

• 化学成分 •

云实种子的二萜类成分研究

向芳芳^{1,2}, 刘一涵^{1,2}, 王建霞^{1,2}, 郑杰^{1,2}, 田云刚^{1,2}, 魏华^{1,2,3*}

1. 吉首大学生物资源与环境科学学院, 湖南 吉首 416000
2. 吉首大学 植物资源保护与利用湖南省高校重点实验室, 湖南 吉首 416000
3. 国家中药现代化工程技术研究中心 土家医药分中心, 湖南 吉首 416000

摘要: 目的 研究云实 *Caesalpinia decapetala* 种子的化学成分。方法 采用硅胶、Sephadex LH-20 等柱色谱技术对云实种子的乙醇提取物进行前处理, 进而运用半制备高效液相色谱进行分离, 采用 NMR、MS 等波谱方法进行鉴定。结果 从云实种子的氯仿部位分离得到了 5 个卡山烷二萜类化合物, 根据 NMR、MS 等数据鉴定为云实二萜 F1 (1)、 α -caesalpin (2)、caesalmin F (3)、caesalmin C (4)、caesalmin E (5)。结论 化合物 1 为 1 个新化合物, 命名为云实二萜 F1; 化合物 4、5 为首次从该植物中分离得到。化合物 1、4 和 5 对人宫颈癌 HeLa 细胞均有一定的抑制作用, 其 IC₅₀ 分别为 64.3、42.9、81.2 $\mu\text{mol/L}$ 。

关键词: 豆科; 云实; 卡山烷型二萜; 云实二萜 F1; caesalmin C; caesalmin E

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)23-4836-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.23.002

Study on diterpenes from the seeds of *Caesalpinia decapetala*XIANG Fang-fang^{1,2}, LIU Yi-han^{1,2}, WANG Jian-xia^{1,2}, ZHENG Jie^{1,2}, TIAN Yun-gang^{1,2}, WEI Hua^{1,2,3*}

1. College of Biology and Environmental Science, Jishou University, Jishou 416000, China
2. Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Utilization, Jishou University, College of Hunan Province, Jishou 416000, China
3. Tujia Medicine Research Center, National Engineering Research Center for Modernization of Traditional Chinese Medicine, Jishou 416000, China

Abstract: **Objective** According to the folk application, the chemical constituents of the seeds of *Caesalpinia decapetala* were studied. **Methods** Silica gel and Sephadex LH-20 column chromatography techniques were used as pretreatments for ethanol extract of the seeds of *C. decapetala*, and then semi-preparative HPLC technique was used. Structures were identified by NMR and MS spectra. **Results** Five cassane-type diterpenes were isolated from the chloroform extract of *C. decapetala*. According to NMR and MS spectra data, the isolated compounds were identified as caesalmin F1 (1), α -caesalpin (2), caesalmin F (3), caesalmin C (4), and caesalmin E (5). **Conclusion** Compound 1 is a new compound, and compounds 1, 4 and 5 are isolated for the first time from *C. decapetala*. Compounds 1, 4 and 5 show moderate anti-tumor activity against HeLa cells with IC₅₀ values of 64.3, 42.9, and 81.2 $\mu\text{mol/L}$, respectively.

Keywords: Fabaceae; *Caesalpinia decapetala* (Roth) Alston; cassane-type diterpenes; caesalmin F1; caesalmin C; caesalmin E

云实 *Caesalpinia decapetala* (Roth) Alston 为豆科 (Fabaceae) 云实属 *Caesalpinia* Linn. 植物, 又名“药王子”“牛王刺”“朝天子”“倒挂刺”等^[1], 在我国南部地区常野生于山坡、岩旁、林边、河边或灌木丛中^[2], 具有清热除湿杀虫之功效, 民间常用

于治疗痢疾、疟疾、消渴、小儿疳积等疾病。目前只有少数学者从云实中报道了黄酮和甾体类化合物^[3-4], 而云实属其他种的种子中发现了含有大量结构新颖的卡山烷二萜类化合物, 具有抗肿瘤、抗炎、抗病毒、抗菌等活性^[5-11]。因此, 为了寻找该类活

收稿日期: 2017-08-26

基金项目: 国家自然科学基金青年项目 (81403088); 湖南省教育厅优秀青年项目 (16B213); 湖南省重点学科建设项目 (JSU0713)

作者简介 向芳芳 (1990—), 女, 在读硕士, 研究方向为中药化学。Tel: 18211001359 E-mail: 270188308@qq.com

*通信作者 魏华 (1981—), 男, 副教授, 硕士生导师。Tel: (0743)8564416 E-mail: weihua20@126.com

性成分,再次对云实种子进行化学成分研究,从其乙醇提取物中分离得到 5 个卡山烷二萜类化合物,分别鉴定为云实二萜 F1 (caesalmin F1, **1**)、 α -caesalpin (**2**)、caesalmin F (**3**)、caesalmin C (**4**)、caesalmin E (**5**)。化合物 **1** 为 1 个新化合物,命名为云实二萜 F1,结构见图 1;化合物 **4**、**5** 为首次从该植物中分离得到。

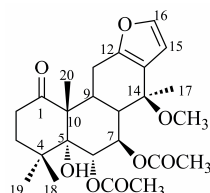


图 1 化合物 **1** 的结构

Fig. 1 Structure of compound **1**

1 仪器与材料

Bruker Avance III 600 型核磁共振波谱仪 (Bruker 公司);赛默飞世尔 LTQ-Obitrap XL 液质联用仪 (赛默飞世尔科技公司);BYLABUV-III 紫外灯 (北京炳洋科技有限公司);柱色谱用硅胶,薄层色谱用硅胶 G、H、GF₂₅₄ 均为青岛海洋化工有限公司, Sephadex LH-20 凝胶为 Pharmacia 公司产品, ODS 填料为日本三菱化学公司产品,常规试剂均为分析纯。

云实种子采于广西南宁市,经吉首大学生物资源与环境科学学院张代贵教授鉴定为云实 *Caesalpinia decapetala* (Roth) Alston 的干燥种子,标本 (JIU.WU20130912) 现保存于吉首大学。

2 提取与分离

云实种子 (1.0 kg) 干燥后粉碎过 80 目筛,药

材粉末加 10 倍量乙醇加热回流提取 3 次,每次 2 h,合并提取液,减压回收溶剂,浓缩后得总浸膏 62.0 g。云实种子总浸膏经硅胶 (100~200 目) 拌样后上硅胶柱,依次用石油醚、氯仿、醋酸乙酯、丙酮和甲醇洗脱,洗脱液减压浓缩至干。最终得到石油醚部位浸膏 12.6 g、氯仿部位浸膏 8.7 g、醋酸乙酯部位浸膏 6.3 g、丙酮部位浸膏 5.9 g、甲醇部位浸膏 17.4 g。

取氯仿部位浸膏 8.7 g 经硅胶柱色谱 (100~200 目) 分离,氯仿-甲醇 (1:0→0:1) 梯度洗脱,得到 9 个馏份 Fr. A~I。其中馏份 Fr. B (氯仿-甲醇 100:1) 再经硅胶柱色谱分离,石油醚-醋酸乙酯 (60:1→0:1) 梯度洗脱,合并相同组分后经 Sephadex LH-20 除去色素,进一步经高效液相色谱分离纯化,得到化合物 **1** (3.4 mg) 和 **2** (4.1 mg);馏份 Fr. C (氯仿-甲醇 80:1) 经硅胶柱色谱分离,石油醚-醋酸乙酯 (40:1→0:1) 梯度洗脱,合并相同组分后经 Sephadex LH-20 除去色素,进一步经半制备高效液相色谱分离纯化,得到化合物 **3** (6.8 mg)、**4** (5.3 mg) 和 **5** (7.0 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**:白色粉末 (氯仿), $[\alpha]_D^{20} +21.8^\circ$ (c 0.10, MeOH); HR-ESI-MS m/z : 485.2124 $[M+Na]^+$ (计算值 485.215 1), 确定分子式为 C₂₅H₃₄O₈, 不饱和度为 9。UV 末端吸收峰 λ_{max} (log ϵ): 218 (3.73) nm。IR 光谱显示结构中存在羟基 (3 451 cm⁻¹)、甲基 (2 936, 2 862 cm⁻¹)、羰键 (1 720 cm⁻¹)、双键 (1 644 cm⁻¹) 等特征信号峰。

¹H-NMR 谱 (表 1) 显示结构中存在 7 个甲基

表 1 化合物 **1** 的核磁数据 (600/150 MHz, CDCl₃)

Table 1 NMR data for compound **1** (600/150 MHz, CDCl₃)

碳位	1		碳位	1	
	δ_C , type	δ_H		δ_C , type	δ_H
1	211.8, C		14	78.5, C	
2	35.3, CH ₂	2.34 (m), 2.83 (m)	15	107.8, CH	6.21 (d, J = 1.8 Hz)
3	39.1, CH ₂	1.72 (m), 1.94 (m)	16	141.6, CH	7.22 (d, J = 1.8 Hz)
4	38.9, C		17	25.0, CH ₃	1.52 (s)
5	82.9, C		18	29.2, CH ₃	1.12 (s)
6	74.3, CH	5.51 (d, J = 8.4 Hz)	19	25.5, CH ₃	1.31 (s)
7	75.0, CH	5.62 (t, J = 8.4 Hz)	20	16.7, CH ₃	1.47 (s)
8	49.3, CH	2.36 (m)	OCOCH ₃ -6	21.2, CH ₃	2.00 (s)
9	36.8, CH	2.87 (m)	OCOCH ₃ -6	169.6, C	
10	55.1, C		OCOCH ₃ -7	21.6, CH ₃	2.07 (s)
11	25.5, CH ₂	1.28 (m), 2.58 (m)	OCOCH ₃ -7	170.7, C	
12	151.5, C		OCH ₃ -14	50.2, CH ₃	3.01 (s)
13	120.7, C				

信号, 包括4个角甲基 δ_{H} 1.12 (3H, s), 1.31 (3H, s), 1.47 (3H, s), 1.52 (3H, s); 2个乙酰甲基 δ_{H} 2.00 (3H, s), 2.07 (3H, s); 1个甲氧基 δ_{H} 3.01 (3H, s); 2个连氧次甲基信号 δ_{H} 5.51 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6), 5.62 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-7)。2个相互耦合的烯氢质子 δ_{H} 6.21 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-15), 7.22 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-16) 提示结构中存在稠合呋喃环结构单元。 ^{13}C -APT 谱(表1)共给出25个碳信号, 包括7个甲基碳(4个角甲基 δ_{C} 16.7, 25.0, 25.5, 29.2; 2个酰甲基 δ_{C} 21.2, 21.6; 1个甲氧基 δ_{C} 50.2), 3个亚甲基碳, 6个次甲基碳(包括2个连氧碳 δ_{C} 74.3、75.0; 2个烯碳 δ_{C} 107.8、141.6), 9个季碳(包括2个连氧碳 δ_{C} 78.5, 82.9; 2个烯碳 δ_{C} 151.5, 120.7; 2个酯碳 δ_{C} 169.6, 170.7; 1个羰基碳 δ_{C} 211.8)。上述碳谱数据说明化合物1为典型的二萜结构类型, 结合关键碳信号包括稠合呋喃环和乙酰基, 推断该二萜的基本结构为含有乙酰基取代的四环类稠合呋喃型卡山烷二萜^[12-14]。

上述数据与已知化合物 caesalmin F^[15]比较, 发现两者较为相似, 不同之处在于化合物1多了1个羰基信号而少了1个乙酰基信号, 推测化合物1为化合物 caesalmin F 经氧化脱掉1分子乙酸和1分子水所形成的衍生物。2D NMR 相关数据证实了上述推断(图2)。在 HMBC 谱中, δ_{H} 2.34 (H-2a), 2.83 (H-2b) 和 δ_{H} 1.47 (H₃-20) 均与羰基碳 δ_{C} 211.8 存在远程相关, 提示化合物 caesalmin F 的 C-1 位乙酰基被羰基取代形成化合物1, 化合物1中 C-2 和 C-10 的位学位移向低场移动, 进一步证实了上述分析。

该化合物的相对构型由 NOESY 谱确定。在 NOESY 谱中, H-7 与 H-9、H-7 与 H₃-17、H-6 与 H-8、H-8 与 H₃-20 分别存在增益, 说明 6-OAc、H-9 和 17-CH₃ 处于同一侧; 7-OAc、H-8 和 14-OCH₃ 处于同一侧。考虑到卡山烷类二萜为云实属植物的特征性成分, 已发现的此类二萜中 H-5、H-9 均为 α

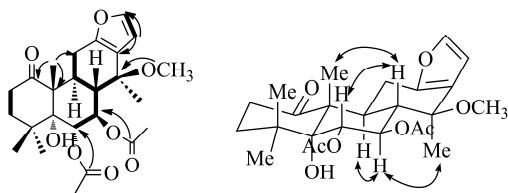


图2 化合物1的关键 HMBC (↷)、 ^1H - ^1H COSY (—) 和 NOESY (↘) 相关

Fig. 2 Key HMBC (↷), ^1H - ^1H COSY (—), and NOESY (↘) correlations of compound 1

构型, H-8、H₃-20 为 β 构型, 因此基于生物合成途径的考虑, 化合物1立体构型如图1所示。经检索, 化合物1为1个新化合物, 命名为云实二萜 F1。

化合物2: 无色固体, 易溶于氯仿、甲醇。ESI-MS m/z : 471 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 5.56 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6), 5.61 (1H, t, $J = 8.4$ Hz, H-7), 6.30 (1H, $J = 1.8$ Hz, H-15), 7.25 (1H, $J = 1.8$ Hz, H-16), 1.47 (3H, s, 17-CH₃), 1.09 (3H, s, 18-CH₃), 1.28 (3H, s, 19-CH₃), 1.53 (3H, s, 20-CH₃), 1.94 (3H, s, 6-OCOCH₃), 2.04 (3H, s, 7-OCOCH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 211.8 (C-1), 35.2 (C-2), 39.4 (C-3), 38.9 (C-4), 82.9 (C-5), 74.9 (C-6), 73.2 (C-7), 48.0 (C-8), 36.9 (C-9), 55.2 (C-10), 25.3 (C-11), 149.2 (C-12), 124.5 (C-13), 72.8 (C-14), 107.3 (C-15), 141.5 (C-16), 24.5 (C-17), 29.1 (C-18), 25.6 (C-19), 16.5 (C-20), 170.9 (6-OCOCH₃), 21.4 (7-OCOCH₃), 169.9 (7-OCOCH₃), 21.4 (7-OCOCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物2为 α -caesalpin。

化合物3: 无色粉末, 易溶于氯仿、甲醇。ESI-MS m/z : 529 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 4.85 (1H, s, H-1), 5.43 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6), 5.74 (1H, t, $J = 8.4$ Hz, H-7), 6.22 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-15), 7.23 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-16), 1.13 (3H, s, 18-CH₃), 1.15 (3H, s, 19-CH₃), 1.28 (3H, s, 20-CH₃), 2.05 (3H, s, 1-OCOCH₃), 1.98 (3H, s, 6-OCOCH₃), 2.08 (3H, s, 7-OCOCH₃), 3.00 (3H, s, 14-OCH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 73.4 (C-1), 22.8 (C-2), 32.4 (C-3), 38.6 (C-4), 79.3 (C-5), 75.5 (C-6), 75.9 (C-7), 39.0 (C-8), 35.7 (C-9), 45.1 (C-10), 22.2 (C-11), 149.9 (C-12), 122.5 (C-13), 78.2 (C-14), 108.1 (C-15), 141.9 (C-16), 25.0 (C-17), 30.7 (C-18), 25.3 (C-19), 17.5 (C-20), 170.9/20.2 (1-OCOCH₃), 171.3/21.4 (6-OCOCH₃), 171.2/20.8 (7-OCOCH₃), 50.2 (14-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物3为 caesalmin F。

化合物4: 白色粉末, 易溶于氯仿、甲醇。ESI-MS m/z : 497 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 4.89 (1H, brs, H-1), 5.59 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6), 5.59 (1H, t, $J = 8.4$ Hz, H-7), 6.41 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-15), 7.23 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-16), 4.95 (1H, s, H-17 α), 5.09 (1H, s, H-17 β), 1.16 (3H, s, 18-CH₃), 1.16 (3H, s, 19-CH₃), 1.31 (3H, s, 20-CH₃), 2.07 (3H, s, 1-OCOCH₃), 1.97 (3H, s, 6-OCOCH₃), 2.10 (3H, s,

7-OCOCH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 75.0 (C-1), 22.3 (C-2), 32.6 (C-3), 38.8 (C-4), 79.5 (C-5), 75.9 (C-6), 75.5 (C-7), 41.9 (C-8), 38.3 (C-9), 44.8 (C-10), 23.5 (C-11), 150.8 (C-12), 120.1 (C-13), 138.8 (C-14), 106.8 (C-15), 142.2 (C-16), 105.8 (C-17), 31.0 (C-18), 25.3 (C-19), 17.3 (C-20), 169.2/21.5 (1-OCOCH₃), 171.5/21.6 (6-OCOCH₃), 171.0/21.6 (7-OCOCH₃)。以上数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 **4** 为 caesalmin C。

化合物 **5**: 无色粉末, 易溶于氯仿、甲醇。ESI-MS *m/z*: 515 [M+Na]⁺。 ¹H-NMR (600 MHz CDCl₃) δ: 4.85 (1H, brs, H-1), 5.53 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-6), 5.65 (1H, t, *J* = 8.4 Hz, H-7), 6.36 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-15), 7.22 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-16), 1.14 (3H, s, 18-CH₃), 1.15 (3H, s, 19-CH₃), 1.26 (3H, s, 20-CH₃), 2.07 (3H, s, 1-OCOCH₃), 1.96 (3H, s, 6-OCOCH₃), 2.08 (3H, s, 7-OCOCH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 73.8 (C-1), 22.6 (C-2), 32.2 (C-3), 38.5 (C-4), 79.1 (C-5), 75.1 (C-6), 75.8 (C-7), 47.6 (C-8), 35.8 (C-9), 44.6 (C-10), 22.0 (C-11), 147.5 (C-12), 125.5 (C-13), 72.5 (C-14), 107.4 (C-15), 141.8 (C-16), 30.5 (C-17), 24.9 (C-18), 24.9 (C-19), 17.2 (C-20), 169.0/21.4 (1-OCOCH₃), 170.4/21.5 (6-OCOCH₃), 170.7/21.3 (7-OCOCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 **5** 为 caesalmin E。

4 抗肿瘤活性筛选

采用 MTT 比色法, 对化合物 **1**~**5** 进行抗肿瘤活性筛选。选取人宫颈癌 HeLa 细胞和乳腺癌 MCF-7 细胞, DMEM 培养基稀释后, 以 6×10⁴ 个/mL 的密度接种于 96 孔板, 每孔 100 μL, 培养箱中正常培养 24 h 后, 加入受试药物, 紫杉醇为阳性对照。结果表明, 化合物 **1**、**4** 和 **5** 对 HeLa 细胞均有一定的抑制作用, 其半数抑制浓度 (IC₅₀) 分别为 64.3、42.9、81.2 μmol/L; 所有受试样品对 MCF-7 细胞均无明显作用, IC₅₀>100 μmol/L。

参考文献

- [1] 魏小华. 云实化学成分研究进展 [J]. 广州化工, 2012, 40(6): 25-26.
- [2] 南京中医药大学. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2005.
- [3] 张 琼, 刘雪婷, 梁敬钰, 等. 云实的化学成分 [J]. 中国天然药物, 2008, 6(3): 168-171.
- [4] 李茂星, 贾正平, 张承忠, 等. 云实化学成分研究(II) [J]. 中草药, 2004, 25(7): 794-795.
- [5] Kalauni S K, Awale S, Tezuka Y, *et al.* Antimalarial activity of cassane- and norcassane-type diterpenes from *Caesalpinia crista* and their structure-activity relationship [J]. *Biol Pharm Bull*, 2006, 29(5): 1050-1052.
- [6] Dickson R A, Houghton P J, Hylands P J. Antibacterial and antioxidant cassane diterpenoids from *Caesalpinia benthamiana* [J]. *Phytochemistry*, 2007, 68(10): 1436-1441.
- [7] Jabbar A, Zaman M A, Iqbal Z, *et al.* Anthelmintic activity of *Chenopodium album* (L) and *Caesalpinia crista* (L) against trichostrongylid nematodes of sheep [J]. *J Ethnopharmacol*, 2007, 114(1): 86-91.
- [8] Hou Y, Cao S, Brodie P, *et al.* Antiproliferative cassane diterpenoids of *Cordyla madagascariensis* ssp. *madagascariensis* from the Madagascar rainforest [J]. *J Nat Prod*, 2008, 71(1): 150-152.
- [9] Yadav P P, Maurya R, Sarkar J, *et al.* Cassane diterpenes from *Caesalpinia bonduc* [J]. *Phytochemistry*, 2009, 70(2): 256-261.
- [10] Nguyen H X, Nguyen N T, Dang P H, *et al.* Cassane diterpenes from the seed kernels of *Caesalpinia sappan* [J]. *Phytochemistry*, 2016, 122(15): 286-293.
- [11] Zhang J, Abdel-Mageed W M, Liu M, *et al.* Caesalpinins A-D, new cassane diterpenes with unprecedented N bridge from *Caesalpinia sappan* [J]. *Org Lett*, 2013, 15(18): 4726-4729.
- [12] Jiang R W, But P H, Ma S C, *et al.* Structure and antiviral properties of macrocaesalmin, a novel cassane furanoditerpenoid lactone from the seeds of *Caesalpinia minax* Hance [J]. *Tetrahedron Lett*, 2002, 43(13): 2415-2418.
- [13] Jiang R W, But P P, Ma S C, *et al.* Furanoditerpenoid lactones from the seeds of *Caesalpinia minax* Hance [J]. *Phytochemistry*, 2001, 57(4): 517-521.
- [14] Dong R, Yuan J, Wu S, *et al.* Anti-inflammation furanoditerpenoids from *Caesalpinia minax* Hance [J]. *Phytochemistry*, 2015, 117: 325-331.
- [15] Jiang R W, Ma S C, And P H B, *et al.* New antiviral cassane furanoditerpenes from *Caesalpinia minax* [J]. *J Nat Prod*, 2001, 64(10): 1266-1272.
- [16] Peter S R, Tinto W F, Mclean S, *et al.* Complete ¹H and ¹³C NMR assignments of four caesalpin furanoditerpenes of *Caesalpinia bonducella* [J]. *Mag Res Chem*, 2015, 36(2): 124-127.