

鸦胆子种子化学成分的研究

王 群^{1,4}, 杨勇勋⁴, 刘庆鑫⁴, 张建平⁴, 陈利萍⁴, 李慧梁^{4*}, 管淑玉^{1,2,3*}

1. 广东药学院中药学院, 广东 广州 510006

2. 国家中医药管理局中药数字化质量评价技术重点实验室, 广东 广州 510006

3. 广东高校中药质量工程技术研究中心, 广东 广州 510006

4. 第二军医大学药学院, 上海 200433

摘要: 目的 研究鸦胆子 *Brucea javanica* 种子的化学成分。方法 运用硅胶色谱、ODS、Sephadex LH-20 等色谱方法进行分离纯化, 结合高分辨质谱和核磁共振波谱分析鉴定化合物的结构。结果 从鸦胆子种子 90%乙醇提取物中分离得到 5 个苦木内酯类化合物, 分别鉴定为鸦胆子内酯 W (1)、yadanzolid A (2)、鸦胆子苦素 D (3)、鸦胆子苦素 E (4)、javanicolide A (5)。结论 化合物 1 为未见文献报道的新化合物。

关键词: 鸦胆子; 苦木内酯; 鸦胆子内酯 W; yadanzolid A; 鸦胆子苦素 D

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)19-2839-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.19.003

Study on chemical constituents from seeds of *Brucea Fructus*

WANG Qun^{1,4}, YANG Yong-xun⁴, LIU Qing-xin⁴, ZHANG Jian-ping⁴, CHEN Li-ping⁴, LI Hui-liang⁴, GUAN Shu-yu^{1,2,3}

1. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

2. Key Laboratory of Digital Quality Evaluation of Chinese Materia Medica of State Administration of TCM, Guangzhou 510006, China

3. Engineering Technology Research Center for Chinese Materia Medica Quality of the Universities of Guangdong Province, Guangzhou 510006, China

4. School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

Abstract: **Objective** To investigate the chemical constituents from *Brucea Fructus* (the seeds of *Brucea javanica*). **Methods** These compounds were isolated by means of silica gel, ODS, Sephadex LH-20 column chromatographies. Their structures were identified by the methods of high resolution mass spectrometry (HRMS) and NMR spectroscopic analyses. **Results** Five quassinoids were isolated from 90% ethanol extract in *Brucea Fructus* and identified as yadanzolid W (1), yadanzolid A (2), bruceine D (3), bruceine E (4), javanicolide A (5), respectively. **Conclusion** Compound 1 is a new quassinoid which has not been reported in literature.

Key words: *Brucea javanica* (L.) Merr.; quassinoids; yadanzolid W; yadanzolid A; bruceine D

鸦胆子 *Brucea Fructus* 是苦木科 (Simaroubaceae) 鸦胆子属 *Brucea* J. F. Mill. 鸦胆子 *Brucea javanica* (L.) Merr. 的种子, 又名苦榛子、小苦楝、老鸦胆、苦参子^[1]。本属在全世界只有 6 种植物, 分布于东半球热带地区, 在我国有 2 种, 主要分布在南方沿海 (海南、广东、广西、云南及台湾)^[2]。鸦胆子性味苦、寒、有毒。我国传统中医将其用于清热、燥湿、杀虫、解毒, 内治痢疾、疟

疾, 外治赘疣、鸡眼^[3]。前期研究表明鸦胆子属的主要成分为苦木内酯、生物碱、三萜和脂肪酸^[4]; 其中, 苦木内酯类化合物是鸦胆子属植物的特征性成分, 也是鸦胆子属植物的有效成分, 具有调血脂、抗疟、抗溃疡、抗肿瘤^[5-7]等活性。为了进一步寻找更多结构新颖的活性成分, 本课题组对产自江西的鸦胆子乙醇提取物进行了化学成分研究, 从中分离了 5 个苦木内酯类化合物 (图 1), 分别鉴定为鸦胆

收稿日期: 2015-07-01

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81102335)

作者简介: 王 群, 硕士在读, 研究方向为中药质量控制。E-mail: qunwang0523@163.com

*通信作者 李慧梁, 男, 博士, 副教授, 主要从事结构新颖天然产物小分子的发现及功能研究。E-mail: faranli@hotmail.com

管淑玉, 女, 博士, 副教授, 从事中药质量控制与生物活性研究。E-mail: guanshu3@163.com

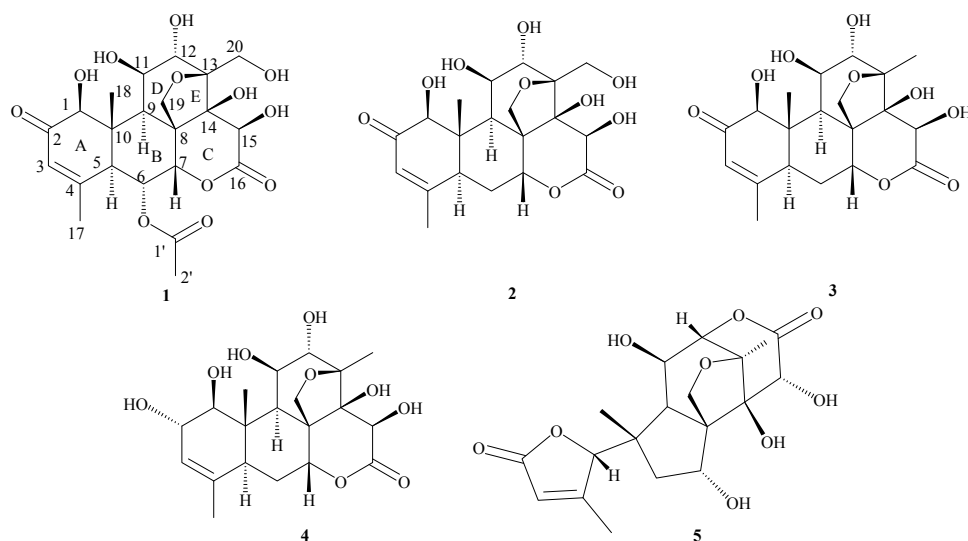


图1 化合物1~5的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—5

子内酯 W (yadanzolide W, **1**)、yadanzolide A (**2**)、鸦胆子苦素 D (bruceine D, **3**)、鸦胆子苦素 E (bruceine E, **4**)、javanicolide A (**5**)。其中化合物 **1** 为未见文献报道的新化合物。

1 仪器与材料

Buchi Sepacore C-615 中压制备色谱系统(瑞士 Buchi 公司); Bruker FTIR Vector 22 红外光谱仪(瑞士 Bruker 公司); Shimadzu UV-2550 分光光度计(日本 Shimadzu 公司); AVANCE 500 MHz 核磁共振波谱仪(瑞士 Bruker 公司); Agilent LC/MSD 和 Agilent Q-TOF 高分辨质谱仪(美国 Agilent 公司); Sephadex LH-20 凝胶(美国 Pharmacia 公司), ODS 填料(100 μm , 日本 YMC 公司); 柱色谱硅胶(200~300 目)、薄层色谱制备板和薄层色谱硅胶 GF₂₅₄ (烟台江友硅胶开发有限公司)。

鸦胆子药材于 2013 年 6 月采自江西省吉水县, 由第二军医大学黄宝康教授鉴定为鸦胆子属植物鸦胆子 *Brucea javanica* (L.) Merr. 的种子, 标本(201410010)保存于第二军医大学药学院天然药物化学教研室。

2 提取与分离

鸦胆子种子 20 kg, 粉碎, 90%乙醇冷浸提取 3 次, 每次 24 h, 滤过, 合并提取液, 减压浓缩, 得浸膏 700 g。将浸膏混悬于水中, 用醋酸乙酯萃取, 回收溶剂, 得到醋酸乙酯部位 200 g。醋酸乙酯部位进行常压硅胶柱色谱分离, 石油醚-醋酸乙酯 (50 : 1、30 : 1、20 : 1、15 : 1、10 : 1、8 : 1、5 : 1、3 : 1、1 : 1) 梯度洗脱, 得到 9 个流分 Fr. 1~9。将 Fr. 3

(5.8 g) 经过反相中压制备色谱, 甲醇-水 (10%~100%) 梯度洗脱, 得到 5 个部分 Fr. 3.1~3.5。其中 Fr. 3.1 (100 mg) 依次经过 Sephadex LH-20 (甲醇) 及薄层色谱 (二氯甲烷-甲醇 5 : 1) 分离, 得到化合物 **1** (12 mg) 和 **5** (16 mg); Fr. 3.3 (380 mg) 经过反相中压制备色谱, 甲醇-水 (10%~80%) 梯度洗脱, 得到 3 个部分 Fr. 3.3.1~3.3.3。将 Fr. 3.3.2 (45 mg) 经过 Sephadex LH-20 (甲醇) 分离纯化, 得到化合物 **2** (20 mg); 将 Fr. 3.3.3 (44 mg) 依次经过 Sephadex LH-20 (甲醇) 柱色谱分离纯化, 得到化合物 **3** (22 mg) 和 **4** (11 mg)。

3 结构鉴定

化合物**1**: 无色粉末, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 63.5^\circ$ (c 0.09, MeOH); HR-ESI-MS 给出分子离子峰 m/z : 507.158 4 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_{12}\text{Na}$, 计算值 507.158 0), 确定分子式为 $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_{12}$, 不饱和度为 9。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 240, $\lg \epsilon = 2.94$; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 430, 2 958, 1 739, 1 666, 1 600, 表明其结构中存在羟基、羰基、双键。结合 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ (表 1) 和 DEPT 谱数据, 可以判断该化合物结构中含有 4 个 sp^2 季碳, 2 个为酯羰基碳 [δ_{C} 172.5 (C-1'), 176.4 (C-16)], 1 个为酮羰基碳 δ_{C} 197.1 (C-2), 1 个为烯基碳 δ_{C} 161.1 (C-4); 4 个 sp^3 季碳, 其中 2 个为连氧 sp^3 季碳 [δ_{C} 84.3 (C-13), 83.6 (C-14)]; 2 个与氧相连的亚甲基 [δ_{H} 3.90 (d, $J = 7.4$ Hz, H-19a), 4.49 (d, $J = 7.4$ Hz, H-19b), δ_{C} 71.5 (C-19); δ_{H} 3.92 (d, $J = 12.0$ Hz, H-20a), 4.22 (d, $J = 12.0$ Hz, H-20b), δ_{C} 65.2 (C-20)]; 9 个次甲基, 其中有 6 个连氧的次甲基 [δ_{H} 4.28 (s, H-1), δ_{C} 84.1 (C-1); δ_{H} 5.23 (dd, $J = 10.5, 2.4$

表 1 化合物 1 的 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) 和 $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) 数据

Table 1 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) and $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) spectroscopic data of compound 1

碳位	δ_{H}	δ_{C}
1	4.28 (s)	84.1
2		197.1
3	6.12 (s)	126.2
4		161.1
5	3.31 (d, $J = 10.5$ Hz)	44.5
6	5.23 (dd, $J = 10.5, 2.4$ Hz)	72.5
7	5.17 (d, $J = 2.4$ Hz)	81.3
8		50.6
9	2.69 (d, $J = 3.5$ Hz)	42.7
10		52.1
11	4.77 (m)	76.7
12	3.88 (d, $J = 4.5$ Hz)	78.8
13		84.3
14		83.6
15	5.32 (s)	72.1
16		176.4
17	2.07 (s)	23.8
18	1.34 (s)	11.3
19	3.90 (d, $J = 7.4$ Hz, H-19a)	71.5
	4.49 (d, $J = 7.4$ Hz, H-19b)	
20	3.92 (d, $J = 12.0$ Hz, H-20a)	65.2
	4.22 (d, $J = 12.0$ Hz, H-20b)	
1'		172.5
2'	2.13 (s)	22.1
1-OH	6.80 (s)	
11-OH	4.97 (d, $J = 5.6$ Hz)	
12-OH	7.45 (d, $J = 4.2$ Hz)	
14-OH	7.08 (s)	
15-OH	6.21 (s)	

Hz, H-6), δ_{C} 72.5 (C-6); δ_{H} 5.17 (d, $J = 2.4$ Hz, H-7), δ_{C} 81.3 (C-7); δ_{H} 4.77 (m, H-11), δ_{C} 76.7 (C-11); δ_{H} 3.88 (d, $J = 4.5$ Hz, H-12), δ_{C} 78.8 (C-12); δ_{H} 5.32 (s, H-15), δ_{C} 72.1 (C-15)]; 3 个甲基 [δ_{H} 2.07 (s, H-17), δ_{C} 23.8 (C-17); δ_{H} 1.34 (s, H-18), δ_{C} 11.3 (C-18); δ_{H} 2.13 (s, H-2'), δ_{C} 22.1 (C-2')]. $^{13}\text{C-NMR}$ 中提示存在 1 个典型的 α , β -不饱和酮片段 (δ_{C} 197.1, 161.1, 126.2)。综合上述信息, 推测化合物可能为苦木内酯类化合物。

对比化合物 1 与 2 的核磁数据, 发现二者的核磁数据非常相似, 提示化合物 1 与 2 具有相同的骨架, 因此化合物 1 为苦木内酯类化合物; 而不同之处在于化合物 1 的 B 环上 H-6 [δ_{H} 5.23 (dd, $J = 10.5, 2.4$ Hz)] 和 C-6 (δ_{C} 72.5) 明显向低场位移且变为次甲基; 进一步比较两者数据, 发现化合物 1 比化合物 2 仅多出 1 组乙酰基信号 [δ_{C} 22.1 (C-2'),

δ_{H} 2.13 (3H, s); δ_{C} 172.5 (C-1')]. 而在 HMBC 谱中显示 H-6 与 C-1' 存在远程相关 (图 2), 因此判断化合物 1 的 6 位被乙酰基取代。至此确定化合物 1 的平面结构。根据苦木内酯类化合物的生源途径, 将 CH_3 -18 确定为面上, 即 β 构型, 在 NOESY 谱中可以看到 H-6 与 CH_3 -18 相关 (图 2), 则可以确定 6 位的取代基为 α 构型, 而 NOESY 谱中还显示化合物 1 余下的手性碳的相对构型与化合物 2 完全一致 (图 2)。至此化合物 1 的相对构型得以确定 (图 1), 经数据库检索为 1 个新化合物, 命名为鸦胆子内酯 W。

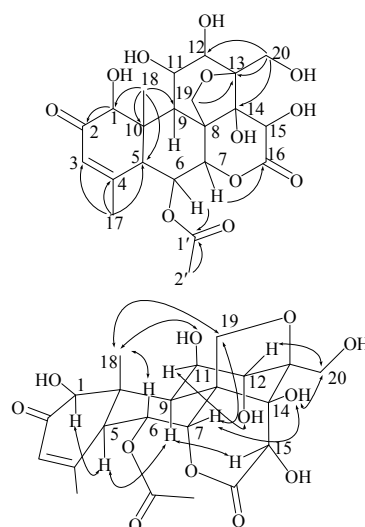


图 2 化合物 1 的重要 HMBC (↗↘) 和 NOESY (↖↙) 相关
Fig. 2 Key HMBC and NOESY correlations of compound 1

化合物 2: 无色针状固体。ESI-MS m/z : 449 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$, 425 [$\text{M} - \text{H}$] $^-$, 推测相对分子质量为 426。结合 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 推测其分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_{10}$, 不饱和度为 8。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 4.35 (1H, s, H-1), 6.15 (1H, s, H-3), 3.11 (1H, d, $J = 11.7$ Hz, H-5), 1.68 (1H, ddd, $J = 15.1, 11.7, 2.8$ Hz, H-6a), 2.33 (1H, dt, $J = 11.7, 3.0$ Hz, H-6b), 5.01 (1H, m, H-7), 2.46 (1H, d, $J = 3.7$ Hz, H-9), 4.73 (1H, m, H-11), 3.79 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-12), 5.36 (1H, s, H-15), 1.94 (3H, s, H-17), 1.46 (3H, s, H-18), 3.73 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-19a), 4.64 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-19b), 3.99 (1H, d, $J = 11.6$ Hz, H-20a), 4.07 (1H, d, $J = 11.6$ Hz, H-20b); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 83.5 (C-1), 199.0 (C-2), 125.4 (C-3), 163.9 (C-4), 44.1 (C-5), 28.5 (C-6), 79.6 (C-7), 51.2 (C-8), 46.2 (C-9), 49.5 (C-10), 76.0 (C-11), 78.7 (C-12), 85.1 (C-13), 84.4 (C-14), 71.2 (C-15), 175.6 (C-16), 22.7 (C-17), 12.0

(C-18), 71.1 (C-19), 65.3 (C-20)。以上数据与文献报道基本一致^[8], 故鉴定化合物 2 为 yadanzhiolide A。

化合物 3: 无色粉末。ESI-MS m/z : 433 $[M+Na]^+$, 409 $[M-H]^-$, 推测相对分子质量为 410。结合 1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 推测其分子式为 $C_{20}H_{26}O_9$, 不饱和度为 8。 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 4.25 (1H, s, H-1), 5.98 (1H, s, H-3), 2.88 (1H, d, J = 12.4 Hz, H-5), 1.67 (1H, brt, J = 12.6 Hz, H-6a), 2.13 (1H, d, J = 12.6 Hz, H-6b), 4.91 (1H, m, H-7), 2.31 (1H, d, J = 3.4 Hz, H-9), 4.38 (1H, m, H-11), 3.53 (1H, d, J = 5.4 Hz, H-12), 4.96 (1H, s, H-15), 1.94 (3H, s, H-17), 1.04 (3H, s, H-18), 3.6 (1H, d, J = 6.9 Hz, H-19a), 4.29 (1H, d, J = 6.9 Hz, H-19b), 1.25 (3H, s, H-20); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 81.4 (C-1), 198.3 (C-2), 124.0 (C-3), 163.7 (C-4), 42.3 (C-5), 27.1 (C-6), 78.6 (C-7), 48.7 (C-8), 43.7 (C-9), 47.6 (C-10), 73.7 (C-11), 79.8 (C-12), 80.6 (C-13), 83.1 (C-14), 69.0 (C-15), 173.9 (C-16), 22.1 (C-17), 10.9 (C-18), 68.5 (C-19), 18.3 (C-20)。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 3 为鸦胆子苦素 D。

化合物 4: 无色针状固体。ESI-MS m/z : 435 $[M+Na]^+$, 411 $[M-H]^-$, 推测相对分子质量为 412。结合 1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 推测其分子式为 $C_{20}H_{28}O_9$, 不饱和度为 7。 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 3.52 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-1), 3.65 (1H, m, H-2), 5.39 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-3), 2.4 (1H, d, J = 14.9 Hz, H-5), 1.69 (1H, dd, J = 14.9, 1.4 Hz, H-6a), 2.15 (1H, dt, J = 14.9, 3.0 Hz, H-6b), 4.58 (1H, m, H-7), 2.06 (1H, d, J = 4.1 Hz, H-9), 3.74 (1H, m, H-11), 5.06 (1H, d, J = 4.0 Hz, H-12), 5.13 (1H, s, H-15), 1.65 (3H, s, H-17), 1.22 (3H, s, H-18), 3.82 (1H, d, J = 7.3 Hz, H-19a), 4.62 (1H, d, J = 7.3 Hz, H-19b), 1.41 (3H, s, H-20); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 82.7 (C-1), 73.8 (C-2), 125.2 (C-3), 136.6 (C-4), 43.8 (C-5), 28.5 (C-6), 75.7 (C-7), 50.9 (C-8), 46.6 (C-9), 45.4 (C-10), 81.2 (C-11), 81.9 (C-12), 82.3 (C-13), 84.6 (C-14), 70.5 (C-15), 176.3 (C-16), 21.1 (C-17), 12.2 (C-18), 70.8 (C-19), 18.4 (C-20)。以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 4 为鸦胆子苦素 E。

化合物 5: 无色粉末。ESI-MS m/z : 419 $[M+Na]^+$, 395 $[M-H]^-$, 推测相对分子质量为 396。结合 1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 推测其分子式为 $C_{19}H_{24}O_9$, 不饱和度为 8。 1H -NMR (500 MHz, CD $_3$ OD) δ : 5.95

(1H, s, H-3), 5.13 (1H, s, H-5), 1.74 (1H, dd, J = 14.2, 4.7 Hz, H-6a), 2.15 (1H, dd, J = 14.2, 2.7 Hz, H-6b), 3.95 (1H, brs, H-7), 2.29 (1H, d, J = 4.6 Hz, H-9), 4.36 (1H, m, H-11), 4.29 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-12), 4.23 (1H, s, H-15), 2.19 (3H, s, H-18), 1.09 (3H, s, H-19), 4.82 (1H, d, J = 6.3 Hz, H-20a), 4.45 (1H, d, J = 6.3 Hz, H-20b), 1.41 (3H, s, H-21); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD $_3$ OD) δ : 173.1 (C-2), 120.3 (C-3), 170.4 (C-4), 95.4 (C-5), 46.1 (C-6), 72.1 (C-7), 63.3 (C-8), 48.7 (C-9), 47.6 (C-10), 71.9 (C-11), 88.0 (C-12), 84.5 (C-13), 83.1 (C-14), 73.4 (C-15), 175.1 (C-16), 16.5 (C-17), 17.7 (C-18), 73.4 (C-19), 16.9 (C-20)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 5 为 javanicolide A。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
- [2] 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, 1979.
- [3] 苏志维, 邱声祥. 鸦胆子果实的化学成分研究 [J]. 热带亚热带植物学报, 2013, 21(5): 466-470.
- [4] 谢慧媛, 邓胡宁, 吴忠, 等. 鸦胆子化学成分研究 [J]. 中草药, 1988, 29(1): 398-400.
- [5] Kitagawa I, Mahmud T, Simanjuntak P. Indonesian medicinal plants chemical structures of three new triterpenoids, brucea javanin A, bruceacanthinoside, from the stems of *Brucea javanica* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1994, 42(1): 1416-1421.
- [6] Lau F Y, Chui C H, Gambari R. Antiproliferative and apoptosis inducing activity of *Brucea javanica* extract on human carcinoma cells [J]. *Int J Mol Med*, 2005, 16(1): 1157-1162.
- [7] 薛淑英, 陈思维, 吴静生. 鸦胆子油乳颗粒剂抗溃疡及抗慢性胃炎的作用 [J]. 沈阳药科大学学报, 1996, 13(1): 13-17.
- [8] Yoshimura S, Sakaki T, Ishibashi M, et al. Structures of yadanzhiolides A, B, and C, new bitter principles from *Brucea javanica* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1984, 32(11): 4698-4701.
- [9] Shen J G, Zhang Z K, Wu Z J. Antiphytoviral activity of bruceine D from *Brucea javanica* seeds [J]. *Pest Manage*, 2008, 64(2), 191-196.
- [10] Li X, Wu L J, Konda Y. Bruceines D, E and H. [J]. *J Heterocyclic Chem*, 1984, 26(2): 493-501.
- [11] Ik H K, Roko S, Yukio H. Three novel quassinoids, javanicolides A and B, and javanicoside A, from seeds of *Brucea javanica* [J]. *Tetrahedron*, 2003, 59(50): 9985-9989.