

图 1 化合物Ⅰ的结构及其关键的 HMBC(H→C)和 NOE谱

Fig. 1 Structure and key-HMBC (H→C) and NOE of compound Ⅰ

References

[1] Gonzalez M C, Sentandreu M A, Rao K S, *et al*. Prenylated benzopyran derivatives from two *Polyalthia* species [J]. *Phytochemistry*, 1996, 43: 1361-1364.

[2] Hao X J, Yang X S, Zhang Z, *et al*. Clerodane diterpenes from *Polyalthia cheliensis* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 39: 447-448.

[3] Jossang A, Leboeuf M, Cave A, *et al*. Alcaloides des annonacees, L: Alcaloides des *Polyalthia cauliflora* [J]. *J Nat Prod*, 1984, 47: 504-513.

[4] Wu Y C, Duh C Y, Wang S K, *et al*. Two new natural azafluorene alkaloids and a cytotoxic aporphine alkaloid from *Polyalthia longifloria* [J]. *J Nat Prod*, 1990, 53: 1327-1331.

[5] Zheng X C, Yang R Z, Xu R S, *et al*. Plagionicin A with C_5-OH, a new monotrahydrofuran acetogenin [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1994, 36: 557-560.

[6] Zhao G X, Jun J H, Smith D L, *et al*. Cytotoxic clerodane diterpenes from *Polyalthia longifloria* [J]. *Planta Med*, 1991, 57: 380-383.

[7] Jolad S D, Hoffmann J J, Schram K H, *et al*. Uvaricin, a new antitumor agent from *Uvaria acuminata* (Annonaceaea) [J]. *J Org Chem*, 1982, 47: 3151-3153.

[8] Fang X P, Riesere M J, Gu Z M, *et al*. Annonaceous acetogenins: an updated review [J]. *Phytochem Anal*, 1993(4): 27-48.

[9] Institutum Botanicum Kunmingense Academiae Sinicae Edita. *Flora Yunnanica* (云南植物志) [M]. Tomus 5. Beijing: Science Press, 1991.

[10] Ohmoto T, Ikeda K, Nomuru S, *et al*. Studies on the sesquiterpenes from *Ambrosia elatior* Linne [J]. *Chem Pharm Bull*, 1987, 35: 2272-2279.

甘遂中巨大戟萜醇型二萜酯类化学成分的研究

潘 勤[1,2],闵知大[1*]

(1. 中国药科大学,江苏 南京 210038; 2. 天津药物研究院,天津 300193)

摘 要: 目的 分离鉴定甘遂 *Euphorbia kansui* 中巨大戟萜醇(ingenol)型二萜酯类化学成分。方法 运用波谱技术,尤其是 2DNMR技术(^{1}H-^{1}HCOSY, HSQC, HMBC和 NOESY实验)进行结构鉴定。结果 分离得到 6个巨大戟萜醇型二萜酯,确定了其中两个主要化合物的结构,分别为巨大戟萜醇-3-2′*E*,4′*Z*癸二烯酯-20-乙酸酯[3-*O*-(2′*E*,4′*Z*-decadienoyl)-20-*O*-acetylingenol](Ⅰ)和甘遂大戟萜酯 C(kansuiphorin C)(Ⅱ)。结论 首次报道了Ⅰ的全部 NMR数据和Ⅱ的碳谱数据,并利用多种 2DNMR技术对Ⅰ和Ⅱ的全部 NMR数据进行了归属。

关键词: 甘遂;二萜;化学成分

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)06-0489-04

Studies on ingenol-type diterpene esters in root tuber of *Euphorbia kansui*

PAN Qin[1,2], MIN Zhi-da[1]

(1. China Pharmaceutical University, Nanjing 210038, China; 2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China)

Abstract **Object** A study on the ingenol-type diterpene esters of *Euphorbia kansui* T. N. Liou ex T. P. Wang. **Methods** Their structures were elucidated by spectral analysis, especially 2DNMR (^{1}H-^{1}HCOSY, HSQC, HMBC and NOESY). **Results** Six ingenol-type diterpene esters were isolated successfully, two of them were identified as 3-*O*-(2′*E*, 4′*Z*-decadienoyl)-20-*O*-acetylingenol (Ⅰ) and kansuiphorin C (Ⅱ). **Conclusion** NMR data of compound Ⅰ and ^{13}CNMR data of compound Ⅱ were first reported. On the basis of variety of 2DNMR experiments, NMR data of compound Ⅰ and Ⅱ were well as-

* 收稿日期: 2002-12-21

作者简介: 潘 勤(1970-),男,安徽安庆人,天津药物研究院副研究员,现在中国药科大学攻读博士学位,主要研究方向为活性天然产物化学与新药开发。 Tel: (022)23006959 E-mail: qinpan022@sina.com

signed.

Key words the root tuber of *Euphorbia kansui* T. N. Liou ex T. P. Wang; diterpene; constituents

甘遂为大戟科大戟属植物甘遂 *Euphorbia kansui* T. N. Liou ex T. P. Wang 的块根,主产于山西、陕西等地,有泻水逐饮、破积通便之功,常配伍用于治疗重症水肿、腹水等。甘遂为有毒中药,历版《中华人民共和国药典》均有收载。甘遂的化学成分研究表明,其主要有效成分为二萜酯类成分,且活性多样,尤其是巨大戟萜醇(ingenol)型二萜酯类有显著的抗癌、抗病毒活性等[1~7]。因此有必要进一步对甘遂中二萜类成分进行研究,以期对甘遂药材的质量进行合理有效的控制,从而阐明其药效的作用机制。我们对山西产甘遂药材的化学成分进行了系统研究,从中分离得到 6个巨大戟萜醇型二萜酯,在与文献对照的基础上采用波谱技术,尤其是 2DNMR技术,确定了其中两个主要化合物的结构,分别为巨大戟萜醇-3-2′*E*,4′*Z*癸二烯酯-20-乙酸酯 [3-*O*-(2′*E*,4′*Z*-decadienoyl)-20-*O*-acetylingenol](Ⅰ)和甘遂大戟萜酯 C(kansuiphorin C)(Ⅱ),首次报道了Ⅰ的全部 NMR数据,并利用多种 2DNMR技术对Ⅰ和Ⅱ的全部 NMR数据进行了归属。

1 仪器和试剂

核磁共振使用 Bruker Avance AV400型和 Bruker DRX500型超导傅里叶变换核磁共振谱仪,5 mm BBI和超低温 TBI探头,$CDCl_3$(Aldrich公司产)为溶剂,TMS为内标;质谱采用 Bruker APEX-Ⅱ型傅里叶变换离子回旋共振质谱仪(FT-ICRMS);红外光谱采用 PE931型红外分光光度计,紫外采用岛津 UV 1600A测定;SP8800型 HPLC系统,SP100紫外检测器和 Alltech 2000型蒸发光散射检测器(ELSD)。柱色谱用硅胶为青岛海洋化工厂生产,高效硅胶薄层色谱板和高效 C-18反相高效薄层色谱板为美国 Alltech公司生产。

甘遂药材采收自山西运城,由运城市中药材公司提供。

2 提取和分离

甘遂药材 20 kg,95% 乙醇回流提取,提取液减压浓缩得浸膏,浸膏以水溶解,用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇依次萃取,回收石油醚部分得到 280 g 提取物。将该提取物经硅胶柱色谱分离,用石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱,含巨大戟萜醇型二萜部分以石油醚-丙酮、环己烷-乙酸乙酯系统反复进行低压柱层析,得巨大戟萜醇型活性二萜酯Ⅰ~Ⅵ,其中Ⅲ~Ⅵ仍在鉴定中。将化合物Ⅰ和Ⅱ以 HPLC-ELSD法(65%甲醇-水系统,Hypersil C-8色谱柱)检测纯度,均大于 98%。

3 鉴定

化合物Ⅰ:无色油状物,质谱测定相对分子质量为 540($C_{32}H_{44}O_7$),UV λ_{max}^{MeOH}(lgε): 264 nm(3.88),IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1}: 3 480, 1 720, 1 630。碳谱、DEPT和 HSQC谱显示由 8个 C, 12个 CH, 6个 CH_2和 6个 CH_3组成,^{1}HNMR与 3-*O*-(2′*E*,4′*Z*-decadienoyl) ingenol[5]的相似,但在 C-20位及其附近区域质子的化学位移存在差异,提示Ⅰ可能为 20位取代的巨大戟萜醇型二萜。质谱显示Ⅰ的相对分子质量较 3-*O*-(2′*E*,4′*Z*-decadienoyl) ingenol[5]多 58,同时Ⅰ的质谱可见 *m/z* 503(M+ Na- CH_3COOH),提示有乙酰基取代。碳谱和氢谱(表 1)显示Ⅰ含 2,4-癸二烯酸取代,癸二烯酸的烯键顺反异构判断多依靠对 $J_{2',3'}$和 $J_{4',5'}$值的大小进行[1,7],但由于 H-4′裂分复杂,又常与二萜母环的 H-7位重叠,准确计算 $J_{4',5'}$较困难。而利用烯键顺反异构体相邻质子间 NOE现象的差异,可以简单而准确地对 2,4-癸二烯酸取代的顺反异构进行判断。Ⅰ的 NOESY(表 1)显示 H-2′与 H-3′无 NOE,而 H-4′与 H-5′存在 NOE,表明 H-2′与 H-3′反式相关,H-4′与 H-5′顺式相关,即癸二烯酸为 2*E*,4*Z*-构型。巨大戟萜醇型二萜的有氧取代多在 3, 5, 13, 20位,分别以 H-3, 5, 13, 20为观察氢检查Ⅰ的异核远程相关 HMBC谱(表 1),结果 H-3, 20分别与 2,4-癸二烯酸取代基的 1位和乙酰基相关,表明 2,4-癸二烯酸取代和乙酰基取代分别在二萜母环的 3和 20位。根据 ^{1}H-^{1}HCOSY, HSQC, HMBC, NOESY结果以及与 3-*O*-(2′*E*,4′*Z*-decadienoyl)-20-*O*-acetylingenol[7]对照核磁数据,对Ⅰ的 NMR数据进行归属(表 1),同时确定化合物Ⅰ为巨大戟萜醇-3-2′*E*,4′*Z*癸二烯酯-20-乙酸酯 [3-*O*-(2′*E*,4′*Z*-decadienoyl)-20-*O*-acetylingenol](图 1)。

化合物Ⅱ:无色油状物,质谱测定相对分子质量为 478($C_{29}H_{34}O_6$)。IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1}: 3 500, 1 720, 1 610。氢谱与化合物Ⅰ近似,提示也为巨大戟萜醇型二萜,同时较Ⅰ缺少了癸二烯酸取代基基团,多了一组苯甲酰取代信息(表 2),进一步与 kansuiphorin C[2]对

表 1 化合物Ⅰ 的核磁共振数据 (^{1}HNMR 400 MHz, ^{13}CNMR 100 MHz, $CDCl_3$, TMS)

Table 1 NMR spectral data of compound Ⅰ (^{1}HNMR 400 MHz, ^{13}CNMR 100 MHz, $CDCl_3$, TMS)

碳位	^{1}HNMR	^{13}CNMR	HSQC/DEPT	^{1}H-^{1}HCOSY	HMBC	NOESY
1	5.99 br. s	132.14	CH	H-19	C-2, 3, 4, 10, 19	H-18, 19
2	–	136.14	C	–	–	–
3	5.57 s	82.70	CH		C-1, 2, 4, 5, 10, 18, 1′	H-5, 19
4	–	85.05	C		–	–
5	3.83 s	74.52	CH		C-3, 6, 7, 20	H-3
6	–	136.06	C	–	–	–
7	6.05 m	129.00	CH	H-8, 20	C-5, 9, 14, 20	H-20
8	4.06 m	43.59	CH	H-7, 14	C-6, 7, 9, 14, 17, 20	H-11, 12a, 16
9	–	206.22	C	–	–	–
10	–	71.99	C	–	–	–
11	2.47 m	38.56	CH	H-12b, 18	C-12	H-8, 12a, 18
12a	2.21 m	31.35	CH_2	H-12b, 13	C-11, 13, 16, 18	-11, 12b
12b	1.74 m	31.35	CH_2	H-12a	C-11, 13, 16, 18	H-12a
13	0.66 m	23.26	CH	H-12a/b, 14	C-8, 16, 17	H-14, 16, 18
14	0.90 m	23.05	CH	H-8, 13	C-7, 15, 16, 17	H-8, 13
15	–	23.99	C	–	–	–
16	1.00 s	28.47	CH_3		C-13, 14, 17	H-8
17	1.02 s	15.47	CH_3		C-13, 14, 16	
18	0.95 d	17.25	CH_3	H-11	C-10, 11, 12	H-13, 14
19	1.74 br. s	15.56	CH_3	H-1	C-1, 2, 3	
20a	4.68 d (12.4)	66.70	CH_2	H-7, 20b	C-5, 6, 7, Ac	H-7, 20b
20b	4.43 d (12.4)	66.70	CH_2	H-7, 20a	C-5, 6, 7, Ac	H-7, 20a
Bz-1′	–	167.66	C	–	–	–
2′	5.89 d (14.8)	120.09	CH	H-3′, 4′	C-1′, 3′, 4′	
3′	7.61 dd (14.8, 1.6)	141.04	CH	H-2′, 4′, 5′	C-1′, 2′, 4′, 5′	H-4′
4′	6.09 m	126.00	CH	H-2′, 3′, 5′	C-2′, 3′, 5′, 6′	H-5′
5′	5.85 m	142.87	CH	H-3′, 4′, 6′	C-3′, 4′, 6′, 7′	H-4′
6′	2.25 m	28.26	CH_2	H-5′, 7′	C-4′, 5′, 7′, 8′	H-3′, 5′
7′	1.37	28.95	CH_2	H-6′, 8′		
8′	1.22 m	31.17	CH_2	H-7′, 9′		
9′	1.25 m	22.42	CH_2	H-8′, 10′	C-7′, 8′, 10′	
10′	0.84 t (10.4)	13.95	CH_3	H-9′	C-7′, 8′, 9′	
Ac-1″	–	171.01	C	–	–	–
2″	1.99 s	21.02	CH_3		C-20, Ac	
4, 5-OH	3.52 br. s	–	–			

照氢谱,完全一致。由于 kansuiphorin C与 kansuiphorin D为同分异构体,结构上仅仅是 C-3和 C-5位取代互换,且 kansuiphorin C可在放置中自然部分转变为 kansuiphorin D,二者的氢谱仅是在乙酰基取代上相差 δ0.12[2],不易准确判断,但利用 HMBC,以 H-3为观察氢检查化合物Ⅱ 的异核远程相关情况(表 2),可见 H-3与乙酰基远程相关、不与苯甲酰基远程相关,再以乙酰基的甲基为观察氢,可见其仅与 H-3远程相关,从而确证乙酰基取代在 C-3位,与 kansuiphorin C的结构(图 1)一致。根据化合物Ⅰ 和其他类似二萜的碳谱规律,利用 ^{1}H-^{1}HCOSY, HSQC, HMBC实验,对Ⅱ 的碳谱进行合理归属,结果见表 2。

致谢:核磁由天津药物研究院中药现代研究部核磁室程英莹助理工程师和北京微量化学研究所涂光中研究员代测,质谱由中国科学院化学研究所国家质谱中心辛斌副研究员代测。

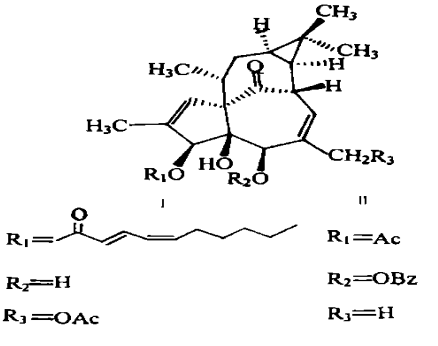


图 1 化合物Ⅰ 和Ⅱ 的化学结构

Fig. 1 Structures of compound Ⅰ and Ⅱ

References

[1] Wu T S, Lin Y M, Haruna M, *et al*. Antitumor agents, 119. Kansuiphorins A and B, two novel antileukemic diterpene esters from *Euphorbia kansui* [J]. *J Nat Prod*, 1991, 54(3): 823-829.

表 2 化合物Ⅱ的核磁共振数据 (^{1}HNMR 500 MHz, ^{13}CNMR 125 MHz, $CDCl_3$, TMS)

Table 2 NMR spectral data of compound Ⅱ (^{1}HNMR 500 MHz, ^{13}CNMR 125 MHz, $CDCl_3$, TMS)

碳位	^{1}HNMR	^{13}CNMR	HSQC/DEPT	^{1}H-^{1}HCOSY	HMBC
1	6.13 d (1.2)	132.54	CH	H-19	C-2, 3, 4, 9, 10, 19
2	–	135.48	C	–	–
3	5.06 br. s	82.87	CH		C-1, Ac
4	–	86.03	C		–
5	5.52 br. s	78.03	CH		
6	–	134.52	C	–	–
7	6.05 m	126.18	CH	H-8, 20	C-5, 6, 8, 9, 14, 20
8	4.27 br. d (10.8)	43.47	CH	H-7, 14, 20	C-6, 7, 9, 13, 14
9	–	206.05	C	–	–
10	–	72.04	C	–	–
11	2.54 m	38.53	CH	H-12b, 18	C-4, 9, 10, 12, 13, 14, 18
12a	2.35 dd (9.8, 2.9)	31.07	CH_2	H-12b, 13	C-9, 10, 11, 13, 14, 15, 18
12b	1.74 m	31.07	CH_2	H-12a, 13	C-9, 10, 11, 13, 14, 15, 18
13	0.69 m	23.01	CH	H-12a/b, 14	C-7, 8, 11, 14, 15, 16, 17
14	0.94 dd (11.8, 8.3)	23.23	CH	H-8, 13	C-7, 8, 9, 11, 12, 13, 16, 17
15	–	24.27	C	–	–
16	1.06 s	28.38	CH_3		C-13, 14, 15, 17
17	1.12 s	15.55	CH_3		C-12, 13, 14, 15, 16
18	1.00 d (7.2)	16.92	CH_3	H-11	C-1, 10, 11, 13
19	1.76 d (1.0)	15.32	CH_3	H-1	C-1, 2, 3
20	1.55 s	21.25	CH_3		C-5, 6, 7,, 9
Bz-CO-	–	166.34	C	–	–
1′	–	129.21	C	–	–
2′, 6′	8.14 d (7.6)	130.04	CH	H-3′, 4′, 5′	C-1′, 3′, 4′, 5′, Bz-CO-
3′, 5′	7.46 t (7.6)	128.39	CH	H-2′, 4′, 5′, 6′	C-1′, 2′, 4′, 6′, Bz-CO-
4′	7.58 t (7.6)	133.35	CH	H-2′, 3′, 5′, 6′	C-1′, 2′, 3′, 5′, 6′
Ac-CO	–	172.28	C	–	–
CH_3	2.03 s	20.96	CH_3		C-3, Ac-CO-
4-OH	3.35 br. s	–	–		

[2] Pan D J, Hu C Q, Chang J J, *et al*. Kansuiphorin-C and D, cytotoxic diterpenes from *Euphorbia kansui* [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(3): 1018-1020.

[3] Uemura D, Ohwaki H, Hirata Y. Isolation and structures of 20-deoxyingenol new diterpene, derivatives and ingenol derivative obtained from "kansui" [J]. *Tetra Lett*, 1974, 29: 2527-2528.

[4] Uemura D, Hirata Y. New diterpene, 13-oxyingenol, derivative isolated from *Euphorbia kansui* Liou [J]. *Tetra Lett*, 1974, 29: 2529-2532.

[5] Matsumoto T, Cyong J C, Haruki Y. Stimulatory effects of ingenols from *Euphorbia kansui* on the expression of macrophage Fc receptor [J]. *Planta Med*, 1992, 58: 255-258.

[6] Zheng W F, Cui Z, Zhu Q. Cytotoxicity and antiviral activity of the compounds from *Euphorbia kansui* [J]. *Planta Med*, 1998, 64: 754-756.

[7] Wang L Y, Wang N L, Yao X S, *et al*. Diterpenes from the roots of *Euphorbia kansui* and their *in vitro* effects on the cell division of *Xenopus* [J]. *J Nat Prod*, 2002, 65: 1246-1251.

美国 ALPHA 实验室认可
美中国际合作中国企业

葡萄籽提取物

(原花青素≥95%)

专业生产厂家

电话：0086-022-26721040；26723305；26737125 传真：0086-022-26721041

网址：http://www.jf-natural.com

Tianjin Jianfeng Natural Product R & D Co., Ltd

天津尖峰天然产物公司

天津北辰科技园科园路