

番石榴根中一个新的三萜类成分

彭财英, 黄应正, 刘建群, 黄慧莲, 舒积成*

(江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004)

摘要: 为了研究番石榴 *Psidium guajava* 根的化学成分, 采用柱色谱技术分离纯化, 通过波谱数据鉴定了 7 个乌苏烷型三萜类化合物: $2\alpha,3\beta,6\beta,23$ -四羟基乌苏酸-12,20(30)-双烯-28-*O*- β -D-葡萄糖苷 (**1**)、 $2\alpha,3\beta,6\beta,23$ -四羟基乌苏酸-12,18-双烯-28-*O*- β -D-葡萄糖苷 (**2**)、 $2\alpha,3\beta,23$ -三羟基乌苏酸-12,18-双烯-28-*O*- β -D-葡萄糖苷 (**3**)、nigaichigoside F1 (**4**)、积雪草苷 C (**5**)、 $2\alpha,3\beta,6\beta,19\alpha,23$ -五羟基乌苏酸-12,18-双烯-28-*O*- β -D-葡萄糖苷 (**6**) 和 $2\alpha,3\beta,19\alpha,23$ -四羟基乌苏酸 (**7**)。化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **2**~**6** 均为首次在此植物中分离得到。对新化合物进行了体外细胞毒性活性测定, 化合物 **1** 浓度为 $25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 对人肝癌细胞 Bel 7402 抑制率为 52.5%, 显示具有较好的体外抑制肿瘤细胞活性。

关键词: 番石榴; 化学成分; 乌苏烷型; 三萜; 细胞毒

中图分类号: R284

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 11-1731-06

A new triterpenoid from roots of *Psidium guajava*

PENG Cai-ying, HUANG Ying-zheng, LIU Jian-qun, HUANG Hui-lian, SHU Ji-cheng*

(Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicines, Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicines, Nanchang 330004, China)

Abstract: To investigate the chemical constituents of the roots of *Psidium guajava*, we isolated seven compounds by silica gel column chromatography. These include oleanane derivatives, $2\alpha,3\beta,6\beta,23$ -tetrahydroxylurs-12,20(30)-dien-28-oic acid β -D-glucopyranoside (**1**), $2\alpha,3\beta,6\beta,23$ -tetrahydroxylurs-12,18-dien-28-oic acid β -D-glucopyranoside (**2**), $2\alpha,3\beta,23$ -trihydroxylurs-12,18-dien-28-oic acid β -D-glucopyranoside (**3**), nigaichigoside F1 (**4**), asiaticoside C (**5**), $2\alpha,3\beta,6\beta,19\alpha,23$ -pentahydroxylurs-12,18-dien-28-oic acid β -D-glucopyranoside (**6**) and $2\alpha,3\beta,19\alpha,23$ -tetrahydroxylurs-12-en-28-oic acid (**7**). Their structures were elucidated on the basis of spectral analysis with reference to the published data. Compound **1** is brand new, compounds **2**–**6** were first isolated from this plant. The new compound was evaluated for their cytotoxic activity against human hepatoma Bel 7402 *in vitro*. The results were expressed as the ratio of inhibiting Bel 7402 cells growth by comparing to untreated cells. The new compound (concentration: $25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) showed the ratio values of 52.5%.

Key words: *Psidium guajava*; chemical constituent; ursane; triterpenoid; cytotoxic activity

番石榴 *Psidium guajava* L. 为桃金娘科 *Myrtaceae* 番石榴属 *Psidium* 植物。因其为重要的粮食作物和具

有良好的药用价值^[1], 故在热带和亚热带地区均有种植。此植物不同部位具有不同的药物用途, 如根和不成熟果实可治疗胃肠炎和腹泻^[2]; 成熟果实可通便和除口臭^[3]; 叶水提取液可作退热剂和解痉剂^[4]; 树皮具止血功效^[5]; 花蕊具有止咳作用等^[6]; 种子具有较好抗肿瘤作用^[7]。近年来, 国内外学者主要对番石榴叶及果实的化学成分进行了较深入的研究, 并报道了大量的黄酮、萜类及有机酸类等成分^[8–10], 而有关

收稿日期: 2017-06-13; 修回日期: 2017-07-04.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81360630); 江西省青年科学家培养项目 (20142BCB23023); 江西省自然科学基金资助项目 (20161BAB205219).

*通讯作者 Tel: 86-791-87118658, E-mail: shujc210@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2017-0565

其根部位的化学成分研究较少。作为从番石榴植物各个部位 (包括果实、叶、皮、花及根) 分离活性成分研究的一部分, 作者对番石榴根进行了系统的化学成分研究。此次报道从乙醇提取物的乙酸乙酯部分分离到 7 个乌苏烷型三萜化合物, 包括 1 个新化合物、5 个首次在此植物中分离得到的化合物, 结构如图 1。并对新化合物进行了体外细胞毒活性测定, 结果显示较好的体外抑制人肝癌细胞 Bel 7402 活性。

化合物 **1** 白色无定形粉末 (甲醇), $[\alpha]_D^{25} -35.8$ (c 0.026, MeOH); HR-ESI-MS 准分子离子峰 m/z : 665.389 6 $[M+H]^+$ (计算值 665.390 1, $C_{36}H_{56}O_{11}$); 1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据见表 1。

化合物 **1** 10% 硫酸乙醇显色为粉色, Liebermann-Burchard 阳性反应, 提示化合物为三萜类化合物。HR-ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z : 665.389 6 $[M+H]^+$ (计算值 665.390 1, $C_{36}H_{56}O_{11}$), 给出分子式为 $C_{36}H_{56}O_{11}$ 。 1H NMR (表 1) 显示, 4 个单峰甲基信号: δ_H 1.06 (s, 3H, H-24)、1.40 (s, 3H, H-25)、1.09 (s, 3H, H-26) 和 1.16 (s, 3H, H-27); 1 个双峰甲基信号: δ_H 1.03 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz, H-29); 3 个烯质子信号, 其中包括

一对环外双键质子: δ_H 5.32~5.33 (m, 1H, H-12)、4.64 (br.s, 1H, H-30) 和 4.69 (br.s, 1H, H-30)。 ^{13}C NMR (表 1) 显示, 两组双键碳信号, 其中包括一对末端

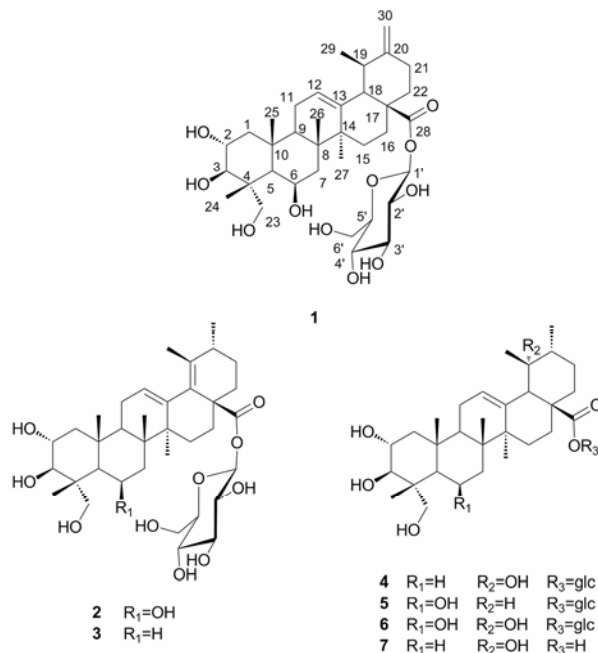


Figure 1 Structures of compounds 1–7

Table 1 NMR of compound **1** (600 MHz for 1H NMR, CD_3OD ; 150 MHz for ^{13}C NMR, CD_3OD)

C	δ_H (Hz)	δ_C	C	δ_H (Hz)	δ_C
1	0.87–0.91 (m)	50.5	17	–	49.6
	1.91–1.94 (m)		18	2.30–2.32 (m)	
2	3.72–3.76 (m)	69.9	19	2.42–2.45 (m)	38.7
	3.28–3.30 (m)		20	–	
4	–	44.9	21	2.21–2.24 (m)	33.4
	–		22	2.32–2.35 (m)	
5	1.29 (br. s)	49.0	23	1.62–1.71 (m)	66.0
	–			1.91–1.94 (m)	
6	4.38 (br. s)	68.6	24	3.43 (d, $J = 11.2$)	15.4
	–			3.58 (d, $J = 11.2$)	
7	1.52 (dd, $J = 14.3, 2.5$)	41.4	25	1.06 (s)	19.4
	1.80 (dd, $J = 14.3, 3.6$)		26	1.40 (s)	
8	–	44.1	27	1.09 (s)	24.1
	–		28	1.16 (s)	
9	1.62–1.71 (m)	49.7	29	–	16.9
	–			1.03 (d, $J = 6.5$)	
10	–	38.6	30	4.69 (br. s), 4.64 (br. s)	96.0
	–			1' 5.34 (d, $J = 8.2$)	
11	1.98–2.05 (m)	24.7	2'	3.31–3.32 (m)	78.3
	2.08–2.13 (m)			3'	
12	5.32–5.33 (m)	127.8	4'	3.35–3.36 (m)	78.4
	–			5'	
13	–	138.5	6'	3.79 (dd, $J = 12.0, 2.9$)	3.67 (dd, $J = 12.0, 4.7$)
	–			40.3	
14	–	40.3	–	–	–
	–		15	1.14–1.17 (m)	29.4
15	1.98–2.05 (m)	25.4	–	–	–
	1.85–1.90 (m)		16	1.85–1.90 (m)	25.4
16	2.27–2.30 (m)	25.4	–	–	–
	–		–	–	–

双键: δ_C 127.8 (C-12)、138.5 (C-13)、105.5 (C-20) 和 154.3 (C-30)。以上信息提示化合物 **1** 母核结构为具末端双键的 12-烯-28-酸-乌苏烷型三萜^[11,12]。

对 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 分析, 化合物 **1** 具有一分子葡萄糖的结构单元^[13]: 糖端基质子信号 δ_H 5.34 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz, H-1'); 6 个连氧碳信号 δ_C 96.0、78.4、78.3、74.0、71.4 和 62.6。根据葡萄糖端基质子的偶合常数为 8.2 Hz, 提示所连接的糖单元为 β -葡萄糖。化合物 **1** 经酸水解, 气相色谱检测, 保留时间与 β -D-葡萄糖对照品结果一致, 提示化合物所连接的糖为 β -D-葡萄糖^[14]。另外, 在 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱中, 除上述葡萄糖质子和葡萄糖碳信号外, ^1H NMR 还显示 5 个连氧质子: δ_H 3.72~3.76 (m, 1H, H-2)、3.29~3.40 (m, 1H, H-3)、4.38 (br.s, 1H, H-6)、3.43 (d, 1H, $J = 11.2$ Hz, H-23) 和 3.58 (d, $J = 11.2$ Hz, H-23); 结合 HSQC 谱分析, ^{13}C NMR 还显示 4 个连氧碳信号: δ_C 69.9 (C-2)、78.7 (C-3)、68.6 (C-6) 和 66.0 (C-23)。综合上述分析, 提示化合物 **1** 是具四羟基取代的乌苏烷型三萜苷。

HMBC 谱中 (图 2), H-1 (δ_H 1.91~1.94) 和 H-3 (δ_H 3.29~3.40) 与 C-2 (δ_C 69.9) 具有远程相关, 提示 C-2 位有 OH 取代; H-23 (δ_H 3.43, 3.58) 与 CH_3 -24 (δ_H 1.06) 和 C-3 (δ_C 78.7) 具有远程偶合, 提示 C-3 位有 OH 取代, 同时提示 C-23 位有 OH 取代; H-6 (δ_H 4.38) 与 C-5 (δ_C 49.0)、C-8 (δ_C 44.1) 和 C-10 (δ_C 38.6) 有远程相关, 提示 C-6 位有 OH 取代; 两个末端双键质子 δ_H 4.64 (br.s, 1H, H-30) 和 4.69 (br.s, 1H, H-30) 均与 C-19 和 C-21 有远程偶合, 提示此双键在 C-20 和 C-30 位上; 糖端基质子 H-1' (δ_H 5.34) 与 C-28 (δ_C 175.8) 具有远程偶合, 提示葡萄糖连接在 C-28 位。NOESY 谱中, H-2 显示与 H-24 和 H-25 相关; H-3 与 H-5、H-6 和 H-23 具有相关, 提示化合物的羟基取代的相对构型为 2 α -OH、3 β -OH、6 β -OH 和 23 α 。综合分析, 化合物 **1** 的结构鉴定为 2 α ,3 β ,6 β ,23-四羟基乌苏酸-12,20(30)-双烯-28-O- β -D-葡萄糖苷。经 Scifinder 检索, 化合物 **1** 为新化合物。

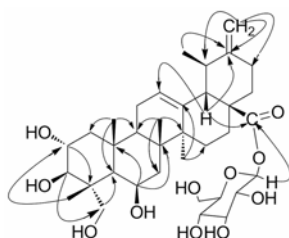


Figure 2 Key HMBC of compound **1**

实验部分

AB Sciex 5600 质谱仪; Bruker AVANCE III HD 600 MHz 型核磁共振波谱仪 (瑞士布鲁克公司), TMS 为内标; CD_3OD 为溶剂。Finnigan Trace DSQ 气质联用色谱仪 (美国 Thermo 公司); Perkin Elmer 343 型旋光测定仪 (美国 Perkin Elmer 公司); Agilent 1100 制备液相 (美国安捷伦公司), YMC-Actus ODS-AC18 (250 mm \times 10 mm, 5 μm) 半制备柱 (日本 YMC 公司)。柱色谱硅胶 (200~300 目), 薄层色谱硅胶 (青岛海洋化工), 凝胶 Sephadex LH-20 (日本三菱株式会社), 显色剂为 5% 浓硫酸乙醇溶液。常规分析纯化学试剂购自国药集团化学试剂有限公司。

番石榴根于 2014 年 7 月中旬采自广东省珠海市, 由江西中医药大学付小梅副教授鉴定, 标本 (No. 201407003) 现存于江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室。

1 提取与分离

自然干燥的番石榴根 (10.2 kg) 粉碎, 经 90% 乙醇加热回流 3 次, 每次 1 h, 提取液减压回收得流浸膏 980 g, 所得流浸膏用适量的水分散, 然后依次用石油醚、乙酸乙酯萃取, 剩余部分旋干溶剂后, 用甲醇溶解。回收溶剂得石油醚部分 86.0 g、乙酸乙酯部分 146.2 g、甲醇部分 596.5 g。

取乙酸乙酯萃取部位 (145 g) 进行硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇 (100:0, 50:1, 25:1, 10:1, 5:1, 1:1, 0:100) 梯度洗脱得到 Fr.1~9。Fr.3 (13.5 g) 经硅胶柱 (二氯甲烷-甲醇) 分离, 得 Fr.3-1~3-48。合并 Fr.3-16~3-21, 再经 Sephadex LH-20 柱色谱 (MeOH) 分离, 得化合物 **7** (15 mg)。Fr.4 (21.9 g) 经硅胶柱 (二氯甲烷-甲醇) 分离, 得 Fr.4-1~4-86。合并 Fr.4-18~3-23, 再经 Sephadex LH-20 柱 (MeOH) 分离, 得化合物 **3** (9 mg)。Fr.5 (17.9 g) 经硅胶柱 (二氯甲烷-甲醇) 分离, 得 Fr.5-1~5-52。合并 Fr.2-15~2-20, 再经半制备柱色谱 (甲醇-水=30:70, 3 mL \cdot min⁻¹), 得到化合物 **1** (7 mg, $t_R = 10.5$ min) 和化合物 **2** (8 mg, $t_R = 11.7$ min)。Fr.6 (25.8 g) 经硅胶柱 (二氯甲烷-甲醇) 分离, 得 Fr.6-1~6-71。合并 Fr.6-16~6-24, 再经半制备柱色谱 (甲醇-水=30:70, 3 mL \cdot min⁻¹), 得到化合物 **4** (5 mg, $t_R = 11.2$ min)、化合物 **5** (8 mg, $t_R = 12.6$ min) 和 **6** (9 mg, $t_R = 13.8$ min)。

2 结构鉴定

化合物 **1** 白色无定形粉末 (甲醇), $[\alpha]_D^{25} -35.8$

(*c* 0.026, MeOH); HR-ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z : 665.389 6 $[M+H]^+$ (计算值 665.390 1, $C_{36}H_{56}O_{11}$); 1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据见表 1。

化合物 2 白色粉末 (甲醇); ESI-MS m/z : 687.3 $[M+Na]^+$, 结合核磁共振 C、H 谱, 提示分子式 $C_{36}H_{56}O_{11}$ 。 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H : 5.44 (1H, dd, $J = 5.5, 2.3$ Hz, H-12), 5.40 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, glc-H-1), 4.37 (1H, s, H-6), 3.81 (1H, dd, $J = 12.0, 1.8$ Hz, glc-H-6a), 3.76 (1H, ddd, $J = 11.4, 9.6, 4.6$ Hz, H-2), 3.68 (1H, dd, $J = 12.0, 4.2$ Hz, glc-H-6b), 3.59 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-23a), 3.44 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-23b), 3.27~3.42 (4H, m, H-3, glc-H-2,3,4,5), 1.76 (s, H-25), 1.43 (3H, s, H-29), 1.16 (3H, s, H-24), 1.11 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-30), 1.06 (3H, s, H-26), 0.98 (3H, s, H-27)。 ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ_C 见表 2。以上 1H NMR、 ^{13}C NMR 数据与文献^[15]一致, 故鉴定化合物 **2** 为 2 $\alpha,3\beta,6\beta,23$ -四羟基乌苏酸-12,18-双烯-28-*O*- β -D-葡萄糖苷。

化合物 3 白色粉末 (甲醇); ESI-MS m/z : 649.3 $[M+H]^+$, 结合核磁共振 C、H 谱, 提示分子式 $C_{36}H_{56}O_{10}$ 。 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H : 5.39~5.42 (1H, m, H-12), 5.39 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, glc-H-1), 3.80 (1H, dd, $J = 12.1, 1.9$ Hz, glc-H-6a), 3.70~3.74 (1H, m, H-2), 3.67 (1H, dd, $J = 12.1, 4.5$ Hz, glc-H-6b), 3.50 (1H, d, $J = 11.1$, H-23a), 3.26~3.40 (6H, m, H-23b, H-3, glc-H-2,3,4,5), 1.75 (3H, s, H-25), 1.10 (3H, d, $J = 7.1$ Hz, H-30), 1.09 (3H, s, H-29), 1.01 (3H, s, H-24), 0.93 (3H, s, H-26), 0.70 (3H, s, H-27)。 ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ_C 见表 2。以上 1H NMR、 ^{13}C NMR 数据与文献^[16]一致, 故鉴定化合物 **3** 为 2 $\alpha,3\beta,23$ -三羟基乌苏酸-12,18-双烯-28-*O*- β -D-葡萄糖苷。

化合物 4 白色粉末 (甲醇); ESI-MS m/z : 689.3 $[M+Na]^+$, 结合核磁共振 C、H 谱, 提示分子式 $C_{36}H_{58}O_{11}$ 。 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H : 5.31~5.34 (1H, m, H-12), 5.32 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, glc-H-1), 3.80 (1H, dd, $J = 12.0, 2.2$ Hz, glc-6a), 3.68~3.72 (1H, m, H-2), 3.68 (1H, dd, $J = 12.0, 4.7$ Hz, glc-6b), 3.50 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-23a), 3.35~3.42 (5H, m, H-3, glc-H-2,3,4,5), 3.27 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-23b), 1.34 (3H, s, H-27), 1.21 (3H, s, H-29), 1.04 (3H, s, H-25), 0.93 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-30), 0.78 (3H, s, H-26), 0.70 (3H, s, H-24)。 ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ_C 见表 2。以上 1H NMR、 ^{13}C NMR 数据与文献^[17]一致, 故鉴定化合物 **4** 为 nigaichigoside F1。

化合物 5 白色粉末 (甲醇); ESI-MS m/z : 689.3 $[M+Na]^+$, 结合核磁共振 C、H 谱, 提示分子式

$C_{36}H_{58}O_{11}$ 。 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H : 5.34 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, glc-H-1), 5.30 (1H, m, H-12), 4.37 (1H, s, H-6), 3.79 (1H, dd, $J = 12.0, 2.0$ Hz, glc-H-6a), 3.73~3.74 (1H, m, H-2), 3.68 (1H, d, $J = 12.0, 4.5$ Hz, H-glc-H-6b), 3.58 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-23a), 3.43 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-23b), 3.28~3.41 (5H, m, H-3, glc-H-2,3,4,5), 1.40 (3H, s, H-25), 1.10 (3H, s, H-24), 1.09 (3H, s, H-26), 1.06 (3H, s, H-27), 0.96 (3H, s, H-29), 0.90 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-30)。 ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ_C 见表 2。以上 1H NMR、 ^{13}C NMR 数据与文献^[18]一致, 故鉴定化合物 **5** 为积雪草苷 C。

Table 2 ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) spectral data of compounds **2-7**

No.	2	3	4	5	6	7
1	51.0	51.0	48.1	50.5	50.3	48.4
2	69.9	69.9	69.9	69.8	69.9	69.9
3	78.3	78.3	78.4	78.3	78.4	78.4
4	44.9	44.9	44.3	44.9	45.0	44.3
5	48.7	48.7	48.7	49.6	49.1	48.0
6	68.5	19.0	19.4	68.6	68.9	19.4
7	42.6	35.3	33.7	41.4	40.6	33.7
8	39.5	40.5	41.4	40.6	41.5	41.2
9	49.7	48.6	48.3	48.8	49.1	48.7
10	38.6	39.1	39.1	38.6	38.4	39.3
11	24.5	24.5	24.9	25.4	24.9	24.9
12	128.0	127.7	129.6	127.5	130.0	129.8
13	139.3	139.8	139.9	138.7	139.2	140.4
14	46.3	46.0	42.9	44.0	43.4	43.2
15	29.9	29.8	29.8	29.4	29.8	29.8
16	36.0	36.0	27.4	24.7	26.7	26.8
17	50.8	49.7	49.5	49.4	49.6	49.7
18	134.3	134.2	55.1	54.4	55.1	55.3
19	137.8	137.8	73.8	40.4	73.8	73.8
20	35.8	35.8	42.9	40.3	43.1	42.9
21	27.6	27.6	26.6	31.9	27.3	27.2
22	31.8	31.7	38.5	37.6	38.6	39.2
23	66.0	66.4	66.5	66.0	66.1	66.5
24	15.4	14.2	14.0	15.4	15.4	14.0
25	19.9	19.1	17.8	19.4	19.2	17.8
26	19.9	18.9	17.8	19.4	18.9	17.7
27	20.6	19.9	24.9	24.2	24.9	25.0
28	176.8	176.7	178.7	178.1	178.6	180.9
29	22.6	22.5	27.2	17.8	27.2	27.5
30	19.1	18.5	16.8	21.7	16.8	16.8
1'	95.9	95.9	95.9	95.9	96.0	
2'	74.2	74.2	74.0	74.1	74.0	
3'	78.8	78.8	78.7	78.7	78.4	
4'	71.4	71.3	71.2	71.4	71.3	
5'	78.5	78.5	78.4	78.4	78.3	
6'	62.7	62.7	62.6	62.1	62.5	

化合物 6 白色粉末 (甲醇); ESI-MS m/z : 705.4 $[M+Na]^+$, 结合核磁共振 C、H 谱, 提示分子式 $C_{36}H_{58}O_{12}$ 。 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H : 5.36 (1H, t, $J = 3.0$ Hz, H-12), 5.31 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, glc-H-1), 4.39 (1H, s, H-6), 3.80 (1H, dd, $J = 12.0, 2.1$ Hz, glc-H-6a), 3.73~3.77 (1H, m, H-2), 3.68 (1H, d, $J = 12.0, 4.6$ Hz, H-glc-H-6b), 3.59 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-23a), 3.42 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-23b), 3.23~3.39 (5H, m, H-3, glc-H-2,3,4,5), 1.40 (3H, s, H-25), 1.33 (3H, s, H-27), 1.22 (3H, s, H-29), 1.07 (3H, s, H-24), 1.05 (3H, s, H-26), 0.94 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-30)。 ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ_C 见表 2。以上 1H NMR、 ^{13}C NMR 数据与文献^[19]一致, 故鉴定化合物 **6** 为 $2\alpha,3\beta,6\beta,19\alpha,23$ -五羟基乌苏酸-12,18-双烯-28-*O*- β -D-葡萄糖。

化合物 7 白色粉末 (甲醇); ESI-MS m/z : 511.3 $[M+Na]^+$, 结合核磁共振 C、H 谱, 提示分子式 $C_{30}H_{48}O_5$ 。 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H : 5.30 (1H, like s, H-12), 3.70 (1H, m), 3.50 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-23a), 3.36 (1H, m), 3.28 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-23b), 2.52 (1H, s, H-18), 1.35 (3H, s), 1.20 (3H, s), 1.04 (3H, s), 0.93 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-30), 0.81 (3H, s), 0.71 (3H, s)。 ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ_C 见表 2。以上 1H NMR、 ^{13}C NMR 数据与文献^[20]一致, 故鉴定化合物 **7** 为 $2\alpha,3\beta,19\alpha,23$ -四羟基乌苏酸 ($2\alpha,3\beta,19\alpha,23$ -tetrahydroxylurs-12-en-28-oic acid)。

3 化合物 1 酸水解

参照文献^[14], 取 2 mg 化合物 **1** 溶解于 5 mL $3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 三氯乙酸中, 120 °C 加热 2 h 后减压浓缩至干, 干燥过夜。依次加入 20 μL (2*S*)-1-氨基-2-丙醇-甲醇 (1 : 8) 混合液, 17 μL 乙酸-甲醇 (1 : 4) 及 13 μL 3% 氰基硼氢化钠甲醇溶液。上述混合液放置 65 °C 水浴加热 2 h。冷却后缓慢加入 $3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 三氟乙酸至 pH 为 1, 减压浓缩, 残余物真空干燥过夜, 再加入吡啶和乙酸酐各 0.2 mL, 置 100 °C 水浴加热 1 h。冷却后, 加适量水, 用三氯甲烷萃取, 用 $0.5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Na_2CO_3 和水各洗滤 3 次。三氯甲烷层加入无水硫酸钠干燥后过滤, 注入气质联用色谱仪。

4 化合物 1 抗肿瘤活性测定

采用 MTT 法, 参照文献^[21], 将处于对数生长期 Bel 7402 细胞按每孔 100 μL 接种于 96 孔培养板内, 每孔 7.5×10^3 细胞, 培养 24 h 后, 加入以培养基稀释的化合物 **1** 工作液, 终浓度为 $25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。实验中每个浓度均为 3 个复孔, 另设空白对照孔。细胞在 37 °C、5% CO_2 条件下分别孵育 48 h 后, 去除培养基, PBS 洗 1 次后, 每孔加入新鲜培养基 100 μL 和 MTT

(5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 用生理盐水配制) 20 μL ; 继续培养 4 h 后, 去除孔中的培养基和 MTT, 每孔加入二甲基亚砜 (DMSO) 100 μL , 用酶标仪测 $\text{OD}_{570-630}$ 值。样品对 Bel 7402 的抑制率按下述公式计算: 抑制率 (%) = $[(\text{OD}_0 - \text{OD}_S) / \text{OD}_0] \times 100\%$, OD_0 为对照组吸收值, OD_S 为测试样品吸收值。

References

- [1] Holetz FB, Pessini GL, Sanches NR, et al. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases [J]. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2002, 97: 1027-1031.
- [2] Tona L, Kambu K, Mesia K, et al. Biological screening of traditional preparations from some medicinal plants used as antidiarrhoeal in Kinshasa, Congo [J]. Phytomedicine, 1999, 6: 59-66.
- [3] Smith J, Nigel H. Tropical Forests and their Crops [M]. London: Cornell University Press, 1992: 102.
- [4] Heinrich M, Ankli A, Frei B, et al. Medicinal plants in Mexico: healers consensus and cultural importance [J]. Soc Sci Med, 1998, 47: 1859-1871.
- [5] Leonti M, Vibrans H, Sticher O, et al. Ethnopharmacology of the Popoloca, Mexico: an evaluation [J]. J Pharm Pharmacol, 2001, 53: 1653-1669.
- [6] Cabieses F. Notes of Traditional Medicine, Rationalizing the Irrational. II [M]. Ciselpesa: Perú National Council of Science and Technology, 1993: 378.
- [7] Numata A, Yang P, Takahashi C, et al. Cytotoxic triterpenes from Chinese medicine, Goreishi [J]. Chem Pharm Bull, 1989, 37: 648-651.
- [8] Begum S, Hassan SI, Siddiqui BS, et al. Triterpenoids from the leaves of *Psidium guajava* [J]. Phytochemistry, 2002, 61: 399-403.
- [9] Arima H, Danno GI. Isolation of antimicrobial compounds from Guava (*Psidium guajava* L.) and their structural elucidation [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2002, 66: 1727-1730.
- [10] Qádan F, Petereit F, Nahrstedt A. Polymeric proanthocyanidins from *Psidium guajava* [J]. Sci Pharm, 2005, 73: 113-125.
- [11] Doddrell DM, Khong PW, Lewis KG. The stereochemical dependence of ^{13}C chemical shifts in olean-12-enes and urs-12-enes as an aid to structural assignment [J]. Tetrahedron Lett, 1974, 27: 2381-2384.
- [12] Seo S, Tomita Y, Tori K. Carbon-13 NMR spectra of urs-12-enes and application to structural assignments of components of *Isodon japonicus* Hara tissue cultures [J]. Tetrahedron Lett,

- 1975, 16: 7–10.
- [13] Agrawal PK. NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31: 3307–3330.
- [14] Xin WB, Chou GX, Wang ZT. Triterpenoids and saponins from the leaves of *Uncaria hirsute* [J]. *Helv Chim Acta*, 2009, 92: 638–644.
- [15] Adnyana IK, Tezuka Y, Banskota AH, et al. Quadransides I–V, new triterpene glucosides from the seeds of *Combretum quadrangulare* [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63: 496–500.
- [16] Durham DG, Liu IX, Richards RME. Unsaturated E-ring triterpenes from *Rubus pinfaensis* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 42: 505–508.
- [17] Xiao HM, Zu LB, Li SP, et al. Chemical constituents from dried fruits of *Rubus chingii* [J]. *Chin J Med Chem (中国药物化学杂志)*, 2011, 21: 220–226.
- [18] Weng XX, Chen YY, Shao Y, et al. A new ursane-type triterpene saponin from *Centella asiatica* [J]. *Chin J Pharm (中国药学杂志)*, 2011, 42: 187–189.
- [19] Dijoux MG, Lavaud C, Massiot G, et al. A saponin from leaves of *Aphloia madagascariensis* [J]. *Phytochemistry*, 1993, 34: 497–499.
- [20] Shigenaga S, Kouno I, Kawano N. Triterpenoids and glycosides from *Geum japonicum* [J]. *Phytochemistry*, 1985, 24: 115–118.
- [21] Zhang Z, Wang S, Qiu H, et al. Waltonitone induces human hepatocellular carcinoma cells apoptosis *in vitro* and *in vivo* [J]. *Cancer Lett*, 2009, 286: 223–231.