

乳香中一个新的甘遂烷型三萜

冯亚美¹, 张强², 尹立敏¹, 孙隆儒^{1*}

(1. 山东大学药学院, 山东 济南 250012; 2. 西北农林科技大学化学与药学院, 陕西 咸阳 712100)

摘要: 为研究乳香的化学成分, 本文采用硅胶柱色谱和高效液相色谱从乳香95%乙醇浸膏中分离得到2个化合物, 通过IR、UV、NMR和HR-ESI-MS等方法对其进行结构解析, 并借助ECD计算确定其绝对构型, 分别是: 7 α -羟基-3,11-二羰基-甘遂-8,24-二烯-21-酸 (**1**) 和21 β -羟基-3-乙酰基-11-羰基- β -乳香酸 (**2**), 其中化合物**1**是新化合物, 化合物**2**为首次采用ECD计算确定其绝对构型的已知化合物。

关键词: 乳香; 四环三萜; 7 α -羟基-3, 11-二羰基-甘遂-8, 24-二烯-21-酸

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2022)05-1444-04

A new tirucallane-type triterpene from the gum resin of *Boswellia carterii*

FENG Ya-mei¹, ZHANG Qiang², YIN Li-min¹, SUN Long-ru^{1*}

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Shandong University, Jinan 250012, China;

2. College of Chemistry & Pharmacy, Northwest A&F University, Xianyang 712100, China)

Abstract: Two compounds were isolated from 95% ethanol extract of the gum resin of *Boswellia carterii* by silica gel column chromatography (CC) and high-performance liquid chromatography (HPLC). Their structures were identified with IR, UV, NMR and HR-ESI-MS spectroscopic data as 7 α -hydroxy-3,11-dioxo-tirucalla-8,24-dien-21-oic acid (**1**) and 21 β -hydroxy-3-acetyl-11-keto- β -boswellic acid (**2**). In addition, their absolute configurations were also identified by ECD calculations. Among them, compound **1** is a new compound and the absolute configuration of compound **2** is confirmed by ECD calculation for the first time.

Key words: *Boswellia carterii*; tirucallane-type triterpene; 7 α -hydroxy-3,11-dioxo-tirucalla-8,24-dien-21-oic acid

乳香是橄榄科 (Burseraceae) 植物卡氏乳香树 (*Boswellia carterii* Birdw.) 和齿叶乳香树 (*Boswellia serrate*.) 的皮部渗出的胶状树脂, 主产于索马里、埃塞俄比亚等地。乳香为传统中药, 临床上常用于治疗风湿和类风湿性关节炎^[1,2]。乳香的化学成分主要是萜类, 包括五环三萜、四环三萜、二萜和单萜类化合物^[3,4]。此外, 还含有挥发油、有机酸和多糖类化

物^[5,6]。其中, 3-乙酰基-11-羰基- β -乳香酸 (AKBA) 是乳香中五环三萜类的代表性化合物, 为目前许多学者的研究热点^[7,8]。本实验借助硅胶柱色谱、制备薄层色谱和高效液相色谱, 对乳香中的化学成分进行分离和结构鉴定, 得到2个化合物 (图1), 分别是: 7 α -羟基-3, 11-二羰基-甘遂-8, 24-二烯-21-酸 (**1**) 和21 β -羟基-3-乙酰基-11-羰基- β -乳香酸 (**2**), 其中化合物**1**是新化合物, 化合物**2**为首次采用ECD计算确定其绝对构型的已知化合物。

结果与讨论

化合物**1**, 白色无定形粉末。根据其HR-ESI-MS

收稿日期: 2021-11-15; 修回日期: 2021-12-28.

基金项目: 山东省自然科学基金资助项目 (ZR2019MH088).

*通讯作者 Tel: 86-531-88382012, Fax: 86-531-88382548,

E-mail: sunlr@sdu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2021-1633

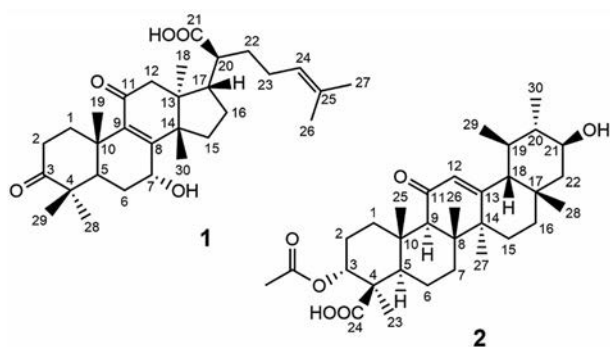


Figure 1 Structures of compounds 1-2

m/z : 519.289 1 $[M+Cl]^-$ ($C_{30}H_{44}O_5Cl$ 计算值为 519.279 9), 确定其分子式是 $C_{30}H_{44}O_5$ 。红外图谱 3 200~2 500 cm^{-1} 的振动吸收峰表明有羧基, 3 427、1 700 和 1 657 cm^{-1} 振动吸收表明有羟基、羰基和双键的存在。 1H NMR 谱中 7 组甲基质子信号 (表 1) 分别是: δ_H 1.00 (3H, s, CH_3 -18)、1.12 (3H, s, CH_3 -19)、1.68 (3H, s, CH_3 -26)、1.60 (3H, s, CH_3 -27)、1.13 (3H, s, CH_3 -28)、1.06 (3H, s, CH_3 -29) 和 1.07 (3H, s, CH_3 -30), 1 个双键烯质子信号 δ_H 5.11 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, H-24) 和 1 个连氧的次甲基质子信号 δ_H 4.30 (1H, brs, H-7), 在化学位移 δ_H 1.2~2.7 之间是多个重叠的亚甲基和次甲基质子信号。 ^{13}C NMR 图谱中有 30 个碳信号, 结合 DEPT 和 HSQC 图谱, 其含有 7 个甲基、8 个亚甲基、5 个次甲基、7 个季碳和 3 个羰基碳 (δ_C 180.1、 δ_C 202.6 和 δ_C 211.0), 故推断其为甘遂烷型四环三萜类化合物。

在 HMBC 谱中 (图 2), δ_H 1.12 (3H, s, CH_3 -19) 与 C-1、C-10、C-9 (δ_C 140.2) 和 C-5 相关; δ_H 1.07 (3H, s, CH_3 -30) 与 C-8 (δ_C 160.9)、C-13、C-14 和 C-15 相关; 且 H-12 与 C-11 (δ_C 202.6) 相关; 由此确定 C-8、C-9 和 C-11 为 α,β 不饱和酮片段。在 1H - 1H COSY 图谱上, H-5 与 H-6 相关, H-6 与 δ_H 4.30 (H-7) 相关, 故推测 OH 连在 C-7 位置上。NOESY 图谱中 (图 3) CH_3 -18 与 H-20 相关, H-5 与 CH_3 -28 相关; H-2a 与 CH_3 -19、 CH_3 -29 相关, CH_3 -19 与 CH_3 -30 相关, CH_3 -30 与 H-12a 和 H-17 相关, 且 H-7 与 CH_3 -30 存在相关信号, 表明 7-OH 为 α 构型, 故确定其相对结构为 7α -羟基-3,11-二羰基-甘遂-8,24-二烯-21-酸。此外, 该化合物的 CD 谱上, 在 250 nm 和 289 nm 显示正 Cotton 效应 (图 4), 而且其实验 ECD 曲线和计算 ECD 曲线相吻合, 进一步确定其绝对构型为 (5*R*,7*R*,10*S*,13*S*,14*S*,17*S*,20*S*)- 7α -羟基-3,11-二羰基-甘遂-8,24-二烯-21-酸。

化合物 2, 白色针状结晶 (甲醇), 熔点 164~166 $^{\circ}C$, $[\alpha]_D^{20}$: +47.1 (c 0.5, CH_3OH)。根据其 HR-ESI-MS m/z : 527.337 7 $[M-H]^-$ ($C_{32}H_{47}O_6$ 计算值为 527.337 2),

Table 1 1H NMR (400 MHz in CD_3OD) and ^{13}C NMR (100 MHz in CD_3OD) spectroscopic data of compound 1

No.	δ_H , J in Hz	δ_C
1a	1.62 m	35.3
1b	2.58 m	
2a	2.43 m	35.1
2b	2.65 m	
3		211.0
4		47.6
5	2.36 m	45.4
6a	1.28 m	30.5
6b	1.72 m	
7	4.30 br s	65.1
8		160.9
9		140.2
10		38.6
11		202.6
12a	2.23 d (18.4)	50.1
12b	2.55 d (18.4)	
13		47.6
14		52.0
15a	1.47 m	30.1
15b	2.48 m	
16a	1.47 m	27.3
16b	2.08 m	
17	2.24 m	48.2
18	1.00 s	18.1
19	1.12 s	18.6
20	2.33 m	45.4
21		180.1
22a	1.56 m	33.5
22b	1.56 m	
23	1.97 m	26.9
24	5.11 t (7.2)	124.7
25		133.1
26	1.68 s	25.8
27	1.60 s	17.7
28	1.13 s	28.1
29	1.06 s	21.1
30	1.07 s	25.9

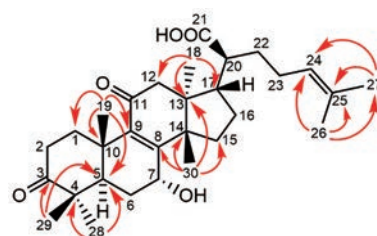


Figure 2 The key HMBC correlations of compound 1

确定其分子式是 $C_{32}H_{48}O_6$ 。 1H NMR 图谱显示 8 个甲基质子信号和 1 个双键烯质子信号 δ_H 5.55 (1H, s, H-12), 2 个连氧的次甲基质子信号 δ_H 5.31 (1H, brs, H-3) 和 δ_H 3.41 (1H, m, H-21), 碳谱上对应的碳化学位移分别为 73.1 和 78.3。 ^{13}C NMR 图谱显示有 32 个碳信号, DEPT 和 HSQC 图谱显示, 该化合物结构中含有 8 个甲基、7 个亚甲基、8 个次甲基、6 个季碳和 3 个羰基

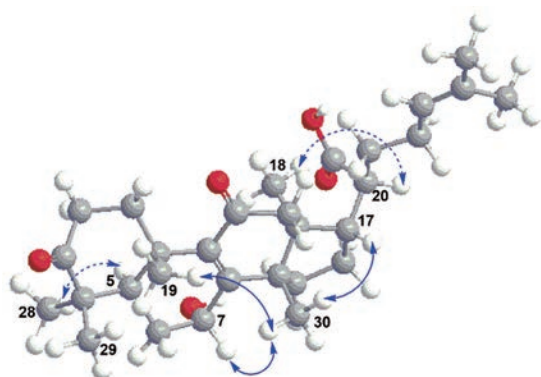


Figure 3 The key NOESY correlations of compound 1

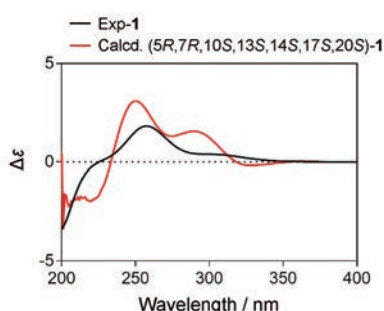


Figure 4 Experimental and calculated ECD spectra for compound 1

碳 (δ_c 170.2、 δ_c 179.6 和 δ_c 196.6)。将其 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据与文献^[9,10]数据比较,结合 2D NMR 图谱分析,在 HMBC 图谱上, δ_H 0.98 (3H, s, CH_3 -30) 与 C-21 (δ_c 78.3)、C-19 和 C-20 相关,表明羟基连在 C-21 位;在 NOESY 图谱上, H-21 与 H-30 存在 NOE 相关信号,表明 21-OH 是 β 构型,故确定其为 21 β -羟基-3-乙酰基-11-羰基- β -乳香酸。此外,为进一步确定其绝对构型,测定了该化合物的 CD 图谱,其 CD 谱上 250 nm 处峰为正 Cotton 效应,且实验 ECD 曲线和计算 ECD 曲线吻合,故确定其绝对构型为 (3R,4R,5R,8R,9R,10S,14S,17S,18R,19R,20S,21R)-21 β -羟基-3-乙酰基-11-羰基- β -乳香酸 (图 5)。

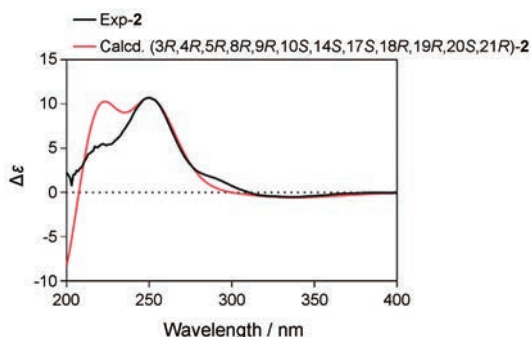


Figure 5 Experimental and calculated ECD spectra for compound 2

实验部分

旋转蒸发仪 (日本 EYELAN-1000); RY-1G 型显微熔点测定仪 (天津天光光学仪器有限公司); MCP 200 型旋光测定仪 (奥地利 Anton Paar); Nicolet iN10 型显微红外光谱仪 (德国 Thermo Fisher 公司); LTQ-Orbitrap XL 型质谱仪 (德国 Thermo Fisher 公司); Bruker Avance AVIII-400 核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); Agilent 1200 型高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司)。柱色谱硅胶 (100~200 目和 200~300 目) 和薄层色谱硅胶 GF₂₅₄ (青岛海洋化工厂); 柱色谱所用石油醚 (PE)、乙酸乙酯 (EtOAc) 和二氯甲烷 (CH_2Cl_2) 均为分析纯, 购于天津市富宇精细化工有限公司; HPLC 中使用的乙腈 (CH_3CN) 均为色谱级别, 纯净水由杭州娃哈哈公司生产。

乳香于 2019 年 3 月购自购于安徽亳州药材市场, 经山东大学温学森教授鉴定为橄榄科植物卡氏乳香树 (*Boswellia carterii* Birdw.) 的皮部渗出的胶状树脂, 保存在山东大学药学院天然药物化学研究所, 样品编号为 2019003。

1 提取分离

乳香 4.50 kg, 粉碎后用 95% 乙醇提取 4 次, 每次 2 h, 合并提取液后, 减压回收溶剂得到浸膏 3.21 kg。取 1.97 kg 浸膏加乙酸乙酯溶解后用 1% NaOH 溶液萃取并调酸, 最后得到乳香总三萜酸类浸膏 660.45 g。取浸膏 50.00 g, 用 200~300 目硅胶柱色谱进行分离, 以石油醚-乙酸乙酯 (100:0, 99:1, 98:2, 97:3, 96:4, 95:5, 90:10, 80:20 和 50:50) 为洗脱剂进行分离, 得到 25 个组分 Fr.1~Fr.25。Fr.22 采用硅胶柱色谱, 以 PE-EtOAc 和 CH_2Cl_2 - CH_3OH 梯度洗脱后, 又分成 15 个亚组分 Fr.22-1~Fr.22-15。Fr.22-9 经过两次 HPLC 纯化 (流动相依次为 90% CH_3CN 和 60% CH_3CN , 检测波长 247 nm; 流速 1.5 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 保留时间分别为 15 min 和 38 min) 得到化合物 1 (2.48 mg)。Fr.22-10 同样经过两次 HPLC 纯化 (流动相依次为 90% CH_3CN 和 60% CH_3CN , 检测波长 247 nm; 流速 1.5 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 保留时间分别为 14 min 和 34 min) 得到化合物 2 (2.84 mg)。

2 结构鉴定

化合物 1 白色无定形粉末, HR-ESI-MS m/z : 519.289 1 [$\text{M}+\text{Cl}$]⁻ ($\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_5\text{Cl}$ 计算值为 519.279 9), 483.311 4 [$\text{M}-\text{H}$]⁻ ($\text{C}_{30}\text{H}_{43}\text{O}_5$ 计算值为 483.311 0); $[\alpha]_D^{20}$ +26.4 (c 1.0, CH_3OH); UV (CH_3OH) λ_{max} ($\log \epsilon$): 250 (1.16) nm; ECD (c 1.05×10^{-3} $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, CH_3OH) λ_{max} ($\Delta\epsilon$): 250 (+21.12) nm, 289 (+10.66) nm; IR (KBr) ν_{max} : 3 427、2 934、1 700、1 657 cm^{-1} ; ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据见表 1。

化合物**2** 白色粉末; HR-ESI-MS m/z : 527.337 7 [M-H]⁻ (C₃₂H₄₇O₆ 计算值为 527.337 2); 熔点 164~166 °C; $[\alpha]_D^{20}$ +47.1 (c 0.5, CH₃OH); UV (CH₃OH) λ_{\max} (log ϵ): 247 (1.24) nm; ECD (c 1.05×10⁻³ mol·L⁻¹, CH₃OH) λ_{\max} ($\Delta\epsilon$): 250 (+ 10.72) nm; IR (KBr) ν_{\max} : 3 448、2 970、2 927、2 872、1 740、1 670、1 658、1 232 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 5.55 (1H, s, H-12), 5.31 (1H, brs, H-3), 3.41 (1H, m, H-21), 2.43 (1H, s, H-9), 2.09 (3H, CH₃COO), 1.37 (3H, s, CH₃-27), 1.24 (3H, s, CH₃-23), 1.20 (3H, s, CH₃-26), 1.15 (3H, s, CH₃-25), 1.00 (3H, s, CH₃-28), 0.98 (3H, s, CH₃-30), 0.80 (3H, d, J = 6.4 Hz, CH₃-29); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 34.6 (C-1), 23.5 (C-2), 73.1 (C-3), 46.4 (C-4), 50.4 (C-5), 20.4 (C-6), 32.7 (C-7), 45.2 (C-8), 60.4 (C-9), 37.4 (C-10), 196.6 (C-11), 130.7 (C-12), 164.1 (C-13), 44.4 (C-14), 26.7 (C-15), 26.7 (C-16), 39.1 (C-17), 58.5 (C-18), 39.0 (C-19), 37.3 (C-20), 78.3 (C-21), 38.9 (C-22), 23.8 (C-23), 179.6 (C-24), 13.3 (C-25), 18.3 (C-26), 20.6 (C-27), 21.3 (C-28), 17.3 (C-29), 24.9 (C-30), 20.8 (CH₃COO), 170.2 (CH₃COO)。根据以上数据, 结合参考文献^[9], 确定该化合物为 21 β -羟基-3-乙酰基-11-羰基- β -乳香酸。

作者贡献: 冯亚美主要负责乳香化学成分的提取分离、化合物的结构鉴定和文章的整理。张强主要负责化合物**1**和化合物**2**的ECD图谱计算, 确定其绝对构型。尹立敏协助完成化合物结构鉴定。通讯作者孙隆儒对稿件负总责。

利益冲突: 本文不存在利益冲突。

References

- [1] Banno N, Akihisa T, Yasukawa K, et al. Anti-inflammatory activities of the triterpene acids from the resin of *Boswellia carteri* [J]. J Ethnopharmacol, 2006, 107: 249-253.
- [2] Shen T, Lou HX. Bioactive constituents of Myrrh and Frankincense, two simultaneously prescribed gum resins in Chinese traditional medicine [J]. Chem Biodivers, 2008, 5: 540-553.
- [3] Verhoff M, Seitz S, Paul M, et al. Tetra- and pentacyclic triterpene acids from the ancient anti-inflammatory remedy Frankincense as inhibitors of microsomal prostaglandin E₂ synthase-1 [J]. J Nat Prod, 2014, 77: 1445-1451.
- [4] Sun XW, Geng YL, Wang X, et al. Cembrane-type diterpenoids from the gum resin of *Boswellia carterii* and their biological activities [J]. RSC Adv, 2020, 10: 746-755.
- [5] Hosain NA, Ghosh R, Bryant DL, et al. Isolation, structure elucidation, and immunostimulatory activity of polysaccharide fractions from *Boswellia carterii* frankincense resin [J]. Int J Biol Macromol, 2019, 133: 76-85.
- [6] Mertens M, Buettner A, Kirchoff E. The volatile constituents of frankincense—a review [J]. Flav Fragr J, 2010, 24: 279-300.
- [7] Sun Y, Liu D, Xi RG, et al. Microbial transformation of acetyl-11-keto- β -boswellic acid and their inhibitory activity on LPS-induced NO production [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2013, 23: 1338-1342.
- [8] Lv MH, Zhuang XB, Zhang Q, et al. Acetyl-11-keto- β -boswellic acid enhances the cisplatin sensitivity of non-small cell lung cancer cells through cell cycle arrest, apoptosis induction, and autophagy suppression via p21-dependent signaling pathway [J]. Cell Biol Toxicol, 2021, 37: 209-228.
- [9] Yu JQ, Geng YL, Wang DJ, et al. Terpenes from the gum resin of *Boswellia carterii* and their NO inhibitory activities [J]. Phytochem Lett, 2018, 28: 59-63.
- [10] Wang C, Dong PP, Zhang LY, et al. Regio- and stereo-selective oxidation of β -boswellic acids transformed by filamentous fungi [J]. RSC Adv, 2015, 5: 12717-12725.

[1] Banno N, Akihisa T, Yasukawa K, et al. Anti-inflammatory