

大托叶云实中一个新的卡山烷二萜

涂文超^{1,2}, 丁林芬¹, 杨惠^{1,2}, 宋流东^{1*}, 吴兴德^{2*}

(1. 昆明医科大学药学院暨云南省天然药物药理重点实验室, 云南 昆明 650500;

2. 中国科学院昆明植物研究所, 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650201)

摘要: 采用硅胶、Sephadex LH-20、MCI 和半制备 HPLC 等色谱技术, 对豆科云实属植物大托叶云实种子的 95% 乙醇提取物进行分离纯化。从中分离得到了 5 个卡山烷型二萜化合物, 根据理化性质和波谱数据鉴定为 3 β -乙酰氧基-卡山烷-12,14(17),15-三烯-7 β -醇 (1)、caesalmin C (2)、caesall E (3)、caesalpinin MJ (4) 和 1-deacetylcaesalmin C (5), 其中化合物 1 为新化合物, 2、4、5 首次从该植物中分离得到。

关键词: 豆科; 大托叶云实; 卡山烷二萜; 3 β -乙酰氧基-卡山烷-12,14(17),15-三烯-7 β -醇

中图分类号: R284

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 02-0279-04

A new cassane diterpene from *Caesalpinia bonduc*TU Wen-chao^{1,2}, DING Lin-fen¹, YANG Hui^{1,2}, SONG Liu-dong^{1*}, WU Xing-de^{2*}

(1. School of Pharmaceutical Science and Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical University, Kunming 650500, China; 2. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China)

Abstract: Five cassane diterpenes were isolated from the 95% ethanol extract of the seeds of *Caesalpinia bonduc* (Leguminosae) by a combination of various chromatographic methods, including silica gel, Sephadex LH-20, and semi-preparative HPLC. On the basis of spectroscopic techniques, their structures were identified as 3 β -acetoxy-cassa-12,14(17),15-trien-7 β -ol (1), caesalmin C (2), caesall E (3), caesalpinin MJ (4), and 1-deacetylcaesalmin C (5). Among them, compound 1 is a new compound and 2, 4, 5 were isolated from the plant for the first time.

Key words: Leguminosae; *Caesalpinia bonduc*; cassane-type diterpene; 3 β -acetoxy-cassa-12,14(17),15-trien-7 β -ol

大托叶云实 (*Caesalpinia bonduc*) 是豆科 (Leguminosae) 云实属 (*Caesalpinia*) 植物, 又名刺果苏木, 有刺藤本, 刺直或者弯曲, 各部位均有黄色柔毛。在世界热带地区均有分布, 我国主要产于云南、广东、广西、台湾等地^[1]。《中华本草》中记载其种子具有活血止痛、解毒消肿等功效, 主要用于治

疗胃脘痛、腹痛、目赤肿痛、疮疡; 叶具有清热解毒、去淤止痛、驱虫、通便等功效, 用于治疗间歇性发热、急慢性胃炎、胃溃疡、痢疾、消化不良、肠道虫积、便秘、疖肿等^[2]。目前, 已从大托叶云实中发现二萜^[3-5]、黄酮^[6]和甾体^[7]类化合物。卡山烷二萜类成分 caesalpinolide A 和 caesalpinolide B 具有抑制乳腺癌、子宫内膜癌和宫颈癌细胞增殖作用^[5]; 黄酮类化合物 4,4'-dihydroxy-2'-methoxy-chalcone 具有抗疟原虫活性^[8]。为进一步寻找活性成分, 作者对购自河北安国药材的大托叶云实种子进行研究, 从中分离得到 5 个化合物并鉴定为 3 β -乙酰氧基-卡山烷-12,14(17),

收稿日期: 2016-11-22; 修回日期: 2016-12-20.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (21662023, 21402212); 云南省教育厅基金研究生项目 (2015J049).

*通讯作者 Tel: 86-871-65922778, E-mail: ynsld@126.com;

Tel: 86-871-65223013, E-mail: wuxingde@mail.kib.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2016-1121

15-三烯-7 β -醇 (**1**)、caesalmin C (**2**)^[9]、caesall E (**3**)^[10]、caesalpinin MJ (**4**)^[11]和 1-deacetylcaesalmin C (**5**)^[11]，其中化合物 **1** 为新化合物，结构见图 1。

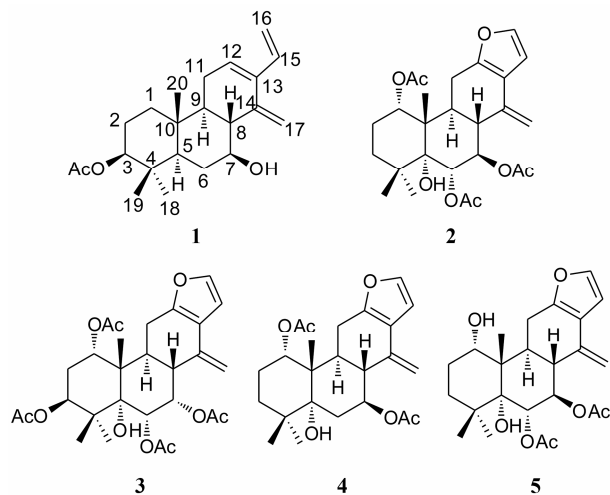


Figure 1 Structures of compounds 1–5

化合物 **1** 无色油状物 (氯仿) HR-ESI-MS m/z : 367.224 3 [$M+Na$]⁺ (计算值: 367.224 4)，确定分子式为 $C_{22}H_{32}O_3$ ，不饱和度为 7。红外光谱显示其结构中存在羟基 (3427 cm^{-1})、羰基 (1730 cm^{-1})、双键 (1631 cm^{-1}) 等特征信号峰。¹H NMR 谱 (表 1) 显示 1 个乙酰基上甲基信号 δ_H 2.05 (s)，3 个与季碳相连的甲基信号 δ_H 0.95 (s)、0.93 (s)、0.90 (s)，2 个连氧次甲基信号 δ_H 4.49 (dd, $J = 11.8, 4.1\text{ Hz}$)、3.91 (m)，1 个三取代双键质子信号 δ_H 5.86 (br s)，2 个环外末端双键质子信号 δ_H 5.30 (br s)、5.19 (br s)，3 个末端双键质子信号 δ_H 6.33 (dd, $J = 17.3, 10.8\text{ Hz}$)、5.36 (dd, $J = 17.3, 1.2\text{ Hz}$)、5.06 (dd, $J = 10.8, 1.2\text{ Hz}$)。¹³C NMR 谱 (表 1) 显示 22 个碳信号，包括 4 个甲基、6 个亚甲基 (包括 2 个不饱和亚甲基)、7 个次甲基 (包括 2 个不饱和及 2 个氧取代次甲基) 及 5 个季碳 (包括 1 个乙酰基上的羰基和 1 个不饱和季碳)。据以上波谱数据及云实属植物中特征卡山烷二萜类成分^[11–13]，推测该化合物为一个羟基和一个乙酰氧基取代的卡山烷二萜结构，并存在一个三取代双键、一个环外双键及一个末端双键。

通过 HMBC 谱中 H-11a、H-11b 与 C-12、C-13 (图 2) 的相关，以及 ¹H-¹H COSY 谱中 H-9/H₂-11/H-12 相关，表明三取代双键位于 C-12 和 C-13；H-17a 和 H-17b 与 C-8、C-14、C-13 的 HMBC 相关，说明环外双键位于 C-14 和 C-17；H-15 与 C-12、C-13、C-14 (图 2) 的 HMBC 相关，提示末端双键与 C-13 位相连。此

Table 1 ¹H (600 MHz) and ¹³C (150 MHz) NMR data in CDCl₃ for compound **1**

Position	δ_H (multi, J in Hz)	δ_C
1	1.67, overlap	36.9
	1.10, td (14.5, 4.6)	
2	1.68, overlap	23.7
	1.59, m	
3	4.49, dd (11.8, 4.1)	80.7
4		37.6
5	1.02, dd (12.7, 1.2)	50.7
6	1.99, ddd (12.7, 4.0, 1.2)	30.0
	1.52, m	
7	3.91, m	71.6
8	2.05, overlap	45.8
9	1.24, m	50.0
10		36.7
11	2.17, m	25.9
	2.11, m	
12	5.86, br s	126.9
13		137.4
14		145.6
15	6.33, dd (17.3, 10.8)	136.5
16	5.36, dd (17.3, 1.2)	114.9
	5.06, dd (10.8, 1.2)	
17	5.30, br s	109.6
	5.19, br s	
18	0.95, s	28.4
19	0.90, s	17.0
20	0.93, s	14.6
3-OAc	2.05, s	21.4
		171.1

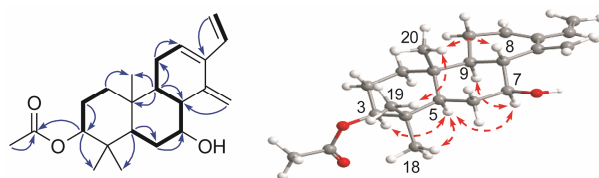


Figure 2 Key ¹H-¹H COSY (—), HMBC (—), and ROESY (---) correlations of compound **1**

外，HMBC 谱中 H₂-2、H₃-19 与 C-3，H-3 与乙酰基上的酯羰基，H-8、H₂-6、H-5 与 C-7，以及 ¹H-¹H COSY 谱中 H₂-1/H₂-2/H-3，H-5/H₂-6/H-7/H-8/H-9 相关 (图 2)，表明乙酰氧基和羟基分别连在 C-3 和 C-7 位。

化合物 **1** 的相对构型通过 ROESY 谱确定 (图 2)。ROESY 谱中，H-5 与 H-7、H-7 与 H-9、H-5 与 H₃-18、H-8 与 H₃-20、H₃-19 与 H₃-20 存在相关，以及 H-5 与 H₃-20 不存在相关，表明 7 位羟基为 β 朝向。H-3 的耦合常数为 11.8 和 4.1 Hz，提示 3 位乙酰氧基同样为 β 朝向，该推论进一步通过 H-3 与 H-5、H-3 与 H₃-18 的 ROESY 相关得到确认。据上述分析，化合物 **1** 鉴定为新的卡山烷二萜，命名为 3 β -乙酰氧基-卡山烷-12, 14(17), 15-三烯-7 β -醇。

实验部分

核磁共振仪 (Brucker, AV 600 MHz, Avance III 500 MHz, 德国) (TMS 为内标); 液质联用仪 (Agilent 1290 UPLC/6540 Q-TOF, 美国); 红外光谱仪 (Brucker, Tensor-27, 德国); 紫外可见分光光度仪 (Shimadzu, Shimadzu UV2401PC, 日本); 全自动数字旋光仪 (Jasco, Jasco P-1020, 日本); 分析和半制备型 HPLC (Agilent, Agilent 1260, 美国); 半制备色谱柱 Zorbax SB-C₁₈ (Agilent, 4.6 mm×250 mm, 美国); MPLC (上海利穗有限公司); 柱色谱 100~200 目、200~300 目硅胶 (临沂市海洋化工厂); 薄层色谱硅胶板 GF-254 (临沂市海洋化工厂); Sephadex LH-20 (Pharmacia 公司, 瑞典); MCI-gel CHP-20P (Mitsubishi Chemical Corporation, 75~150 μm, 日本); 80~100 目聚酰胺粉 (国药集团化学试剂有限公司); 色谱甲醇 (北京百灵威科技有限公司); 分析纯甲醇 (天津市风船化学试剂科技有限公司); 石油醚 (沸程 60~90 °C)、氯仿、乙酸乙酯、甲醇、95% 乙醇等均为工业纯有机试剂 (重蒸使用); 显色剂 (10% H₂SO₄ 乙醇溶液, 喷洒后适当加热)。

实验药材大托叶云实 2016 年 3 月购买于河北安国药材市场, 并由中国科学院昆明植物研究所成晓副研究员鉴定为豆科 (Leguminosae) 云实属 (*Caesalpinia*) 植物大托叶云实 (*Caesalpinia bonduc*) 的种子, 标本 (20160303a) 保存于中国科学院昆明植物所标本馆。

1 提取分离

大托叶云实种子 10 kg 粉碎后, 用 95% 乙醇冷浸提取 3 次, 每次两天, 合并提取液, 减压蒸馏浓缩回收有机溶剂后, 提取物分散到水中用乙酸乙酯萃取 3 次, 得乙酸乙酯萃取物 165.0 g。该萃取物 (150.0 g) 经 MPLC 分离 (MCI), 利用甲醇-水 (70 : 30、75 : 25、80 : 20、85 : 15、90 : 10、95 : 5) 梯度洗脱, 根据 TLC 检测合并为 5 个部分 Fr1~Fr5。Fr4 (33.0 g) 经正相硅胶柱色谱 (石油醚-乙酸乙酯 100 : 1→2 : 1) 梯度洗脱, 分为 8 个部分 Fr4.1~Fr4.8。Fr4.1 (4.3 g) 利用丙酮重结晶得化合物 **2** (2.0 g)。Fr4.2 (202.0 mg) 经正相硅胶柱色谱 (氯仿-丙酮 100 : 1→9 : 1), 得化合物 **3** (30.0 mg)。Fr4.3 (82.0 mg) 用半制备 HPLC 分离 (甲醇-水, 75 : 25, 3 mL·min⁻¹, t_R=8.1 min), 得到化合物 **4** (12.0 mg)。Fr4.4 (93.0 mg) 用半制备 HPLC 分离 (甲醇-水, 75 : 25, 3 mL·min⁻¹, t_R=10.4 min), 得到化合物 **1** (3.0 mg)。Fr3 (12.4 g) 经正相硅胶柱色谱

(石油醚-乙酸乙酯, 9 : 1→1 : 1) 梯度洗脱, 分为 4 个组分 Fr3.1~Fr3.4, Fr3.1 (104.0 mg) 经 Sephadex LH-20 (氯仿-甲醇, 1 : 1) 柱色谱后, 利用甲醇重结晶得化合物 **5** (50.0 mg)。

2 结构鉴定

化合物 1 无色油状物 (氯仿), [α]_D²⁰+24.2 (c 0.20, MeOH); UV 末端吸收峰 λ_{max} (log ε): 204.6 (3.51)。IR: 3 427, 2 930, 2 856, 1 730, 1 631, 1 614, 1 461, 1 383, 1 251, 1 029 cm⁻¹。

化合物 2 无色方晶 (丙酮), ESI-MS *m/z* 497 [M+Na]⁺, C₂₆H₃₄O₈。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ_H: 7.23 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-16), 6.40 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-15), 5.58 (1H, br s, H-6, H-7), 5.09 (1H, br s, H-17b), 4.94 (1H, br s, H-17a), 4.89 (1H, br s, H-1), 2.10 (3H, s, 7-OCOCH₃), 2.07 (3H, s, 1-OCOCH₃), 1.97 (3H, s, 6-OCOCH₃), 1.30 (3H, s, H-20), 1.17 (3H, s, H-19), 1.16 (3H, s, H-18); ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ_C: 75.0 (d, C-1), 22.0 (t, C-2), 32.3 (t, C-3), 38.5 (s, C-4), 79.3 (s, C-5), 75.2 (d, C-6), 75.6 (d, C-7), 41.6 (d, C-8), 38.0 (d, C-9), 44.5 (s, C-10), 23.2 (t, C-11), 150.5 (s, C-12), 119.8 (s, C-13), 138.5 (s, C-14), 106.5 (d, C-15), 142.0 (d, C-16), 105.6 (q, C-17), 30.7 (q, C-18), 25.1 (q, C-19), 17.1 (q, C-20), 21.4/169.1 (1-OCOCH₃), 21.3/170.8 (6-OCOCH₃), 21.7/170.8 (7-OCOCH₃)。以上数据与文献^[9]报道数据基本一致, 故鉴定化合物 **2** 为 caesalmin C。

化合物 3 白色粉末 (氯仿), ESI-MS *m/z* 555 [M+Na]⁺, C₂₈H₃₆O₁₀。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ_H: 7.22 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-16), 6.40 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-15), 5.64 (1H, br s, H-7), 5.54 (1H, br s, H-6), 5.09 (1H, br s, H-17b), 5.03 (1H, dd, *J* = 12.5, 4.3 Hz, H-3), 4.94 (1H, br s, H-17a), 4.92 (1H, s, H-1), 2.10 (3H, s, 7-OCOCH₃), 2.09 (3H, s, 6-OCOCH₃), 2.03 (3H, s, 3-OCOCH₃), 1.96 (3H, s, 1-OCOCH₃), 1.15 (3H, s, H-18), 1.14 (3H, s, H-19), 1.33 (3H, s, H-20); ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ_C: 75.0 (d, C-1), 27.4 (t, C-2), 72.0 (d, C-3), 43.2 (s, C-4), 80.7 (s, C-5), 75.5 (d, C-6), 75.2 (d, C-7), 41.5 (d, C-8), 37.9 (d, C-9), 44.5 (s, C-10), 23.1 (t, C-11), 150.2 (s, C-12), 119.8 (s, C-13), 138.2 (s, C-14), 106.5 (d, C-15), 142.1 (d, C-16), 105.7 (q, C-17), 24.7 (q, C-18), 19.5 (q, C-19), 17.2 (q, C-20), 21.3/170.5 (1-OCOCH₃), 21.1/169.3 (3-OCOCH₃), 21.7/170.6 (6-OCOCH₃), 21.2/170.8 (7-OCOCH₃)。以上数据与文献^[10]报道数据基本一致, 故鉴定化合物 **3** 为 caesall E。

化合物 4 白色粉末 (氯仿), ESI-MS *m/z* 439 [M+Na]⁺, C₂₄H₃₂O₆。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ_H: 7.22 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-16), 6.42 (1H, d, *J* = 2.0 Hz,

H-15), 5.52 (1H, td, $J = 10.0, 3.7$ Hz, H-7), 5.10 (1H, $J = 1.9$ Hz, H-17a), 4.93 (1H, br s, H-1), 4.76 (1H, $J = 2.0$ Hz, H-17b), 2.06 (3H, s, 1-OCOCH₃), 2.05 (3H, s, 7-OCOCH₃), 1.22 (3H, s, H-20), 1.11 (3H, s, H-19), 1.06 (3H, s, H-18); ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ_C : 75.5(d, C-1), 22.4 (t, C-2), 29.9 (t, C-3), 38.3 (s, C-4), 77.7 (s, C-5), 31.3 (t, C-6), 71.9 (d, C-7), 41.0 (d, C-8), 38.5 (d, C-9), 43.0 (s, C-10), 22.9 (t, C-11), 150.7 (s, C-12), 119.6 (s, C-13), 139.4 (s, C-14), 106.5 (d, C-15), 141.7 (d, C-16), 105.6 (q, C-17), 28.2 (q, C-18), 25.4 (q, C-19), 17.7 (q, C-20), 21.4/169.1 (1-OCOCH₃), 21.5/170.4 (7-OCOCH₃)。以上数据与文献^[11]报道数据基本一致, 故鉴定化合物 **4** 为 caesalpinin MJ。

化合物 **5** 无色针晶 (甲醇), ESI-MS m/z 455 [M+Na]⁺, C₂₄H₃₂O₇。¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ_H : 7.36 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-16), 6.53 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-15), 5.50 (1H, m, H-7), 5.49 (1H, m, H-6), 5.09 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-17b), 4.89 (1H, br s, H-17a), 3.87 (1H, br s, H-1), 2.07 (3H, s, 7-OCOCH₃), 1.89 (3H, s, 6-OCOCH₃), 1.21 (3H, s, H-20), 1.12 (3H, s, H-19), 1.11 (3H, s, H-18); ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ_C : 72.8 (d, C-1), 25.8 (t, C-2), 32.8 (t, C-3), 39.2 (s, C-4), 80.4 (s, C-5), 76.0 (d, C-6), 76.1 (d, C-7), 42.5 (d, C-8), 39.1 (d, C-9), 44.9 (s, C-10), 23.8 (t, C-11), 152.5 (s, C-12), 120.4 (s, C-13), 140.7 (s, C-14), 107.5 (d, C-15), 142.7 (d, C-16), 105.1 (q, C-17), 31.3 (q, C-18), 25.3 (q, C-19), 17.1 (q, C-20), 21.4/170.9 (6-OCOCH₃), 21.8/170.9 (7-OCOCH₃)。以上数据与文献^[11]报道数据基本一致, 故鉴定化合物 **5** 为 1-deacetylcaesalmin C。

References

- [1] Editorial Committee of Flora of China, Chinese Academy of Sciences. Flora of China (中国植物志) [M]. Beijing: Science Press, 1998, 42: 366.
- [2] Editorial Board of Chinese Materia Medica. Chinese Materia Medica (中华本草) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1999, 11: 368–369.
- [3] Peter SR, Tinto WF, McLean S, et al. Bonducellpins A–D, new cassane furanoditerpenes of *Caesalpinia bonduc* [J]. J Nat Prod, 1997, 60: 1219–1224.
- [4] Yadav PP, Arora A, Bid HK, et al. New cassane butenolide hemiketal diterpenes from the marine creeper *Caesalpinia bonduc* and their antiproliferative activity [J]. Tetrahedron Lett, 2007, 48: 7194–7199.
- [5] Yadav PP, Maurya R, Sarkar J. Cassane diterpenes from *Caesalpinia bonduc* [J]. Phytochemistry, 2009, 70: 256–261.
- [6] Ata A, Gale ME, Samarasekera R. Bioactive chemical constituents of *Caesalpinia bonduc* (Fabaceae) [J]. Phytochemistry Lett, 2009, 2: 106–109.
- [7] Udenigwe CC, Ata A, Samarasekera R. Glutathione S-transferase inhibiting chemical constituents of *Caesalpinia bonduc* [J]. Chem Pharm Bull, 2007, 55: 442–445.
- [8] Ogunlanaa OO, Kim HS, Wataya Y, et al. Antiplasmodial flavonoid from young twigs and leaves of *Caesalpinia bonduc* (Linn) Roxb [J]. J Chem Pharm Res, 2015, 7: 931–937.
- [9] Jiang RW, Ma SC, But PPH, et al. New antiviral cassane furanoditerpenes from *Caesalpinia minax* [J]. J Nat Prod, 2001, 64: 1266–1272.
- [10] Wu L, Luo J, Zhang YM, et al. Cassane-type diterpenoids from the seed kernels of *Caesalpinia bonduc* [J]. Fitoterapia, 2014, 93: 201–208.
- [11] Kalauni SK, Awale S, Tezuka Y, et al. Cassane-type diterpenes of *Caesalpinia crista* from Myanmar [J]. Chem Pharm Bull, 2005, 53: 214–218.
- [12] Deng ZT, Su J, Ding LF, et al. Six new cassane diterpenoids from the seeds of *Caesalpinia sappan* [J]. Phytochemistry Lett, 2016, 16: 207–212.
- [13] Chen S, Zhang Y, Niu S, et al. Cytotoxic cleistanthane and cassane diterpenoids from the entomogenous fungus *Paraconiothyrium hawaiiense* [J]. J Nat Prod, 2014, 77: 1513–1518.