

• 化学成分 •

青藏大戟的化学成分研究

杨大松, 李资磊, 杨永平, 李晓莉*

中国科学院昆明植物研究所 资源植物与生物技术所级重点实验室, 中国西南野生生物种质资源库, 中国科学院青藏高原研究所 昆明部, 云南 昆明 650201

摘要:目的 对青藏大戟 *Euphorbia altotibetica* 地上部分的化学成分进行研究。方法 采用多种柱色谱技术进行分离纯化, 通过波谱分析鉴定化合物结构。结果 从青藏大戟 90%乙醇提取物的醋酸乙酯萃取部分中分离得到 6 个化合物, 分别鉴定为青藏大戟素 E (1)、脯氨酸 (2)、corchoionoside C (3)、icariside B₂ (4)、1-*O*-(9Z,12Z,15Z-十八烷三烯酰基)-2-*O*-十六烷酰基-3-*O*- α -(6-磺基吡喃奎诺糖基) 甘油酯 (5)、(2S)-2,3-*O*-双十八烷-9Z,12Z,15Z-三烯酰基甘油酯-6'-*O*-(α -D-吡喃半乳糖基)- β -D-吡喃半乳糖苷 (6)。结论 化合物 1 为新的西松烷型二萜, 命名为青藏大戟素 E; 化合物 2、5 和 6 为首次从大戟属植物中分离得到, 其余化合物为首次从该植物中分离得到。

关键词: 青藏大戟; 二萜; 青藏大戟素 E; 脯氨酸; 西松烷型二萜

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)09-1265-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.09.002

Chemical constituents from *Euphorbia altotibetica*

YANG Da-song, LI Zi-lei, YANG Yong-ping, LI Xiao-li

Key Laboratory of Economic Plants and Biotechnology, Germplasm Bank of Wild Species in Southwest China, Institute of Tibetan Plateau Research at Kunming, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from the aerial parts of *Euphorbia altotibetica*. **Methods** The compounds were isolated and purified by various chromatographic techniques and their structures were elucidated by spectral analysis. **Results** Six compounds were isolated and their structures were identified as altotibetin E (1), proline (2), corchoionoside C (3), icariside B₂ (4), 1-*O*-(9Z,12Z,15Z-octadecatrienoyl)-2-*O*-hexadecanoyl-3-*O*- α -(6-sulfoquinovopyranosyl) glycerol (5), and (2S)-2,3-*O*-dioctadeca-9Z,12Z,15Z-trienoylglycerol-6'-*O*-(α -D-galactopyranosyl)- β -D-galactopyranoside (6). **Conclusion** Compound 1 is a new cembranoid diterpene named altotibetin E, compounds 2, 5, and 6 are isolated from the species of *Euphorbia* L. for the first time and the other compounds are firstly obtained from this plant.

Key words: *Euphorbia altotibetica* Paulsen; diterpenoid; altotibetin E; proline; cembranoid diterpene

大戟属 *Euphorbia* L. 植物因其富含结构新颖的萜类成分及该类成分所具有良好的生物活性而备受关注^[1]。青藏高原由于地形复杂多样加上空气稀薄、日照充足、气温较低、降水较少而形成了独特的高原气候, 势必对植物次生代谢产物的形成产生很大影响。青藏大戟 *Euphorbia altotibetica* Paulsen 产于我国宁夏、甘肃、青海和西藏等青藏高原地区,

作为一种藏药主要用于皮肤癣和肿胀的治疗^[2]。先前研究表明其中含有二萜、三萜、甾体、黄酮、香豆素、萜醌、木脂素等化学成分^[2-4]。为了从青藏高原产的大戟属植物中发掘结构新颖的萜类天然产物为新型抗肿瘤药物的研发奠定基础, 本实验对产自青海的青藏大戟 90%乙醇提取物的醋酸乙酯萃取部分的化学成分进行了系统的研究, 从中分离并鉴定了

收稿日期: 2015-03-20

基金项目: 科技基础性工作专项重点项目 (2012FY110300); 国家重点基础研究发展计划 (2010CB951704); 国家自然科学基金资助项目 (31300293); 云南省应用基础研究计划面上项目 (2013FB067)

作者简介: 杨大松, 从事天然药物化学研究。E-mail: yangdasongyunnan@126.com

*通信作者 李晓莉 Tel: (0871)65223231 E-mail: li_xiaoli11@mail.kib.ac.cn

6个化合物,分别为青藏大戟素 E (altotibetin E, **1**)、脯氨酸 (proline, **2**)、corchoionoside C (**3**)、icaraside B₂ (**4**)、1-*O*-(9*Z*,12*Z*,15*Z*-十八烷三烯酰基)-2-*O*-十六烷酰基-3-*O*- α -(6-磺基吡喃奎诺糖基)甘油酯 [1-*O*-(9*Z*,12*Z*,15*Z*-octadecatrienoyl)-2-*O*-hexadecanoyl-3-*O*- α -(6-sulfoquinovopyranosyl) glycerol, **5**]、(2*S*)-2,3-*O*-双十八烷-9*Z*,12*Z*,15*Z*-三烯酰基甘油酯-6'-*O*-(α -*D*-吡喃半乳糖基)- β -*D*-吡喃半乳糖苷 [(2*S*)-2,3-*O*-dioctadeca-9*Z*,12*Z*,15*Z*-trienoylglycerol-6'-*O*-(α -*D*-galactopyranosyl)- β -*D*-galactopyranoside, **6**]。其中化合物 **1** 为新的西松烷型二萜,命名为青藏大戟素 E; 化合物 **2**、**5** 和 **6** 为首次从大戟属植物中分离得到,其余化合物为首次从该植物中分离得到。

1 仪器与材料

Avance III 600 型核磁共振仪, Finnigan MAT 90 型质谱仪, API QSTAR TOF 质谱仪, Shimadzu UV-2401A 型紫外可见分光光度仪, JASCO P-1020 型全自动数字旋光仪, Bruker Tensor-27 傅里叶变换中红外光谱仪, 柱色谱硅胶 (80~100、200~300 目) 及薄层板 GF₂₅₄ 均为青岛海洋化工厂生产, Sephadex LH-20 为 Amersham Biosciences 公司产品, RP-18 为 Merck 公司产品, MCI 为三菱公司产品。

青藏大戟于 2013 年采自青海省果洛藏族自治州玛多县,由中国科学院昆明植物研究所杨永平研究员鉴定为大戟科大戟属植物青藏大戟 *Euphorbia altotibetica* Paulsen, 凭证标本 (YangYP-20130810) 保存于中国科学院昆明植物研究所标本馆。

2 提取与分离

青藏大戟 8.9 kg, 粉碎后用 90%乙醇 15 L 室温浸泡提取 3 次,每次 3 d, 提取液减压浓缩后得到浸膏 (635 g), 加适量水混悬,再用醋酸乙酯萃取 3 次,每次 5 L, 回收溶剂得到的醋酸乙酯浸膏 418 g。浸膏经 MCI 脱色后用硅胶柱色谱进行粗分,经三氯甲烷-丙酮系统 (1:0~3:2) 梯度洗脱,得到 4 个部分 Fr. A~D。Fr. A (17 g) 经硅胶、Sephadex LH-20 和薄层色谱制备得化合物 **1** (1.8 mg)。Fr. C (42 g) 经硅胶和 Sephadex LH-20 色谱分离纯化得化合物 **2** (8 mg)、**3** (6 mg) 和 **4** (5 mg); Fr. D (36 g) 经硅胶、Sephadex LH-20 和 RP-18 色谱分离纯化得化合物 **5** (12 mg) 和 **6** (4 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1** 为无色油状液体, HR-ESI-MS 显示其分子离子峰 m/z : 359.220 3 [M+Na]⁺, 由此确定其

分子式为 C₂₀H₃₂O₄, 不饱和度为 5。IR 光谱显示分子含有羟基 (3 453 cm⁻¹) 和羰基 (1 732 cm⁻¹) 等官能团。¹³C-NMR 谱结合 HSQC 相关显示化合物共有 20 个碳信号: 1 个羰基 (δ_C 171.3); 2 对三取代双键 (δ_C 123.8 d, 133.9 s; 145.9 d, 128.6 s); 1 对双取代双键 (δ_C 132.9 d, 135.0 d); 4 个 CH₃ (氢谱上 2 个为 s 峰, 与季碳相连; 2 个为 d 峰, 与 CH 相连); 5 个 CH₂; 3 个 CH (其中 1 个被羟基取代 δ_C 78.4); 1 个被羟基取代的 C (δ_C 75.0)。除去 1 个羰基和 3 对双键, 由化合物不饱和度为 5 推测该化合物为含有单环骨架的二萜。将化合物 **1** 的核磁数据与 4,8-二甲基-1-异丙基-12-甲氧羰基-4,5-二羟基环十四烷-2,7,11-三烯^[5]相比,发现二者母核基本一致,主要的差异在于化合物 **1** 的 12 位羧基未成酯,这与化合物 **1** 的 NMR 谱上没有甲氧基信号及高分辨质谱提供的相对分子质量一致,并被 HMBC 和 COSY 相关所证实 (图 1)。化合物 **1** 的相对构型是通过耦合常数对比以及其 ROESY 相关确定的。通常顺式双键的耦合常数为 11 Hz, 而反式双键的耦合常数为 15 Hz^[1], 化合物 **1** 中 $J_{2,3} = 15.8$ Hz, 表明 2 位和 3 位之间的双键为反式双键; 由 H-6/Me-19 与 H-10/H-13 之间的 ROESY 相关 (图 1) 可知 7 位和 11 位的双键均为反式双键。目前所有从植物中分离得到的西松烷二萜 1 位的异丙基均为 α 构型^[6], 加上 Me-18/H-1, H-5 之间的 ROESY 相关可知 1 位异丙基、4 位和 5 位的羟基均为 α 构型。综合上述分析, 确定化合物 **1** 的结构为 (1*R*,2*E*,4*S*,5*R*,7*E*,11*E*)-12-carboxyl-4,5-dihydroxyl-1-isopropyl-4,8-dimethyl-cyclotetradecatriene, 为一新的西松烷型二萜,命名为青藏大戟素 E (altotibetin E)。

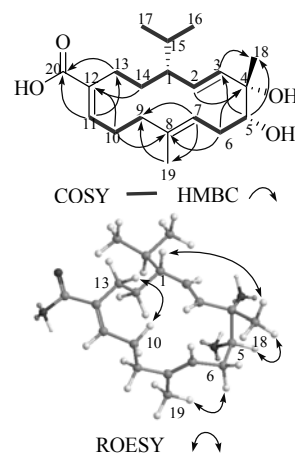


图 1 化合物 **1** 的重要二维核磁相关

Fig. 1 Key 2D NMR correlations of compound **1**

化合物 1: $[\alpha]_D^{20} -8.4^\circ$ (c 0.12, MeOH); UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 223 (4.31); IR ν_{\max}^{KBr} (cm^{-1}): 3 453, 2 947, 2 836, 1 732, 1 615, 1 466, 1 218。ESI-MS m/z : 359 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 375 $[\text{M}+\text{K}]^+$, 695 $[2\text{M}+\text{Na}]^+$, 711 $[2\text{M}+\text{K}]^+$; HR-ESI-MS m/z : 359.220 3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_4\text{Na}$, 计算值 359.219 8)。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 5.92 (1H, t, $J = 6.9$ Hz, H-11), 5.60 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-3), 5.42 (1H, dd, $J = 15.8, 9.0$ Hz, H-2), 5.26 (1H, t, $J = 6.9$ Hz, H-7), 3.47 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, H-5), 2.79 (1H, m, H-10a), 2.69 (1H, dd, $J = 15.9, 7.8$ Hz, H-6a), 2.55 (1H, m, H-13a), 2.46 (1H, m, H-10b), 2.24 (1H, dd, $J = 15.9, 6.9$ Hz, H-6b), 2.20 (1H, dd, $J = 7.7, 4.7$ Hz, H-9a), 2.13 (1H, m, H-9b), 1.98 (1H, m, H-13b), 1.74 (1H, m, H-1), 1.70 (1H, m, H-14a), 1.63 (3H, s, H-19), 1.52 (1H, m, H-15), 1.37 (3H, s, H-18), 1.36 (1H, m, H-14b), 0.81 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-16), 0.78 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-17); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ : 45.6 (d, C-1), 132.9 (d, C-2), 135.0 (d, C-3), 75.0 (s, C-4), 78.4 (d, C-5), 32.6 (t, C-6), 123.8 (d, C-7), 133.9 (s, C-8), 38.7 (t, C-9), 25.9 (t, C-10), 145.9 (d, C-11), 128.6 (s, C-12), 32.1 (t, C-13), 28.6 (t, C-14), 32.9 (d, C-15), 20.4 (q, C-16), 19.0 (q, C-17), 24.6 (q, C-18), 15.3 (q, C-19), 171.3 (s, C-20)。

化合物 2: 白色粉末。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 3.97 (1H, m, H-2), 3.38 (1H, m, H-5a), 3.23 (1H, m, H-5b), 2.29 (1H, m, H-3a), 2.10 (1H, m, H-3b), 1.96 (2H, m, H-4); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 174.0 (C-1), 62.6 (C-2), 30.4 (C-3), 25.1 (C-4), 47.0 (C-5)。以上数据与文献报道基本一致^[7], 故鉴定化合物 2 为脯氨酸。

化合物 3: 白色粉末, ESI-MS m/z : 409 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3COCD_3) δ : 6.06 (1H, d, $J = 15.4$ Hz, H-7), 5.98 (1H, s, H-4), 5.77 (1H, dd, $J = 15.4, 6.8$ Hz, H-8), 4.50 (1H, m, H-9), 4.31 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 2.57 (1H, d, $J = 15.7$ Hz, H-2 β), 2.12 (1H, d, $J = 15.7$ Hz, H-2 α), 1.90 (3H, s, H-11), 1.21 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-10), 1.02 (3H, s, H-12), 1.00 (3H, s, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3COCD_3) δ : 40.6 (C-1), 50.3 (C-2), 198.8 (C-3), 126.9 (C-4), 161.6 (C-5), 78.0 (C-6), 133.0 (C-7), 132.9 (C-8), 73.5 (C-9), 22.4 (C-10), 20.2 (C-11), 23.4 (C-12), 24.6 (C-13), 101.0 (C-1'), 74.8 (C-2'), 77.4 (C-3'), 71.7

(C-4'), 77.6 (C-5'), 62.9 (C-6')。以上数据与文献报道基本一致^[8], 故鉴定化合物 3 为 corchoionoside C。

化合物 4: 白色粉末。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3COCD_3) δ : 7.11 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-7), 6.12 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-8), 4.37 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 4.19 (1H, m, H-3), 2.35 (1H, dd, $J = 14.7, 5.0$ Hz, H-4a), 2.24 (3H, s, H-10), 1.77 (1H, dd, $J = 14.7, 8.1$ Hz, H-4b), 1.69 (1H, dd, $J = 13.1, 3.5$ Hz, H-2a), 1.35 (1H, dd, $J = 13.1, 9.9$ Hz, H-2b), 1.19 (3H, s, H-13), 1.15 (3H, s, H-11), 0.92 (3H, s, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3COCD_3) δ : 35.4 (C-1), 44.9 (C-2), 71.7 (C-3), 37.9 (C-4), 67.3 (C-5), 70.1 (C-6), 143.5 (C-7), 133.6 (C-8), 197.3 (C-9), 27.4 (C-10), 29.2 (C-11), 25.5 (C-12), 20.2 (C-13), 102.6 (C-1'), 74.9 (C-2'), 78.0 (C-3'), 71.7 (C-4'), 77.3 (C-5'), 62.9 (C-6')。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 4 为 icariside B₂。

化合物 5: 淡黄色粉末, ESI-MS m/z : 815 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 5.30 (6H, m, H-9', 10', 12', 13', 15', 16'), 5.27 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1'''), 5.11 (1H, m, H-2), 4.80 (1H, m, H-1a), 4.69 (1H, m, H-3a), 4.55 (1H, m, H-1b), 3.90 (1H, m, H-3b), 2.29 (4H, t, $J = 7.4$ Hz, H-2', 2''), 1.47 (4H, m, H-3', 3''), 0.90 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, H-18'), 0.83 (3H, t, $J = 6.9$ Hz, H-16''); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 62.7 (C-1), 69.8 (C-2), 64.6 (C-3), 172.4, 172.6 (C-1', 1''), 33.5, 33.6 (C-2', 2''), 24.5, 25.2 (C-3', 3''), 28.7, 28.8, 28.8, 28.9, 29.0, 29.1, 29.2 (C-4'~7', 4''~13''), 28.6 (C-8'), 129.9 (C-9'), 127.6 (C-10'), 25.3 (C-11'), 128.0 (C-12', 13'), 26.7 (C-14'), 127.0 (C-15'), 131.5 (C-16'), 20.1 (C-17'), 31.4 (C-14''), 22.2 (C-15''), 14.0, 14.2 (C-18', 16''), 98.3 (C-1'''), 71.7 (C-2'''), 73.0 (C-3'''), 74.2 (C-4'''), 68.6 (C-5'''), 54.4 (C-6''')。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 5 为 1-O-(9Z,12Z,15Z-十八烷三烯酰基)-2-O-十六烷酰基-3-O- α -(6-磺基吡喃奎诺糖基)甘油酯。

化合物 6: 白色粉末, ESI-MS m/z : 937 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 959 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 5.33 (12H, m, H-9''', 10''', 12''', 13''', 15''', 16'''), 5.24 (1H, m, H-2), 4.86 (1H, d, $J = 3.7$ Hz, H-1''), 4.43 (1H, dd, $J = 12.1, 2.7$ Hz, H-3a), 4.23 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1'), 4.22 (1H, dd, $J = 12.1, 6.5$ Hz, H-3b), 3.93 (1H, dd,

$J = 10.9, 5.4$ Hz, H-6'b), 3.66 (1H, dd, $J = 10.0, 6.3$ Hz, H-1a), 2.80 (8H, t, $J = 5.9$ Hz, H-11''', 14'''), 2.31 (4H, t, $J = 7.4$ Hz, H-2'''), 0.97 (6H, t, $J = 7.5$ Hz, H-18'''); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 67.8 (C-1), 71.7 (C-2), 64.0 (C-3), 105.3 (C-1'), 72.4 (C-2'), 74.6 (C-3'), 70.2 (C-4'), 74.6 (C-5'), 68.7 (C-6'), 100.6 (C-1''), 70.0 (C-2''), 71.4 (C-3''), 71.1 (C-4''), 72.6 (C-5''), 62.8 (C-6''), 174.7, 175.0 (C-1'''), 35.1, 35.0 (C-2'''), 26.0 (C-3'''), 30.8, 30.8, 30.5, 30.4, 30.3, 30.2 (C-4''' ~ 7'''), 28.2 (C-8'''), 131.1 (C-9'''), 128.9 (C-10'''), 26.4 (C-11'''), 129.2 (C-12'''), 13'''), 26.6 (C-14'''), 128.2 (C-15'''), 132.7 (C-16'''), 21.5 (C-17'''), 14.7 (C-18'''). 以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **6** 为(2*S*)-2,3-*O*-双十八烷-9*Z*,12*Z*,15*Z*-三烯酰基甘油酯-6'-*O*-(α -*D*-吡喃半乳糖基)- β -*D*-吡喃半乳糖苷。

参考文献

- [1] 杨大松. 黄苞大戟与高山大戟的化学成分及生物活性研究 [D]. 昆明: 云南农业大学, 2013.
- [2] Pan L, Zhang X F, Deng Y, *et al.* Chemical constituents from the whole plant of *Euphorbia altotibetic* [J]. *Helv Chim Acta*, 2003, 86(7): 2525-2532.
- [3] Zhang B B, Han X L, Jiang Q, *et al.* Cytotoxic cholestane-type and ergostane-type steroids from the aerial parts of *Euphorbia altotibetic* [J]. *Steroids*, 2013, 78(1): 38-43.
- [4] 刘洁丽. 藏药青藏大戟化学成分与生物活性研究 [D]. 兰州: 兰州理工大学, 2012.
- [5] Sato A, Kurabayashi M, Ogiso A, *et al.* Poilaneic acid, a cembranoid diterpene from *Croton poilanei* [J]. *Phytochemistry*, 1981, 20(8): 1915-1918.
- [6] Herz W, Grisebach H, Kirby G W. *Progress in the chemistry of organic natural products* [M]. Wien: Springer-Verlag, 1979.
- [7] 杨鹏飞, 王振中, 王洪庆, 等. 桂枝茯苓胶囊化学成分研究 (III) [J]. 中草药, 2012, 43(3): 463-466.
- [8] 赵青, 李创军, 杨敬芝, 等. 黄皮叶的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(8): 997-1000.
- [9] Fan G J, Kim S, Han B H, *et al.* Glyceroglycolipids, a novel class of platelet-activating factor antagonists from *Kalimeris indica* [J]. *Phytochem Lett*, 2008, 1(4): 207-210.
- [10] Kiem P V, Minh C V, Nhiem N X, *et al.* Inhibitory effect on TNF- α -induced IL-8 secretion in HT-29 cell line by glyceroglycolipids from the leaves of *Ficus microcarpa* [J]. *Arch Pharm Res*, 2012, 35(12): 2135-2142.