

臭椿根皮中 1 个新的达玛烷型三萜

王乐飞¹, 赵 军², 唐文照^{1*}, 王晓静¹

1. 山东省医学科学院药物研究所 山东省罕见病重点实验室, 山东 济南 250062

2. 山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250011

摘要: 目的 研究臭椿 *Ailanthus altissima* 根皮的化学成分。方法 运用多种柱色谱技术进行分离纯化, 根据理化性质与核磁数据进行结构鉴定; 采用琼脂平板法测定化合物的抑菌活性。结果 从臭椿根皮的乙醇提取物中分离得到 1 个达玛烷型三萜, 结构鉴定为 20(R)-24, 25-三羟基达玛烷-3-酮(**1**), 其抑制大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的 IC₅₀ 值分别为 48.2 和 61.3 μg/mL。结论 化合物 **1** 为 1 个新化合物, 命名为臭椿萜酮, 具有较弱的抑菌活性。

关键词: 臭椿; 达玛烷型三萜; 20(R)-24, 25-三羟基达玛烷-3-酮; 抑菌; 臭椿萜酮

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)02-0161-03

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.02.003

A new dammatane-type triterpene from root barks of *Ailanthus altissima*

WANG Le-fei¹, ZHAO Jun², TANG Wen-zhao¹, WANG Xiao-jing¹

1. Key Laboratory for Rare Disease of Shandong Province, Institute of Materia Medica, Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250062, China

2. Affiliated Hospital, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250011, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents from the root barks of *Ailanthus altissima*. **Methods** One compound was isolated and purified by column chromatography and its structure was identified on the basis of spectral analyses. Its antibacterial activity was measured by agar pour plate method. **Results** The structure was identified as 20(R)-24, 25-trihydroxy-dammaran-3-one and the IC₅₀ values for *Escherichia coli* AIA 2.16 and *Staphylococcus aureus* 209 were 48.2 and 61.3 μg/mL. **Conclusion** This compound is a new dammarane-type triterpene named ailanthriterpenone, which shows a weak antibacterial activity.

Key words: *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle; dammatane-type triterpene; 20(R)-24, 25-trihydroxy-dammaran-3-one; antibacteria ailanthriterpenone

臭椿 *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle 为苦木科 (Simaroubaceae) 臭椿属植物, 落叶乔木, 是我国本土树种, 除黑龙江、吉林和海南外, 全国各地均有分布。臭椿的根皮和茎皮入药, 称为椿皮, 为《中国药典》2010 年版收载, 具有清热燥湿、止血和杀虫的功效。国内外在 20 世纪 60~80 年代对臭椿根皮和茎皮进行了大量的研究, 这与椿白皮的氯仿提取物显示出较强的抗疟疾活性有关。近些年对臭椿的研究又逐渐增多, 主要转移到抗癌、抗病毒等方面, 并且分离得到一些新的化学成分作为活性研究的物质基础。研究证明, 臭椿发挥其抗疟疾、抗癌、抗病毒等生物活性的物质基础主要是苦木苦味素类

化合物^[1-2]。此外, 从臭椿中还分离得到一些三萜和甾体化合物, 有的具有较好的抗菌活性^[3]。为了系统地阐明臭椿的活性成分, 本课题组分别对臭椿花、果实 (凤眼草)、根皮和茎皮 (椿白皮) 进行了化学成分研究, 得到异香豆素类、苦木苦味素类、吲哚类生物碱、三萜类等不同类型的化合物, 其中异香豆素类化合物为首次从臭椿属植物中发现, 且仅从臭椿的花蕾中得到^[4-6]。在后续的研究中, 本实验从臭椿的根皮中分离得到 1 个新的达玛烷型三萜, 鉴定为 20(R)-24, 25-三羟基达玛烷-3-酮 [20(R)-24, 25-trihydroxy-dammaran-3-one, **1**], 命名为臭椿萜酮, 其对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌显示较弱的抑菌活性。

收稿日期: 2013-10-07

基金项目: 山东省自然科学基金资助项目 (ZR2012HM023)

作者简介: 王乐飞, 男, 硕士研究生, 研究方向为天然活性成分研究。

*通信作者 唐文照, 研究生导师。Tel: (0531)82919967 E-mail: twzsd@sina.com

1 仪器与材料

X-4 型显微熔点仪(上海精密仪器有限公司); NICOLET AVATAR-330 型红外光谱仪 (Thermo Electron 公司, 美国); Agilent 8453 型紫外分光光度计 (Agilent 公司, 美国); Bruker Acance 6002 型核磁共振仪 (德国 Bruker); Agilent Trap VL 型质谱仪 (Agilent 公司, 美国)。柱色谱用硅胶 (100~200、200~300 目), 薄层色谱硅胶 G、硅胶 GF₂₅₄、硅胶 H (400 目) 均为青岛海洋化工产, 所有试剂均为分析纯。

药材椿皮购自济南建联中药店, 产地山东, 批号 20090701, 并由山东省医学科学院药物研究所孙敏耀副主任药师鉴定为臭椿 *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle 的根皮。大肠杆菌 (*Escherichia coli* AIA 2.16) 和金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus* 209) 由山东大学医学院药理室惠赠。

2 提取与分离

干燥臭椿根皮 20 kg 粉碎, 用 95%乙醇加热回流提取 3 次, 浓缩, 醇提物加水混悬后依次用石油醚、氯仿、醋酸乙酯和正丁醇反复提取, 得氯仿提取物 400 g, 将氯仿提取物 (350 g) 经过硅胶柱色谱, 以氯仿-甲醇溶剂系统 (99:1、98:2、95:5、9:1、8:2) 梯度洗脱, 95:5 洗脱物 (18.2 g) 再次经硅胶柱色谱, 环己烷-醋酸乙酯 (20:1、10:1、5:1、3:1、1:1) 梯度洗脱, 10:1 比例溶剂分离得到化合物 **1** (18.2 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 无色针状结晶 (氯仿), mp 147 °C; $[\alpha]_D^{25} +40.0^\circ$ (c 1.0, CHCl₃); UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 280; IR 光谱中 3 374 cm⁻¹ 为一宽峰, 是多个羟基的伸缩振动吸收峰; 2 971 cm⁻¹ 和 2 930 cm⁻¹ 为甲基和亚甲基

的 C-H 伸缩振动吸收峰; 1 707 cm⁻¹ 是羰基伸缩振动吸收峰。HR-ESI-MS m/z : 499.123 5 (计算值 499.127 4 [M+Na]⁺), 推断相对分子质量为 476。

¹³C-NMR 谱中显示有 30 个碳信号, 再根据 ¹H-NMR 可以推出分子式为 C₃₀H₅₂O₄。DEPT 谱显示分子中含有 8 个 CH₃、10 个 CH₂、5 个 CH 和 7 个季碳。

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) 给出 8 个甲基质子信号 δ 0.91 (3H, s, 30-CH₃), 0.96 (3H, s, 19-CH₃), 1.01 (3H, s, 18-CH₃), 1.05 (3H, s, 28-CH₃), 1.09 (3H, s, 29-CH₃), 1.17 (3H, s, 21-CH₃), 1.19 (3H, s, 27-CH₃), 1.24 (3H, s, 26-CH₃), 1 个连氧碳上的氢信号 δ 3.40 (1H, t, $J = 10.2$ Hz, H-24), 1 个与羰基相邻的亚甲基的氢信号 2.38 (2H, m, H-2)。 ¹³C-NMR 谱显示 1 个羰基碳信号 δ 218.1 (C-3), 3 个连氧碳信号 δ 78.8 (C-25), 75.5 (C-20), 73.2 (C-24), 其他碳信号见表 1。对比 NMR 数据发现, 化合物 **1** 碳谱数据与 20(R)-羟基达玛烷-24-烯-3-酮 [20(R)-hydroxydammar-24-en-3-one] 相似^[7], 二者只有 C-17 侧链中氢和碳的化学位移有差异。在化合物 **1** 的碳谱中, C-24 与 C-25 位由 1 对烯碳信号转换成 2 个连氧碳信号, 侧链中其他的碳信号稍有差别 (表 1), 表明化合物 **1** 的 C-24 与 C-25 位都连接有羟基, 故推测该化合物为 C-20, 24, 25 位连接有 3 个羟基的达玛烷型三萜类化合物。化合物 **1** 的 HMBC 谱显示 26-CH₃ 和 27-CH₃ 都与 C-24、C-25 有远程相关, 21-CH₃ 与 C-17、C-20、C-22 有远程相关, H-24 与 C-22、C-23、C-25 有远程相关, 与推断结果一致。综合 HMBC (图 1) 和 HMQC 图谱分析, 对化合物 **1** 的 C、H 信号进行归属, 其结构鉴定为 20(R)-24, 25-三羟基达玛烷-3-酮 (图 1)。通过文献检索, 该化合物为新化合物, 命名为臭椿萜酮。

表 1 化合物 **1** 与 20(R)-羟基达玛烷-24-烯-3-酮的波谱数据

Table 1 ¹H-NMR and ¹³C-NMR data of compound **1** and 20(R)-hydroxydammar-24-en-3-one

碳位	化合物 1		20(R)-羟基达玛烷-24-烯-3-酮	
	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
1	39.8		39.8	
2	34.1	2.52 (2H, m)	34.0	
3	218.1		217.7	
4	47.4		47.3	
5	55.3		55.4	
6	19.6		19.6	
7	34.5		34.5	
8	40.2		40.3	
9	49.9		50.0	

续表 1

碳位	化合物 1		20(R)-羟基达玛烷-24-烯-3-酮	
	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
10	36.8		36.8	
11	22.0		22.0	
12	25.3		24.7	
13	42.6		42.4	
14	50.2		50.2	
15	31.1		31.1	
16	26.6		27.5	
17	50.1		49.9	
18	16.0	1.01 (3H, s)	15.9	0.96 (3H, s)
19	15.2	0.96 (3H, s)	15.2	0.90 (3H, s)
20	75.4		75.2	
21	24.8	1.17 (3H, s)	25.4	1.11 (3H, s)
22	36.9		40.5	
23	25.6		22.5	
24	73.1	3.40 (1H, t, $J = 10.2$ Hz)	124.7	5.08 (1H, brs)
25	78.8		131.4	
26	27.4	1.24 (3H, s)	25.6	1.65 (3H, s)
27	23.3	1.19 (3H, s)	17.6	1.59 (3H, s)
28	21.0	1.05 (3H, s)	20.9	1.00 (3H, s)
29	26.6	1.09 (3H, s)	26.7	1.04 (3H, s)
30	16.3	0.91 (3H, s)	16.3	0.84 (3H, s)

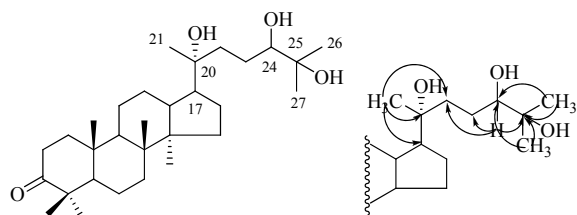


图 1 化合物 1 的结构与重要 HMBC 相关

Fig. 1 Structure and key HMBC correlations of compound 1

4 抑菌活性

参考文献报道^[8], 采用琼脂平板法测定化合物 1 对大肠杆菌 (*Escherichia coli* AIA 2.16) 和金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus* 209) 的抑制活性。测试样品用二甲基亚砜 (DMSO) 溶解, 用 2 倍稀释法将其稀释为 1.0~100 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液, 无菌条件下, 将 2.0 mL 菌悬液加入 10 mL 融化并冷却至约 60 $^{\circ}\text{C}$ 的 PDA 固体培养基中, 充分摇匀后倾倒入平板上, 待琼脂凝固后, 用灭菌的镊子将牛津杯 (0.8 cm $\times$ 1.0 cm) 轻放于凝固的平板上, 使间距相等。用移液枪吸取上述不同质量浓度的溶液 200 μL , 逐个加入牛津杯中。将加样完毕的培养皿置于 28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养约 12 h 后观察结果。活

性测试结果表明化合物 1 有弱的抑菌活性, 其 IC_{50} 值分别为 48.2 和 61.3 $\mu\text{g/mL}$ 。

参考文献

- [1] Guo Z, Vangapandu S, Sinderlar R W, *et al.* Biologically active quassinoids and their chemistry: Potential leads for drug design [J]. *Curr Med Chem*, 2005, 12: 173-190.
- [2] Jin M, Yook J, Lee E, *et al.* Anti-inflammatory activity of *Ailanthus altissima* in ovalbumin-induced lung inflammation. [J]. *Biol Pharm Bull*, 2006, 29(5): 884-888.
- [3] Zhao C, Shao J, Li X, *et al.* Antimicrobial constituents from fruits of *Ailanthus altissima* Swingle. [J]. *Arch Pharm Res*, 2005, 28(10): 1147-1151.
- [4] 杨成见, 唐文照, 王晓静, 等. 臭椿果实化学成分研究 [J]. *中成药*, 2010, 32(7): 1176-1179.
- [5] 王乐飞, 王晓静, 唐文照, 等. 椿皮化学成分研究 [J]. *食品与药品*, 2010, 12(5): 180-183.
- [6] 姜可芹, 唐文照, 王晓静. 臭椿花的化学成分研究 [J]. *中药材*, 2012, 35(10): 1605-1607.
- [7] Zhang Q F, Luo S D, Wang H Y. Dammarane triterpenoids from *Dysoxylum hongkongense* [J]. *Acta Bot Yunnan*, 1998, 20(3): 362-368.
- [8] 周德庆. 微生物学实验手册 [M]. 上海: 上海科学出版社, 1986.