

大花美人蕉根中1个新的对映-贝壳杉烷型二萜类化合物

周文婷, 龚志伟*

(武汉科技大学化学与化工学院, 湖北 武汉 430081)

摘要: 采用硅胶柱色谱、高效液相色谱等方法对大花美人蕉根的乙醇提取物中的化学成分进行分离纯化, 并运用现代波谱学手段鉴定化合物结构。从中分离得到2个对映-贝壳杉烷型二萜类化合物, 鉴定为 (5*R*,8*S*,9*S*,10*R*,13*R*)-2-酮-对映-贝壳杉-15-烯-17-酸 (**1**) 和 (4*R*,5*S*,8*S*,9*S*,10*S*,13*R*)-19-羟基-对映-贝壳杉-15-烯-17-酸 (**2**), 化合物**1**为新化合物, 化合物**2**为首次从大花美人蕉根中分离得到。

关键词: 大花美人蕉; 根; 对映-贝壳杉烷型二萜; 分离鉴定

中图分类号: R 284 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2022)05-1440-04

A new *ent*-kauranoid from rhizomes of *Canna generalis*

ZHOU Wen-ting, GONG Zhi-wei*

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430081, China)

Abstract: Two *ent*-kauranoids were isolated from the ethanol extraction of rhizomes of *Canna generalis* (Cannaceae), and were purified by various technologies, including silica gel and high performance liquid chromatography, and their structures were determined by modern spectroscopy techniques as (5*R*,8*S*,9*S*,10*R*,13*R*)-2-oxo-*ent*-kaur-15-en-17-oic acid (**1**) and (4*R*,5*S*,8*S*,9*S*,10*S*,13*R*)-19-hydroxy-*ent*-kaur-15-en-17-oic acid (**2**). Compound **1** is a new *ent*-kauranoid, and compound **2** is obtained from rhizomes of *Canna generalis* for the first time.

Key words: *Canna generalis*; rhizome; *ent*-kauranoids; isolation and identification

美人蕉属 (*Canna*) 植物具有叶片粗犷、花色娇艳、花期长、易于栽培等优点, 被广泛应用于园林绿化, 是热带及亚热带常见的观花植物; 其中美人蕉 (*Canna indica* L.) 的根茎具有清热利湿、舒筋活络功效, 主治黄疸肝炎、风湿麻木、外伤出血等^[1]。美人蕉品种大多可归类为美人蕉、柔瓣美人蕉、粉美人蕉、大花美人蕉及兰花美人蕉等5个种系和杂交种系^[2]。目前, 美人蕉属植物的研究主要集中在吸附重金属、污水土壤修复及其化感作用上, 其化学成分及生物活性研究主要集中在美人蕉这一品种上^[3-7], 其他品种研究较少。大花美人蕉 (*C. generalis*) 为美人蕉属植物在园林上应用

的一个主要品种, 根茎的化学成分有脂肪醇、甾醇、酚类、黄酮类及糖苷类等^[8,9], 其根提取物能改善硫酸葡聚糖钠盐诱导的结肠炎, 具有一定抗炎活性^[9]。为了深入开发大花美人蕉的药用价值, 对其化学成分进行了进一步研究。除了之前报道的8个已知化合物^[8], 还从大花美人蕉根的乙醇提取物中分离得到2个二萜类化合物, 经多种波谱技术鉴定为 (5*R*,8*S*,9*S*,10*R*,13*R*)-2-酮-对映-贝壳杉-15-烯-17-酸 (**1**) 和 (4*R*,5*S*,8*S*,9*S*,10*S*,13*R*)-19-羟基-对映-贝壳杉-15-烯-17-酸 (**2**), 结构见图1。化合物**1**为新化合物, 化合物**2**为首次从大花美人蕉根中分离得到。

结果与讨论

化合物**1**为白色粉末, $[\alpha]_D^{20} -15.5$ (*c* 0.04, MeOH); UV (MeOH) λ_{\max} (log ϵ): 236 (2.50) nm; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) 和 ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) 数据见表1。

收稿日期: 2021-11-04; 修回日期: 2021-12-15.

基金项目: 国家自然科学基金项目 (51608400); 煤转化与新型炭材料湖北省重点实验室开放基金项目 (WKDM202108).

*通讯作者 Tel: 13971688623, Email: gongzhiwei@wust.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2021-1574

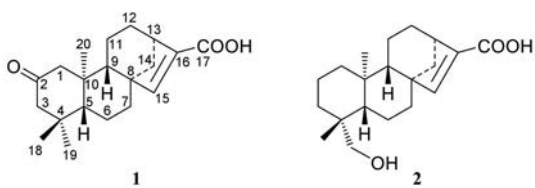


Figure 1 Chemical structures of compounds **1** and **2**

HR-ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z 317.210 9 $[M+H]^+$ (计算值 317.211 7), 结合 ^{13}C NMR, 推测其分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_3$, 不饱和度为 7。化合物 **1** 的 ^1H NMR 谱 (表 1) 显示, 低场区有 1 个单峰烯质子信号 δ_{H} 6.65 (1H, s), 高场区有 3 个单峰甲基信号 δ_{H} 1.07 (3H, s)、1.07 (3H, s)、0.89 (3H, s)。结合 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱, 显示有 3 个甲基碳信号、7 个亚甲基碳信号、4 个次甲基碳信号和 6 个季碳信号。根据以上谱图信息, 推测化合物 **1** 为含有 1 个双键 δ_{C} (155.3, 137.9)、1 个羰基 δ_{C} 169.3 和 1 个酮基 δ_{C} 211.4 的对映-贝壳杉烷型二萜。通过分析 HSQC 和 HMBC 谱, 发现与已知二萜土槿丁酸 (pseudolaric acid D) 的核磁数据^[10,11]相似, 区别在于, 化合物 **1** 比土槿丁酸少了 1 个 C-18 位的羟基信号, 多了 1 个酮基信号。HMBC 谱 (图 2) 显示, δ_{H} 2.54 (H-1a) 与 δ_{C} 211.4 (C=O)、56.5 (C-3)、55.2 (C-5)、19.1 (C-20) 相关; δ_{H} 2.19 (H-3a) 与 δ_{C} 211.4 (C=O)、55.2 (C-5)、39.1 (C-4)、23.3 (C-19) 相关; 可确定酮基连在 C-2 位^[12]。此外根据 HMBC 谱, δ_{H} 6.65 (H-15) 与 δ_{C} 169.3 (COOH)、42.9 (C-14)、40.4 (C-13)、37.8 (C-7) 相关; δ_{H} 2.11 (H-14a) 与 δ_{C} 155.3 (C-15)、137.9 (C-16)、25.2 (C-12) 相关; δ_{H} 1.33 (H-9) 与 δ_{C} 155.3 (C-15)、42.9 (C-14) 相关; 表明羰基连接在 C-16 的双键上。NOESY 谱 (图 2) 显示, H-5 与 H₃-18、H-9 相关, H-15 与 H-9 相关, H-13 与 H-14b 相关, H-1b (δ_{H} 1.94) 与 H-9、H-5、H-3b (δ_{H} 2.28) 相关, 表明 H₃-18、H-5、H-9、H-13 和 H-15 为 β -H; H-3a (δ_{H} 2.19) 与 H₃-19、H₃-20 相关, H₃-20 与 H-14a (δ_{H} 2.11)、H-1a (δ_{H} 2.54) 相关, 表明 H₃-19 与 H₃-20 为 α -H。进一步, 发现计算 ECD 谱与实验 ECD 谱 (图 3) 变化趋势一致, 从而确定了化合物 **1** 的绝对构型。因此, 化合物 **1** 的结构鉴定为 (5*R*,8*S*,9*S*,10*R*,13*R*)-2-酮-对映-贝壳杉-15-烯-17-酸。

根据波谱分析, 并与已有文献^[13,14]数据进行比对, 化合物 **2** 与土槿丁酸区别在于羟基连接在 C-19 的甲基上。发现计算 ECD 谱与实验 ECD 谱 (图 3) 变化趋势一致, 从而确定了化合物 **2** 的绝对构型。因此, 化合物 **2** 的结构鉴定为 (4*R*,5*S*,8*S*,9*S*,10*S*,13*R*)-19-羟基-对映-贝壳杉-15-烯-17-酸, 与文献^[15]报道的化合物 **9** (19 α -羟基-对映-贝壳杉烷-15-烯-17-酸) 结构相同, 但与其 13 位羟基构型 (13*S*) 不同。

Table 1 The ^1H (600 MHz) and ^{13}C NMR (150 MHz) data of compound **1** in CDCl_3

Position	1	
	δ_{H}	δ_{C}
1	2.54 (1H, dd, $J = 12.7, 2.1$ Hz)	56.1 t
	1.94 (1H, d, $J = 12.6$ Hz)	
2	—	211.4 s
3	2.28 (1H, d, $J = 13.6$ Hz)	56.5 t
	2.19 (1H, dd, $J = 13.6, 2.2$ Hz)	
4	—	39.1 s
5	1.42 (1H, d, $J = 12.0$ Hz)	55.2 d
6	1.72 (1H, dd, $J = 12.0, 3.7$ Hz)	19.5 t
	1.40 (1H, td, $J = 11.9, 3.5$ Hz)	
7	1.74–1.76 (2H, m)	37.8 t
8	—	50.8 s
9	1.33 (1H, d, $J = 8.0$ Hz)	46.2 d
10	—	44.8 s
11	1.62 (1H, m)	18.7 t
12	1.52 (1H, dd, $J = 10.3, 6.6$ Hz)	25.2 t
	1.66 (1H, m)	
13	1.55 (1H, m)	40.4 d
14	2.97 (1H, m)	42.9 t
	2.11 (1H, d, $J = 10.7$ Hz)	
15	1.53 (1H, dd, $J = 10.7, 5.2$ Hz)	155.3 d
	6.65 (1H, s)	
16	—	137.9 s
17	—	169.3 s
18	1.07 (3H, s)	33.7 q
19	0.89 (3H, s)	23.3 q
20	1.07 (3H, s)	19.1 q

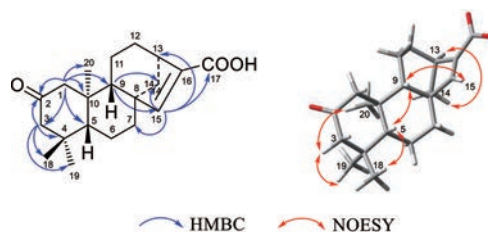


Figure 2 Key HMBC and NOESY correlations of compound **1**

预实验中对化合物 **1** 和 **2** 进行了细胞毒活性测试, 遗憾的是, 在 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下对人肺癌细胞 (A549)、人乳腺癌细胞 (MCF-7) 的生长均未表现明显的抑制作用。据文献^[15]报道, 化合物 **2** 在 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下对人膀胱癌细胞 T-24 有抑制作用 (抑制率为 20.34%), 对人卵巢癌细胞 (SK-OV-3)、人宫颈癌细胞 (HeLa)、人乳腺癌细胞 (MCF-7) 及人胃癌细胞 (BGC-823) 均未表现明显的抑制作用。

实验部分

UltiMate 3000 液相色谱仪 (美国 Thermo Fisher 公司), 配置 VWD-3100 紫外检测器, AcclaimTM 120 C18 色谱柱 ($150 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}, 5 \mu\text{m}$); Agilent 600 MHz DD2 核磁共振波谱仪 (美国 Agilent 公司), 以 TMS 为内标; Anton Paar MCP 500 旋光仪 (奥地利 Anton Paar 公

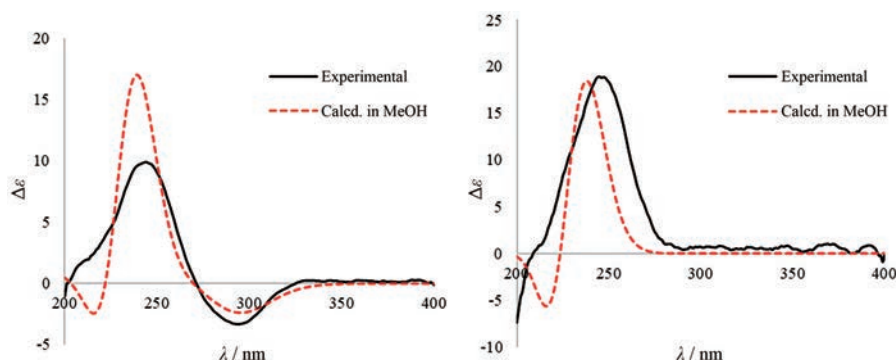


Figure 3 Experimental and calculated ECD spectra of compounds **1** (A, Shift = 11 nm) and **2** (B, Shift = -8 nm)

司); Shimadzu UV-2600 紫外光谱仪 (日本 Shimadzu 公司); Agilent 6230 TOF LC-MS 质谱仪 (美国 Agilent 公司); Chirascan CD 光谱仪 (英国应用光物理公司)。柱色谱硅胶 (青岛海洋化工有限公司); 薄层色谱 (TLC) HSGF₂₅₄ 硅胶板 (烟台江友硅胶开发公司); 柱色谱反相硅胶 Chromatorex C18 (MB100-40, 粒径 40~75 μm, 日本富士化学公司); 分析纯甲醇、乙醇、石油醚、乙酸乙酯购买自天津市富宇精细化工有限公司; 色谱纯甲醇购买自国药集团化学试剂有限公司。

实验材料于 2015 年 5 月购于湖北省武汉市汉口北的四季美花木市场, 产地为武汉市蔡甸区, 由中国科学院华南植物园童毅华副研究员鉴定为大花美人蕉 (*Canna generalis*)。标本 (No.CG-201505) 存放于武汉科技大学化学与化工学院。

1 提取分离

去除美人蕉茎叶及须根, 处理后的美人蕉根切片晾干, 粉碎后得到粉末 2.5 kg; 用 5 L 95% 乙醇溶液浸泡提取 (2 天 × 3 次), 接着用 5 L 80% 乙醇溶液浸泡提取 (2 天 × 3 次), 合并提取液后减压浓缩得无乙醇溶液 2 L, 依次用石油醚、乙酸乙酯萃取, 减压浓缩后得到石油醚萃取物 (24.2 g) 及乙酸乙酯萃取物 (15.7 g)。石油醚萃取物经正相硅胶柱色谱分离, 以石油醚-乙酸乙酯 (1:0→1:1) 梯度洗脱, TLC 检查后合并得到 10 个组分 (P1~P10)。P8 (0.9 g) 经反相硅胶柱色谱分离, 以甲醇-水 (70:30→90:10) 梯度洗脱, TLC 检查后合并得到 6 个亚组分 (P8-1~P8-6)。P8-1 经正相硅胶柱色谱分离, 以石油醚-乙酸乙酯 (92:8) 洗脱, 再经高效液相色谱制备, 甲醇-水 (70:30) 为流动相, 流速 1 mL·min⁻¹, 得到化合物 **2** (1.8 mg, *t_R* = 15.5 min) 和 **1** (3.2 mg, *t_R* = 19.4 min)。

2 计算 ECD 法

MMFF 分子力场和 DFT/TDDFT 计算分别使用 Spartan 14 软件和 Gaussian16 程序。采用 Spartan 14 软件在 MMFF 力场下进行构象搜索。用 Gaussian16 程

序 B3LYP/6-31G (d) 水平下进行优化和震动计算。对低能量构象使用 M06-2X/6-31G (d) 进行 TDDFT 计算。ECD 谱由 SpecDis 程序生成。在 298.15 K 下, 根据每个构象的相对自由能进行玻尔兹曼分布, 根据甲醇溶液中每个构象的玻尔兹曼分布权重, 从低能量构象生成计算光谱。

3 结构鉴定

化合物 **1** 白色粉末, 易溶于氯仿, [α]_D²⁰ -15.5 (c 0.04, MeOH); HR-ESI-MS [M+H]⁺ *m/z* 317.210 9 (计算值 317.211 7), 分子式为 C₂₀H₂₈O₃; UV (MeOH) λ_{\max} (log ϵ): 236 (2.50) nm; ECD (MeOH)/nm: 216 ($\Delta\epsilon$ -2.42)、239 ($\Delta\epsilon$ 17.00)、295 ($\Delta\epsilon$ -2.38)。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) 和 ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) 数据见表 1。

化合物 **2** 白色粉末, 易溶于氯仿, [α]_D²⁰ -26.8 (c 0.04, MeOH); HR-ESI-MS [M+H]⁺ *m/z* 319.229 1 (计算值 319.227 3), 分子式为 C₂₀H₃₀O₃; UV (MeOH) λ_{\max} (log ϵ): 235 (2.74) nm; ECD (MeOH)/nm: 216 ($\Delta\epsilon$ -5.68)、238 ($\Delta\epsilon$ 18.48)。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ_{H} : 6.62 (1H, s, H-15), 3.73 (1H, d, *J* = 10.9 Hz, H-19a), 3.45 (1H, d, *J* = 10.9 Hz, H-19b), 2.93 (1H, m, H-13), 2.14 (1H, d, *J* = 10.6 Hz, H-14a), 1.86 (1H, dt, *J* = 13.0, 3.6 Hz, H-1a), 1.78 (1H, dt, *J* = 14.1, 3.6 Hz, H-3a), 1.67 (1H, m, H-7a), 1.58 (1H, m, H-2a), 1.57 (1H, m, H-5), 1.54~1.66 (4H, m, H-11, H-12), 1.47 (1H, dd, *J* = 10.7, 5.1 Hz, H-14b), 1.43 (1H, dq, *J* = 14.1, 3.5 Hz, H-2b), 1.30 (1H, m, H-7b), 1.08 (1H, d, *J* = 7.4 Hz, H-9), 1.05 (3H, s, H-20), 0.97 (3H, s, H-18), 0.95 (1H, m, H-3b), 0.80 (1H, td, *J* = 13.0, 3.7 Hz, H-1b); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ_{C} : 169.5 (C-17), 156.1 (C-15), 137.5 (C-16), 65.6 (C-19), 56.5 (C-5), 50.8 (C-8), 47.0 (C-9), 43.2 (C-14), 40.6 (C-1, C-13), 39.8 (C-10), 38.8 (C-4, C-7), 35.7 (C-3), 27.2 (C-18), 25.5 (C-12), 19.2 (C-6), 18.6 (C-11), 18.3 (C-2, C-20)。以上数据与文献^[15]报道的 19 α -羟基-对映-贝壳杉烷-15-烯-17-酸基本一致, 但是 ECD 实验及计算数

据与文献报道不同, 所以化合物**2**鉴定为(4*R*,5*S*,8*S*,9*S*,10*S*,13*R*)-19-羟基-对映-贝壳杉-15-烯-17-酸。

作者贡献: 周文婷负责分离纯化、谱图解析及文章的整理; 龚志伟通讯作者, 负责实验设计及稿件修改。

利益冲突: 作者声明不存在利益冲突。

References

- [1] Wu DL. Musaceae Zingiberaceae Cannaceae, Flora Reipublicae Popularis Sinicae (中国植物志) [M]. Beijing: Science Press, 1981: 155-157.
- [2] Huang GT, Ouyang DM, Xiang QB, et al. Studies on classification for cultivars of *Canna* L. [J]. J Nanjing Forest Univ Nat Sci (南京林业大学学报·自然科学版), 2005, 29: 20-24.
- [3] Tang XY, Liu J, Zhang ZH, et al. Studies on the chemical constituents of *Canna indica* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 1995, 26: 107.
- [4] Srivastava J, Vankar P. Methylated anthocyanidin glycosides from flowers of *Canna indica* [J]. Carbohydr Res, 2010, 345: 2023-2029.
- [5] Anh L, Hieu N, Trang D, et al. Cannadicas A and B: two new oligosaccharide esters from the roots of *Canna indica* L. [J]. Nat Prod Res, 2021. DOI: 10.1080/14786419.2020.1869232.
- [6] Anh L, Hieu N, Trang D, et al. Two new acylated sucroses from the roots of *Canna indica* L. and their antioxidant activity [J]. Nat Prod Commun, 2021, 16: 1-5.
- [7] Chen HJ, Chen CN, Sung ML, et al. *Canna indica* L. attenuates high-glucose- and lipopolysaccharide-induced inflammatory mediators in monocyte/macrophage [J]. J Ethnopharmacol, 2013, 148: 317-321.
- [8] Zhou WT, Ye L, Gong ZW. Chemical constituents from roots of *Canna generalis* [J]. J Trop Subtrop Bot (热带亚热带植物学报), 2018, 26: 556-560.
- [9] Mahmoud T, El-Maadawy W, Kandil Z, et al. *Canna x generalis* L.H. Bailey rhizome extract ameliorates dextran sulfate sodium-induced colitis via modulating intestinal mucosal dysfunction, oxidative stress, inflammation, and TLR4/NF- κ B and NLRP3 inflammasome pathways [J]. J Ethnopharmacol, 2021, 269: 113670.
- [10] Li ZL, Chen K, Pan DJ, et al. Studies on the novel diterpenoid constituents of TU-JIN-PI IV. Isolation and identification of pseudolaric acid D and pseudolaric acid E [J]. Acta Chim Sin (化学学报), 1989, 47: 258-261.
- [11] Cai TZ, Qi W, Yang LM, et al. Chemical constituents of *Pseudolarix kaempferi* Gord [J]. J Chin Pharm Sci, 2012, 21: 428-435.
- [12] Garcez F, Garcez W, da Silva A, et al. Terpenoid constituents from leaves of *Guarea kunthiana* [J]. J Braz Chem Soc, 2004, 15: 767-772.
- [13] Grande M, Mancheño B, Sanchez M. Elasclepiol and elasclepic acid, beyerane diterpenoids from *Elaeoselinum asclepium* [J]. Phytochemistry, 1989, 28: 1955-1958.
- [14] Tanaka N, Ooba N, Duan HQ, et al. Kaurane and abietane diterpenoids from *Tripterygium doianum* (Celastraceae) [J]. Phytochemistry, 2004, 65: 2071-2076.
- [15] Wang WM, Zhao M, Zhang SJ, et al. Diterpenoid compounds in ethyl acetate extract of corn stigma, extraction method and application: China, CN 112110819 A [P]. 2020-12-22.