

滇南美登木中一个新三萜化合物

谈文状, 普德兵, 冯 阳, 李海舟*

昆明理工大学生命科学与技术学院, 昆明 650500

摘要:以抗肿瘤活性追踪法, 利用多种分离手段, 对滇南美登木中抗肿瘤活性成分进行了系统研究。结果发现三萜部分是主要活性部分, 从中分离得到 8 个三萜类化合物, 经波谱分析分别鉴定为: 19 α -羟基-3-氧代-12-烯-29-齐墩果酸(1)、22 β -羟基-3-氧代-12-烯-29-齐墩果酸(2)、3 β -羟基-22-氧代-12-烯-29-齐墩果酸(3)、3 β -羟基-12-烯-29-齐墩果酸(4)、3 β , 22 β -二羟基-12-烯-29-齐墩果酸(5)、3 α , 22 α -二羟基-12-烯-29-齐墩果酸(6)、3 β , 22 α -二羟基-12-烯-29-齐墩果酸(美登叶酸)(7)、3 α , 22 β -二羟基-12-烯-29-齐墩果酸(8), 其中化合物 1 为新化合物, 化合物 1, 2, 4, 6 对人宫颈癌 HeLa 肿瘤细胞系有显著的细胞毒活性。

关键词:滇南美登木; 抗肿瘤活性; 三萜

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2016.2.001

A New Triterpenoid from *Maytenus austroyunnanensis*

TAN Wen-zhuang, PU De-bing, FENG Yang, LI Hai-zhou*

Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science of Technology, Kunming 650500, China

Abstract: In this study the method of anti-tumor activity tracking was used to screen active components from *Maytenus austroyunnanensis*. As a result, eight triterpenoids were isolated and identified respectively as: 19 α -hydroxy-3-oxo-olean-12-en-29-oic acid (1), 22 β -hydroxy-3-oxo-olean-12-en-29-oic acid (2), 3 β -hydroxy-22-oxo-olean-12-en-29-oic acid (3), 3 β -hydroxy-olean-12-en-29-oic acid (4), 3 β , 22 β -dihydroxy-olean-12-en-29-oic acid (5), 3 α , 22 α -dihydroxy-olean-12-en-29-oic acid (6), 3 β , 22 α -dihydroxy-olean-12-en-29-oic acid (maytenfolic acid) (7), 3 α , 22 β -dihydroxy-olean-12-en-29-oic acid (8) by means of spectroscopic methods. Compound 1 was a new compound. Compounds 1, 2, 4, 6 showed significant cytotoxic activity against HeLa cells.

Key words: *Maytenus austroyunnanensis*; anti-tumor activity; triterpenoids

1970 年代美国国立卫生研究院癌症研究中心 (NCI) 从非洲塞内加尔的卵叶美登木 (*Maytenus ser-rata*) 中发现具有显著抗肿瘤活性的安沙大环内酯类 (ansa macrolide) 化合物——美登木素 (may-tansine)^[1], 引起对美登木的关注。此后陆续从世界各地同属植物中报道了三萜类、二氢- β -沉香醇倍半萜类、黄酮类及其它生物碱类等上百个化合物, 其中以木栓烷型三萜数量最多。后续研究中发现美登木素这一类大环内酯生物碱的形成与内生菌有关, 在植物中含量极低 (仅千万分之一), 此外美登木素 2 期临床实验中出现问题导致终止未能上市。而一系列结构较新颖的具芳香化特征的木栓烷型三萜也表现出很强的抗肿瘤活性, 对美登木抗肿瘤活性

成分的关注从安沙大环内酯类化合物转向芳香化的木栓烷型三萜^[2]。

美登木并不是我国传统中药, 首次作为药用植物记载于 1988 年出版的《新华本草纲要》中。1970 年代末国内开始跟踪美登木抗肿瘤研究, 在植物资源普查中云南、广西等地发现多种同属植物, 并且其生药提取物具有一定抗肿瘤作用^[3,4]。现在也作为民间药物开发使用, 如普洱市民族医药研究所研制的院内制剂“复方美登木片” [滇药制字 (Z) 20082424J 号] 用于治疗乳腺小叶增生、子宫肌瘤, 具有良好的疗效。对国产美登木属植物云南美登木 (*M. hookeri*)^[5]、刺茶美登木 (*M. variabilis*)^[6]、广西美登木 (*M. guangsiensis*)^[7]、细梗美登木 (*M. graciliramula*)^[8]、密花美登木 (*M. confertiflorus*)^[9]、厚叶美登木 (*M. orbiculata*)^[10] 等已进行过化学成分研究, 但是没有从中分离到芳香化的木栓烷型三萜类化合物。国产美登木属植物的抗肿瘤活性成分尚未确

收稿日期: 2015-04-15 接受日期: 2016-01-12

基金项目: 国家自然科学基金 (20962013)

* 通讯作者 E-mail: lihaizhou@hotmail.com

定,为此本文以滇南美登木(*M. austroyunnanensis*)为研究对象,采用活性追踪分离的方法,定向对其抗肿瘤化学成分进行分离,以探讨国产美登木抗肿瘤作用的物质基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器与试剂

CO₂ 培养箱(Thermo 公司),苏净安泰生物安全柜(苏州安泰空气技术有限公司),倒置显微镜(Leica 公司),酶标仪(Tecan-Infinite 200 PRO),电子天平(METTLER TOLEDO),真空干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司)。

0.25% 胰蛋白酶-EDTA(Solarbio 公司),胎牛血清 FBS(Thermo 公司),二甲基亚砜 DMSO(Solarbio 公司),磷酸盐缓冲液 PBS(Thermo 公司),甲基噻唑基四唑 MTT(Thermo 公司)。

¹D NMR 和 ²D NMR(包括 HSQC、HMBC 和 ROESY)由 Bruker DRX-500、Bruker DRX-600 及 AM-400 核磁共振仪(Bruker BioSpin group, Germany)测定。以氘代氯仿(CDCl₃)或氘代吡啶(pyridine-*d*₅)为溶剂,TMS 为内标,化学位移 δ 用 ppm 表示,耦合常数 *J* 用 Hz 表示;ESI-MS 由 Agilent 6530B 质谱仪(Agilent Technologies, USA)测定。

HPLC 分析在 Agilent 1200 型高效液相色谱仪(Agilent Technologies Co., Ltd., USA)上完成,分析柱为 Zorbax SB-C₁₈(Agilent, 4.6 × 250 mm)柱;中压液相色谱(MPLC)为 BUCHI Labortechnik AG CH-9230(Flawil Switzerland)。

柱色谱使用的材料包括 100~200、200~300 目硅胶(青岛海洋化工厂);ODS(YMC * Gel ODS-A, 50 μ m, YMC Co., Ltd., Japan)。TLC 采用 G 型和 GF₂₅₄ 型预制硅胶板(青岛海洋化工厂)。

1.2 植物来源

滇南美登木(*M. austroyunnanensis*)2012 年 4 月采自云南省普洱市,植物标本由昆明理工大学李海舟教授鉴定,现在存放于昆明理工大学生命科学与技术学院植物化学实验室,编号为 201204009。

2 实验方法

2.1 MTT 法检测细胞毒活性

取对数生长期的宫颈癌 HeLa 细胞,用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基配制成 5×10^4 /mL 的细胞悬液,按每孔 100 μ L 接种于 96 孔板中,

在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 条件下培养 24 h。

经过 24 h 培养后,用显微镜观察细胞生长状态,在细胞生长良好的情况下,分别将待测样品和对照品溶液加入 96 孔板中,每个浓度随机设置 5 个复孔,每孔加入量为 1 μ L,阳性对照组为紫杉醇(10 μ M/mL),每孔加入 100 μ L 培养基,再将 96 孔板在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 条件下培养 72 h。

培养 72 h 后,小心吸去上清液,每孔加入以无血清培养液新鲜配制的 1 mg/mL MTT 20 μ L,37 $^{\circ}$ C 温育 4 h,弃去上清液,每孔加入 100 μ L DMSO,在 490 nm 处测定吸光度(A)值。取 4 孔平均值,按公式:细胞增殖抑制率 = [(1-加药细胞 A 值/对照细胞 A 值) × 100%],计算每个质量浓度下的细胞增殖抑制率。

2.2 活性跟踪分离

滇南美登木 9.3 kg,用 80% 丙酮/水,冷浸 24 h,过滤,减压浓缩,回收丙酮。提取 3 次,合并提取液,静置 24 h,过滤除去脂溶性色素。依次用乙酸乙酯、正丁醇各萃取 3 次,回收溶剂后得到乙酸乙酯部分(190 g),正丁醇部分(200 g)。通过对乙酸乙酯萃取部分、正丁醇萃取部分按 2.1 项所述进行抗肿瘤活性实验。

乙酸乙酯部分 190 g 经 Sephadex LH-20 粗划段,结合 TLC 显色,得到 Fr. 1 ~ Fr. 3 三部分。其中 Fr. 1(63.5 g)H₂SO₄-EtOH 溶液显灰黑色, Molish 呈阳性反应,综上推断 Fr. 1 为糖类,无抗肿瘤活性。Fr. 2(32.5 g)H₂SO₄-EtOH 溶液显蓝色,FeCl₃ 溶液呈阴性反应,推测为三萜类化合物,活性测试显示出非常强的抗肿瘤活性。Fr. 3(55.5 g)H₂SO₄-EtOH 溶液显黄色,FeCl₃ 溶液呈阳性反应,推测为黄酮类化合物,未显示抗肿瘤活性。对表现出抗肿瘤活性的 Fr. 2 进行进一步分离纯化。

Fr. 2(32.5 g)过 Diaion 反相大孔吸附树脂,甲醇/水 30%、60%、90%,以及 100% 甲醇和 50% 丙酮水梯度洗脱,分为 5 段:Fr. 2-1、Fr. 2-2、Fr. 2-3、Fr. 2-4、Fr. 2-5。通过 TLC 显色分析发现 Fr. 2-1 为极性较大,在 254 nm 紫外照射下有较强吸收,初步推断这部分可能为黄酮类成分。Fr. 2-5 主要是色素类物质,没有进行分离研究。根据 TLC 分析,Fr. 2-3、Fr. 2-4 极性大小适中,显色行为与的萜类成分一致,因此对其进行了深入的研究。

Fr. 2-3(5.5 g)硅胶拌样后过硅胶柱,用氯仿/甲醇 100:1、70:1、50:1、20:1、10:1、5:1,以及纯甲

醇进行梯度洗脱,在 TLC 的参考下合并洗脱液,划为 5 段:Fr. 2-3-1、Fr. 2-3-2、Fr. 2-3-3、Fr. 2-3-4、Fr. 2-3-5。通过 Sephadex-LH 20 凝胶和硅胶的交替反复分离,最终从 Fr. 2-3-3 部分分离到了化合物 **5**、**6**、**7**、**8**。

Fr. 2-4 (8.4 g) 硅胶拌样后过硅胶柱,用石油醚/丙酮 4:1、3:1、2:1、1:1、1:2 不同的比例进行梯度洗脱,在 TLC 的参考下合并洗脱液,分成 4 份:Fr. 2-4-1、Fr. 2-4-2、Fr. 2-4-3、Fr. 2-4-4。Fr. 2-4-1、Fr. 2-4-2、Fr. 2-4-3 三段在 TLC 板上成点性好,通过显色判断为萜类物质。通过 Sephadex-LH 20 凝胶和硅胶的交替反复分离,最终从 Fr. 2-4-1 部分得到了化合物 **3**;从 Fr. 2-4-2 部分分离到了化合物 **4**;从 Fr. 2-

4-3 部分分离到了化合物 **1** 和化合物 **2**。

3 结果与讨论

3.1 细胞毒活性筛选结果

对各萃取相的活性筛选发现乙酸乙酯相活性较好,故对其进行分离,结合 TLC 显色分为 Fr. 1 ~ Fr. 3 (见 2.2 部分)。从表 1 中可看出滇南美登木提取相、乙酸乙酯相和 Fr. 2 三萜部分都对人宫颈癌 HeLa 肿瘤细胞系有细胞毒活性,其中是三萜类的活性最好,提示滇南美登木中三萜类是其抗肿瘤的主要活性成分。从 Fr. 2 三萜部分中分离鉴定到 8 个齐墩果烷型三萜,其中化合物 **1**、**2**、**4**、**6** 活性较好。

表 1 滇南美登木中化学成分细胞毒活性研究结果

Table 1 The cytotoxic activity of constituents from *M. austroyunnanensis* against HeLa cells

Sample	IC ₅₀	Compound	IC ₅₀
Extracting phase	>200 μg/mL	1	1.48 μM
Ethyl acetate phase	54.1 μg/mL	2	3.68 μM
Butanol phase	NA	3	NA
Fr. 1	NA	4	0.39 μM
Fr. 2	6.6 × 10 ⁻³ μg/mL	5	NA
Fr. 3	NA	6	11.6 μM
		7	NA
		8	>100 μM
		Paclitaxel	0.98 × 10 ⁻³ μM

注:NA;提取物(或萃取相)在 200 μg/mL 浓度下无活性;单体化合物在 100 μg/mL 下无活性。

Note:NA means no activity for extract and/or fraction at the concentration of 200 μg/mL as well as single compound at the concentration of 100 μg/mL.

3.2 活性追踪分离实验结果

以抗肿瘤活性追踪法,利用各种分离手段,对滇南美登木中抗肿瘤活性成分进行了系统的分离研究。共分离得到 8 个齐墩果烷型三萜,经波谱分析分别鉴定为:19α-羟基-3-氧代-12-烯-29-齐墩果酸 (**1**)、2β-羟基-3-氧代-12-烯-29-齐墩果酸 (**2**)、3β-羟基-22-氧代-12-烯-29-齐墩果酸 (**3**)、3β-羟基-12-烯-29-齐墩果酸 (**4**)、3β,22β-二羟基-12-烯-29-齐墩果酸 (**5**)、3α,22α-二羟基-12-烯-29-齐墩果酸 (**6**)、3β,22α-二羟基-12-烯-29-齐墩果酸(美登叶酸) (**7**)、3α,22β-二羟基-12-烯-29-齐墩果酸 (**8**),其中化合物 **1** 为新化合物。

3.3 化合物结构鉴定

化合物 **1** 白色无定型粉末,高分辨 HR-ESI-MS⁽⁻⁾ 显示精确准分子离子峰为 469.3332,示其分子式为 C₃₀H₄₆O₄(计算值:469.3318 [M-H]⁻),不饱和

度为 8。¹H NMR 和 ¹³C NMR 图谱数据(见表 2)显示分子中含有 7 个甲基,都与季碳相连 [δ_H:1.02 (s, Me-23),1.12 (s, Me-24),1.20 (s, Me-25),0.95 (s, Me-26),1.13 (s, Me-27),0.85 (s, Me-28),1.26 (s, Me-30); (c:24.9 (q, C-23),15.4 (q, C-24),16.8 (q, C-25),20.8 (q, C-26),21.3 (q, C-27),23.8 (q, C-28),26.9 (q, C-30)]。9 个亚甲基 [δ_H:1.83 (2H, m, H-1),2.52 (1H, m, H-2),2.41 (1H, m, H-2),1.48 (2H, m, H-6),1.48 (2H, m, H-7),1.83 (2H, m, H-11),1.83 (2H, m, H-15),1.83 (1H, m, H-16),1.65 (1H, m, H-16),2.24 (1H, d, J = 12 Hz, H-21),1.83 (1H, m, H-21),1.83 (1H, m, H-22),1.48 (1H, m, H-22); (c:39.6 (t, C-1),33.9 (t, C-2),19.5 (t, C-6),33.7 (t, C-7),23.5 (t, C-11),24.2 (t, C-16),25.1 (t, C-17),32.4 (t, C-21),39.1 (t, C-22)];5 个次甲基,其中 1 个与氧

相连,1个是双键的次甲基[δ_H :1.41(1H,m,H-5),1.48(1H,m,H-9),5.23(1H,t,H-12),2.23(1H,m,H-18),4.13(1H,d, $J=5.4$ Hz,H-19)]; δ_C :54.9(d,C-5),46.6(d,C-9),124.1(d,C-12),43.4(d,C-18),83.2(d,C-19)];9个季碳,其中1个是羰基季碳,一个羧基季碳,一个双键季碳[δ_C :18.5(s,C-3),47.2(s,C-4),39.5(s,C-7),36.6(s,C-10),140.0(s,C-13),42.5(s,C-14),35.1(s,C-17),39.6(s,C-20),182.7(s,C-29)]。通过以上数据大致可以推断,该化合物为齐墩果烷型三萜,且在C-3位有特征性羰基的取代,在C-12与C-13之间有双键。与齐墩果酸类型的三萜相比较,发现没有 δ_C 33左右的甲基信号,所以羧基可能是在C-29或者是在C-30位。

仔细对比化合物**1**与已知化合物**2**的 1H NMR和 ^{13}C NMR数据,发现化合物**1**中与羟基相连的次甲基碳的信号明显向低场移动,化学位移为 δ_C 83.2,且氢谱上[4.13(1H,d, $J=5.4$ Hz)]的耦合常数明显不同,通过耦合常数大致可以定羟基与C-19为相连,而且是 α 构型。其余数据基本一致,所以确定羧基的取代位置为C-29,这也在HMBC谱中(见图1)的H-19与C-13、C-17、C-18、C-21、C-29、C-30相关所证实。此外二维核磁共振ROESY实验中显示H-19与H-30、H-28的甲基相关,进一步说明19氢H在 β 位。从而将化合物**1**的结构鉴定为19 α -羟基-3-氧代-12-烯-29-齐墩果酸。

化合物2 白色无定型粉末,分子式: $C_{30}H_{46}O_4$,ESI-MS:469[M-H] $^-$; 1H NMR(Pyridine- d_5 ,400 MHz) δ :0.98(3H,s),1.01(6H,s),1.05(3H,s),1.21(3H,s),1.26(3H,s),1.81(3H,s),2.77(1H,t),4.01(1H,d, $J=4$ Hz),5.41(1H,t); ^{13}C NMR(Pyridine- d_5 ,100 MHz) δ :15.4(q,C-25),17.6(q,C-26),19.9(t,C-16),21.1(q,C-23),21.8(q,C-30),24.0(t,C-11),25.1(q,C-27),25.5(q,C-28),26.3(t,C-15),26.7(q,C-24),

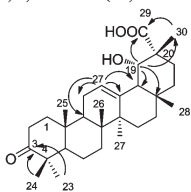


图1 化合物**1**的化学结构及主要HMBC相关

Fig.1 Chemical structure and key HMBC correlations of compound **1**

表2 化合物**1**的 1H , ^{13}C NMR数据($CDCl_3$,(δ ppm, J in Hz)
Table 2 1H , ^{13}C NMR data of compound **1** in $CDCl_3$, δ in ppm,
 J in Hz

No.	δ_C	δ_H	HMBC (H \rightarrow C)
1	39.6 (t)	1.83 (m)	
2	33.9 (t)	2.52 (m), 2.41 (m)	C-3, C-1
3	218.5 (s)		
4	47.2 (s)		
5	54.9 (d)	1.41 (m)	
6	19.5 (t)	1.48 (m)	
7	33.7 (t)	1.48 (m)	
8	39.5 (s)		
9	46.6 (d)	1.48 (m)	
10	36.6 (s)		
11	23.5 (t)	1.83 (m)	
12	124.1 (d)	5.23 (t)	C-9, C-11, C-13, C-14, C-18
13	140.0 (s)		
14	42.5 (s)		
15	24.2 (t)	1.83 (m)	
16	25.1 (t)	1.83 (m), 1.65 (m)	
17	35.1 (s)		
18	43.4 (d)	2.23 (t)	C-12, C-13, C-13, C-17,
19	83.2 (d)	4.13 (d, $J=5.4$ Hz)	C-18, C-21, C-29, C-30
20	39.6 (s)		
21	32.4 (t)	2.24 (d, $J=12$ Hz), 1.83 (m)	
22	39.1 (t)	1.83 (m), 1.48 (m)	
23	24.9 (q)	1.02 (s)	C-3, C-4, C-5
24	15.4 (q)	1.12 (s)	C-3, C-4, C-5
25	16.8 (q)	1.20 (s)	
26	20.8 (q)	0.95 (s)	C-9, C-14
27	21.3 (q)	1.13 (s)	C-13
28	23.8 (q)	0.85 (s)	C-19
29	182.7 (s)		
30	26.9 (q)	1.26 (s)	C-29

29.0 (t, C-16), 32.7 (t, C-17), 34.5 (t, C-2), 36.9 (s, C-10), 38.0 (t, C-19), 38.1 (s, C-17), 39.4 (t, C-1), 39.9 (s, C-8), 41.5 (t, C-21), 42.6 (s, C-14), 42.7 (s, C-20), 44.5 (d, C-18), 47.1 (d, C-9), 47.1 (s, C-4), 55.3 (d, C-5), 75.3 (d, C-22), 123.1 (d, C-12), 144.4 (s, C-13), 181.5 (s, C-29), 216.3 (s, C-3)。以上数据与文献报道基本一致^[11],故确定化合物为2 β -羟基-3-氧代-12-烯-29-齐墩

果酸(2)。

化合物 3 白色无定型粉末,分子式: $C_{30}H_{46}O_4$, ESI-MS:469 [M-H]⁻; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ: 0.77 (3H, s), 0.92 (3H, s), 0.94 (3H, s), 0.98 (3H, s), 1.00 (3H, s), 1.17 (3H, s), 1.20 (3H, s), 2.49 (1H, t), 2.97 (1H, d, *J* = 15 Hz), 3.21 (1H, dd, *J* = 11.4, 3 Hz), 5.32 (1H, t); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ: 15.6 (q, C-23), 15.6 (q, C-25), 16.9 (q, C-26), 18.2 (t, C-6), 20.6 (q, C-30), 21.0 (q, C-28), 23.7 (t, C-11), 25.5 (q, C-27), 25.6 (t, C-2), 27.3 (t, C-15), 28.2 (q, C-24), 29.3 (t, C-16), 32.7 (t, C-7), 37.1 (s, C-10), 38.7 (s, C-8), 38.9 (t, C-1), 39.8 (s, C-4), 40.7 (t, C-19), 41.9 (s, C-14), 44.1 (s, C-20), 45.4 (t, C-21), 46.6 (d, C-18), 47.6 (d, C-9), 48.2 (s, C-17), 55.3 (s, C-5), 79.17 (d, C-3), 125.0 (d, C-12), 140.7 (s, C-13), 181.0 (s, C-29), 215.0 (s, C-22)。以上数据与文献报道基本一致^[12],故确定化合物为 3β-羟基-22-氧代-12-烯-29-齐墩果酸(3)。

化合物 4 白色无定型粉末,分子式: $C_{30}H_{48}O_3$, ESI-MS: 455 [M-H]⁻; ¹H NMR (Pyridine-*d*₅, 500 MHz) δ: 0.94 (3H, s), 0.96 (3H, s), 1.03 (3H, s), 1.07 (3H, s), 1.20 (3H, s), 1.21 (3H, s), 1.46 (3H, s), 2.57 (1H, t), 3.42 (1H, dd, *J* = 11.5, 5 Hz), 5.30 (1H, t); ¹³C NMR (Pyridine-*d*₅, 125 MHz) δ: 15.8 (q, C-25), 16.6 (q, C-24), 17.1 (q, C-26), 18.8 (t, C-6), 20.1 (q, C-30), 23.9 (t, C-11), 26.2 (q, C-27), 26.5 (t, C-15), 27.3 (t, C-16), 28.2 (t, C-2), 28.4 (q, C-23), 28.8 (q, C-28), 29.9 (t, C-21), 32.8 (t, C-7), 33.0 (s, C-17), 36.5 (t, C-22), 37.6 (s, C-10), 39.2 (t, C-1), 39.4 (s, C-4), 40.0 (s, C-8), 41.6 (t, C-19), 42.1 (s, C-14), 42.9 (s, C-30), 46.6 (d, C-18), 48.1 (d, C-9), 55.8 (d, C-5), 78.2 (d, C-3), 123.1 (d, C-11), 144.7 (s, C-13), 181.2 (s, C-29)。以上数据与文献报道基本一致^[13],故确定化合物为 3β-羟基-12-烯-29-齐墩果酸(4)。

化合物 5 白色无定型粉末,分子式: $C_{30}H_{48}O_4$, ESI-MS: 471 [M-H]⁻; ¹H NMR (Pyridine-*d*₅, 400 MHz) δ: 0.98 (3H, s), 1.07 (3H, s), 1.07 (3H, s), 1.25 (3H, s), 1.26 (3H, s), 1.29 (3H, s), 1.85 (3H, s), 3.46 (1H, dd, *J* = 5.6, 10.8 Hz), 4.00 (1H, dd, *J* = 4.5, 2.7 Hz), 5.37 (1H, brs); ¹³C NMR (Pyridine-*d*₅, 100 MHz) δ: 15.8 (q, C-25),

16.6 (q, C-24), 17.1 (q, C-26), 18.8 (t, C-6), 20.1 (q, C-30), 23.9 (t, C-11), 26.2 (q, C-27), 26.5 (t, C-15), 27.3 (t, C-16), 28.2 (t, C-2), 28.4 (q, C-23), 28.8 (q, C-28), 29.9 (t, C-21), 32.8 (t, C-7), 33.0 (s, C-17), 36.5 (t, C-22), 37.6 (s, C-10), 39.2 (t, C-1), 39.4 (s, C-4), 40.0 (s, C-8), 41.6 (t, C-19), 42.1 (s, C-14), 42.9 (s, C-30), 46.6 (d, C-18), 48.1 (d, C-9), 55.8 (d, C-5), 78.2 (d, C-3), 123.1 (d, C-11), 144.7 (s, C-13), 181.2 (s, C-29)。以上数据以文献报道基本一致^[11],故确定化合物为 3β,22β-二羟基-12-烯-29-齐墩果酸(5)。

化合物 6 白色无定型粉末,分子式: $C_{30}H_{48}O_4$, ESI-MS: 471 [M-H]⁻; ¹H NMR (Pyridine-*d*₅, 400 MHz) δ: 0.92 (3H, s), 0.99 (3H, s), 1.08 (3H, s), 1.18 (3H, s), 1.23 (3H, s), 1.36 (3H, s), 1.57 (3H, s), 2.32 (2H, d, *J* = 12 Hz), 2.64 (2H, m), 3.61 (1H, brs), 4.02 (1H, dd, *J* = 12.4, 4.4 Hz), 5.37 (1H, brs); ¹³C NMR (Pyridine-*d*₅, 100 MHz) δ: 15.7 (q, C-25), 17.1 (q, C-26), 18.6 (t, C-6), 19.9 (t, C-16), 21.3 (q, C-24), 22.8 (q, C-30), 24.3 (t, C-11), 25.5 (q, C-27), 26.3 (q, C-28), 26.3 (t, C-2), 26.4 (t, C-15), 29.3 (q, C-23), 33.1 (t, C-7), 34.6 (t, C-1), 37.4 (s, C-10), 37.9 (s, C-8), 38.2 (t, C-19), 39.4 (s, C-4), 40.4 (s, C-17), 41.2 (t, C-21), 42.5 (s, C-14), 43.2 (s, C-20), 47.3 (d, C-18), 47.8 (d, C-9), 49.2 (d, C-5), 75.2 (d, C-3), 74.7 (d, C-22), 123.1 (d, C-12), 144.2 (s, C-13), 181.2 (s, C-29)。以上数据与文献报道基本一致^[14],故确定化合物为 3α,22α-二羟基-12-烯-29-齐墩果酸(6)。

化合物 7 白色无定型粉末,分子式: $C_{30}H_{48}O_4$, ESI-MS: 471 [M-H]⁻; ¹H NMR (Pyridine-*d*₅, 400 MHz) δ: 5.37 (1H, brs, H-12), 4.30 (2H, dd, *J* = 5.1, 1.6 Hz, H-22), 3.46 (1H, dd, *J* = 5.6, 10.8 Hz, H-3), 0.68, 0.88, 0.89, 0.91, 0.92, 1.10, 1.14 (each 3H, s), 12.31 (1H, brs, OH); ¹³C NMR (Pyridine-*d*₅, 100 MHz) δ: 178.8 (s, C-29), 143.3 (s, C-13), 122.3 (d, C-12), 76.8 (d, C-3), 72.9 (d, C-22), 54.7 (d, C-5), 47.0 (d, C-9), 46.0 (d, C-18), 41.8 (s, C-20), 41.6 (s, C-14), 39.9 (t, C-19), 39.4 (s, C-4), 38.4 (s, C-8), 38.2 (t, C-21), 37.9 (s, C-17), 37.1 (t, C-1), 36.4 (s, C-10), 32.1 (t, C-7), 28.2 (q, C-23), 26.9 (t, C-16), 25.9 (q, C-27), 25.1 (q, C-15), 25.0 (q, C-28), 23.0 (t, C-

2), 20.4 (q, C-30), 23.2 (t, C-11), 18.0 (t, C-6), 16.5 (q, C-26), 16.0 (q, C-24), 15.2 (q, C-25)。以上数据与文献报道基本一致^[15]。故确定化合物为3 β ,22 α -二羟基-12-烯-29-齐墩果酸(美登叶酸)(7)。

化合物 8 白色无定型粉末,分子式:C₃₀H₄₈O₄, ESI-MS: 471 [M-H]⁻; ¹H NMR (Pyridine-d₅, 400 MHz) δ : 5.41 (1H, brs, H-12), 4.00 (1H, dd, *J* = 4.5, 2.7 Hz, H-22), 3.61 (1H, brs, H-3), 2.74 (1H, t, *J* = 13.8 Hz, H-19 α), 2.64 (1H, dd, *J* = 13.7, 2.8 Hz, H-21a), 2.46 (1H, brd, *J* = 13.8 Hz, H-18), 2.08 (1H, m, H-21 β), 2.03 (1H, m, H-2 α), 1.98 (2H, m, H-11), 1.97 (1H, m, H-16a), 1.87 (1H, m, H-9), 1.84 (1H, m, H-15 α), 1.80 (3H, s, H-30), 1.78 (2H, m, H-1 α , 2 β), 1.68 (1H, m, H-19 β), 1.67 (1H, m, H-5), 1.55 (1H, m, H-7 α), 1.52 (2H, m, H-6), 1.44 (1H, m, H-16 β), 1.42 (1H, m, H-1 β), 1.33 (1H, m, H-7 β), 1.26 (3H, s, H-28), 1.22 (3H, s, H-24), 1.15 (3H, s, H-27), 1.07 (3H, s, H-26), 1.01 (1H, m, H-15 β), 1.00 (3H, s, H-25), 0.91 (3H, s, H-23); ¹³C NMR (Pyridine-d₅, 100 MHz) δ : 33.8 (t, C-1), 26.4 (t, C-2), 75.2 (d, C-3), 37.9 (s, C-4), 49.2 (d, C-5), 18.6 (t, C-6), 33.2 (t, C-7), 40.2 (s, C-8), 47.8 (d, C-9), 37.4 (s, C-10), 23.8 (t, C-11), 123.3 (d, C-12), 144.2 (s, C-13), 42.5 (s, C-14), 26.3 (t, C-15), 28.9 (t, C-16), 38.0 (s, C-17), 44.7 (d, C-18), 41.5 (t, C-19), 42.5 (s, C-20), 37.7 (t, C-21), 75.3 (d, C-22), 29.2 (q, C-23), 22.8 (q, C-24), 15.7 (q, C-25), 17.3 (q, C-26), 25.5 (q, C-27), 20.9 (q, C-28), 181.4 (s, C-29), 24.9 (q, C-30)。以上数据与文献报道基本一致^[16],故确定化合物为3 α ,22 β -二羟基-12-烯-29-齐墩果酸(8)。

参考文献

- Kupchan SM, Komoda Y, Court WA, *et al.* Tumor inhibitors. LXXIII. Maytansine, a novel antileukemic ansa macrolide from *Maytenus ovatus*. *J Am Chem Soc*, 1972, 94: 1354-1356.
- Pu DB (普德兵), Gao Y (高嫻), Li HZ (李海舟), *et al.* Structures and ¹³C NMR features of friedelane triterpenoid compounds in *Maytenus*: A review. *Chin J Magne Res* (波谱学杂志), 2014, 31: 437-447.
- Feng DQ (冯德强), Cui XL (崔晓兰), Jiang ZZ (蒋振忠), *et al.* The effects of compound *maytenus pills* on the mastoplasia model of rats. *J Yunnan Univ Tradit Chin Med* (云南中医学院学报), 2006, 29: 57-58.
- Huang DW (黄大文). The preliminary report of treating primary hepatocellular carcinoma with maytansine injection. *Guangxi Med J* (广西医学), 1981, 13(1): 9-10.
- Zhou YL (周韵丽), Huang LY (黄丽瑛), Zhou QR (周倩如), *et al.* Isolation and identification of maytansine and maytanprine from *Maytenus hookerii* Loes. *Chin Sci Bull* (科学通报), 1980, 25: 427-429.
- Li BJ (李炳钧), Xu XK (许秀坤), Zhou YL (周韵丽), *et al.* Isolation and characterization of the antitumor constituents maytansine, maytanprine and maytanbutine from *M. variabilis*. *Acta Botan Sin* (植物学报), 1983, 25: 142-144.
- Qian XL (钱秀丽), Cai CL (蔡楚伦), Yao SH (姚树汉). Study on the antileukemic principle of *M. guangxiensis*. *Acta Pharm Sin* (药理学学报), 1979, 14: 182-184.
- Li ZM (李朝明), Li BJ (李炳钧), Wang C (王春), *et al.* Characterization of three anticancer principles from *M. graciliramula* S J Pei & Y H Li. *Acta Pharm Sin* (药理学学报), 1981, 16: 635-637.
- Wang XF (王雪芬), Wei RF (韦荣芳), Chen JY (陈家源), *et al.* Study on antitumor constituents of *M. confertiflorus* J. Y. Luo I. Isolation and characterization of the constituents from the leaves. *Acta Pharm Sin* (药理学学报), 1981, 16(1): 59-61.
- Xu XY (许祥誉). A new pentacyclic triterpene from *M. orbiculata* C. Y. Wu. *Acta Botan Yunnan* (云南植物研究), 1982, 4: 166.
- Kutney JP, Hewitt GM, Lee G, *et al.* Studies with tissue cultures of the Chinese herbal plant, *Tripterygium wilfordii*. Isolation of metabolites of interest in rheumatoid arthritis, immunosuppression, and male contraceptive activity. *Canadian J Chem*, 1992, 70: 1455-1480.
- Takashi T, Kei Y, Ding L, *et al.* Four new and twelve known sapogenols from *Sophorae subprostrate* radix. *Chem Pharm Bull*, 1991, 39: 1908-1910.
- Mahato SB, Nandy AK, Roy G. Triterpenoids. *Phytochemistry*, 1992, 31: 2199-2249.
- Nakano K, Oose Y, Takaishi Y. A novel epoxy-triterpene and nortriterpene from callus cultures of *Tripterygium wilfordii*. *Phytochemistry*, 1997, 46: 1179-1182.
- Xu MZ, Ruan JL. Study of the chemical constituents of *Euonymus mupinensis* Loes, *et Rehd.* *Herald Med*, 2008, 27: 511-512.
- Nakagawa H, Takaishi Y, Fujimoto Y, *et al.* Chemical constituents from the Colombian medicinal plant *Maytenus laevis*. *J Nat Prod*, 2004, 67: 1919-1924.