



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101899082 B

(45) 授权公告日 2012.10.24

(21) 申请号 201010234072.4

(22) 申请日 2010.07.22

(73) 专利权人 中南民族大学

地址 430074 湖北省武汉市市民院路 708 号

(72) 发明人 梅之南 杨光忠 熊慧 李效宽

(74) 专利代理机构 武汉帅丞知识产权代理有限公司 42220

代理人 朱必武

(51) Int. Cl.

C07J 63/00 (2006.01)

C07H 15/256 (2006.01)

C07H 1/08 (2006.01)

A61K 31/704 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

审查员 徐文亮

权利要求书 2 页 说明书 13 页

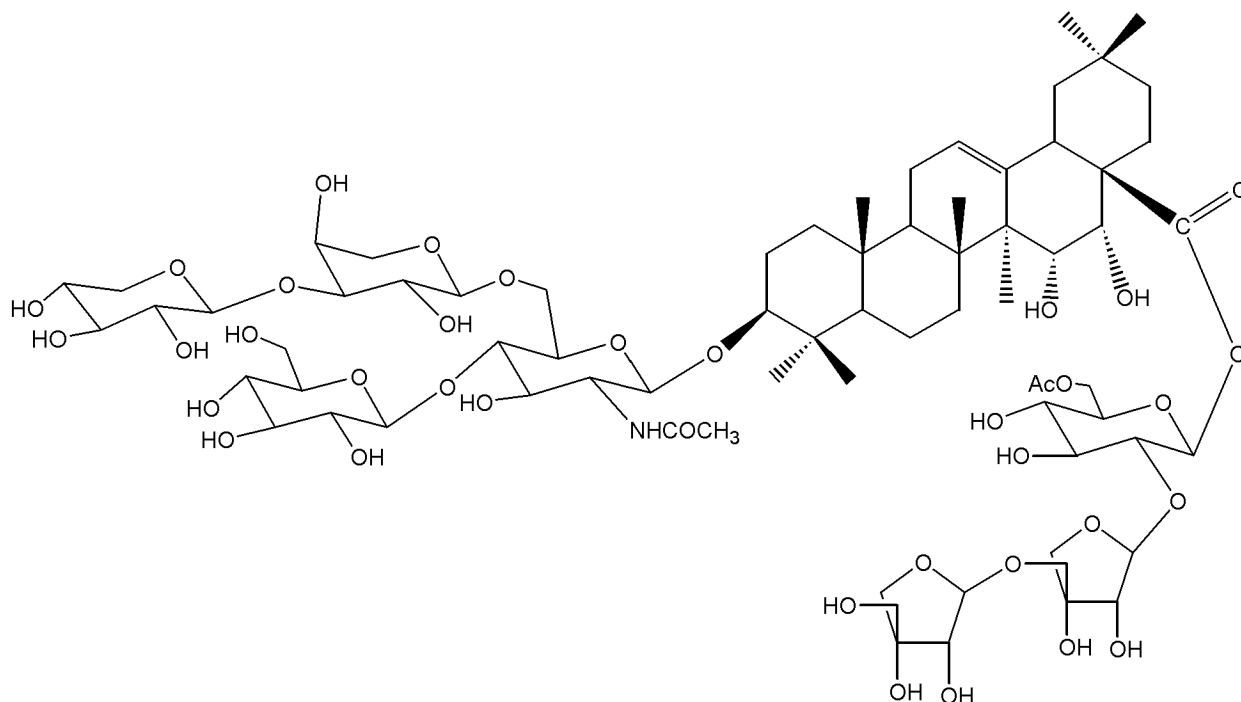
(54) 发明名称

三萜皂苷类化合物、用途及制备方法

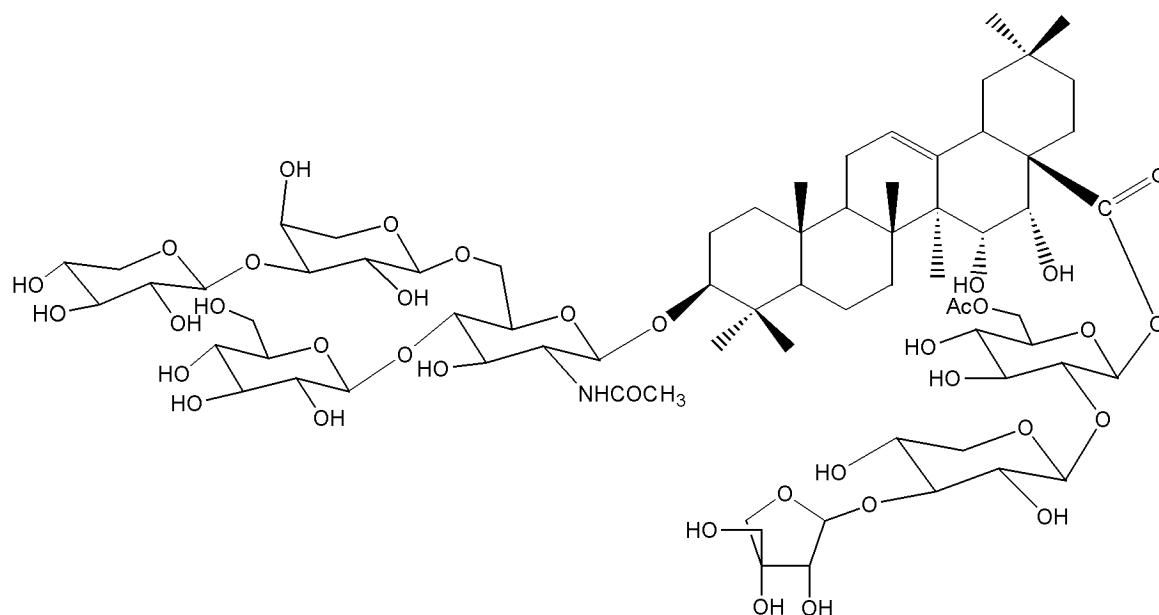
(57) 摘要

三萜皂苷类化合物、用途及制备方法,本发明涉及涉及从豆科植物含羞草亚科榼藤属榼藤子中分离得到的化合物 Phaseoloideside D、Phaseoloideside E 及其医药用途和制备方法。体外抗肿瘤试验表明,化合物 Phaseoloideside D 和 Phaseoloideside E 对 SHG-44(人神经胶质瘤细胞)、SW480(结肠癌细胞)、HepG-2(肝癌细胞)、Ec-109(食管癌细胞)、MCF-7(人乳腺癌细胞)有较强的抑制作用,可为研制新的抗肿瘤药物提供先导化合物,对开发利用中国的民族药用资源具有重要价值。

1. 三萜皂苷类化合物, 结构式如下:



2. 三萜皂苷类化合物, 结构式如下:



3. 权利要求 1 所述的化合物在制备抗肿瘤药物中的应用, 所述的肿瘤为人神经胶质瘤、结肠癌、肝癌、食管癌、乳腺癌。

4. 权利要求 2 所述的化合物在制备抗肿瘤药物中的应用, 所述的肿瘤为人神经胶质瘤、结肠癌、肝癌。

5. 权利要求 1 或 2 所述化合物的制备方法, 包括如下步骤:

(1) 将榿藤子种仁干品烘干粉碎, 用 60-70% 的乙醇室温浸提 3-7 次, 每次 24h, 浓缩提取液得浸膏; 用体积比为 9 : 1 的甲醇-水溶液溶解浸膏, 用等体积的石油醚、乙酸乙酯、正

丁醇依次萃取后,将正丁醇萃取物通过硅胶柱层析,用二氯甲烷-甲醇溶液梯度洗脱,收集洗脱液,减压回收溶剂,得总皂苷提取物;

(2) 将所述总皂苷提取物应用硅胶柱层析,以乙酸乙酯-甲醇溶液为洗脱剂洗脱,收集含三萜皂苷的流份,再经 ODS 柱层析,以甲醇-水为洗脱剂进行梯度洗脱,收集含所述化合物的流份,再经硅胶柱层析,以氯仿-甲醇溶液为洗脱剂进行梯度洗脱,收集所述化合物的流份,再经半制备高效液相色谱法分离,以乙腈:水的体积比 2.8 : 7.2 的流动相进行洗脱后得所述化合物。

6. 权利要求 1 或 2 所述化合物的制备方法,包括如下步骤:

(1) 将榼藤子种仁干品烘干粉碎,用 60-70% 的乙醇室温浸提 3-7 次,每次 24h,浓缩提取液,然后用石油醚脱脂,将脱脂的浸膏经正丁醇萃取、乙醇复溶,真空干燥后,再溶于甲醇-水溶液,通过大孔树脂,用乙醇-水溶液梯度洗脱,收集洗脱液,减压回收乙醇,得总皂苷提取物;

(2) 将上述总皂苷提取物应用硅胶柱层析,以乙酸乙酯-乙醇-水为洗脱剂梯度洗脱,收集含三萜皂苷的流份,再经 ODS 柱层析,以甲醇:水为洗脱剂进行梯度洗脱,收集含所述化合物的流份,经半制备高效液相色谱法分离,以乙腈:水的体积比 2.8 : 7.2 的流动相进行洗脱后得所述化合物。

三萜皂苷类化合物、用途及制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及三萜皂苷类化合物、用途及制备方法,具体涉及从豆科植物含羞草亚科榼藤属榼藤子中分离得到的化合物Phaseoloideside D、Phaseoloideside E及其医药用途和制备方法。

背景技术

[0002] 榼藤子 (*Entada phaseoloides* (Linn.) Merr.), 属豆科含羞草亚科榼藤属, 常绿木质大藤本, 茎扭旋, 枝无毛; 二回羽状复叶, 长 10-25cm, 通常有羽片 2 对, 顶生一对羽片变为卷须; 小叶 2-4 对, 革质, 长椭圆形, 长 3-8.5cm, 宽 1.5-4cm, 先端钝, 微凹, 基部略偏斜, 无毛。主要分布于我国福建、广西、云南等地, 其主要含有榼藤酰胺类、三萜皂苷类成分, 具有治疗胃病、痔疮、便秘等的功效。

[0003] 以下文献报道的榼藤子同属植物中所含有的三萜皂苷类成分具有一定的抗肿瘤活性: Laurence KN, Luciano B, Remy BT et al. Rheediinosides A and B, two antiproliferative and antioxidant triterpene saponins from *Entada rheedii*. *Phytochemistry*. 2010, 71: 254-261; Giuseppina C, Fabrizio D P, Paolo De C, et al. Antiproliferative Triterpene Saponins from *Entada africana* J. *Nat. Prod.* 2006, 69, 1323-1329. ; Azefack L T, Tomofumi M, Mirjolet, J F. Pursaethosides A-E, Triterpene Saponins from *Entada pursaetha*. J. *Nat. Prod.* 2005, 68, 1185-1190.

[0004] 榼藤子中含有的总皂苷物对小鼠 S180 实体瘤也有明显的抑制作用, 能明显延长艾氏腹水瘤小鼠生存时间 (榼藤子水溶性提取物对小鼠移植瘤 S180 的抑制作用, 许腾等, 中国药师, 2006, 9(5): 397-399); 榼藤子水溶性提取物对人类慢性髓性白血病细胞株 (K562)、人类淋巴瘤细胞株 (U937) 和人早幼粒白血病细胞株 (HL60) 也有较强的抑制作用 (榼藤子水溶性提取物的体外抗肿瘤作用, 许腾等, 华西药学杂志, 2005, 20(6): 487-489)。

[0005] 梅之南、熊慧等人 (《榼藤子含硫酰胺类化学成分的研究》, 《药学学报》2010, 45(5): 624-626) 公开了利用正反相硅胶柱色谱、制备 HPLC 分离纯化榼藤子种仁的化学成分, 从 70% 乙醇提取物的正丁醇萃取部位分离得到 4 个含硫酰胺类化合物, 分别为 entadamide A- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranoside (1)、entadamide A (2)、entadamide A- β -D-glucopyranoside (3) 和 clinacoside C (4)。张勇等人 (《榼藤子种仁化学成分研究》, 《中国药学杂志》2008 年 7 月第 43 卷第 14 期) 公开了通过 Sephadex LH-20 等分离纯化, 通过理化常数测定和现代波谱学技术进行结构鉴定后, 分离得到 8 个化合物, 分别为 2,5-二羟基苯乙酸乙酯、2,5-二羟基苯乙酸甲酯、5-羟基-苯并咪喃-2 酮、榼藤酰胺 A、硬脂酸甲酯、 β -谷甾醇、胡萝卜苷和豆甾醇。中国专利 CN 101486650A 公开了一种从豆科榼藤属植物榼藤中制备 2,5-二羟基苯乙酸乙酯、2,5-二羟基苯乙酸甲酯、2,5-二羟基苯乙酸正丁酯的方法, 以及这些化合物在制备抗 HIV 药物中的应用。

[0006] 然而, 目前还没有研究人员报道有关榼藤子中所含的皂苷类化合物 Phaseoloideside D 和 Phaseoloideside E。

发明内容

[0007] 本发明的目的之一是提供从豆科植物含羞草亚科槥藤属槥藤子中分离得到的化合物 Phaseoloideside D、Phaseoloideside E。

[0008] 发明人从生长于中国云南西双版纳地区的槥藤子种仁中提取分离到的两种新的皂苷类化合物,分别命名为 Phaseoloideside D:

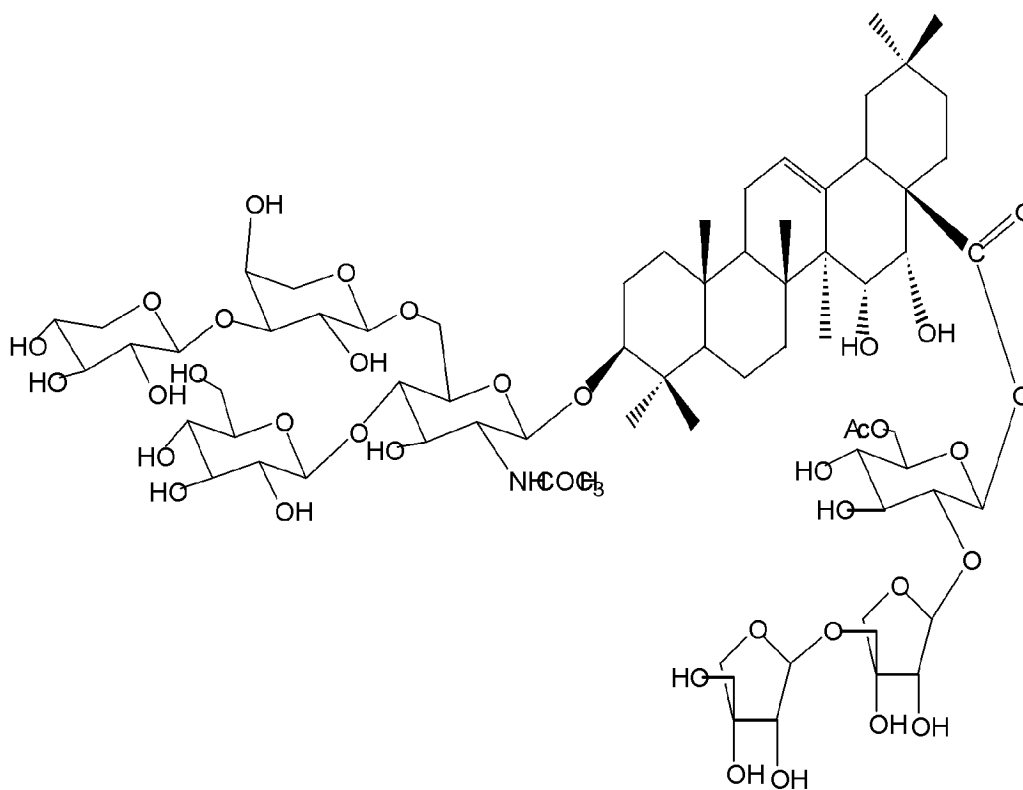
[0009] 3-O- β -D-glucofuranosyl-(1 \rightarrow 4)-[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-2-acetylamino-2-deoxy- β -D-glucofuranosylentagenic acid28-O- β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 5)-O- β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 2)-2-acetyl-2-deoxy-O- β -D-glucofuranoside;

[0010] 和 Phaseoloideside E:

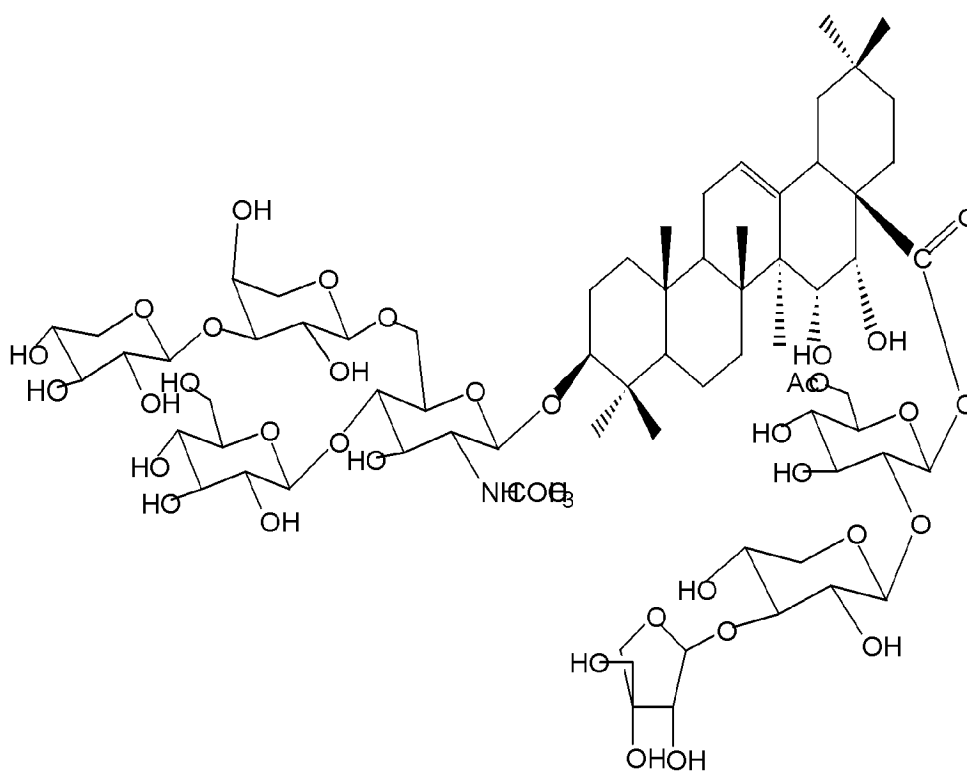
[0011] 3-O- β -D-glucofuranosyl-(1 \rightarrow 4)-[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-2-acetylamino-2-deoxy- β -D-glucofuranosylentagenic acid28-O- β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 3)-O- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-2-acetyl-2-deoxy-O- β -D-glucofuranoside。

[0012] 其化学结构如下:

[0013]



Phaseoloideside D



Phaseoloideside E

[0014] 本发明的目的之二是公开Phaseoloideside D或Phaseoloideside E在制备抗肿瘤药物中的应用。

[0015] 发明人通过体外实验证实, Phaseoloideside D 对 SHG-44(人神经胶质瘤细胞)、SW480(结肠癌细胞)、HepG-2(肝癌细胞)、Ec-109(食管癌细胞)、MCF-7(人乳腺癌细胞)显示出明显的抑制作用, Phaseoloideside E 对癌细胞株 SHG-44、SW480、HepG-2 显示出明显的抑制作用。可见, 本发明的三萜皂苷类化合物 Phaseoloideside D 和 Phaseoloideside E 具有明显的抑制肿瘤的效果。

[0016] 本发明的目的之三是提供榼藤子中提取分离 Phaseoloideside D、Phaseoloideside E 的方法。

[0017] 发明人通过大量试验摸索后, 获得了两种高效的提取分离 Phaseoloideside D、Phaseoloideside E 的方法。

[0018] 第一种制备化合物 Phaseoloideside D、Phaseoloideside E 的方法的步骤如下:

[0019] (1) 制备总皂苷提取物: 将榼藤子种仁干品烘干粉碎, 用 60~70% 的乙醇室温浸提 3~7 次, 每次 24h, 浓缩提取液得浸膏; 用体积比为 9:1 的甲醇-水溶液溶解浸膏, 用等体积的石油醚、乙酸乙酯、正丁醇依次萃取后, 将正丁醇萃取物, 通过硅胶柱层析, 用二氯甲烷-甲醇溶液梯度洗脱进行分离, 收集洗脱液, 减压回收溶剂, 得总皂苷提取物;

[0020] (2) 分离: 将上述含总皂苷提取物应用硅胶柱层析, 以乙酸乙酯: 甲醇为洗脱剂梯度洗脱, 收集含三萜皂苷的流份, 再经 ODS 柱层析, 以甲醇: 水为洗脱剂进行梯度洗脱, 收集所述化合物的流份, 再经硅胶柱层析, 以氯仿: 甲醇为洗脱剂进行梯度洗脱, 收集所述化合物的流份, 再经半制备高效液相色谱法分离, 以乙腈: 水的体积比 2.8:7.2 的流动相进行洗脱, 收集含 Phaseoloideside D、Phaseoloideside E 的流分, 回收溶剂即得所述化合物纯品 Phaseoloideside D 和 Phaseoloideside E。经多种现代光谱分析, 特别是综合应用多种先进的二位核磁共振波谱的解析, 确定了 Phaseoloideside D 和 Phaseoloideside E 的化学结构和立体构型。

[0021] 第二种制备化合物 Phaseoloideside D、Phaseoloideside E 的方法的步骤如下:

[0022] (1) 将榼藤子种仁干品烘干粉碎, 用 60-70% 的乙醇室温浸提 3-7 次, 每次 24h, 浓缩提取液, 然后用石油醚脱脂, 将脱脂的浸膏经正丁醇萃取、乙醇复溶, 真空干燥后, 再溶于甲醇-水溶液, 通过大孔树脂, 用乙醇-水溶液梯度洗脱, 收集洗脱液, 减压回收乙醇, 得总皂苷提取物;

[0023] (2) 分离: 将上述含总皂苷提取物应用硅胶柱层析, 以乙酸乙酯-乙醇-水为洗脱剂梯度洗脱, 收集含三萜皂苷的流份, 再经 ODS 柱层析, 以甲醇: 水为洗脱剂进行梯度洗脱, 收集含所述化合物的流份, 再经半制备高效液相色谱法分离, 以乙腈: 水的体积比 2.8:7.2 的流动相进行洗脱, 收集含 Phaseoloideside D、Phaseoloideside E 的流分, 回收溶剂即得所述化合物纯品 Phaseoloideside D 和 Phaseoloideside E。经多种现代光谱分析, 特别是综合应用多种先进的二位核磁共振波谱的解析, 确定了 Phaseoloideside D 和 Phaseoloideside E 的化学结构和立体构型。

[0024] 本发明公开的化合物可以作为抗肿瘤药物的先导化合物, 为研制新的抗肿瘤药物提供了一种新的思路, 对开发利用中国的民族药用植物资源具有重要意义。

具体实施方式

[0025] 以下通过优选实施例进一步描述本发明, 然而本发明范围不仅仅限于下列实施

例。凡是不背离本发明构思的改变或等同替代均包括在本发明的保护范围之内。

[0026] 实施例 1 三萜皂苷类化合物 Phaseoloideside D 和 Phaseoloideside E 的制备

[0027] 1、提取分离与纯化方法

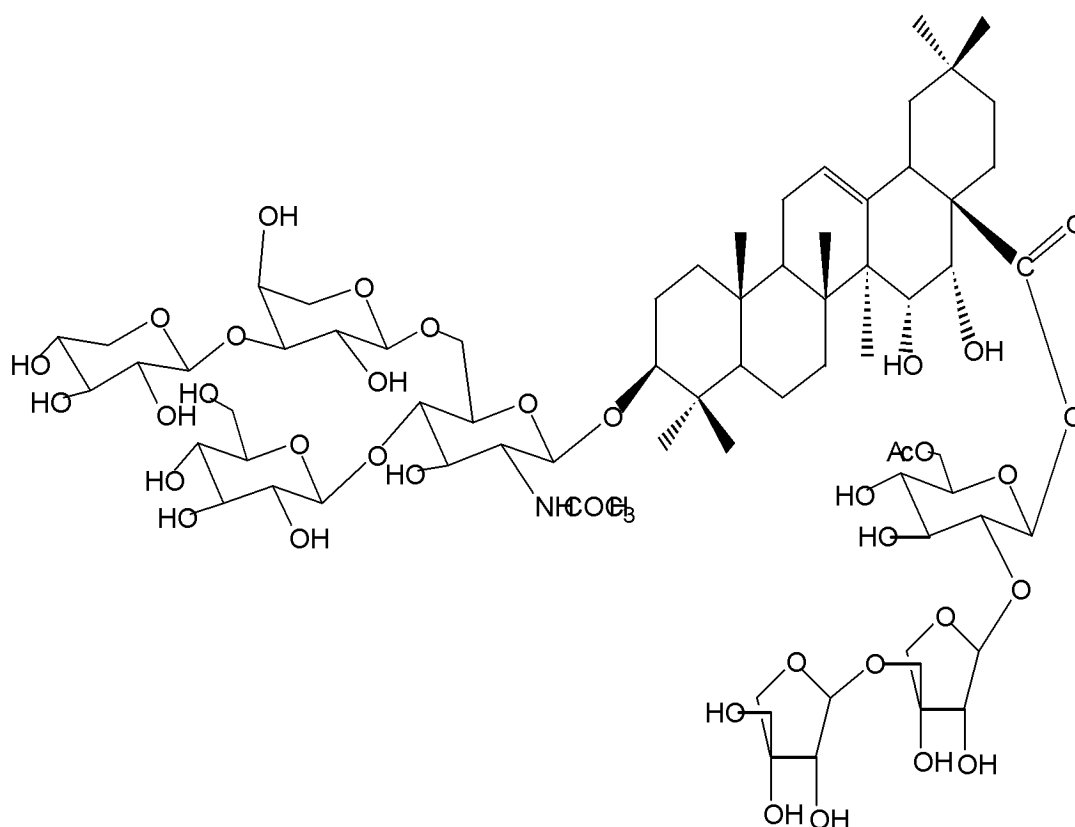
[0028] 将干燥榼藤子药材去壳得榼藤子仁,晒干,粉碎称重 8000 克,再用 4 倍量 70% 的乙醇室温浸泡提取 3 次,每次 24h,将浸取液减压浓缩,得半透明浸膏 518g。用体积比为 9 : 1 的甲醇 - 水混合溶剂溶解浸膏,用等体积的石油醚反复萃取,至石油醚层基本无色,将浸膏溶于水中,用等体积的乙酸乙酯反复萃取至乙酸乙酯层基本无色,再用等体积的正丁醇反复萃取至正丁醇层基本无色,合并正丁醇层并减压浓缩得半透明流动浸膏 129g。并将正丁醇部位作为主要分离部分,进行硅胶柱层析,选用二氯甲烷 - 甲醇进行梯度洗脱,收集含皂苷的洗脱液,减压回收溶剂,得含总皂苷提取物 38.15 克。将含总皂苷进行硅胶柱层析,以乙酸乙酯 : 甲醇为洗脱剂洗脱,收集含三萜皂苷的洗脱液,减压回收溶剂得三萜皂苷 18.59 克。将该三萜皂苷进行 ODS 柱层析,以甲醇 : 水为洗脱剂进行梯度洗脱,收集含化合物 Phaseoloideside D 及 Phaseoloideside E 的流份,再经硅胶柱层析,以氯仿 : 甲醇为洗脱剂进行梯度洗脱,收集化合物 Phaseoloideside D 及 Phaseoloideside E 的流份,最后经半制备高效液相色谱法分离,以乙腈 : 水的体积比 2.8 : 7.2 的流动相进行洗脱,即得 Phaseoloideside D 纯品 0.3 克,Phaseoloideside E 纯品 0.35 克。

[0029] 2、化合物结构鉴定

[0030] Phaseoloideside D 为白色无定形粉末, Lieberman-Burchard 反应和 Molish 反应均为阳性经测定,分子式 $C_{72}H_{115}NO_{37}$, $[\alpha]_D^{20} - 41$ (c 0.63, MeOH), FAB-MS m/z 1586 $[M-1]^-$, 1453 $[M-132-1]^-$, 1423 $[M-162-1]^-$, 1321 $[M-132-132-1]^-$, 1117 $[M-162-132-132-42-1]^-$; HR ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z 1608.7082 $[M+Na]^+$ (Calc Mass 1608.7040)。

[0031] Phaseoloideside D 的结构式如下 :

[0032]



[0033] Phaseoloideside D 的 $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ 及 HMBC 数据如表 1。

[0034] 表 1 Phaseoloideside D 的 $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ 及 HMBC 数据 (in $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ ppm)

[0035]

No.	$^1\text{H-NMR}$	$^{13}\text{C-NMR}$	HMBC(H to C)
1	1.54 (1H, m), 0.87 (1H, m)	37.20 t	C-2, C-10
2	1.69(1H, m), 2.18 (1H, m)	26.25 t	C-24
3	3.30 (1H, dd, $J=11.40, 4.40$)	89.70 d	C-23, C-24
4	-	39.26 s	-
5	0.81 c	55.56 d	-
6	1.38 (1H, m), 1.58 (1H, m)	18.95 d	C-7
7	1.99 (1H, m), 2.22 (1H, m)	39.10 t	C-6, C-8
8	-	41.57 s	-
9	1.65 (1H, m)	47.50 d	C-8, C-10, C-26
10	-	37.21 s	-
11	0.99 (2H, m)	23.80 t	-
12	5.40(1H, t-like)	124.79 d	C-11, C-14

[0036]

13	-	144.53 s	-
14	-	48.85 s	-
15	4.25 (2H, m)	68.41 d	C-16, C-27, C-8
16	5.02 (1H, d-like)	78.89 d	C-15, C-17, C-8
17	-	49.50 s	-
18	3.45 (1H, m)	42.06 d	C-13, C-15, C-16, C-17
19	2.78 (2H, m)	46.80 t	C-18, C-20, C-30
20	-	30.91 s	-
21	1.32 (1H, m), 2.42 (1H, m)	36.00 t	C-30
22	2.28 (2H, m)	31.89 t	C-30
23	1.14 (3H, s)	28.16 q	C-4, C-5, C-24
24	0.94 (3H, s)	17.12 q	C-4, C-5, C-23
25	0.80 (3H, s)	15.84 q	C-10, C-26
26	1.17 (3H, s)	18.14 q	C-8, C-14'
27	1.81 (3H, s)	20.80 q	C-13, C-16
28	-	175.75 s	-
29	1.00 (3H, s)	33.38 s	C-21, C-22, C-19
30	1.13 (3H, s)	24.57 q	
β -D-glc			
1 ^I	5.10 (1H, d, J=7.9)	104.50 d	C-3
2 ^I	4.45 (1H, t-like),	57.60 d	C-1 ^I , C-3 ^I
3 ^I	4.14 (1H, m)	73.85 d	C-4 ^I
4 ^I	4.85 (1H, m)	80.83 d	C-2 ^I , C-3 ^I , C-1 ^{II}
5 ^I	4.30 (1H, m)	75.11 d	C-6 ^I
6 ^I	4.50 (2H, m)	68.16 d	C-5 ^I
Me			
(NHAc)	2.13 (3H, s)	23.74 q	-CO-
NHAc	-	170.19	
β -D-glc			
1 ^{II}	5.53 (1H, d, J=7.9)	104.50 d	C-4 ^I
2 ^{II}	3.98 (1H, m)	74.78 d	C-4 ^{II}

	3 ^{II}	4.28 (1H, m)	78.70 d	C-4 ^{II}
	4 ^{II}	4.10 (1H, m)	71.53 d	C-3 ^{II} , C-5 ^{II}
	5 ^{II}	4.20 (1H, m)	78.71 d	C-4 ^{II}
	6 ^{II}	4.48 (1H, m), 4.32 (1H, m)	62.30 t	C-5 ^{II}
	α -L-ara			
	1 ^{III}	5.25 (J=6.5)	103.50 d	C-6 ^I
	2 ^{III}	4.48(1H, m)	73.21 d	C-1 ^{III}
	3 ^{III}	4.53 (1H, m)	83.34 d	C-1 ^{IV} , C-2 ^{III}
	4 ^{III}	4.23(1H, m)	68.90 d	C-3 ^{III} , C-5 ^{III}
	5 ^{III}	3.52(1H, m), 4.20 (1H, m)	66.36 t	C-4 ^{III}
	β -D-xy1			
	1 ^{IV}	4.82 (1H, d, J=7.4)	107.8d	C-3 ^{III}
	2 ^{IV}	4.04 (1H, m)	76.54 d	C-1 ^{IV}
	3 ^{IV}	4.13(1H, m)	78.04 d	C-5 ^{IV}
	4 ^{IV}	4.28 (1H, m)	70.98 d	C-4 ^V
[0037]	5 ^{IV}	3.50 (1H, t-like), 4.60 (1H, m)	67.50 t	C-3 ^{IV} , C-4 ^{IV}
	C-28			
	β -D-gluc			
	1 ^V	6.14 (1H, d, J=7.5)	94.24 d	C-3 ^V , C-28
	2 ^V	4.25 (1H, m)	78.89 d	C-3 ^{VI}
	3 ^V	4.20 (1H, m)	78.70 d	C-2 ^V
	4 ^V	4.24 (1H, m)	70.90 d	C-3 ^V , C-5 ^V
	5 ^V	3.99 (1H, m)	78.16 d	C-3 ^V
	6 ^V	4.36 (1H, t-like), 4.28 (1H, m)	64.80 t	C-5 ^V
	Me(Ac)	1.91(3H, s)	20.76 q	-CO-, C-6 ^V
	Ac	-	170.85 s	-
	api			
	1 ^{VI}	6.38 (1H, d, J=3.5)	110.86 d	C-2 ^V
	2 ^{VI}	4.76 (1H, m)	78.00 d	C-1 ^{VI}

[0038]

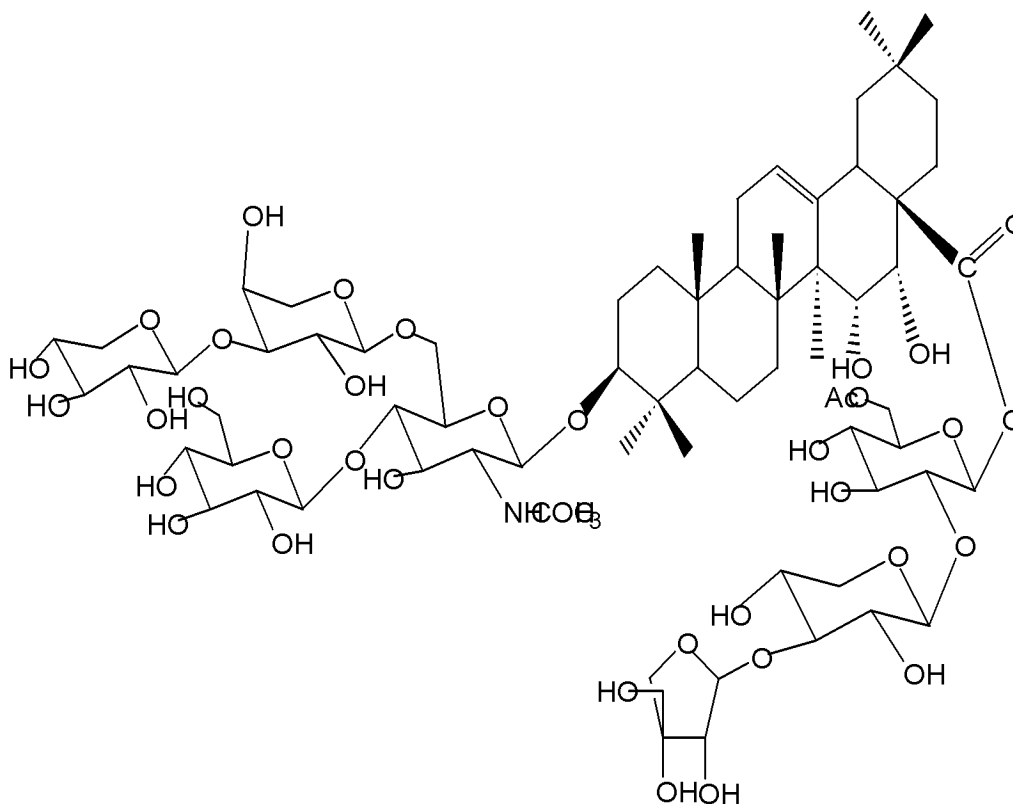
3 ^{vi}	-	80.38 s	-
4 ^{vi}	4.74 (1H, t-like), 4.32 (c)	75.14 t	C-3 ^{vi} , C-5 ^{vi}
5 ^{vi}	4.13 (c)	71.64 t	C-4 ^{vi} , C-3 ^{vi}
api			
1 ^{vii}	5.60 (1H, d, J=7.5)	110.80 d	C-5 ^{vii}
2 ^{vii}	4.64 (1H, d-like)	77.63 d	C-1 ^{vii}
3 ^{vii}	-	80.38s	-
4 ^{vii}	4.55 (2H, dd-like)	75.14 t	C-3 ^{vii} , C-5 ^{vii}
5 ^{vii}	3.60 (1H, m), 4.20(1H, m)	65.55 t	C-3 ^{vii} , C-4 ^{vii}

glc: glucopyranosyl; ara: arabinopyranosyl; xyl: xylopyranosyl; api: apiofuranosyl

[0039] Phaseoloideside E 为白色无定形粉末, Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应均为阳性经测定, 分子式 $C_{72}H_{115}NO_{37}$, $[\alpha]_D^{20} -41$ (c 0.63, MeOH), FAB-MS m/z 1586 $[M-1]^-$, 1453 $[M-132-1]^-$, 1423 $[M-162-1]^-$, 1321 $[M-132-132-1]^-$, 1117 $[M-162-132-132-42-1]^-$; HR ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z 1608.7019 $[M+Na]^+$ (Calc Mass 1608.7040)。

[0040] Phaseoloideside E 的结构式如下:

[0041]



[0042] Phaseoloideside E 的 1H -NMR, ^{13}C -NMR 及 HMBC 数据如表 2。

[0043] 表 2 Phaseoloideside E 的 1H -NMR, ^{13}C -NMR 及 HMBC 数据 (in C_5D_5N , δ ppm)

[0044]

No.	¹ H-NMR	¹³ C-NMR	HMBC(H to C)
1	1.42 (1H, t-like), 0.87 (1H, m)	37.14 t	C-2, C-10
2	1.68(1H, m), 2.42 (1H, m)	26.67 t	C-24
3	3.30 (1H, dd, J=11.40, 4.40)	89.65 d	C-23, C-24, C-4
4	-	39.25 s	-
5	0.83 c	55.83 d	C-10, C-3
6	1.31 (1H, m), 1.54 (1H, m)	19.05 d	C-5
7	1.99 (1H, m), 2.22 (1H, m)	39.10 t	C-6, C-8
8	-	41.57 s	-
9	1.75 (1H, m)	47.50 d	C-8, C-10, C-26
10	-	37.14 s	-
11	1.99 (2H, m)	24.10 t	
12	5.40(1H, t-like)	124.97 d	C-11, C-13, C-18
13	-	144.57 s	-
14	-	47.75 s	-
15	4.25(2H, m)	68.91 d	C-16, C-27, C-8
16	5.02 (1H, d-like)	78.93 d	C-15, C-17, C-8
17	-	48.65 s	-
18	3.45(1H, m)	41.87 d	C-13, C-12, C-28, C-17
19	2.75 (1H, m), 1.26 (1H, m)	46.67 t	C-18, C-20, C-30
20	-	30.91 s	-
21	1.98(1H, m), 2.20 (1H, m)	36.25 t	-
22	2.28 (2H, m)	31.67 t	C-20
23	1.14 (3H, s)	28.14 q	C-3, C-5, C-24
24	0.91 (3H, s)	17.10 q	C-2, C-3, C-4
25	0.83 (3H, s)	15.79 q	C-5, C-9, C-10, C-26
26	1.12 (3H, s)	18.12 q	C-8, C-14
27	1.81 (3H, s)	20.87 q	C-13, C-16, C-8, C-14
28	-	176.08 s	-

	29	0.98 (3H, s)	33.37 s	C-20, C-21, C-19, C-30
	30	1.12 (3H, s)	24.53 q	C-29, C-21, C-19, C-30
	β -D-glc			
	1 ^I	5.08(overlapping)	104.60 d	C-3
	2 ^I	4.45 (1H, m),	59.00 d	C-1 ^I , C-3 ^I
	3 ^I	4.14 (1H, m)	74.79 d	C-4 ^I
	4 ^I	4.85 (1H, m)	80.94 d	C-2 ^I , C-3 ^I , C-1 ^{II}
	5 ^I	4.30 (1H, m)	78.56 d	C-6 ^I
	6 ^I	4.50 (2H, m)	68.27 d	C-5 ^I
	Me			
	(NHAc)	2.13 (3H, s)	23.76 q	-CO-
	NHAc	-	170.13	
	β -D-glc			
	1 ^{II}	5.52 (1H, d, J=7.9)	104.47 d	C-4 ^I
	2 ^{II}	3.98 (1H, m)	75.00 d	C-4 ^{II}
[0045]	3 ^{II}	4.28 (1H, m)	78.10 d	C-4 ^{II}
	4 ^{II}	4.10 (1H, m)	71.64 d	C-3 ^{II} , C-5 ^{II}
	5 ^{II}	4.20 (1H, m)	78.40 d	C-4 ^{II}
	6 ^{II}	4.46 (1H, m), 4.30 (1H, m)	62.37 t	C-5 ^{II}
	α -L-ara			
	1 ^{III}	5.24 (J=6.5)	103.50 d	C-6 ^I
	2 ^{III}	4.11(1H, m)	73.87 d	C-1 ^{III}
	3 ^{III}	4.24 (1H, m)	83.90 d	C-1 ^{IV} , C-2 ^{III}
	4 ^{III}	4.23(1H, m)	68.91 d	C-3 ^{III} , C-5 ^{III}
	5 ^{III}	3.52(1H, m), 4.21 (1H, m)	66.37 t	C-4 ^{III}
	β -D-xy1			
	1 ^{IV}	4.80 (1H, d, J=7.6)	107.90 d	C-3 ^{III}
	2 ^{IV}	4.04 (1H, m)	76.56 d	C-1 ^{IV}
	3 ^{IV}	4.13(1H, m)	78.04 d	C-5 ^{IV}
	4 ^{IV}	4.28 (1H, m)	70.97 d	C-4 ^V
[0046]	5 ^{IV}	3.50 (1H, t-like), 4.66 (1H, m)	67.50 t	C-3 ^{IV} , C-4 ^{IV}

C-28			
β -D-gluc			
1 ^v	6.10 (1H, d, J=7.9)	93.29 d	C-3 ^v , C-28
2 ^v	4.25 (1H, m)	80.15 d	C-3 ^{vi}
3 ^v	4.20 (1H, m)	78.40 d	C-2 ^v
4 ^v	4.24 (1H, m)	70.44 d	C-3 ^v , C-5 ^v
5 ^v	3.99 (1H, m)	78.16 d	C-3 ^v
6 ^v	4.36 (1H, t-like), 4.28 (1H, m)	64.16 t	C-5 ^v
Me(Ac)	1.99 (3H, s)	20.77 q	-CO-, C-6 ^v
Ac	-	170.82	-
xyl			
1 ^{vi}	5.40 (1H, d, J=7.6)	105.68 d	C-2 ^v
2 ^{vi}	4.76 (1H, m)	75.10 d	C-1 ^{vi}
3 ^{vi}	4.17 (1H, m)	85.03 d	C-2 ^{vi} , C-4 ^{vi}
4 ^{vi}	4.21 (1H, m)	69.48 d	C-3 ^{vi} , C-5 ^{vi}
5 ^{vi}	3.51 (1H, m), 4.35 (1H, m)	67.18 t	C-3 ^{vi}
api			
1 ^{vii}	6.20 (1H, d, J=2.4)	111.47 d	C-3 ^{vii}
2 ^{vii}	4.64 (1H, d-like)	78.18 d	C-1 ^{vii}
3 ^{vii}	-	80.50 s	-
4 ^{vii}	4.55 (2H, dd-like)	75.23 t	C-3 ^{vii} , C-5 ^{vii}
5 ^{vii}	3.60 (1H, m), 4.12 (1H, m)	65.57 t	C-4 ^{vii}

gluc: glucopyranosyl; ara: arabinopyranosyl; xyl: xylopyranosyl; api: apiofuranosyl

[0047] 实施例 2 三萜皂苷类化合物 Phaseoloideside D 和 Phaseoloideside E 的制备

[0048] 将榼藤子种仁晒干,粉碎称重 10000 克,用 5 倍量的 70%乙醇室温浸提 7 次,每次 24h,浓缩提取液,进而用石油醚脱脂,将脱脂的浸膏经正丁醇萃取后,用可溶于乙醇的水层成分,经真空干燥后(干重 345 克),再溶于体积比为 9 : 1 的甲醇-水溶液,通过大孔树脂,用水和乙醇梯度洗脱,收集 50%乙醇洗脱液,减压回收乙醇,得总皂苷提取物 61.61 克。总皂苷提取物应用硅胶柱层析,以乙酸乙酯:甲醇:水为洗脱剂梯度洗脱,收集含该三萜皂苷的流份,经 ODS 柱层析,以甲醇:水为洗脱剂进行梯度洗脱,收集含化合物

Phaseoloideside D 及 Phaseoloideside E 的流份,再经半制备高效液相色谱法分离,以乙腈:水的体积比 2.8 : 7.2 的流动相进行洗脱,即得 Phaseoloideside D 纯品约 0.5 克,Phaseoloideside E 纯品约 0.55 克。

[0049] 实施例 3 Phaseoloideside D 和 Phaseoloideside E 对肿瘤细胞的影响

[0050] 试验所用细胞株为国际通用的肿瘤细胞株,即:SHG-44(人神经胶质瘤细胞)、SW480(结肠癌细胞)、HepG-2(肝癌细胞)、Ec-109(食管癌细胞)、MCF-7(人乳腺癌细胞)。

[0051] Phaseoloideside D 及 Phaseoloideside E 对体外培养的癌细胞细胞分化诱导作用——MTT 法:其原理是活细胞线粒体中的琥珀酸脱氢酶能使外源性 MTT 还原为水不溶性的蓝紫色结晶甲瓚 (Formazan) 并沉积在细胞中,而死细胞无此功能。二甲基亚砜 (DMSO) 能溶解细胞中的甲瓚,用酶联免疫检测仪在 492nm 波长处测定其光吸收值,可求出抗癌药物作用的癌细胞数量变化,一次求出细胞的存活率,由 IC₅₀ 判断细胞对抗癌药的敏感程度。根据细胞生长速率,将处于生长对数期的肿瘤细胞以 100 μl/孔接种于 96 孔板,贴壁生长 24h,吸去上清液后加入 100 μl/孔。每个浓度设 6 个复孔,并设未加药液的培养基对照及无细胞调零孔。肿瘤细胞在 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养 24 小时,然后每孔加入 10 μl MTT,培养箱中继续培养 4h,取出,吸去上清液,加入 DMSO 150 μl/孔,酶标仪 492nm 波长下测 OD 值,实验结果见表 3:

[0052] 表 3 Phaseoloideside D 对肿瘤细胞的抑制作用 IC₅₀ (μM)

[0053]

样品	SHG-44	SW480	HepG-2	Ec-109	MCF-7
Phaseoloideside D	33.58	55.64	40.66	28.04	76.50
Phaseoloideside E	29.59	23.29	55.04	-	-

[0054] IC₅₀:表示本发明化合物的半数有效抑制浓度

[0055] 上述实验结果表明,Phaseoloideside D 对 SHG-44、SW480、HepG-2、Ec-109、MCF-7 显示明显的抑制作用,Phaseoloideside E 对 SHG-44、SW480、HepG-2 显示明显的抑制作用。可见,本发明的三萜皂苷类化合物 Phaseoloideside D 和 Phaseoloideside E 具有明显的抑制肿瘤的效果。