

长柄七叶树的化学成分

刘宏伟^{1,2}, 姚新生^{2,3*}, 王乃利^{1,3}, 蔡国平¹

¹清华大学深圳研究生院生命科学学部, 深圳 518055;

²深圳市创新药物研究重点实验室, 深圳 518055;

³沈阳药科大学中药学院, 沈阳 110016

【摘要】目的:研究长柄七叶树的皂苷类成分,寻找新的七叶树皂苷资源。方法:对长柄七叶树乙醇提取物的乙酸乙酯和正丁醇两部分进行化学成分研究,并利用各种化学、光谱技术鉴定结构。结果:从长柄七叶树得到3个三萜类化合物和1个香豆素类化合物,经鉴定为原七叶树皂苷元(1)、21-当归酰基-原七叶树皂苷元(2)、21-当归酰基-原七叶树皂苷配基-3-O[-D-吡喃葡萄糖基(1-2)][-D-吡喃葡萄糖基(1-4)]-D-吡喃葡萄糖醛酸(3)和异秦皮苷(4)。结论:化合物1~4均为该植物首次分离得到。

【关键词】长柄七叶树;化学成分;三萜皂苷

【中图分类号】 R284.1 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1672-3651(2005)06-0350-04

七叶树科 Hippocastanaceae 七叶树属 *Aesculus* 植物在我国有16种,全国大部分省区都有分布,以广西、云南、浙江、陕西、贵州、北京等地资源较丰富^[1]。*Aesculus* 属植物含有七叶树皂苷类三萜化合物,七叶树皂苷制剂是临床上静脉曲张、痔疮的治疗药物。七叶树皂苷还具有降血糖、抑制酒精吸收、抗炎和抗艾滋病等活性^[2-4]。为了寻找七叶树皂苷的新资源,我们对云南产长柄七叶树(*Aesculus assamica* Giff)进行了化学成分研究。从中分离得到并鉴定了4个化合物:原七叶树皂苷元(1)、21-当归酰基-原七叶树皂苷元(2)、21-当归酰基-原七叶树皂苷配基-3-O[-D-吡喃葡萄糖基(1-2)][-D-吡喃葡萄糖基(1-4)]-D-吡喃葡萄糖醛酸(3)和异秦皮苷(isofraxoside, 4)。

1 药材、仪器与试剂

Yanaco 显微熔点测定仪(未校正),Bruker IFS 55 光谱仪;Finnigan LCQ 700 质谱测定仪;JEOL HX-110 质谱仪;Bruker-ARX-300 型核磁共振谱仪。柱层析硅胶、薄层分析用硅胶为青岛海洋化工厂出品,制备型高效液相色谱为 LC-10(日本分析工业株式会社),示差折光检测器, Mightysil RP-18 制

备色谱柱。

长柄七叶树种子于2000年9月采自云南省,经沈阳药科大学生药系孙启时教授鉴定为 *Aesculus assamica* Giff 的种子,标本存放在沈阳药科大学生药系。

2 提取与分离

长柄七叶树种子粗粉2.0 kg,用5倍量70%乙醇回流提取2 h,共提取3次。合并提取液,减压浓缩得乙醇提取物(250 g)。将其溶于3 000 ml 水中,用等量醋酸乙酯萃取3次,合并醋酸乙酯,减压浓缩至干得醋酸乙酯部分(20 g)。醋酸乙酯提取物经硅胶柱层析,氯仿-甲醇梯度洗脱(100:1, 98:2, 97:3, 95:5, 90:10, 80:20, 70:30),经甲醇重结晶从90:10、95:5和80:20洗脱部分得到化合物1(20 mg)、2(25 mg)和4(60 mg)。水层部分减压浓缩除去有机溶剂,然后加在预处理好的D101大孔树脂柱的顶端,依次用水、30%、50%、70%和95%乙醇解吸。将70%乙醇解吸物先通过ODS开放柱层析(甲醇-水梯度洗脱,30%、50%、70%、90%、100%甲醇),70%甲醇洗脱部分溶于甲醇中,配成100 mg/mL的浓度,进行HPLC制备分离、纯化(70%甲醇-水),得化合物3(400 mg)。

酸水解:皂苷(约10 mg)乙醇溶液2 mL与4 mol/L HCl 1 mL混合,加热回流2 h。产物用水稀

【收稿日期】 2005-04-06

【*通讯作者】 姚新生:教授,中国工程院院士, Tel: 0755-26036137, E-mail: yaoxinsheng@tom.com

释后 EtOAc 萃取 3 次。合并 EtOAc 溶液浓缩到干并用水反复洗涤后用 TLC 检查 (CHCl₃-MeOH, 95:5) 苷元。水层经 TLC 检查 (n-BuOH-HOAc-H₂O, 4:1:2) 糖的组成。

3 结构鉴定

化合物 1 白色针晶, mp > 300 °C, Liebermann-Burchard 反应阳性。正离子源 ESI-MS m/z : 507[M + H]⁺。¹H NMR (C₅D₅N) : 0.90 (6H, s, 25, 26-CH₃), 1.32 (3H, s, 29-CH₃), 1.38 (3H, s, 30-CH₃), 1.53 (3H, s, 23-CH₃), 1.83 (3H, s, 27-CH₃), 3.03 (1H, t, $J = 13.5$ Hz), 3.70, 4.00 (each 1H, d, $J = 10.2$ Hz, 24-2H), 3.65, 4.50 (each 1H, d, $J = 10.8$ Hz, 28-2H), 4.64, 4.78 (each 1H, d, $J = 9.6$ Hz, 21, 22-H), 5.87 (1H, br s, 12-H)。光谱数据与文献报道的 protoescienin 一致^[5], 故化合物 1 鉴定为原七叶树皂苷元。

化合物 2 白色针晶, mp 277 ~ 280 °C, Liebermann-Burchard 反应阳性。正离子源 ESI-MS m/z : 589[M + H]⁺。¹H NMR (C₅D₅N) : 0.87 (3H, s, 25-CH₃), 0.91 (3H, s, 26-CH₃), 1.04 (3H, s, 29-CH₃), 1.32 (3H, s, 30-CH₃), 1.53 (3H, s, 23-CH₃), 1.80 (3H, s, 27-CH₃), 1.96 (3H, s, A₄-CH₃), 2.03 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, A₅-CH₃), 3.08 (1H, t, $J = 13.5$ Hz), 3.68, 3.95 (each 1H, d, $J = 10.2$ Hz, 24-2H), 3.65, 4.50 (each 1H, d, $J = 10.8$ Hz, 28-2H), 4.79 (1H, d, $J = 10.2$ Hz, 22-H), 4.83 (1H, d, $J = 10.2$ Hz, 21-H), 5.91 (1H, m, 12-H), 6.45 (1H, d, $J = 9.9$ Hz, A₃-H)。光谱数据与文献报道的 21-angeloyl-protoescienin 一致^[5], 故化合物 2 鉴定为 21-当归酰原七叶树皂苷元。

化合物 3 mp 253 ~ 255 °C, Liebermann-Burchard 反应阳性。正源 FAB-MS 给出分子离子峰为 1089[M + H]⁺, 相当于分子组成为 C₅₃H₈₄O₂₃, 及 3 个碎片峰 927[M + H - 162]⁺, 765[M + H - 162 - 162]⁺, 588[M + H - 162 - 162 - 176]⁺, 示分子里有三个糖片段。IR 光谱 1728 和 1675 cm⁻¹ 示分子里有羧基和不饱和酯结构; 3410 和 1070 cm⁻¹ 示分子里含有成苷低聚糖链。其¹H 和¹³C NMR (Table 1) 谱中, 1.96 (3H, s, Ang-5), 2.02 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, Ang-4), 5.90 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, Ang-3) 和

168.8 (Ang-C₁), 135.9 (Ang-C₃), 129.6 (Ang-C₂), 15.7 (Ang-C₄), 21.1 (Ang-C₅) 归属于分子结构中的当归酰基; 0.66 (3H, s, Me-25), 0.78 (3H, s, Me-26), 1.26 (3H, s, Me-23), 1.09 (3H, s, Me-29), 1.30 (3H, s, Me-30), 5.34 (1H, br s, H-12), 3 个糖的端基氢信号 4.90 (d, $J = 7.5$ Hz, H-1), 5.51 (d, $J = 7.5$ Hz, H-1'), 5.17 (d, $J = 7.5$ Hz, H-1'') 和端基碳信号 104.8 (C-1), 104.6 (C-1'), 104.7 (C-1'')。从化合物的¹H, ¹³C NMR 以及其 HMQC 和 HMBC 谱推测结构中有 3, 16, 21, 22, 24, 28-六个氧化基团取代的齐墩果烷母核。将化合物 3 用温和酸水解, 可得葡萄糖、葡糖糖醛酸、原七叶树皂苷元、21-当归酰基-原七叶树皂苷元和七叶树皂苷元^[6,7]。糖链的连接位点通过 HMBC 图谱的解析确定 (Fig 1), 综合分析化合物的¹H-¹H COSY, NOESY, HMQC 和 HMBC 图谱数据, 并与文献值比较^[8], 确定化合物 3 的结构为 21-当归酰基-原七叶树皂苷配基-3-O-[-D-吡喃葡萄糖基(1-2)][-D-吡喃葡萄糖基(1-4)]-D-吡喃葡萄糖醛酸。

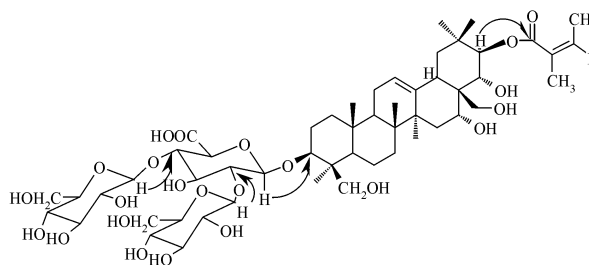


Fig 1 Key HMBC correlations of 3

化合物 4 淡黄色针晶, mp 160 ~ 162 °C。负离子源 ESI-MS m/z : 389[M - H]⁻, 推测分子式为 C₁₆H₁₈O₁₀。在其¹H NMR (DMSO) 可观察到一对邻位偶合的烯氢信号 6.25 (1H, d, $J = 9.2$ Hz) 和 7.91 (1H, d, $J = 9.2$ Hz), 一个孤立的芳香氢信号 6.25 (1H, s), 一个糖的端基氢信号 4.96 (1H, d, $J = 7.6$ Hz) 和一组糖的氢信号 3.16-3.62。¹³C NMR (DMSO) 给出 16 个碳信号, 包括 9 个不饱和和碳信号 104.2 (C-5), 109.4 (C-4), 111.4 (C-2), 130.8 (C-7), 141.8 (C-9), 142.9 (C-8), 143.9 (C-3), 144.6 (C-6), 159.4 (C-1), 1 个甲氧基碳信号 55.3, 6 个葡萄糖的碳信号 (C_{glu-1}-C_{glu-6}) 103.1, 73.1, 75.5, 68.9, 76.6, 60.8。

以上光谱数据提示化合物 4 具有香豆素母核

结构,进一步通过 HMBC 图谱的解析 (Fig 2), 确定糖和甲氧基的连接位点。将化合物 4 用温和酸水

解,可得葡萄糖,综合以上分析,并与文献比较^[9], 化合物 4 鉴定为异秦皮苷 (isofraxoside)。

Table 1 NMR data for compound 3^a in pyridine-*d*₅

Aglycon			Sugar Moiety		
Position	H (J in Hz)	C	Position	H (J in Hz)	C
1	0.71, 1.32 (o)	38.7	27	1.80 (s)	27.4
2	1.82, 2.12 (o)	26.8	28	3.64 (d, 10.0 Hz); 3.99 (o)	66.1
3	3.37 (m)	89.2	29	1.09 (s)	29.9
4		44.4	30	1.30 (s)	20.4
5	0.91 (m)	56.2	A-1		168.8
6	1.24, 1.34 (o)	18.9	2		129.9
7	1.24, 1.58 (o)	33.5	3	5.90 (q, 7.2 Hz)	135.5
8		40.1	4	2.02 (d, 7.2 Hz)	15.9
9	1.60 (o)	46.9	5	1.96 (s)	21.1
10		36.6	1	4.90 (d, 7.5 Hz)	104.8
11	1.64 (o), 1.79 (o)	24.1	2	4.40 (o)	78.7
12	5.34 (br. s)	123.4	3	3.96 (o)	76.9
13		143.5	4	4.49 (d, 10.5 Hz)	81.9
14		41.9	5	4.33 (m)	76.3
15	1.60, 1.94 (o)	34.4	6		172.5
16	4.85 (br. s)	68.0	1	5.51 (br. s)	104.6
17		48.2	2	4.43 (o)	75.4
18	2.80 (dd, 3.9, 14.2 Hz)	40.4	3	4.05 (o)	78.1
19	1.40 (m); 3.10 (t, 13.5 Hz)	47.9	4	4.43 (o)	71.0
20		36.2	5	4.16 (o)	78.5
21	6.43 (d, 10.0 Hz)	81.8	6	4.35, 4.47 (o)	62.4
22	4.79 (d, 10.0 Hz)	73.2	1'''	5.17 (d, 7.5 Hz)	104.7
23	1.26 (s)	23.2	2'''	4.02 (o)	74.9
24	3.30 (d, 11.1 Hz); 4.22 (o)	63.2	3'''	4.05 (o)	78.1
25	0.66 (s)	15.6	4'''	4.19 (o)	71.6
26	0.78 (s)	16.9	5'''	4.05 (o)	78.5
			6'''	4.35, 4.47 (o)	62.4

^a ¹H NMR, 300 MHz in pyridine; ¹³C NMR, 75 MHz, all of the signals were assigned by ¹H-¹H COSY, HMQC and HMBC spectra. Overlapped signals are indicated by “(o)”.

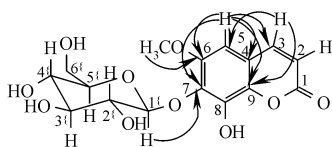


Fig 2 Key HMBC correlations of 4

我们研究了化合物 1~4 的抗稻瘟霉活性, 化合物 3 显示了中等强度的抗稻瘟霉活性, MIC 为 100 μg/mL。抗稻瘟霉活性与抗癌活性之间有着密切的联系, 我们利用这一模型从中草药中分离得到了一系列抗癌活性成分^[10-11]。

参考文献

- [1] 杜向红 (Du XH), 雷留成 (Lei LC), 李平 (Li P). 娑罗子植物资源调查[J]. 中药材 (J Chin Med Mat), 1999, 22(4): 172-173.
- [2] Zhao J, Yang XW. Four new triterpene saponins from the seeds of *Aesculus chinensis* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2003, 5(3): 197-203.
- [3] Yoshikawa M, Murakami T, Matsuda H, et al. Bioactive saponins

and glycosides. Horse chestnut. (1): The structures, inhibitory effects on ethanol absorption, and hypoglycemic activity of escins a, b, a, b, and a from the seeds of *Aesculus hippocastanum* L. [J]. Chem Pharm Bull, 1996, 44(8): 1454-1464.

- [4] Yoshikawa M, Murakami T, Yamahara J, et al. Bioactive saponins and glycosides. Horse chestnut. (2): Structures of escins b, , and and isoescins a, b, and , acylated polyhydroxyleanene triterpene oligoglycosides, from the seeds of horse chestnut tree (*Aesculus hippocastanum* L., Hippocastanaceae) [J]. Chem Pharm Bull, 1998, 46: 1764-1769.
- [5] 杨岚 (Yang L), 赵晓昂 (Zhao XA), 马立斌 (Ma LB). 天师栗中三萜皂苷元成分研究[J]. 中国中药杂志 (Chin J Chin Mat Med), 1996, 21(10): 617-618.
- [6] 赵静 (Zhao J), 杨秀伟 (Yang XW). 日本七叶树化学成分的研究. 七叶树皂苷 a 和 b 的分离和鉴定[J]. 中草药 (Chin Tradit Herb Drugs), 1999, 30(5): 327-331.
- [7] 赵静 (Zhao J), 杨秀伟 (Yang XW), 服部征雄 (Hattori M). 日本七叶树化学成分的研究. 七叶树皂苷 c 和异七叶树皂苷 a、b 的分离和鉴定[J]. 中草药 (Chin Tradit Herb Drugs), 2000, 31(9): 648-651.
- [8] Singh B, Agrawal PK, Thakur RS. Aesculoside-A, a new triterpene glycoside from *Aesculus indica* [J]. Planta Med, 1986, 5: 409-410.

- [9] Wu TS, Chang FC, Wu PL, *et al.* Constituents of leaves of *Tetradium glabrifolium* [J]. *J Chin Chem Soc (Taipei)*, 1995, **42** (6): 929-34.
- [10] Namikoshi M, Kobayashi H, Liu HW, *et al.* Antifungal and antimutagenic substances discovered by the bioassay using conidia of *Pyricularia oryzae* [J]. *Drug Design Rev-Online*, 2004, **1**: 257-271.
- [11] Liu HW, Wang SL, Cai B, *et al.* New furostanol glycosides from the rhizomes of *Dioscorea futschauensis* R. Kunth [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2003, **5** (4): 241-247.

Chemical Constituents from *Aesculus assamica* Griff

LIU Hong-Wei^{1,2}, YAO Xin-Sheng^{2,3*}, WANG Nai-Li^{1,3}, CAI Guo-Ping¹

¹Life Science Division, Graduate School at Shenzhen, Shenzhen 518055;

²Key Lab for Research and Development of New Drugs, Shenzhen, Shenzhen 518055;

³Department of Natural Product Chemistry, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

【ABSTRACT】 AIM: To study the saponins from the seeds of *Aesculus assamica* Griff, and explore a new source of escir-like saponins. **METHOD:** The ethyl acetate and n-BuOH fractions from EtOH ext. of *Aesculus assamica* were studied. Chromatography and spectral analysis were used to isolate and elucidate the constituents. **RESULT:** Two triterpenoid aglycons together with one triterpenoid saponin and one coumarin glycoside were identified as protoaescigenin(1), 21-angeloyl-protoaescigenin (2), 21-angeloyl-protoaescigenin-3-O-[*D*-glucopyranosyl (1-2)] [*D*-glucopyranosyl (1-4)]-*D*-glucopyranosiduronic acid (3), and isofraxoside (4). **CONCLUSION:** Compounds 1~4 were first identified from the seeds of *Aesculus assamica*.

【KEY WORDS】 *Aesculus assamica*; Chemical constituents; Triterpenoid saponin

产品介绍

北京天然药物研究院JTY-1型反相制备色谱填料简介

JTY-1型反相制备色谱填料是一种性能与 ODS-18 键合型硅胶相当,且使用寿命更长、化学稳定性更好、样品负载量更大的一种新型反相制备色谱担体。该填料价格低廉,仅为国外同类产品价格的十分之一,甚至更低。该产品特别适合大规模工业化生产及应用,目前已成功地应用在紫杉醇、番茄红素、茶多酚、茄尼醇、辣椒碱、人参皂苷、西洋参皂苷等植物提取物的分离提纯项目中,并已实现紫杉醇、番茄红素、茄尼醇等多种植物提取物的工业化生产。

该产品有 100、200、300 目三种型号,有 1 kg、5 kg、25 kg 三种规格,产品技术指标及价格见下表。

JTY-1 型反相制备色谱填料各项主要技术指标及价格

型号	JTY-1-100	JTY-1-200	JTY-1-300
粒度范围(mm)	0.15~0.07	0.08~0.04	0.05~0.025
圆球率(%)	>95%	>95%	>85%
含水量(%)	50~56%	50~56%	50~56%
湿真密度(g/ml, 20℃)	1.02~1.04	1.02~1.04	1.02~1.04
湿视密度(g/ml)	0.22~0.4	0.22~0.4	0.22~0.4
比表面积(m ² /g)	300~500	300~500	300~500
2 MPa 下机械强度(%)	95%	95%	95%
色谱柱效(塔片数/m)	150~400	300~700	400~1000
分离系数	1.12	1.12	1.12
有机单体残留量	苯乙烯量(%)	<0.001	<0.001
	甲苯量(%)	<0.005	<0.005
价格(元)	1 kg	2 800	3 500
	5 kg	12 600	13 500
	25 kg	56 000	60 000

地址:北京通州工业开发区广源东街3号 邮编:101113 电话:010-61502619 61502591 13810906988

传真:010-61502619 电子信箱:mrzhr@126.com 网址:www.bjnm.com