5 处于同面, 即 H-3 处于 α 位上, C-3 位的羟基处在 β 位上. 进一步因为 H-2 和 H-3 的邻位偶合常数为 11.9 和 4.4 Hz, 说明 H-3 处于 e 键 α 位, 即 C-3 位的羟基处于 α 键 β 位上^[10]. 于是, 化合物 2 的结构鉴定为 3 β -羟基-13(18)-烯-24-齐墩果酸.

图3 化合物2的主要的 HMBC (↗↘) 和 NOESY (↔) 相关

Figure 3 Key HMBC (↗↘) and NOESY (↔) correlations of compound 2

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

质谱用 Micromass Xevo triple-quadrupole 型质谱仪;

表 1 化合物 1 和 2 的 ^1H NMR (CD_3N_5 , 400 MHz) 和 ^{13}C NMR 数据(CD_3N_5 , 100 MHz)
Table 1 ^1H NMR (CD_3N_5 , 400 MHz) and ^{13}C NMR (CD_3N_5 , 100 MHz) data of compounds 1 and 2

No.	1		2	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	2.48 (dd $J=14.0$, 3.0 Hz, $\text{H}\alpha$), 1.25~1.34 (m, $\text{H}\beta$)	45.0	1.81~1.90 (m, $\text{H}\beta$), 1.03~1.15 (m, $\text{H}\alpha$)	39.9
2	4.53 (m, 1H)	71.6	2.50 (m, $\text{H}\beta$), 1.95~2.04 (m, $\text{H}\alpha$)	29.3
3	3.70 (d, $J=3.3$ Hz, 1H)	81.0	3.42 (dd, $J=11.9$, 4.4 Hz, 1H)	78.3
4		42.8		49.2
5	1.08~1.16 (m, 1H)	56.5	1.04~1.13 (m, 1H)	56.7
6	1.74~1.82 (m, $\text{H}\beta$), 1.45~1.53 (m, $\text{H}\alpha$)	19.2	2.04~2.25 (m, 2H)	20.9
7	1.41~1.54 (m, $\text{H}\alpha$), 1.10~1.18 (m, $\text{H}\beta$)	35.6	1.42~1.56 (m, $\text{H}\alpha$), 1.10~1.20 (m, $\text{H}\beta$)	35.6
8		41.5		41.2
9	1.46~1.56 (m, 1H)	51.6	1.49~1.59 (m, 1H)	50.4
10		37.5		38.0
11	1.56~1.63 (m, $\text{H}\beta$), 1.27~1.38 (m, $\text{H}\alpha$)	22.5	1.50~1.58 (m, $\text{H}\beta$), 1.17~1.28 (m, $\text{H}\alpha$)	22.4
12	2.67 (m, $\text{H}\alpha$), 1.80~1.92 (m, $\text{H}\beta$)	25.4	2.70 (m, $\text{H}\alpha$), 1.81~1.92 (m, $\text{H}\beta$)	25.4
13		134.9		134.9
14		45.0		44.9
15	1.71~1.81 (m, $\text{H}\beta$), 1.02~1.10 (m, $\text{H}\alpha$)	26.8	1.69~1.80 (m, $\text{H}\beta$), 1.06~1.14 (m, $\text{H}\alpha$)	26.8
16	1.39~1.50 (m, $\text{H}\alpha$), 1.28~1.36 (m, $\text{H}\beta$)	36.9	1.41~1.52 (m, $\text{H}\alpha$), 1.29~1.37 (m, $\text{H}\beta$)	36.9
17		34.8		34.8
18		133.3		133.3
19	2.33 (d, $J=13.8$ Hz, $\text{H}\beta$), 1.67~1.75 (m, $\text{H}\alpha$)	38.8	2.33 (m, $\text{H}\alpha$), 1.67~1.73 (m, $\text{H}\beta$)	38.9
20		33.4		33.4
21	1.27~1.39 (m, 2H)	39.7	1.27~1.39 (m, 2H)	39.7
22	1.40~1.55 (m, $\text{H}\alpha$), 1.11~1.18 (m, $\text{H}\beta$)	35.7	1.42~1.55 (m, $\text{H}\alpha$), 1.09~1.19 (m, $\text{H}\beta$)	35.3
23	1.65 (s, 3H)	25.0	1.75 (s, 3H)	24.6
24	5.52 (d, $J=10.1$ Hz, 1H), 3.93 (d, $J=10.1$ Hz, 1H)	66.3		180.9
25	1.54 (s, 3H)	18.3	1.13 (s, 3H)	14.7
26	0.90 (s, 3H)	17.8	0.94 (s, 3H)	18.1
27	1.23 (s, 3H)	21.5	1.24 (s, 3H)	21.5
28	1.07 (s, 3H)	23.9	1.05 (s, 3H)	23.9
29	0.99 (s, 3H)	32.4	0.98 (s, 3H)	32.4
30	0.77 (s, 3H)	24.3	0.78 (s, 3H)	24.2

高分辨质谱用 Bruker BiOTOF Q 型质谱仪测定; 核磁共振用 Bruker Ascend 400 型核磁共振仪测定, TMS 为内标; IR 用 Perkin-Elmer FT-IR 型仪器, KBr 压片; 薄层色谱硅胶 GF₂₅₄ 和柱色谱硅胶(300~400 目)均为青岛海洋化工厂生产; 半制备高效液相色谱仪用北京创新通恒 LC3000 型色谱仪, HPLC 柱用 Kromasil C₁₈, 5 μm , 10 mm $\times$ 250 mm; MCI 树脂为 Mitsubishi Chemical 公司生产; Sephadex LH-20 柱色谱填料为 Amersham Pharmacia Biotech 公司产品。

2.2 植物材料

四棱草于 2013 年采自重庆市南川金佛山, 由重庆市药物种植研究所易思荣研究员鉴定为 *Schnabelia oligophylla* Hand.-Mazz. 植物标本(No. 20130126)现存放在中国科学院成都生物研究所。

2.3 提取分离

四棱草茎叶干重 12.5 kg 粉碎后用甲醇浸泡提取 3

次, 减压浓缩得浸膏 750 g, 将其分散于水(10 L)中用石油醚(10 L $\times$ 3)脱脂后以乙酸乙酯萃取(10 L $\times$ 3)。乙酸乙酯萃取物(50 g) 过 MCI 柱色谱(85 mm $\times$ 100 mm, 甲醇-水, 90:10, 体积比)除叶绿素, 得到 A 和 B 两个部分。A 部分经中压硅胶柱色谱(49 mm $\times$ 460 mm, 石油醚-丙酮 100:1 $\rightarrow$ 1:1, 体积比)分为 5 个部分(Fr.1~Fr.5)。Fr.1 (1.3 g)经硅胶柱反复分离纯化得到 2 (14 mg)。Fr.2 通过 Sephadex LH-20 [30 mm $\times$ 1200 mm, $V(\text{CHCl}_3)$: $V(\text{MeOH})=1:1$]纯化得到 3 个亚组份(Fr.2.1~Fr.2.3)。Fr.2.1 进一步通过半制备 HPLC [$V(\text{MeOH})$: $V(\text{H}_2\text{O})=90:10$, 4 mL/min, 210 nm]得到 1 (13 mg)。

2 β ,3 β ,24-三羟基-13(18)-齐墩果烯(1): 白色粉末, $[\alpha]_{\text{D}}^{20}=-5$ ($c=0.12$, CH_3OH); ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据见表 1; IR (KBr) ν : 3378, 2934, 2897, 1456, 1430, 1377, 1054, 1039, 1016, 917, 749 cm^{-1} ; ESIMS m/z : 481 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; HR-ESIMS calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_3\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 481.3652, found 481.3650。

3 β -羟基-13(18)-烯-24-齐墩果酸(**2**): 白色粉末, $[\alpha]_D^{20} = -25$ ($c=0.16$, CH₃OH); ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据见表 1; IR (KBr) ν : 3676, 2947, 1719, 1587, 1455, 1383, 1059, 1039 cm⁻¹; ESIMS m/z : 455 [M-H]⁻, 479 [M+Na]⁺; HR-ESIMS calcd for C₃₀H₄₈O₃Na [M+Na]⁺ 479.3492, found 479.3496.

辅助材料(Supporting Information) 新化合物 **1** 和 **2** 的 ¹H NMR, ¹³C NMR, ¹H-¹H COSY, HSQC, HMBC 和 NOESY 谱图. 这些材料可以免费从本刊网站 (<http://sioc-journal.cn/>) 上下载.

References

- [1] Ying, T. S.; Zhang, Y. L.; Boufford, D. E. *The Endemic Genera of Seed Plants of China*, Science Press, Beijing, **1993** (in Chinese). (应俊生, 张玉龙, 中国种子植物特有属, 科学出版社, 北京, **1993**.)
- [2] Wu, Z. Y.; Li, X. W. *Flora of China*, Vol. 65, Science Press, Beijing, **1977** (in Chinese). (吴征镒, 李锡文, 中国植物志, 第 65 卷, 科学出版社, 北京, **1977**.)
- [3] Dou, H.; Zhou, Y.; Chen, C. X.; Peng, S. L.; Liao, X. *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 1777.
- [4] Dou, H.; Liao, X.; Peng, S. L.; Pan, Y. J.; Ding, L. S. *Helv. Chim. Acta* **2003**, *86*, 2797.
- [5] Dou, H.; Peng, S. L.; Li, B. J.; Luo, S. Z.; Ding, L. S. *Chin. J. Org. Chem.* **2004**, *24*, 1469 (in Chinese). (窦辉, 彭树林, 李帮经, 罗水中, 丁立生, 有机化学, **2004**, *24*, 1469.)
- [6] Dou, H.; Liao, X.; Chen, C. X.; Peng, S. L.; Zhou, Y.; Ding, L. S. *Chem. J. Chin. Univ.* **2004**, *25*, 1849 (in Chinese). (窦辉, 廖循, 陈昌祥, 彭树林, 周燕, 丁立生, 高等学校化学学报, **2004**, *25*, 1849.)
- [7] Dou, H.; Zhou, Y.; Peng, S. L.; Ding, L. S. *Chin. Chem. Lett.* **2003**, *14*, 934.
- [8] Zhou, Y.; Wang, M. K.; Peng, S. L.; Ding, L. S. *Acta Bot. Sinica* **2001**, *43*, 431.
- [9] Li, B. J.; Chen, C. X.; Dou, H. *Nat. Prod. Res. Dev.* **2006**, *18*, 61 (in Chinese). (李帮经, 陈昌祥, 窦辉, 李锐, 丁立生, 天然产物研究与开发, **2006**, *18*, 61.)
- [10] Ulubelen, A.; Brieskorn, C. H.; Oezdemir, N. *Phytochemistry* **1977**, *16*, 790.
- [11] Ahmad, V. U.; Mohammad, F. V.; Rasheed, T. *Phytochemistry* **1987**, *26*, 793.
- [12] Ageta, H.; Arai, Y.; Suzuki, H.; Kiyotani, T.; Kitabayashi, M. *Chem. Pharm. Bull.* **1995**, *43*, 198.
- [13] Srivastava, M.; Siddiqui, N. U.; Aslam, M. *Orient. J. Chem.* **2006**, *22*, 393.

(Qin, X.)