

# 藤三七中一个新黄烷醇和抗 HIV 活性成分

顾琼<sup>1,4</sup>, 马云保<sup>1,3</sup>, 张雪梅<sup>1,3</sup>, 王睿睿<sup>2,4</sup>, 周俊<sup>1,3</sup>, 郑永唐<sup>2,3</sup>, 陈纪军<sup>1,3</sup>

1. 中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 昆明 650204;
2. 中国科学院昆明动物研究所动物模型与人类疾病机理重点实验室分子免疫药理学实验室, 昆明 650223;
3. 中国科学院西南基地抗病毒天然药物联合实验室, 昆明 650204; 4. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

**摘要** 利用各种色谱(硅胶和凝胶)方法, 从藤三七[*Boussingaultia gracilis* Miers var. *pseudobaselloides* Bailey] 的 70% (体积分数) 的乙醇提取物中分离得到 2 个黄烷醇类化合物(**1**, **2**)和 4 个黄酮类化合物(**3**~**6**)。采用 UV, IR, MS 和 1D, 2D NMR 方法, 分别鉴定出如下化合物: 7-羟基-5-甲氧基-8-甲基-6-甲酰基-3,4-黄烷二醇, 命名为藤三七醇 A(**1**); 4,7-二羟基-5-甲氧基-8-甲基-6-甲酰基黄烷(**2**); 7-*O*-methylunonal(**3**); 5,7-二羟基-6,8-二甲基-2-苯基-4*H*-1-苯并吡喃-4-酮(**4**); Desmosflavone(**5**) 和 Demethoxymatteucinol(**6**)。其中化合物 **1** 是一个新的黄烷二酚化合物, 化合物 **2**~**6** 为首次从该植物中分离得到。抗 HIV-1 活性筛选结果表明: 化合物 **1**, **2**, **5**, **6** 对 HIV-1 诱导合胞体的形成具有一定的抑制作用, 其半数有效浓度 (EC<sub>50</sub>) 分别为 45.09, 48.73, 55.47 和 82.75 μmol/L, 治疗指数 (TI) 分别为 1.41, 1.20, 7.15 和 >8.51。

**关键词** 藤三七; 藤三七醇 A; 黄烷醇; 抗 HIV 活性

中图分类号 O629.61

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2007)08-1508-04

藤三七是落葵科 (Basellaceae) 植物 *Boussingaultia gracilis* Miers var. *pseudobaselloides* Bailey 的珠芽。该植物是一种药食同源植物, 有滋补强壮、消肿止痛的功效, 常用于腰膝痹痛, 病后体弱、骨折和跌打损伤<sup>[1]</sup>。由于其珠芽与五加科植物三七 [*Panax notoginseng* (Burk) F. H. Che] 的根茎相似, 所以当地人称之为“藤三七 (Madeira-Vine)”, 常与三七混用。三七的化学成分已被充分研究, 而国内外至今仅见 Lin Huey-Yi 等<sup>[2]</sup> 采用酸解的方法从藤三七的 95% 乙醇提取物中分离得到 6 个三萜苷元。为了从化学角度区分藤三七与三七的不同, 并为以后更好地利用该植物提供科学依据, 本文对该植物的化学成分及抗 HIV-1 活性进行了研究。从其乙酸乙酯部分分离得到 6 个化合物, 其结构用波谱数据分析确证, 其中化合物 **1** 为新的黄烷二酚类化合物, 而其余 5 个化合物均为首次从该植物中分离得到的化合物。抗 HIV-1 活性筛选结果表明: 化合物 **1**, **2**, **5**, **6** 均对 HIV-1 诱导的细胞病变有一定的抑制作用。

## 1 实验部分

### 1.1 材料与仪器

药材于 2004 年 3 月采自中国科学院昆明植物研究所植物园, 并由昆明植物研究所雷立功博士鉴定为 *Boussingaultia gracilis* Miers var. *pseudobaselloides* Bailey, 标本(2004-03-24)存放在中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室。薄层层析和柱层析硅胶均为青岛美高集团公司产品; Sephadex LH-20 为 Pharmacia 公司产品。

XRC-1 显微熔点测定仪; Jasco P-1020 旋光仪; UV210A 型紫外分光光度计; Bio-Rad FTS-135 红外光谱仪; Autospec-3000 和 API QSTAR Pulsar LC-Q-TOF 型质谱仪; Bruker AM-400 或 DRX-500 光谱仪 (TMS 为内标)。

收稿日期: 2006-09-25.

基金项目: 云南省 2005~2007 人才培养项目、云南省科技厅新药专项 (批准号: 2004XY01) 和国家“十五”科技攻关计划 (批准号: 2004BA719A14) 资助。

联系人简介: 陈纪军 (1965 年出生), 男, 博士, 研究员, 博士生导师, 主要从事抗病毒天然药物研究与开发。

E-mail: chenjj@mail.kib.ac.cn

## 1.2 分离与提取

将 11 kg 藤三七粉碎后用 8 倍量的体积分数为 70% 的乙醇加热回流提取 3 次, 每次 3 h, 将提取液合并浓缩至小体积, 分别用乙酸乙酯和正丁醇萃取, 得乙酸乙酯部分(15 g)和正丁醇部分(100 g). 乙酸乙酯部分用氯仿-甲醇混合溶剂溶解, 吸附在 15 g 粗硅胶上, 经硅胶柱(300 g, 200~300 目)分离, 用石油醚-乙酸乙酯(体积比 90:10→60:40)梯度洗脱, 合并硅胶 TLC 检查出的相同部分, 得到 7 个组分: Fr. A~G. Fr. B(253 mg) 经硅胶柱层析(20 g, 200~300 目)分离, 石油醚-丙酮(体积比 90:10)洗脱, 得到 5 个组分 Fr. B1~B5; Fr. B2(160 mg) 再经硅胶柱层析(16 g, 200~300 目)分离, 氯仿-丙酮(体积比 95:5)洗脱, 得到化合物 **3**(23 mg). Fr. C(1.4 g) 反复经硅胶柱层析(40 g, 200~300 目)分离, 氯仿-丙酮(体积比 97:3)分离纯化, 得到化合物 **4**(10 mg). Fr. D(1.2 g) 经硅胶柱层析(36 g, 200~300 目)分离, 石油醚-乙酸乙酯(体积比 70:30)洗脱, 得到 7 个组分 Fr. D1~D7; Fr. D4(120 mg) 经硅胶柱层析(12 g, 200~300 目)分离, 氯仿-丙酮(体积比 95:5)洗脱得到化合物 **6**(20 mg). Fr. E(317 mg) 经硅胶柱层析(30 g, 200~300 目)分离, 石油醚-乙酸乙酯(体积比 70:30)洗脱, 再经硅胶柱层析(20 g, 200~300 目)分离, 氯仿-丙酮(体积比 95:5)洗脱, 得到化合物 **2**(15 mg). Fr. F(2.0 g) 经硅胶柱层析(60 g, 200~300 目)分离, 氯仿-乙酸乙酯(体积比 70:30)洗脱, 得到 3 个组分 Fr. F1~F3; Fr. F2(300 mg) 经 Sephadex LH-20 分离, 氯仿-甲醇(体积比 1:1)洗脱, TLC 检测合并后, 再经硅胶柱层析(10 g, 200~300 目)分离, 石油醚-乙酸乙酯(体积比 70:30)洗脱, 得到化合物 **1**(15 mg). Fr. F1(500 mg) 经硅胶柱层析(25 g, 200~300 目)分离, 氯仿-丙酮(体积比 90:10)洗脱, 再反复重结晶得到化合物 **2**(40 mg).

藤三七醇 A (Bougracol A, **1**):  $C_{18}H_{18}O_6$ , 白色粉末;  $[\alpha]_D^{29} = +0.76^\circ$  ( $c$  0.88,  $CHCl_3$ ); UV ( $CHCl_3$ ),  $\lambda_{max}/nm$ (lg $\epsilon$ ): 295(4.29), 240(3.86), 198(3.92); IR (KBr),  $\tilde{\nu}_{max}/cm^{-1}$ : 3441, 2924, 2854, 1639, 1592, 1467, 1434, 1396, 1363, 1300, 1286, 1163, 1117, 934, 700; 正离子 HR-ESIMS ( $C_{18}H_{18}O_6Na$  计算值): 353.1001 [ $M + Na$ ] $^+$  (353.1000 [ $M + Na$ ] $^+$ ); EIMS,  $m/z$ : 330 [ $M$ ] $^+$ , 312 [ $M - H_2O$ ] $^+$ , 284, 211, 193, 164, 120, 91, 83, 69;  $^1H$  NMR 和  $^{13}C$  NMR 数据见表 1.

Table 1  $^1H$  and  $^{13}C$  NMR data of compound **1** ( $CDCl_3$ )

Position	$\delta_H^a$ (mult., J/Hz)	$\delta_C^b$ (mult.)	Position	$\delta_H^a$ (mult., J/Hz)	$\delta_C^b$ (mult.)
2	5.17(d, 9.8)	76.4(d)	1'		137.0(s)
3	3.89(dd, 9.8, 3.2)	70.7(d)	2', 6'	7.40—7.49(overlapped)	127.5(d)
4	5.06(d, 3.2)	61.4(d)	3', 5'	7.40—7.49(overlapped)	128.8(d)
5		162.7(s)	4'	7.40—7.49(overlapped)	129.0(d)
6		110.1(s)	CHO	10.08(s)	192.4(d)
7		162.3(s)	OCH <sub>3</sub>	4.07(s)	66.4(q)
8		109.1(s)	CH <sub>3</sub>	2.02(s)	7.2(q)
9		160.3(s)	OH	12.10(s)	
10		108.4(s)			

a. Recorded at 400 MHz; b. recorded at 100 MHz.

化合物 **2**~**6** 为已知化合物, 其 NMR 和 MS 数据与文献对照, 鉴定其结构为 4,7-二羟基-5-甲氧基-8-甲基-6-甲酰基黄酮(**2**)<sup>[3]</sup>、7-O-Methylunonal(**3**)<sup>[4]</sup>、5,7-二羟基-6,8-二甲基-2-苯基-4H-1-苯并吡喃-4-酮(**4**)<sup>[5]</sup>、Desmosflavone(**5**)<sup>[6]</sup> 和 Demethoxymatteucinol(**6**)<sup>[7]</sup>. 化合物 **1**~**6** 的结构如图 1 所示.

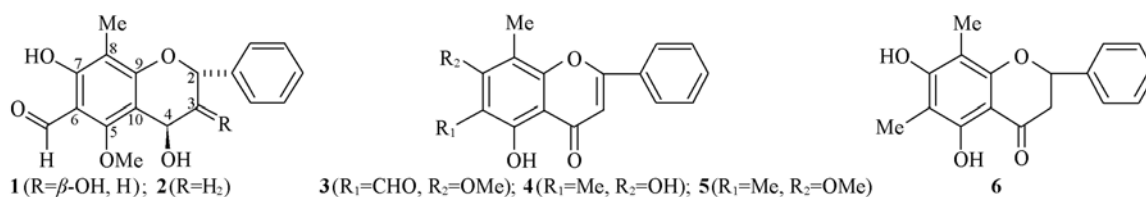


Fig. 1 Structures of compounds **1**—**6**

## 1.3 抗 HIV-1 活性分析

C8166 细胞系用含 10% 热灭活小牛血清的 RPMI-1640 培养基培养, HIV<sub>III</sub>B 病毒从慢性感染的 H9

细胞培养上清液中获得.

化合物对 C8166 细胞的毒性检测: 将  $4 \times 10^5$ /mL C8166 细胞悬浮液 100  $\mu$ L 与不同浓度的待测化合物溶液 100  $\mu$ L 混合, 于 37  $^{\circ}$ C, 体积分数为 5% 的  $\text{CO}_2$  培养箱中培养 72 h, 加入 20  $\mu$ L 5 mg/mL MTT, 温育 4 h, 弃去上清液, 加入 100  $\mu$ L 50% DMF-20% SDS, 甲瓚完全溶解后, 用 Bio-Tek ELx 800 ELISA 仪读取 595 nm/630 nm 下的 OD 值, 计算细胞存活率和半数细胞存活时的化合物浓度  $\text{CC}_{50}$  (50% cytotoxic concentration).

化合物对 HIV-1 诱导细胞病变的抑制: 在 100  $\mu$ L 含有不同浓度的待测化合物的 RPMI-1640 培养液中, 加入 C8166 细胞 ( $4 \times 10^5$ /mL) 及 HIV-1<sub>III<sub>B</sub></sub>, 感染复数 (M. O. I.) 为 0.06, 最终体积为 200  $\mu$ L. 以 AZT 为阳性对照药物. 于 37  $^{\circ}$ C, 体积分数为 5% 的  $\text{CO}_2$  培养箱中培养 3 d, 在倒置显微镜下计数合胞体的数目, 计算各个浓度药物对合胞体形成的抑制率和抑制 50% 合胞体形成时的化合物浓度  $\text{EC}_{50}$  (50% effective concentration).

## 2 结果与讨论

### 2.1 化合物 1 的结构鉴定

化合物 1 为白色粉末, EIMS 给出分子离子峰  $m/z$ : 330  $[\text{M}]^+$ , 由正离子高分辨 HR-ESIMS 谱推定其分子式为  $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_6$ , 不饱和度为 10. UV 光谱在 259 nm 处有最大吸收, 提示该化合物含有芳环且含有与芳环共轭的基团. IR 吸收光谱在 3441, 1638, 1592, 1434  $\text{cm}^{-1}$  处有强吸收, 暗示分子中存在羟基、共轭羰基和芳环.  $^{13}\text{C}$  NMR 谱给出 18 个碳信号, 包括 1 个单取代芳环 [ $\delta_{\text{C}}$  129.0 (d), 128.8  $\times$  2 (d), 127.5  $\times$  2 (d) 和 137.0 (s)]; 1 个全取代的芳环 [ $\delta_{\text{C}}$  108.4 (s), 109.1 (s), 110.1 (s), 160.3 (s), 162.3 (s), 162.7 (s)] 和 1 个甲酰基 [ $\delta_{\text{C}}$  192.4 (d)]. 另外, 在高场处给出 3 个含氧次甲基 [ $\delta_{\text{C}}$  76.4 (d), 70.7 (d) 和 61.4 (d)], 1 个甲氧基 [ $\delta_{\text{C}}$  66.4 (q)] 和 1 个甲基 [ $\delta_{\text{C}}$  7.2 (q)] 碳信号.  $^1\text{H}$  NMR 谱显示 1 个酚羟基质子 [ $\delta_{\text{H}}$  12.10 (s)], 1 个甲酰基质子 [ $\delta_{\text{H}}$  10.08 (s)], 5 个芳环质子 [ $\delta_{\text{H}}$  7.40 ~ 7.49 (m)], 2 个二重峰质子 [ $\delta_{\text{H}}$  5.17 (1H, d,  $J=9.8$  Hz, H2), 5.06 (1H, d,  $J=3.2$  Hz, H4)], 1 个双二重峰质子 [ $\delta_{\text{H}}$  3.89 (1H, dd,  $J=9.8, 3.2$  Hz, H3)] 和 1 个甲氧基 [ $\delta_{\text{H}}$  4.07 (s)] 的质子信号. 由以上数据可以看出该化合物是一个黄烷类化合物. 比较化合物 1 与化合物 2 的  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR 谱数据, 化合物 1 比化合物 2 少了 1 个亚甲基而多了 1 个次甲基信号, 因此推定该化合物是 1 个 3 位羟基取代的黄烷醇. 依据同属植物化学成分生源关系<sup>[8,9]</sup>, 甲酰基和甲基一般在 A 环的 6 位和 8 位. 结合 HMQC 和 HMBC 谱分析 (图 2), HMBC 谱给出甲基的氢质子 ( $\delta_{\text{H}}$  2.02) 与  $\delta_{\text{C}}$  109.1, 162.3 和 160.3 碳信号相关, 甲酰基质子 ( $\delta_{\text{H}}$  10.08) 与  $\delta_{\text{C}}$  110.1, 162.7 碳相关, 而只见到 1 个氢质子  $\delta_{\text{H}}$  5.06 (H4) 与  $\delta_{\text{C}}$  160.3 (C9) 的碳相关, 故可以推出甲基在 8 位, 而甲酰基应在 6 位. 同时 HMBC 谱也给出羟基质子与  $\delta_{\text{C}}$  109.1 和 162.3 的碳相关, 提示羟基取代在 7 位, 进一步推定甲氧基取代在 5 位. 通过分析 H2 与 H3, H4 与 H3 和 H3 与 H2, H4 的偶合常数 ( $J_{2,3}=9.8$  Hz,  $J_{4,3}=3.2$  Hz,  $J_{3,2}=9.8$  Hz,  $J_{3,4}=2.3$  Hz), 推定 H3 与 H4 处于顺式, 且与 H2 处于反式构型, 从而推定出该化合物的相对构型. 因此, 该化合物的结构推定为: 7-羟基-5-甲氧基-8-甲基-6-甲酰基-3,4-黄烷二醇.

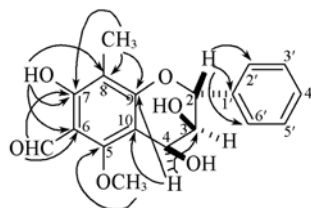


Fig. 2 Key HMBC of compound 1

### 2.2 化合物的抗 HIV 活性

采用 MTT 法检测化合物 1, 2, 5, 6 对 C8166 细胞的毒性. 以 AZT 为阳性对照药物, 测定化合物对 HIV-1 诱导合胞体形成的抑制率 (表 2), 活性测定方法参照文献 [10,11]. 结果表明: 化合物 1 和 2 仅具有弱的抗 HIV-1 活性, 其  $\text{EC}_{50}$  分别为 45.09 和

Table 2 Anti-HIV activities and cytotoxicities of compounds 1, 2, 5, 6

Compd.	$\text{EC}_{50}$ / ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$\text{CC}_{50}$ / ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	TI
1	45.09	63.36	1.41
2	48.73	58.25	1.20
5	55.47	396.55	7.15
6	82.75	>704.23	>8.51
AZT*	$1.08 \times 10^{-2}$	5091.86	471883

\* AZT, an anti-HIV agent used as positive control.

55.47  $\mu\text{mol/L}$ , 治疗指数 (TI) 分别为 1.41 和 1.20。化合物 **5** 和 **6** 对 HIV-1 有较好抑制活性, 其抑制胞体形成的  $\text{EC}_{50}$  分别为 55.47 和 82.75  $\mu\text{mol/L}$ ; 治疗指数分别为 7.15 和大于 8.51。由于化合物 **3** 在 DMSO 中很难溶解, 而化合物 **4** 的量较少, 所以没有对这两个化合物的活性进行评价。

### 参 考 文 献

- [1] WU Zheng-Yi (吴征镒). Compendium of New China (Xinhua) Herbal (新华本草纲要), Vol I [M], Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1990: 49
- [2] Lin H. Y., Kuo S. C., Lee Chao P. D., *et al.*. J. Nat. Prod. [J], 1988, **51**: 797—798
- [3] Monache F. D., Menichini F., Suarez L. E. C.. Gazz. Chim. Ital. [J], 1996, **126**: 275—278
- [4] Byrne L. T., Cannon J. R., Gawad D. H., *et al.*. Aust. J. Chem. [J], 1982, **35**: 1851—1858
- [5] Hauteville M., Gaillard P., Kaouadji M., *et al.*. Liebigs Ann. [J], 1996: 1217—1222
- [6] Wu J. H., Liao S. X., Liang H. Q., *et al.*. Chin. Chem. Lett. [J], 1994, **5**(3): 211—212
- [7] Basnet P., Kadota S., Shimizu M., *et al.*. Chem. Pharm. Bull. [J], 1993, **41**(10): 1790—1795
- [8] Joshi B. S., Gawad D. H.. Indian. J. Chem. [J], 1974, **12**: 1033—1037
- [9] Chopin J., Hauteville M., Joshi B. S., *et al.*. Phytochemistry [J], 1978, **17**(2): 332—334
- [10] Zhang G. H., Wang Q., Chen J. J., *et al.*. Biochem. Biophys. Res. Commun. [J], 2005, **334**(3): 812—816
- [11] Zheng Y. T., Zhang W. F., Ben K. L., *et al.*. Immunopharmacol. Immunotoxicol. [J], 1995, **17**: 69—79

## One New Flavanoid and Anti-HIV Active Constituents from *Boussingaultia gracilis* Miers var. *pseudobaselloides* Bailey

GU Qiong<sup>1,4</sup>, MA Yun-Bao<sup>1,3</sup>, ZHANG Xue-Mei<sup>1,3</sup>, WANG Rui-Rui<sup>2,4</sup>, ZHOU Jun<sup>1,3</sup>,  
ZHENG Yong-Tang<sup>2,3</sup>, CHEN Ji-Jun<sup>1,3\*</sup>

(1. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany,  
Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China;

2. Laboratory of Molecular Immunopharmacology, Key Laboratory of Animal Models and Human Diseases Mechanisms,  
Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China;

3. The Joint-Laboratory of Antiviral Natural Medicines, Kunming Branch, Chinese Academy of Sciences,  
Kunming 650204, China;

4. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

**Abstract** *Boussingaultia gracilis* Miers var. *pseudobaselloides* Bailey (Basellaceae) is a folk medicine used as an analgesic and supplements, only a few research was reported on the chemical constituents of this plant. This paper presented its chemical and anti-HIV active constituents. By column chromatography (Silica and Sephadex LH-20 gel) methods, two flavanols and four flavones were isolated from the 70% (volume fraction) ethanol extract. Based on extensive spectral analysis (UV, IR, MS and 1D, 2D NMR), compounds **1—6** were identified as bougracol A (**1**), 4,7-dihydroxy-5-methoxy-8-methyl-6-formyl-flavane (**2**), 7-*O*-methyl-unonal (**3**), 5,7-dihydroxy-6,8-dimethyl-2-phenyl-4*H*-1-benzopyran-4-one (**4**), desmosflavone (**5**) and demethoxymatteucinol (**6**). Among them, compound **1**, a new flavan-diols, was deduced to be 7-hydroxy-5-methoxy-8-methyl-6-formyl-flavan-3,4-diols, and compounds **2—6** were firstly obtained from this plant. Anti-HIV assay suggests that compounds **1**, **2**, **5**, **6** showed weak anti-HIV activities with  $\text{EC}_{50}$  values of 45.09, 48.73, 55.47 and 82.75  $\mu\text{mol/L}$ , and TI values of 1.41, 1.20, 7.15 and >8.51, respectively.

**Keywords** *Boussingaultia gracilis* Miers var. *pseudobaselloides* Bailey; Boussingol A; Flavanoid; Anti-HIV activity