

• 化学成分 •

山楝中 1 个新的链状二萜

吴海峰¹, 张婷婷^{1,2}, 吴佳妮^{1,2}, 马国需¹, 张小坡^{1,3}, 杨峻山¹, 许旭东^{1*}

1. 中国医学科学院 北京协和医学院药用植物研究所, 中草药物质基础与资源利用教育部重点实验室, 北京 100193

2. 哈尔滨商业大学 生命科学与环境科学研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150076

3. 海南医学院药学院, 海南 海口 571101

摘要: 目的 研究山楝 *Aphanamixis polystachya* 茎皮的化学成分。方法 采用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20、ODS 柱色谱及高效液相制备色谱等方法进行分离纯化, 根据理化性质及波谱数据鉴定化合物的结构。结果 从山楝茎皮 95%乙醇提取物中分离得到 3 个链状二萜, 分别鉴定为 (2Z, 6E, 10E)-12, 14, 15-三羟基-3, 7, 11, 15-四甲基十六碳三烯酸甲酯 (**1**)、melidianolic acid A (**2**)、陵水暗罗素 H (**3**)。结论 化合物 **1** 为新化合物, 命名为山楝定; 化合物 **2** 为首次从山楝属植物中分离得到, 化合物 **3** 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 山楝; 链状二萜; 山楝定; melidianolic acid A; 陵水暗罗素 H

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)13-1816-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.13.002

A new linear diterpene from stem barks of *Aphanamixis polystachya*WU Hai-feng¹, ZHANG Ting-ting^{1,2}, WU Jia-ni^{1,2}, MA Guo-xu¹, ZHANG Xiao-po^{1,3}, YANG Jun-shan¹, XU Xu-dong¹

1. Key Laboratory of Bioactive Substances and Resources Utilization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, Institute of Medicinal Plant Development, Peking Union Medical College and Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100193, China

2. Research Center on Life Sciences and Environmental Sciences, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China

3. School of Pharmaceutical Science, Hainan Medical University, Haikou 571101, China

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents from the stem barks of *Aphanamixis polystachya*. **Methods** The constituents were isolated and purified by silica gel, Sephadex LH-20, ODS column chromatography, and preparative HPLC, and their structures were elucidated on the basis of their physicochemical properties and spectral data. **Results** Three diterpenes were obtained from the ethanol extract of the stem bark of *A. polystachya* and identified as (2Z, 6E, 10E)-methyl 12, 14, 15-trihydroxy-3, 7, 11, 15-tetramethylhexadeca-2, 6, 10-trienoate (**1**), melidianolic acid A (**2**), and nemoralisin H (**3**), respectively. **Conclusion** Compound **1** is a new linear diterpene named nemoralisin K, compound **2** is isolated from the plants of *Aphanamixis* Bl., and compound **3** is obtained from the species for the first time, respectively.

Key words: *Aphanamixis polystachya* (Wall.) R. N. Parker; linear diterpenes; aphanamidin; melidianolic acid A; nemoralisin H

山楝 *Aphanamixis polystachya* (Wall.) R. N. Parker 为楝科 (Meliaceae) 山楝属 *Aphanamixis* Bl. 的乔木, 生长在低海拔地区的杂木林中, 主要分布于广西、广东、海南等省^[1], 具有显著的抗肿瘤和抗菌活性^[2]。国内外学者从山楝中分离得到一些具有昆虫拒食活性的柠檬苦素^[3-8]和倍半萜类化合物^[9],

以及其他的一些次生代谢产物^[10-15]。本课题组从山楝茎皮的 95%乙醇提取物中分离得到一些新的二萜类化合物^[16-17], 进一步分离又得到 3 个链状二萜, 分别鉴定为 (2Z, 6E, 10E)-12, 14, 15-三羟基-3, 7, 11, 15-四甲基十六碳三烯酸甲酯 [(2Z, 6E, 10E)-methyl 12, 14, 15-trihydroxy-3, 7, 11, 15-tetramethyl-

收稿日期: 2014-05-21

基金项目: “重大新药创制”科技重大专项“十二五”计划(综合性新药研究开发技术大平台)(2012ZX09301-002-001-026); 中国博士后科学基金(2012M510361)

作者简介: 吴海峰(1979—), 男, 博士后, 助理研究员, 研究方向为天然药物化学。

*通信作者 许旭东, 男, 博士, 研究员, 博士生导师, 主要从事天然药物化学研究与新药研发。Tel: (010)57833296 E-mail: xdxu@imiplad.ac.cn

hexadeca-2, 6, 10-trienoate, **1**)、melidianolic acid A (**2**)、陵水暗罗素 H (nemoralisin H, **3**)。化合物 **1** 为未见文献报道的新化合物, 命名为山楝定 (aphanamidin); 化合物 **2** 为首次从该属植物中分离得到, 化合物 **3** 为首次从该植物中分离得到。

1 仪器与材料

Bruker AVIII 600 型核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司); LTQ-Orbitrap XL 质谱仪 (美国 Thermo Fisher 公司); Perkin-Elmer 341 旋光仪 (美国 Perkin-Elmer 公司); Shimadzu UV2550 紫外可见分光光度计 (日本岛津公司); JASCO J—815 圆二色光谱仪 (日本 JASCO 公司); FTIR—8400S 红外光谱仪 (日本岛津公司); LUMTECH 半制备型高效液相色谱仪 (德国 KNAUER 公司); ZORAX SB-phenyl 半制备色谱柱 (250 mm×10 mm, 5 μm) (美国 Agilent 公司); 薄层色谱用硅胶 GF₂₅₄ 和柱色谱用硅胶 (青岛海洋化工有限公司); Sephadex LH-20 凝胶为 Pharmacia 公司产品; 常规试剂均为分析纯。

山楝于 2013 年 8 月采于海南屯昌县, 由海南医学院药学院田建平教授鉴定为楝科山楝属植物山楝 *Aphanamixis polystachya* (Wall.) R. N. Parker。

2 提取与分离

山楝茎皮 3.0 kg, 粉碎, 用 10 倍量的 95%乙醇加热回流提取 3 次, 每次 2 h, 提取液减压回收溶剂后得浸膏 80.3 g, 分散于水中, 依次用石油醚 (2 L) 和氯仿 (2 L) 分别萃取 3 次, 回收溶剂后得到氯仿萃取物 35.7 g。氯仿萃取物经硅胶 (100~200 目) 柱色谱, 石油醚-醋酸乙酯 (100:0→0:100) 梯度洗脱, 合并相同组分, 得到 6 个流分 (Fr. A~F)。流分 Fr. D (1.7 g) 经硅胶柱色谱, 石油醚-丙酮 (50:1→0:100) 梯度洗脱, 再经半制备型高效液相色谱分离纯化得到化合物 **1** (2.3 mg); 流分 Fr. E (2.1 g) 经 Sephadex LH-20 柱色谱, 氯仿-甲醇 (1:1) 洗脱, 得到 3 个流分 (Fr. E1~E3)。Fr. E2 (175 mg) 经半制备型高效液相色谱分离纯化得到化合物 **2** (3.2 mg)。流分 Fr. F (1.9 g) 经过反相中压色谱, 甲醇-水 (50:50→0:100) 梯度洗脱, 得到 4 个流分 Fr. F1~F4。Fr. F3 (180 mg) 经半制备型高效液相色谱分离纯化, 得到化合物 **3** (4.5 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 无色油状物, 10%硫酸-乙醇溶液显紫红色。[α]_D²⁵ -26.0° (c 0.1, MeOH)。IR 光谱给出羰基 (3 407 cm⁻¹) 和酯羰基 (1 707 cm⁻¹) 特征吸收峰。

HR-ESI-MS *m/z*: 391.245 5 [M + Na]⁺ (C₂₁H₃₆O₅Na, 计算值 391.246 0), 从而确定分子式为 C₂₁H₃₆O₅。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) 谱 (表 1) 低场区给出 3 个烯氢信号 δ_H 5.68 (1H, s), 5.43 (1H, t, *J* = 6.6 Hz) 和 5.19 (1H, t, *J* = 6.6 Hz), 2 个连氧次甲基质子信号 δ_H 4.21 (1H, t, *J* = 6.6 Hz) 和 3.29 (1H, dd, *J* = 10.8, 1.2 Hz), 1 个甲氧基信号 δ 3.65 (3H, s); 高场区给出 5 个甲基单峰信号 δ_H 1.12 (3H, s), 1.15 (3H, s), 1.61 (3H, s), 1.64 (3H, s) 和 1.90 (3H, s)。¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) 谱中给出 21 个碳信号, 高场区给出 5 个甲基信号 δ_C 11.2, 16.3, 25.2, 25.6 和 25.9, 5 个亚甲基信号 δ_C 27.5, 27.9, 34.5, 37.1 和 40.6, 2 个连氧亚甲基信号 δ_C 78.2 和 78.3, 1 个连氧季碳信号 δ_C 73.6, 1 个甲氧基信号 δ_C 51.4。低场区给出 3 组烯碳信号 δ_C 162.4, 137.9, 136.9, 128.2, 125.0 和 116.9, 1 个羰基信号 δ_C 168.6。根据以上数据, 推测化合物 **1** 为无环链状二萜类化合物, 并与 melidianolic acid A (**2**) 具有相同的骨架。将 **1** 和 **2**

表 1 化合物 **1** 的 ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD)、¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) 数据和 HMBC 相关

Table 1 ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD), ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) data and HMBC correlations of compound **1**

碳位	δ _H	δ _C	HMBC (H→C)
1		168.6	
2	5.68 (1H, s)	116.9	C-1, 3, 20
3		162.4	
4	2.66 (2H, t, <i>J</i> = 7.8 Hz)	34.5	C-2, 3, 6
5	2.18 (2H, m)	27.5	C-3, 4, 6, 7
6	5.19 (1H, t, <i>J</i> = 6.6 Hz)	125.0	C-4, 5, 7, 8, 19
7		137.0	
8	2.03 (1H, m), 2.13 (1H, m)	40.6	C-6, 7, 9, 10, 19
9	2.03 (1H, m), 2.13 (1H, m)	27.9	C-7, 8, 10, 11, 18
10	5.43 (1H, t, <i>J</i> = 6.6 Hz)	128.2	C-8, 9, 11, 12, 18
11		137.9	
12	4.21 (1H, t, <i>J</i> = 6.6 Hz)	78.2	C-10, 11, 13, 14, 18
13	1.54 (1H, m), 1.79 (1H, m)	37.1	C-11, 12, 14, 15
14	3.29 (1H, dd, <i>J</i> = 10.8, 1.2 Hz)	78.3	C-12, 13, 15, 16, 17
15		73.6	
16	1.12 (3H, s)	25.2	C-14, 15, 17
17	1.15 (3H, s)	25.6	C-14, 15, 16
18	1.61 (3H, s)	11.2	C-10, 11, 12
19	1.64 (3H, s)	16.3	C-6, 7, 8
20	1.91 (3H, s)	25.9	C-2, 3, 4
OCH ₃	3.65 (3H, s)	51.4	C-1

的 NMR 数据比较发现, 化合物 **1** 除了比 **2** 多 1 个甲氧基外, 在碳谱中, C-10~13 及 C-18 数据相差较大, C-12 的化学位移由 **2** 中的 δ_{C} 36.6 向低场位移到 **1** 中的 δ_{C} 78.2; 而在氢谱中, C-12 位的亚甲基质子由 **2** 中的 δ_{H} 2.06 (1H, t, $J = 6.6$ Hz) 和 δ_{H} 2.25 (1H, m) 变为 **1** 中的次甲基质子 δ_{H} 4.21 (1H, t, $J = 6.6$ Hz), 化学位移和耦合常数的变化均提示化合物 **1** 结构中 C-12 位连有羟基。在 HMBC 谱 (图 1) 中, 甲氧基质子信号 δ_{H} 3.65 和 C-1 (δ_{C} 168.6) 存在远程相关, 而 C-12 上的质子信号与 C-10 (δ_{C} 128.2), C-11 (δ_{C} 137.9), C-13 (δ_{C} 37.1), C-14 (δ_{C} 78.3) 和 C-18 (δ_{C} 11.2) 存在远程相关, 从而确证了化合物 **1** 中的甲

氧基连在羰基上, 羟基位于 C-12。化合物 **1** 的双键构型是通过与 **2** 比较和 NOESY 相关确定的。在 NOESY 图谱 (图 1) 中, H-2 与 20-CH₃, H-6 与 H-8 以及 H-10 与 H-12 存在 NOE 效应, 从而可以确定 6 位和 10 位的双键为反式以及 2 位的双键为顺式。C-12 和 C-14 的绝对构型未能确定。结合 HSQC、HMBC、NOESY 谱图, 并参考文献报道^[18-20]确定化合物 **1** 为 (2Z, 6E, 10E)-12, 14, 15-三羟基-3, 7, 11, 15-四甲基十六碳三烯酸甲酯, 为新化合物, 命名为山楝定, 其 NMR 信号归属见表 1。

化合物 **2**: 无色油状物。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) 和 ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) 数据见表 2。

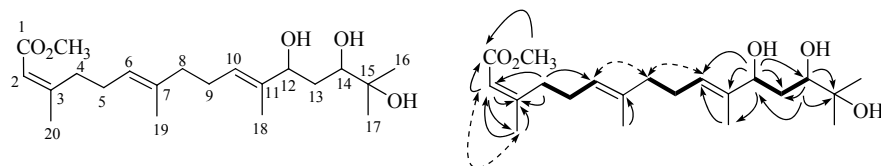


图 1 化合物 **1** 的结构及 ¹H-¹H COSY (—), HMBC (→) 和 NOESY (↔) 相关

Fig. 1 Structures and ¹H-¹H COSY (—), HMBC (→) and NOESY (↔) correlations of compound **1**

表 2 化合物 **2** 和 **3** 的 ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) 和 ¹³C-NMR 数据 (150 MHz, CD₃OD)

Table 2 ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) and ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) data of compounds **2** and **3**

碳位	2		3	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	170.3		168.2	
2	116.0	5.67 (1H, s)	116.7	5.79 (1H, s)
3	162.5		161.0	
4	33.2	2.65 (2H, t, $J = 7.8$ Hz)	36.0	2.35 (1H, dd, $J = 18.0, 4.8$ Hz) 2.43 (1H, dd, $J = 18.0, 12.0$ Hz)
5	26.3	2.18 (2H, m)	76.2	5.21 (1H, ddd, $J = 12.0, 8.4, 4.8$ Hz)
6	123.6	5.17 (1H, t, $J = 6.6$ Hz)	123.8	5.39 (1H, brd, $J = 8.4$ Hz)
7	135.2		144.0	
8	39.3	2.00 (1H, m), 2.09 (1H, m)	36.8	2.28 (1H, ddd, $J = 14.4, 11.4, 4.8$ Hz) 2.13 (1H, ddd, $J = 14.4, 9.6, 6.0$ Hz)
9	25.8	2.00 (1H, m), 2.09 (1H, m)	33.6	1.56 (1H, m), 1.68 (1H, m)
10	124.8	5.17 (1H, t, $J = 6.6$ Hz)	73.6	3.74 (1H, m)
11	134.6		43.8	2.78 (1H, q, $J = 7.2$ Hz)
12	36.6	2.08 (1H, m)	197.1	
13	29.7	2.19 (1H, m), 1.35 (1H, m), 1.71 (1H, m)	102.4	5.49 (1H, s)
14	78.1	3.23 (1H, brd, $J = 12.0$ Hz)	210.4	
15	73.4		90.0	
16	26.3	1.16 (3H, s)	23.3	1.36 (3H, s)
17	23.2	1.12 (3H, s)	23.2	1.36 (3H, s)
18	15.9	1.62 (3H, s)	14.5	1.24 (3H, d, $J = 7.2$ Hz)
19	15.9	1.62 (3H, s)	17.0	1.76 (3H, d, $J = 1.2$ Hz)
20	25.3	1.90 (3H, s)	23.2	2.02 (3H, s)

以上数据与文献报道基本一致^[20], 故鉴定化合物 2 为 melidianolic acid A。

化合物 3: 无色油状物。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) 和 ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) 数据见表 2。以上数据与文献报道基本一致^[21], 故鉴定化合物 3 为陵水暗罗素 H。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1997.
- [2] Chan L L, George S, Ahmad I, *et al.* Cytotoxicity effects of *Amoora rohituka* and chittagonga on breast and pancreatic cancer cells [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2011, 2011: 1-8.
- [3] Zhang Y, Wang J S, Wang X B, *et al.* Limonoids from the fruits of *Aphanamixis polystachya* (Meliaceae) and their biological activities [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(9): 2171-2182.
- [4] Cai J Y, Zhang Y, Luo S H, *et al.* Aphanamixoid A, a potent defensive limonoid, with a new carbon skeleton from *Aphanamixis polystachya* [J]. *Org Lett*, 2012, 14(10): 2524-2527.
- [5] Wang J S, Zhang Y, Wang X B, *et al.* Aphanalides A—H, ring A-seco limonoids from the seeds of *Aphanamixis polystachya* [J]. *Tetrahedron*, 2012, 68(21): 3963-3971.
- [6] Zhang Y, Wang J S, Wang X B, *et al.* Aphapolynins A and B, two new limonoids from the fruits of *Aphanamixis polystachya* [J]. *Tetrahedron Lett*, 2011, 52(20): 2590-2593.
- [7] Yang S P, Chen D H, Liao S G, *et al.* Aphanamolide A, a new limonid from *Aphanamixis polystachya* [J]. *Org Lett*, 2011, 13(1): 150-153.
- [8] Mulholland D S, Naidoo N. Limonoids from *Aphanamixis polystachya* [J]. *Phytochemistry*, 1999, 51(7): 927-930.
- [9] Chowdhury R, Hasan C M, Rashid M A. Guaiane sesquiterpenes from *Amoora rohituka* [J]. *Phytochemistry*, 2003, 62 (8): 1213-1216.
- [10] Chandrasekharan S, Chakraborty T. Aphanamixol, a diterpene alcohol from *Aphanamixis polystachya* (Wall) Parker [J]. *J Indian Chem Soc*, 1968, 45: 208-210.
- [11] Jain S A, Srivastava S K. 8-C-methyl-quercetin-3-O-β-D-xylopyranoside, a new flavone glycoside from the roots of *Amoora rohituka* [J]. *J Nat Prod*, 1985, 48(2): 299-301.
- [12] Sadhu S K, Phattanawasin P, Choudhuri S, *et al.* A new lignan from *Aphanamixis polystachya* [J]. *J Nat Med*, 2006, 60(4): 258-260.
- [13] Harmon A D, Weiss U, Silverton J V. The structure of rohitukine, the main alkaloid of *Amoora rohituka* (syn. *Aphanamixis polystachya*) (Meliaceae) [J]. *Tetrahedron Lett*, 1979, 20(8): 721-724.
- [14] Bhatt S K, Saxena V K, Nigam S S. A new saponin from seeds of *Amoora rohituka* [J]. *Phytochemistry*, 1981, 20(7): 1749-1750.
- [15] Daulatabad C D, Jamkhandi S A M. A keto fatty acid from *Amoora rohituka* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 46(1): 155-156.
- [16] Wu H F, Zhang X P, Wang Y, *et al.* Four new diterpenes from *Aphanamixis polystachya* [J]. *Fitoterapia*, 2013, 90: 126-131.
- [17] Zhang X P, Tan Y F, Li Y B, *et al.* Aphanamixins A—F, acyclic diterpenoids from the stem bark of *Aphanamixis polystachya* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2014, 62(5): 494-498.
- [18] Wu S Q, Xu N Y, Zhang J, *et al.* Three new acyclic diterpenoids from *Eupatorium lindleyanum* DC [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2012, 14(7): 652-656.
- [19] He X F, Wang X N, Fan C Q, *et al.* Chemical constituents of *Polyalthia nemoralis* [J]. *Helv Chim Acta*, 2007, 90(4): 783-791.
- [20] Astulla A, Hirasawa Y, Rahman A, *et al.* Melidianolic acid A and B, new antimalarial acyclic diterpenes from *Aphanamixis grandifolia* [J]. *Nat Prod Commun*, 2011, 6(3): 323-326.
- [21] Zhang H Y, Yuan C M, Cao M M, *et al.* New acyclic diterpenoids from the fruits of *Aphanamixis grandifolia* and structure revision of nemoralisin B [J]. *Phytochem Lett*, 2014, 8: 81-85.