

## 中越猕猴桃根化学成分研究

李典鹏<sup>1</sup>, 韦金育<sup>2</sup>, 陈月圆<sup>1</sup>, 李延<sup>2</sup>, 潘争红<sup>1</sup>, 曾振东<sup>2</sup>

(1. 广西壮族自治区广西植物研究所, 广西桂林 541006; 2. 广西民族医药研究所, 广西南宁 530001)

**摘要:** 用溶剂提取和硅胶柱层析分离的方法, 从中越猕猴桃(*Actinidia indochinensis*)的根部分离得到6个化合物, 根据其理化性质和波谱分析, 分别鉴定为: 2 $\alpha$ , 3 $\alpha$ , 24-三羟基-12-烯-28-齐墩果酸(I), 2 $\alpha$ , 3 $\alpha$ -二羟基-12-烯-28-乌苏酸(II), 2 $\alpha$ , 3 $\alpha$ , 19 $\alpha$ -三羟基-12-烯-28-乌苏酸(III), 熊果酸(IV),  $\beta$ -谷甾醇(V), 和 $\beta$ -胡萝卜甙(VI)。化合物I、II、III、VI为首次从该植物中获得。其中化合物I、II为首次从该属植物获得。

**关键词:** 中越猕猴桃; 12-烯-28-齐墩果酸; 12-烯-28-乌苏酸

**中图分类号:** Q946 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2004)02-0152-03

## Studies on the chemical constituents from the root of *Actinidia indochinensis*

LI Dian-peng<sup>1</sup>, WEI Jin-yu<sup>2</sup>, CHEN Yue-yuan<sup>1</sup>,  
LI Yan<sup>2</sup>, PAN Zheng-hong<sup>1</sup>, ZENG Zhen-dong<sup>2</sup>

(1. Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuangzu Autonomous Region and Academia Sinica, Guilin 541006, China; 2. Guangxi Institute of National Medicine, Nanning 530001, China)

**Abstract:** Solvent extract and silica gel column chromatography were used to isolate the constituents from the root of *Actinidia indochinensis* Merr. Six compounds were isolated and identified as: 2 $\alpha$ , 3 $\alpha$ , 24-trihydroxy-olean-12-en-28-oic acid (I), 2 $\alpha$ , 3 $\alpha$ -dihydroxy-urs-12-en-28-oic acid (II), 2 $\alpha$ , 3 $\alpha$ , 19 $\alpha$ -trihydroxy-urs-12-en-28-oic acid (III), ursolic acid (IV),  $\beta$ -sitosterol (V) and  $\beta$ -claucosteorol (VI) by spectral data and physicochemical properties. Compound I, II were isolated from *Actinidia* L. for the first time.

**Key words:** *Actinidia indochinensis* Merr.; Olean-12-en-28-oic acid; Urs-12-en-28-oic acid

中越猕猴桃(*Actinidia indochinensis*)为猕猴桃属植物中具有较大经济价值之一, 其果实大小均匀、含糖量高、系落叶藤本植物, 主要分布于广西、云南等中越边境一带。民间用其根治疗胃癌、鼻咽癌、乳腺癌等(江苏新医学院, 1997)。我们采用小鼠S180做实验模型, 对九种猕猴桃根提取物进行了初步抗肿瘤实验研究, 结果中越猕猴桃正丁醇提取物抑制率为48.8%, 具有良好的抗肿瘤活性。关于中越猕猴桃根的化学成分, 目前从该植物中报道了几种三萜化合物(覃益民等, 1999)。为了探索该植物

的有效成分, 进一步弄清其抗肿瘤机理, 我们结合药理跟踪筛选, 对中越猕猴桃根的化学成分进行进一步研究, 从其根部甲醇提取物中乙酸乙酯部分、正丁醇部分分离得到6个单体化合物。经光谱数据和理化性质的测定, 鉴定它们的结构分别为: 2 $\alpha$ , 3 $\alpha$ , 24-三羟基-12-烯-28-齐墩果酸(I), 2 $\alpha$ , 3 $\alpha$ -二羟基-12-烯-28-乌苏酸(II), 2 $\alpha$ , 3 $\alpha$ , 19 $\alpha$ -三羟基-12-烯-28-乌苏酸(III), 熊果酸(IV),  $\beta$ -谷甾醇(V), 和 $\beta$ -胡萝卜甙(VI)。化合物I、II、III、VI为首次从该植物中获得。

收稿日期: 2003-05-26 修订日期: 2003-08-27

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30060093); 广西自然科学基金匹配项目(0135021)。

作者简介: 李典鹏(1968-), 男, 广西资源人, 副研究员, 从事植物资源的开发利用研究。

## 1 仪器与材料

$^1\text{H}$ NMR 和  $^{13}\text{C}$ NMR 用 Bruker AM-400 型和 DRX-500 型核磁共振仪测定, TMS 为内标, Perkin-Elmer 983G 型 IR 光谱仪; UG Autospec 3000 型质谱仪; XL 微量熔点测定仪(未校正); 薄层层析用高效硅胶 H 板和柱层析用硅胶(200~300 目)均为青岛海洋化工厂产品。植物于 2001 年 9 月采自广西上思县十万大山自然保护区, 经广西植物研究所李瑞高教授鉴定为中越猕猴桃 (*Actinidia chinensis*)。

## 2 提取与分离

中越猕猴桃根 2.8 kg, 切碎为片状, 80 °C 以下烘干, 用甲醇回流提取 3 次, 提取液于 60 °C 减压浓缩至干, 得 180 g 深黄色流浸膏, 按 1:1 比例拌入硅藻土, 真空低温抽干研碎成粉末, 该粉末依次用乙酸乙酯、正丁醇回流提取 2 次, 分别合并乙酸乙酯提取液和正丁醇提取液, 减压回收溶剂得乙酸乙酯提取部分浸膏 80 g (Fr. A) 和正丁醇提取部分的浸膏 28.5 g (Fr. B)。

Fr. A 部分进行硅胶柱层析, 用氯仿-甲醇(99:1, 50:1, 20:1, 5:1) 梯度洗脱, 每 30 mL 为 1 份, 共收集 120 份。TLC 薄层检测, 合并相同斑点, 其中 Fr30-Fr45、Fr60-Fr65 部分经甲醇反复重结晶得白色针状晶体 (V, 100 mg) 和 (IV, 150 mg)。Fr80-Fr100 合并为 A。A 再经反复硅胶柱层析分离, 氯仿-甲醇(20:1~1:1) 梯度洗脱, 甲醇重结晶得化合物 I (300 mg) 和 II (85 mg)。Fr. B 部分进行硅胶柱层析, 以氯仿-甲醇梯度洗脱, 相同部分合并得 B 部分和化合物 VI (50 mg), B 部分再经硅胶柱层析, 乙酸乙酯-丙酮(5:1) 洗脱, 得化合物 III (40 mg)。化合物 I~III 的结构见图 1。

## 3 结构鉴定

化合物 I~VI 对 Libermann-Burchard 反应均呈阳性, 示为三萜化合物。I 和 II 的质谱基峰为 248, 同时出现了  $m/e$  为 203、189、133 等丰度较大的碎片离子峰, 提示它们具有 12-烯-28-齐墩果酸或者 12-烯-28-乌苏酸骨架, 同时也提示 D/E 环除了羟

基外没有其它含氧取代基 (Udzikewicz, 1964); 此外, 化合物 II 的  $^1\text{H}$ NMR ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) 于 2.61 ppm 处的一个二重峰质子的信号, 偶合常数 10.8 Hz, 这是 12-烯-28-乌苏酸  $\text{C}_{18}$  位质子的特征峰, 而化合物 I 的环上质子共振信号出现在 2.83 ppm 处 ( $\delta$  2.83, dd,  $J=15.5\text{Hz}$ , 18-H)。比较化合物 I、II 的  $^{13}\text{C}$ NMR 谱, 化合物 I 的 12、13 位双键碳以及 18、19、20、29、30 碳的化学位移分别为 122.5、144.8 ( $>140\text{ppm}$ ) 和 42.0、46.5、30.9、33.2、33.7 ppm, 而化合物 II 相应碳的化学位移 ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) 分别为 125.4、139.1、53.4、3.3、39.2、17.5、21.2 ppm, 这进一步证实化合物 I 具有 12-烯-28-齐墩果酸骨架而化合物 II 具有 12-烯-28-乌苏酸骨架 (姚新生, 1994; 龚运维, 1986)。化合物 III 的质谱峰出现  $m/e$  为 264 和 246, 示其在  $\text{C}_{18}$  上有一个羟基取代, 而它的  $^{13}\text{C}$ NMR 谱在 128.1 和 138.8 ppm 的共振信号证实化合物 III 具有 12-烯-28-乌苏酸骨架而非 12-烯-28-齐墩果酸骨架。

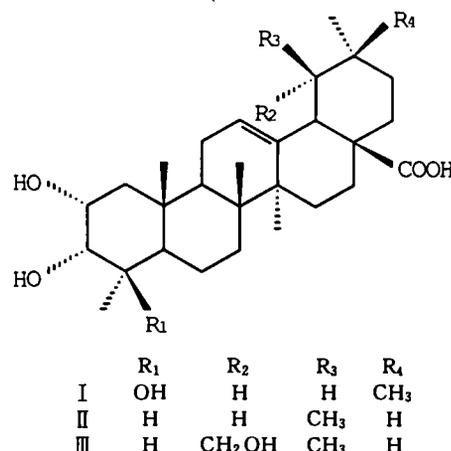


图 1 化合物 I~III 的化学结构式

Fig. 1 Structure of compounds I~III

化合物 I: 白色针状结晶(甲醇重结晶), mp: 280~282 °C。分子式  $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_5$ 。EIMS  $m/e$ : 488 ( $\text{M}^+$ ), 471, 455, 442, 409, 248 (基峰), 239, 203, 189, 133。IR<sub>MAX</sub>  $\text{cm}^{-1}$ : 3511 (OH), 695 (COOH), 1645。 $^1\text{H}$ NMR ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ )  $\delta$ : 0.95, 1.00, 1.10, 1.45 (18H,  $6\times\text{CH}_3$ ), 2.83 (d d,  $J=15.5\text{Hz}$ , H-18), 3.55 和 3.90 (each H, d,  $=11.8\text{Hz}$ , 24Hz), 4.15 (1H, br. s,  $W_{1/2}=4\text{Hz}$ , 3-H), 4.40 (1H, d,  $J=3\text{Hz}$ , 2-H), 5.42 (1H, t,  $J=4\text{Hz}$ , H-12)。 $^{13}\text{C}$ NMR ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) 数据见表 1, 所有的波谱数据与文献 (Kojima 和 Ogura, 1986) 报道的化合物 2 $\alpha$ , 3 $\alpha$ , 24-trihydroxy-olean-12-en-28-oic acid 相吻合, 从而推出化合物 I

的结构为 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,24-三羟基-12-烯-28-齐墩果酸。

化合物 II: 白色粉末, Libarmann-Burchard 反应为阳性, 在紫外灯(254 nm)无荧光斑点, 5%硫酸-乙醇溶液显蓝色。分子式 C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>4</sub>, EIMS m/e: 472(M<sup>+</sup>), 248(基峰), 203, 189, 133。IR<sub>MAX</sub> cm<sup>-1</sup>: 3525(OH), 1660(-COOH), 1030(OH), 827(C=C)。<sup>1</sup>HNMR(C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)  $\delta$ : 0.73(3H, s, 26-H), 0.84(3H, s, 24-H), 0.85-0.93(6H, 2d, 29-H and 30-

H), 0.94(3H, s, 25-H), 1.01(3H, s, 23-H), 1.07(3H, s, 27-H), 2.61(d, J=10.8Hz, H-18), 3.40(d, J=3Hz, H-3), 3.97(m, W 1/2=22Hz, H-2), 5.22(t, J=4Hz, H-12)。<sup>13</sup>CNMR(C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) 数据见表 1; 该化合物所有的波谱数据与文献(Kojima 和 Ogura, 1986)报道的化合物 2 $\alpha$ , 3 $\alpha$ -dihydroxyurs-12-en-28-oic acid 一致, 从而推定化合物 II 结构为 2 $\alpha$ , 3 $\alpha$ -二羟基-12-烯-28-乌苏酸。

表 1 化合物 I、II、III、VI 的<sup>13</sup>CNMR 谱化学位移数据  
Table 1 <sup>13</sup>CNMR chemical shifts of I, II, III, VI in C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N

Carbon	I	II	III	VI	Carbon	I	II	III	VI	Carbon	I	II	III	VI
1	43.0	47.8	42.9	37.1	13	144.8	139.1	138.8	56.8	25	17.1	17.3	16.7	29.4
2	66.2	68.4	66.1	30.2	14	42.2	42.4	42.9	24.4	26	17.4	17.3	17.3	19.0
3	74.3	83.4	79.4	78.0	15	28.3	28.5	29.3	28.4	27	26.1	23.7	24.7	19.8
4	45.1	39.7 <sup>+</sup>	38.7	39.9	16	23.8	24.7	26.4	56.2	28	180.1	179.7	180.6	23.4
5	49.5	55.7	38.7	140.8	17	46.7	47.9	48.3	12.0	29	33.2	17.5	27.1	12.2
6	19.0	18.7	18.7	121.8	18	42.0	53.4	54.6	19.2	30	23.7	21.2	16.8	
7	33.8	33.3	33.6	32.0	19	46.5	39.3	72.8	19.2	Glu C <sup>1'</sup>	—	—	—	102.5
8	40.1	39.8 <sup>+</sup>	40.7	50.3	20	30.9	39.2	42.4	36.2	2'	—	—	—	75.2
9	48.2	47.9	47.7	36.8	21	34.3	30.9	27.0	19.2	3'	—	—	—	78.0
10	38.7	38.3	38.8	21.1	22	33.2	37.2	38.5	34.2	4'	—	—	—	71.6
11	23.7	23.5	24.1	39.2	23	23.7	29.1	29.4	26.4	5'	—	—	—	78.5
12	122.5	125.4	128.1	42.3	24	65.3	16.8	22.3	46.0	6'	—	—	—	62.7

化合物 III: 无色结晶, mp: 270~271 °C(甲醇重结晶), C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>5</sub>, EIMS m/e: 488(M<sup>+</sup>), 470, 442, 424, 409, 264, 246, 224, 223, 218。IR<sub>MAX</sub> cm<sup>-1</sup>: 3560(OH), 1690, 1612, 1487, 1361。<sup>1</sup>HNMR(C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)  $\delta$ : 0.96, 0.95, 1.13, 1.15, 1.45(15H, s, 5×CH<sub>3</sub>), 1.12(3H, d, J=7.2Hz, H-30), 1.65(3H, t, J=3.1Hz, H-12)。<sup>13</sup>CNMR 谱见表 1。以上波谱数据与文献(Chang 和 Cao, 1992)报道的化合物 2 $\alpha$ , 3 $\alpha$ , 19 $\alpha$ -trihydroxy-urs-12-en-28-oic acid 相一致, 从而推定化合物 III 结构为 2 $\alpha$ , 3 $\alpha$ , 19 $\alpha$ -三羟基-12-烯-28-乌苏酸。

化合物 IV: 无色针晶, mp: 256~259 °C, IV 与标准样品熊果酸薄层析 Rf 值相同, 混合熔点不下降, IR、MS 和<sup>1</sup>HNMR 数据与熊果酸一致, 故确定为熊果酸。

化合物 V: 无色片晶, mp 138~140 °C, 其两种以上的展开剂 Rf 值与标准品  $\beta$ -谷甾醇一致, 混合熔点不下降, 故确定为  $\beta$ -谷甾醇。

化合物 VI: 白色结晶(甲醇重结晶), mp: 298~300 °C, Libermann-Burchard 反应阳性, 表明分子

中含有甾体母核, Molish 反应阳性, 表明分子中含有糖。IR 给出羟基(3400.00 cm<sup>-1</sup>), 甲基(2959, 2868, 1466, 1379 cm<sup>-1</sup>), 亚甲基(2936, 2848 cm<sup>-1</sup>), 双键(1640 cm<sup>-1</sup>), 碳氧键(1163, 1076, 1024 cm<sup>-1</sup>)的特征吸收, <sup>13</sup>CNMR 表明分子中含有一分子葡萄糖, 甙元部分含有一个双键( $\delta$ 121.8,  $\delta$ 140.8)和一个羟基( $\delta$ 78.0), 甙元中其它碳的化学位移与  $\beta$ -谷甾醇相应各碳的  $\delta$  值相近, 提示 VI 可能是  $\beta$ -谷甾醇的葡萄糖甙。VI 经酸水解, 用薄层层析检测甙元, 其甙元 Rf 值与  $\beta$ -谷甾醇相同, 经纸层析检出, 其糖部分显示单一斑点, 且 Rf 值与 D-葡萄糖相同, 另外, VI 的<sup>13</sup>CNMR 与标准  $\beta$ -胡萝卜甙(楼凤昌等, 1986)的完全一致(表 1)。故证明化合物 VI 为  $\beta$ -谷甾醇-D-葡萄糖甙( $\beta$ -胡萝卜甙)。

日本福岡大学野中源一郎教授代测各项光谱, 在此表示感谢。

#### 参考文献:

江苏新医学院. 1997. 中药大辞典[M]. 上海: 上海人民出版社, 440, 2210.

(下转第 173 页 Continue on page 173)

- phyridium* sp. polysaccharide against herpes simplex viruses in vitro and in vivo[J]. *J Biochem Biophys Methods*, **50**(2~3): 189-200.
- Jones R, Speer H, Kury W. 1963. Studies on the growth of red alga *Porphyridium cruentum*[J]. *Physiol Plant*, **16**: 636-643.
- Kyle D. 1987. The biochemical basis for photoinhibition of photosystem II [A]. In: Kyle D, Osmond CB, Arntzen CJ (eds). *Photoinhibition* [C]. Amsterdam: Elsevier Publishers, 197-226.
- Long SP, Humphries S, Falkowski PG. 1994. Photoinhibition of photosynthesis in nature[J]. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, **45**: 633-662.
- Talarico L. 1999. Pigmenti fotosinteticie fotobiologia delle alghe[J]. *Boll Soc Adri Sci*, **77**: 31-46.
- Mariani P, Tolomio C, Braghetta P. 1985. An ultrastructural approach to the adaptive role of the cell wall in the intertidal alga *Fucus virsoides*[J]. *Protoplasma*, **128**: 208-217.
- Neale PJ. 1987. Algal photoinhibition and photosynthesis in the aquatic environment [A]. In: Kyle DJ, Osmond CB, Arntzen CJ (eds). *Photoinhibition* [C]. Amsterdam: Elsevier Publishers, 39-65.
- Ramus E. 1972. The production of extracellular polysaccharides by the unicellular red alga *Porphyridium aeruginosum*[J]. *J Phycol*, **8**: 97-111.
- Ritchie RJ, Larkum DV. 1982. Cation exchange properties of the cell-wall of *Enteromorpha intestinalis*[J]. *J Exper Bot*, **33**: 125-139.
- Rotem A, Merchuk JC, Arad (Malis). 1992. Inhibition of the Growth of the Red Microalga *Porphyridium* sp. by limitation of nutrient transfer[J]. *J Chem Tech Biotechnol*, **55**: 263-267.
- Torzillo G, Vonshak A. 1994. Effect of light and temperature on the photosynthetic activity of the cyanobacterium *Spirulina platensis* [J]. *Biomass Bioenergy*, **6**: 399-403.
- Schirmer T, Bode W, Huber R, et al. 1985. X-ray crystallographic structure of the light-harvesting biliprotein C-phycocyanin from the thermophilic cyanobacterium *Mastigocladus laminosus* and its resemblance to globin structures[J]. *J Mol Biol*, **184**: 272-277.
- Schirmer T, Huber R, Schneider M, et al. 1986. Crystal structure analysis and refinement at 2.5 Å of hexameric C-phycocyanin from the cyanobacterium *Agmenellum quadruplicatum*, The molecular model and its implication for light harvesting[J]. *Mol Biol*, **188**: 651-676.
- Tyystjarvi E, Aro E-M. 1996. The rate constant of photoinhibition, measured in lincomycin-treated leaves, is directly proportional to light intensity[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, **93**: 2 213-2 218.
- Vonshak A, Kancharaksa N, Bunnag B, et al. 1996. Role of light and photosynthesis on the acclimation process of the cyanobacterium *Spirulina platensis* to salinity stress[J]. *Appl Phycol*, **8**: 119-124.
- Xiaocan L, Vonshak A. 2003. Does adaptation to increase concentrations of NaCl modify the response of *Porphyridium* sp. to other environmental stresses? [J]. *J Guangxi Normal University*, **3**: 72-76.

( 上接第 154 页 Continue from page 154 )

- 姚新生. 1994. 天然药物化学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 336.
- 龚运维. 1986. 天然有机化合物的<sup>13</sup>C核磁共振化学位移[M]. 云南: 云南科技出版社, 130.
- Cheng DL, Cao XP. 1992. Pomolic acid derivatives from the root of *Sanguisorba officinalis*[J]. *Phytochemistry*, **31**(4): 1 317-1 320.
- Kojima H, Ogura H. 1986. Triterpenoids from *Prunella vulgaris*[J]. *Phytochemistry*, **25**(3): 729-733.
- Lou FC(楼凤昌), Ding LS(丁林生), Li LL(李玲玲), et al. 1986. Studies on the chemical constituents from *Aristolochia contorta* Buge. (北马兜铃的化学成分的研究)[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*(中草药), **17**(9): 6-7.
- Qin YM(覃益民), Huang CS(黄初升), Chen XH(陈希慧), et al. 1999. Studies on the Triterpenoids constituents of Indochina *Actinidia* root (中越猕猴桃根三萜化学成分的研究)[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*(中草药), **50**(5): 323-326.
- Udzikewicz H. 1964. Structure elucidation of products by mass spectroscopy[J]. *Holden Day Press*, **11**: 122.