

金刚纂二萜类成分研究

颜世利, 李艳红, 李蓉涛, 陈宣钦

昆明理工大学生命科学与技术学院, 云南 昆明 650500

摘要: 目的 研究有毒药用植物金刚纂 *Euphorbia neriifolia* 茎皮的二萜类化学成分及其抗 HIV-1 活性。方法 利用硅胶、ODS、MCI CHP-20P、Sephadex LH-20 等柱色谱和高效液相色谱技术进行系统分离, 通过理化性质和 NMR、MS 波谱数据鉴定化合物结构; 采用 HIV-1 病毒株 NL4-3 感染的人淋巴 MT-4 细胞作为细胞检测模型对所得化合物进行抗 HIV-1 活性测试。结果 从金刚纂茎皮的丙酮水提取物的醋酸乙酯萃取部分分离得到 9 个二萜类化合物, 分别被鉴定为 12 α -乙酰氧基-3 β ,7 α -二羟基-8 α -甲氧基续随子烷 (1)、3 β ,8 α ,12 α -三乙酰氧基-7 α -苯甲酰氧基续随子烷 (2)、3 β ,8 α ,12 α -三乙酰氧基-7 α -巴豆酰氧基续随子烷 (3)、对映-3-氧代阿替生烷-16 α ,17-缩丙酮 (4)、13 β -羟基-3,15-二氧代阿替生烷-16-烯 (5)、对映-3 β ,13(S)-二羟基阿替生烷-16-烯-14-酮 (6)、3 β ,13(S)-二羟基阿替生烷-16-烯-14-酮 (7)、对映-(13S),18-二羟基阿替生烷-16-烯-3,14-二酮 (8)、4,13 β -二羟基-14-氧代-3,4-开环阿替生烷-16-烯-3-酸甲酯 (9)。结论 化合物 1 为新天然产物, 化合物 2~4、6~8 为首次从该植物中分离得到, 药理实验结果表明化合物 4 具有一定的抗 HIV-1 活性, EC₅₀ 为 8.7 μ g/mL (SI=1.92)。

关键词: 金刚纂; 续随子烷型二萜; 阿替生烷型二萜; 12 α -乙酰氧基-3 β ,7 α -二羟基-8 α -甲氧基续随子烷; 抗 HIV-1 活性

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2017)18-3699-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.18.006

Diterpenes from stem bark of *Euphorbia neriifolia*

YAN Shi-li, LI Yan-hong, LI Rong-tao, CHEN Xuan-qin

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

Abstract: **Objective** To investigate the diterpenes from the stem bark of *Euphorbia neriifolia* L. and their anti-HIV-1 activity. **Methods** The chemical constituents were isolated and purified by column chromatography over silica gel, ODS, MCI CHP-20P, Sephadex LH-20, and preparative HPLC. Their structures were identified by the analysis of their physicochemical properties and the spectral data of NMR and MS. The anti-HIV-1 activity of the compounds was tested by cell detection models established by HIV-1 NL4-3 infected MT-4 cells. **Results** Nine compounds were isolated from the stem bark of the plant, namely 12 α -acetoxy-3 β ,7 α -dihydroxy-8 α -methoxyingol (1), 3 β ,8 α ,12 α -triacetoxy-7 α -benzoyloxyingol (2), 3 β ,8 α ,12 α -triacetoxy-7 α -tigloyloxyingol (3), ent-3-oxoatis-16 α ,17-acetonide (4), 13 β -hydroxy-3,15-dioxoatis-16-ene (5), ent-3 β ,13(S)-dihydroxyatis-16-en-14-one (6), atis-16-en-14-oxo-3 β ,13(S)-diol (7), ent-(13S),18-dihydroxyatis-16-ene-3,14-dione (8), 4,13 β -dihydroxy-14-oxo-3,4-secoatis-16-en-3-oic acid methyl ester (9). **Conclusion** Compound 1 is a new natural product. Compounds 2—4, and 6—8 are isolated from the plant for the first time. Furthermore, compound 4 exhibited moderate anti-HIV-1 activities, with EC₅₀ values of 8.7 μ g/mL (SI = 1.92).

Key words: *Euphorbia neriifolia* L.; ingol diterpene; atisane diterpene; 12 α -acetoxy-3 β ,7 α -dihydroxy-8 α -methoxyingol; anti-HIV-1 activity

金刚纂 *Euphorbia neriifolia* L. 为大戟科 (Euphorbiaceae) 大戟属 *Euphorbia* Linn. 有毒植物, 肉质灌木状小乔木, 乳汁丰富, 原产于印度, 我国南北方均有栽培, 南方常用作绿篱, 北方于温室中观赏^[1]。金刚纂为我国传统傣药,《西双版纳傣药志》

记载其傣药名为“些拎”, 以乳汁、叶或茎入药, 具有清热解毒, 消肿止痛, 泻下通便和驱虫等功效^[2]。已有在该植物中发现具有抗 HIV-1 活性的二萜的相关报道, 引起了本课题组的关注^[3]。本课题组在前期研究中, 发现金刚纂茎皮 75% 丙酮-水提取物的醋

收稿日期: 2017-03-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (21572082)

作者简介: 颜世利 (1990—), 男, 在读硕士, 研究方向为天然药物化学。E-mail: sdyanshili@163.com

*通信作者 陈宣钦 (1980—), 男, 硕士生导师, 副教授, 研究方向为天然药物化学。Tel: (0871)65920657 E-mail: chenxuanqin12@aliyun.com

酸乙酯萃取物具有一定的抗 HIV-1 活性, 为了寻找其中的活性物质, 对该部位进行了系统化学研究, 从中分离了 9 个二萜化合物(图 1), 分别鉴定为 12 α -乙酰氧基-3 β ,7 α -二羟基-8 α -甲氧基续随子烷(12 α -acetoxy-3 β ,7 α -dihydroxy-8 α -methoxyingol, **1**)、3 β ,8 α ,12 α -三乙酰氧基-7 α -苯甲酰氧基续随子烷(3 β ,8 α ,12 α -triacetoxy-7 α -benzoyloxyingol, **2**)、3 β ,8 α ,12 α -三乙酰氧基-7 α -巴豆酰氧基续随子烷(3 β ,8 α ,12 α -triacetoxy-7 α -tigloyloxyingol, **3**)、对映-3-氧代阿替生烷-16 α ,17-缩丙酮(*ent*-3-oxoatis-16 α ,17-acetonide, **4**)、13 β -羟基-3,15-二氧化代阿替生烷-16-烯(13 β -hydroxy-3,15-dioxoatis-16-ene, **5**)、

对映-3 β ,13(*S*)-二羟基阿替生烷-16-烯-14-酮 [*ent*-3 β ,13(*S*)-dihydroxyatis-16-en-14-one, **6**]、3 β ,13(*S*)-二羟基阿替生烷-16-烯-14-酮 [atis-16-en-14-oxo-3 β ,13(*S*)-diol, **7**]、对映-(13*S*),18-二羟基阿替生烷-16-烯-3,14-二酮 [*ent*-(13*S*),18-dihydroxyatis-16-ene-3,14-dione, **8**]、4,13 β -二羟基-14-氧代-3,4-开环阿替生烷-16-烯-3-酸甲酯(4,13 β -dihydroxy-14-oxo-3,4-secoatis-16-en-3-oic acid methyl ester, **9**)。其中, 化合物 **1** 为新天然产物, 化合物 **2**~**4**、**6**~**8** 为首次从金刚纂中分离得到。所有化合物进行了抗 HIV-1 病毒株活性测试, 发现化合物 **4** 具有一定的抗 HIV-1 活性 [半数有效浓度 (EC₅₀) = 8.7 μ g/mL, 选择性指数 (SI) = 1.92]。

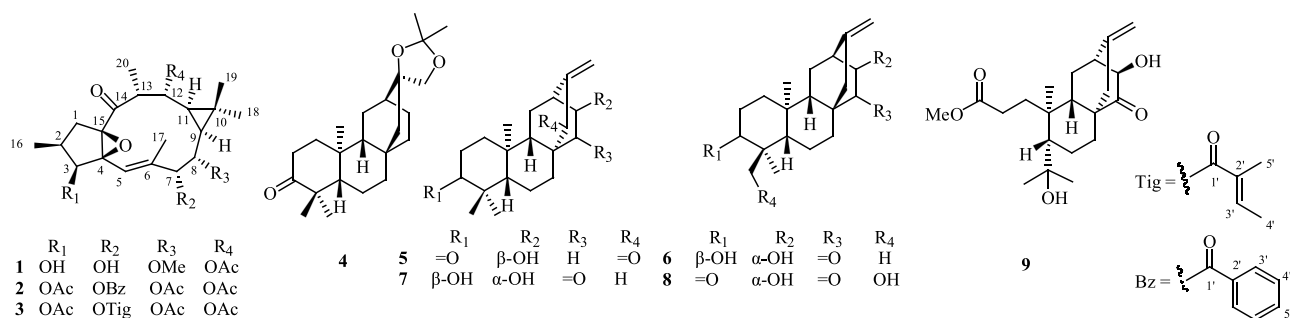


图 1 化合物 1~9 的结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1—9

1 仪器与材料

Bruker AM-400、DRX-500 或 AVANCE III 600 型超导核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); JASCO DIP-370 型数显旋光仪 (日本分光株式会社); Agilent 1200 型高效液相色谱仪 (美国 Agilent 科技有限公司); VG Autospec-3000 质谱仪 (英国 VG 公司); 反相填充材料 ODS (40~60 μ m, 德国 Merck 公司); MCI CHP-20P (75~150 μ m, 日本 Mitsubishi 公司); Sephadex LH-20 (瑞典 Amersham Biosciences 公司); 硅胶 (80~100、100~200、200~300 目, 青岛海洋化工); GF₂₅₄ 型和 G 型硅胶薄层板 (青岛海洋化工厂产品)。

金刚纂茎皮采于云南省西双版纳, 原植物由昆明理工大学生命科学与技术学院李海舟教授鉴定为金刚纂 *Euphorbia nerifolia* L., 植物标本 (JIN201209) 保存于昆明理工大学生命科学与技术资源药物化学重点实验室。

2 提取与分离

干燥的金刚纂茎皮 8.0 kg, 粉碎, 室温下 75% 丙酮-水提取 3 次 (30 L $\times$ 3), 每次浸泡 24 h。提取

液减压蒸馏浓缩, 回收丙酮, 分别用醋酸乙酯、正丁醇进行液-液萃取 4 次, 得到醋酸乙酯浸膏 265.0 g。所得浸膏用 1.5 倍硅胶 (100~200 目) 拌样, 经中压 MCI, 用甲醇-水 (30%、60%、75%、90%、100%) 梯度洗脱, 薄层检测将其分为 4 部分 Fr. I~IV。Fr. I 经反复硅胶柱色谱并结合 Sephadex LH-20 (氯仿-甲醇 1:1) 及 HPLC (甲醇-水 80%) 得到化合物 **1** (5.1 mg)、**2** (7.3 mg)、**3** (18.6 mg)。Fr. II 经中压 ODS 反相柱用甲醇-水 (30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%) 梯度洗脱, 薄层检测将其分为 4 个部分 Fr. II-a~II-d。Fr. II-a 经反复硅胶柱色谱并结合 Sephadex LH-20 (氯仿-甲醇 1:1) 以及 HPLC (甲醇-水 45%) 得到化合物 **8** (5.2 mg), Fr. II-b 经反复硅胶柱色谱并结合 Sephadex LH-20 (氯仿-甲醇 1:1) 以及 HPLC (甲醇-水 40%) 得到化合物 **7** (3.8 mg) 和 **9** (11.1 mg), Fr. II-c 经反复硅胶柱色谱并结合 Sephadex LH-20 (氯仿-甲醇 1:1) 及 HPLC (甲醇-水 40%) 得到化合物 **5** (321.7 mg) 和 **6** (103.4 mg), Fr. II-d 经反复硅胶柱色谱并结合 Sephadex LH-20 (氯仿-甲醇 1:1) 得到化合物 **4** (10.0 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色固体, 浓硫酸-乙醇 (10%) 显棕黑色。[α]_D²⁵ +16.4° (*c* 0.10, 甲醇)。HR-ESI-MS *m/z* 445.221 0 [M+Na]⁺ (计算值 445.219 7) 给出分子式 C₂₃H₃₄O₇, 不饱和度为 7。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) 谱 (表 1) 中可见 7 个甲基信号, 分别为 0.95 (3H, s), 1.03 (3H, s), 2.06 (3H, s), 3.34 (3H, s), 0.99 (3H, d, *J* = 7.3 Hz), 1.02 (3H, d, *J* = 7.9 Hz), 2.00 (3H, d, *J* = 0.8 Hz)。其中, δ_{H} 3.34 处显示为 1 个甲氧基单峰。¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) 谱 (表 1) 结合 DEPT 谱可知, 化合物 **1** 中存在 1 个羰基 δ_{C} 210.3, 1 个乙酰氧基 δ_{C} 172.5、20.9, 1 对双键碳 δ_{C} 118.3、143.3, 2 个连氧的季碳 δ_{C} 73.3、77.4, 4 个连氧的次甲基 δ_{C} 73.1、74.0、77.0、81.4。结合 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 谱, 可知化合物 **1** 具有 1 个甲氧基和 1 个乙酰氧基取代, 而剩下的 20 个碳信号组成基本骨架。除去 1 个羰基、1 个酰基、1 对双键的 3 个不饱和度, 还剩 4 个不饱和度, 说明化合物 **1** 是个四环二萜化合物。经与文献对照^[3], 发现化合

物 **1** 的核磁数据与 euphorantin **1** 高度相似, 为 C-4 位与 C-15 位环氧的续随子烷型二萜。二者的区别在于, euphorantin **1** 的 C-7、C-8 和 C-12 位的取代基分别是苯甲酰氧基、甲氧基和乙酰氧基, 而化合物 **1** 只有甲氧基与乙酰氧基 2 个取代基。通过 HMBC 和 ¹H-¹H COSY 谱 (图 2) 确定了甲氧基与乙酰氧基的取代位置。HMBC 谱中显示 OMe (δ_{H} 3.34) 与 C-8 (δ_{C} 81.4) 相关, 说明甲氧基连在 C-8 位; H-12 (δ_{H} 4.87) 与 OAc 上的羰基碳 (δ_{C} 172.5) 相关, 说明乙酰基连在 C-12 位。¹H-¹H COSY 谱中的, H-7/H-8/H-9/H-11/H-12/H₃-20 的相关也证实 C-8 和 C-12 具有含氧取代。此外, 根据 ¹H-¹H COSY 谱中, H-7/H-8/H-9/H-11/H-12/H₃-20 和 H-1/H-2/H-3 的相关, 说明 C-3 及 C-7 也被氧化, 结合分子式, 推断 2 个羟基分别连在 C-3 和 C-7。H₃-20 (δ_{H} 0.99) 与孤立羰基 (δ_{C} 210.3) 的相关, 提示 C-14 位被羰基化。H₃-17 (δ_{H} 2.00) 与烯碳 (δ_{C} 143.3) 的相关, H-8 (δ_{H} 2.00) 与烯碳 (δ_{C} 143.3) 的相关, 烯氢 (δ_{H} 5.79) 与 C-4 (δ_{C} 73.3) 的相关, 说明双键在 C-5 和 C-6。

表 1 化合物 **1** 的 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据
Table 1 ¹H-NMR and ¹³C-NMR data for compound **1**

碳位	δ_{H}	δ_{C}	碳位	δ_{H}	δ_{C}
1	1.57 (1H, d, <i>J</i> = 14.7 Hz, H-1a) 2.70 (1H, dd, <i>J</i> = 14.8, 9.0 Hz, H-1b)	32.4	12	4.87 dd (1H, dd, <i>J</i> = 11.0, 4.0 Hz)	73.1
2	2.28 (1H, m)	32.8	13	2.97 (1H, m)	44.2
3	4.34 (1H, d, <i>J</i> = 8.4)	77.0	14	—	210.3
4	—	73.3	15	—	77.4
5	5.79 (1H, brs)	118.3	16	1.02 (3H, d, <i>J</i> = 7.9 Hz)	17.1
6	—	143.3	17	2.00 (3H, d, <i>J</i> = 0.8 Hz)	18.0
7	4.33 (1H, brs)	74.0	18	1.03 (3H, s)	29.6
8	2.94 (1H, dd, <i>J</i> = 10.1, 1.6 Hz)	81.4	19	0.95 (3H, s)	17.3
9	1.27 (1H, t, <i>J</i> = 9.7 Hz)	27.3	20	0.99 (3H, d, <i>J</i> = 7.3 Hz)	13.8
10	—	20.0	8-OMe	3.34 (3H, s)	56.4
11	0.89 (1H, dd, <i>J</i> = 11.0, 9.6 Hz)	32.0	12-OAc	2.06 (3H, s)	20.9
					172.5

化合物 **1** 的相对构型由 ¹H-NMR 及 ROESY 谱 (图 2) 确定, *J*_{2,3} = 8.1 Hz, 以及 H₂-1 的化学位移说明了 H-2 与 H-3 是 α 取向^[4], H-1 β /Me-16 和 H-3/H-5 的 ROESY 相关, 也说明了这点。此外, Me-17/H-7、Me-17/H-8、H-8/Me-19、H-12/Me-19 和 H-13/Me-19 的 ROESY 相关, 说明 H-7、H-8、H-12 和 H-13 都是 β 取向。H-5 与 H-7 的 ROESY 相关说明 5 位双键是 E 式的^[5]。Me-18/H-9 和

Me-18/H-11 的相关说明 H-9 和 H-11 是 α 取向。H-3 与 H-5 的相关, 表明了 C-4 与 C-15 的环氧环是 β 取向^[6]。因此确定化合物的结构如图 1 所示, 与文献报道的半合成产物 8-methoxy-12-O-acetylingol 结构一致^[7], 但是文献中未报道该化合物具体的核磁数据。据文献报道 8-methoxy-12-O-acetylingol 为 3,12-O-diacetyl-7-O-benzoyl-8-methoxyingol 在 0.1 mol/L 氢氧化钾的甲醇溶液的脱酰基产物。在本研

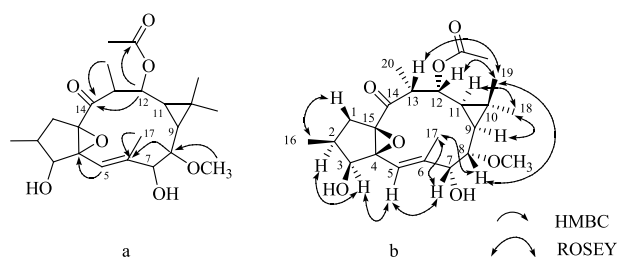


图2 化合物1的主要HMBC(a)和ROESY(b)相关

Fig. 2 Key HMBC (a) and ROESY (b) correlations of compound 1

究的分离提取过程中,未添加强酸或强碱,因此通过脱酰基获得化合物1的可能性较低。另一方面,在未加强酸或强碱的情况下,通过特异性选择8-OH甲基化,而衍生出化合物1可能性也较低。此外,前人已从大戟属植物中分离得到过较多的同时具有甲氧基、羟基和酰氧基取代的续随子烷型二萜^[6,8],因此,鉴定化合物1为12 α -acetoxy-3 β ,7 α -dihydroxy-8 α -methoxyingol,推测其为1个新天然产物,而非人工产物。

化合物2:白色固体,浓硫酸-乙醇(10%)显棕黑色。ESI-MS m/z : 619 $[M+Na]^+$, 分子式 $C_{33}H_{40}O_{10}$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.98 (2H, d, $J = 7.4$ Hz, H-3'), 7.61 (1H, t, $J = 7.4$ Hz, H-5'), 7.48 (2H, t, $J = 7.7$ Hz, H-4'), 5.80 (1H, brs, H-5), 5.41 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3), 5.14 (1H, brs, H-7), 4.97 (1H, dd, $J = 11.1, 3.7$ Hz, H-12), 4.89 (1H, dd, $J = 10.8, 1.8$ Hz, H-8), 3.04 (1H, m, H-13), 2.81 (1H, dd, $J = 14.9, 9.0$ Hz, H-1a), 2.45 (1H, m, H-2), 2.14 (3H, m, H-17), 2.11 (3H, m, OAc), 2.06 (3H, m, OAc), 2.03 (3H, m, OAc), 1.68 (1H, d, $J = 14.9$ Hz, H-1b), 1.55 (1H, t, $J = 10.5$ Hz, H-9), 1.16 (1H, overlapped, H-11), 1.13 (3H, s, H-18), 1.05 (3H, d, $J = 7.3$ Hz, H-20), 0.99 (3H, d, $J = 7.4$ Hz, H-16), 0.81 (3H, s, H-19); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 206.1 (C-14), 171.0 (OAc), 170.5 (OAc), 170.2 (OAc), 166.3 (C-1'), 139.8 (C-6), 134.2 (C-5'), 130.9 (C-3'), 130.2 (C-2'), 129.5 (C-4'), 118.8 (C-5), 81.1 (C-8), 78.0 (C-3), 72.7 (C-7), 72.2 (C-4), 71.4 (C-12), 70.6 (C-15), 43.5 (C-13), 32.0 (C-2), 31.8 (C-11), 31.7 (C-1), 29.3 (C-18), 26.3 (C-9), 20.9 (OAc), 20.8 (OAc), 20.8 (OAc), 20.5 (C-10), 17.5 (C-17), 16.6 (C-16), 16.1 (C-19), 13.7 (C-20)。以上数据与文献报道一致^[4],故鉴定化合物2为3 β ,8 α ,12 α -三乙酰氧基-7 α -苯甲酰氧基续随子烷。

化合物3:白色固体,浓硫酸-乙醇(10%)显棕黑色。ESI-MS m/z : 597 $[M+Na]^+$, 分子式 $C_{31}H_{42}O_{10}$ 。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.89 (1H, q, $J = 7.0$ Hz, H-3'), 5.78 (1H, brs, H-5), 5.42 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3), 5.02 (1H, brs, H-7), 4.92 (1H, dd, $J = 11.1, 3.9$ Hz, H-12), 4.71 (1H, dd, $J = 10.9, 1.9$ Hz, H-8), 3.04 (1H, m, H-13), 2.82 (1H, dd, $J = 14.9, 9.0$ Hz, H-1a), 2.47 (1H, m, H-2), 2.13 (3H, m, H-17), 2.11 (3H, m, OAc), 2.11 (3H, m, OAc), 2.09 (3H, m, OAc), 1.85 (3H, dd, $J = 7.0, 1.4$ Hz, H-4'), 1.83 (3H, t, $J = 1.4$ Hz, H-5'), 1.70 (1H, d, $J = 14.8$ Hz, H-1b), 1.46 (1H, t, $J = 10.0$ Hz, H-9), 1.14 (1H, overlapped, H-11), 1.13 (3H, s, H-18), 1.11 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-20), 1.05 (3H, d, $J = 7.3$ Hz, H-16), 0.82 (3H, s, H-19); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 208.8 (C-14), 172.2 (OAc), 172.0 (OAc), 171.6 (OAc), 168.7 (C-1'), 140.3 (C-2'), 139.5 (C-6), 129.5 (C-3'), 119.1 (C-5), 78.5 (C-8), 77.7 (C-3), 75.0 (C-4), 72.6 (C-7), 72.5 (C-15), 72.3 (C-12), 44.1 (C-13), 32.2 (C-2), 32.2 (C-1), 30.6 (C-11), 29.3 (C-18), 26.5 (C-9), 20.9 (OAc), 20.9 (OAc), 20.5 (OAc), 20.4 (C-10), 17.7 (C-17), 17.4 (C-16), 16.7 (C-19), 14.5 (C-4'), 13.7 (C-20), 12.2 (C-5')。以上数据与文献报道一致^[9],故鉴定化合物3为3 β ,8 α ,12 α -三乙酰氧基-7 α -巴豆酰氧基续随子烷。

化合物4:白色薄片,浓硫酸-乙醇(10%)显紫红色。ESI-MS m/z : 383 $[M+Na]^+$, 分子式 $C_{23}H_{36}O_3$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 3.97 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-17a), 3.60 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-17b), 2.55 (1H, m, H-2a), 2.31 (1H, m, H-2b), 1.98 (1H, t, $J = 12.2$ Hz, H-11a), 1.82 (1H, m, H-14a), 1.81 (1H, m, H-1a), 1.73 (1H, m, H-12), 1.53 (2H, m, H-13), 1.52 (1H, m, H-7a), 1.52 (2H, m, H-6), 1.51 (2H, m, H-15), 1.49 (1H, m, H-1b), 1.46 (3H, s, H-2'), 1.45 (3H, s, H-3'), 1.32 (1H, m, H-11b), 1.30 (1H, m, H-5), 1.28 (1H, m, H-9), 1.19 (1H, m, H-7b), 1.16 (3H, s, H-20), 1.09 (3H, s, H-18), 1.06 (3H, s, H-19), 0.81 (1H, m, H-14b); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 217.4 (C-3), 108.8 (C-1'), 82.6 (C-16), 74.3 (C-17), 55.6 (C-5), 53.8 (C-15), 50.4 (C-9), 47.6 (C-4), 38.8 (C-7), 37.9 (C-1), 37.1 (C-10), 34.0 (C-12), 34.0 (C-2), 33.1 (C-8), 27.5 (C-3'), 27.3 (C-14), 27.1 (C-2'), 26.1 (C-18), 23.3 (C-13), 23.0 (C-11), 21.6 (C-19), 19.6 (C-6),

13.6 (C-20)。以上数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **4** 为对映-3-氧代阿替生烷-16 α ,17-缩丙酮。

化合物 **5**: 无色片状晶体 (丙酮), 浓硫酸-乙醇 (10%) 显紫红色。ESI-MS m/z : 383 $[M+Na]^+$, 分子式 $C_{23}H_{36}O_3$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3COCD_3) δ : 4.90 (1H, dd, $J = 4.1, 2.4$ Hz, H-17a), 4.75 (1H, dd, $J = 3.7, 1.9$ Hz, H-17b), 3.85 (1H, t, $J = 3.5$ Hz, H-13), 2.66 (1H, m, H-12), 2.30 (1H, m, H-7a), 2.26 (2H, m, H-15), 1.88 (1H, m, H-11a), 1.75 (1H, m, H-11b), 1.72 (2H, m, H-6), 1.47 (1H, m, H-5), 1.06 (1H, m, H-1b), 0.96 (3H, s, H-18), 0.87 (1H, m, H-7b), 0.74 (3H, s, H-19), 0.68 (3H, s, H-20); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3COCD_3) δ : 217.5 (C-15), 215.1 (C-3), 144.8 (C-16), 110.0 (C-17), 75.6 (C-13), 55.5 (C-5), 51.6 (C-9), 47.7 (C-4), 47.5 (C-8), 46.5 (C-12), 43.8 (C-14), 38.2 (C-10), 37.3 (C-1), 34.5 (C-2), 31.3 (C-7), 26.4 (C-19), 26.2 (C-11), 22.0 (C-18), 20.6 (C-6), 13.6 (C-20)。以上数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 **5** 为 13 β -羟基-3,15-二氧代阿替生烷-16-烯。

化合物 **6**: 无色棒状晶体 (90%甲醇), 浓硫酸-乙醇 (10%) 显紫红色。ESI-MS m/z : 341 $[M+Na]^+$, 分子式 $C_{20}H_{30}O_3$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 4.92 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-17a), 4.78 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-17b), 3.80 (1H, d, $J = 2.9$ Hz, H-13), 3.15 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-3), 2.66 (1H, t, $J = 2.9$ Hz, H-12), 2.30 (1H, m, H-7a), 2.26 (2H, m, H-15), 1.81 (1H, m, H-11a), 1.75 (2H, m, H-2), 1.62 (1H, m, H-9), 1.59 (1H, m, H-11b), 1.55 (2H, m, H-6), 1.40 (1H, m, H-5), 1.07 (1H, m, H-1a), 0.96 (3H, s, H-18), 0.87 (1H, m, H-1b), 0.84 (1H, m, H-7b), 0.74 (3H, s, H-19), 0.68 (3H, s, H-20); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 219.1 (C-14), 144.9 (C-16), 110.6 (C-17), 79.5 (C-3), 76.0 (C-13), 55.8 (C-5), 53.3 (C-9), 48.4 (C-8), 47.3 (C-12), 44.4 (C-15), 40.0 (C-4), 38.9 (C-10), 37.7 (C-1), 32.2 (C-7), 28.9 (C-18), 27.6 (C-2), 26.6 (C-11), 19.9 (C-6), 16.3 (C-19), 14.3 (C-20)。以上数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 **6** 为对映-3 β , (13*S*)-二羟基阿替生烷-16-烯-14-酮。

化合物 **7**: 白色粉末, 浓硫酸-乙醇 (10%) 显紫红色。ESI-MS m/z : 341 $[M+Na]^+$, 分子式 $C_{20}H_{30}O_3$ 。 1H -NMR (600 MHz, C_5D_5N) δ : 5.10 (1H, d, $J = 1.3$ Hz, H-17a), 4.84 (1H, d, $J = 1.0$ Hz, H-17b), 4.15 (1H, d, $J = 2.7$ Hz, H-13), 3.58 (1H, d, $J = 6.1$

Hz, H-3), 2.90 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-12), 2.48 (1H, d, $J = 13.3$ Hz, H-7a), 2.31 (1H, d, $J = 17.4$ Hz, H-15a), 2.14 (1H, d, $J = 17.5$ Hz, H-15b), 1.86 (1H, m, H-1a), 1.81 (1H, m, H-11a), 1.75 (2H, m, H-2), 1.67 (1H, m, H-9), 1.63 (1H, m, H-11b), 1.62 (2H, m, H-6), 1.48 (1H, m, H-5), 1.26 (1H, m, H-1b), 1.14 (3H, s, H-18), 0.84 (1H, m, H-7b), 0.79 (3H, s, H-19), 0.73 (3H, s, H-20); ^{13}C -NMR (150 MHz, C_5D_5N) δ : 218.3 (C-14), 145.2 (C-16), 109.5 (C-17), 75.4 (C-13), 74.8 (C-3), 51.9 (C-9), 48.4 (C-5), 47.6 (C-8), 46.5 (C-12), 43.6 (C-15), 38.0 (C-4), 37.5 (C-10), 31.6 (C-7), 31.3 (C-1), 29.2 (C-19), 25.8 (C-11), 25.8 (C-2), 22.4 (C-18), 19.0 (C-6), 13.9 (C-20)。以上数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 **7** 为 3 β ,13(*S*)-二羟基阿替生烷-16-烯-14-酮。

化合物 **8**: 白色粉末, 浓硫酸-乙醇 (10%) 显紫红色。ESI-MS m/z : 355 $[M+Na]^+$, 分子式 $C_{20}H_{28}O_4$ 。 1H -NMR (600 MHz, C_5D_5N) δ : 5.14 (1H, d, $J = 1.4$ Hz, H-17a), 4.88 (1H, d, $J = 1.4$ Hz, H-17b), 4.18 (1H, d, $J = 10.4$ Hz, H-18a), 4.16 (1H, s, H-13), 3.76 (1H, d, $J = 10.9$ Hz, H-18b), 2.93 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-12), 2.75 (1H, td, $J = 14.6, 5.7$ Hz, H-2a), 2.50 (1H, d, $J = 13.3$ Hz, H-7a), 2.37 (1H, m, H-15a), 2.34 (1H, m, H-2b), 2.23 (1H, d, $J = 17.5$ Hz, H-15b), 1.85 (1H, m, H-11a), 1.82 (1H, m, H-6a), 1.73 (1H, m, H-1a), 1.69 (1H, m, H-11b), 1.61 (1H, m, H-6b), 1.50 (1H, m, H-9), 1.40 (3H, s, H-19), 1.35 (1H, m, H-5), 1.26 (1H, m, H-1b), 0.98 (3H, s, H-20), 0.86 (1H, m, H-7b); ^{13}C -NMR (150 MHz, C_5D_5N) δ : 218.0 (C-14), 213.8 (C-3), 144.8 (C-16), 109.8 (C-17), 75.3 (C-13), 65.1 (C-18), 56.8 (C-5), 54.5 (C-4), 51.3 (C-9), 47.3 (C-8), 46.4 (C-12), 43.2 (C-15), 37.7 (C-10), 37.5 (C-1), 35.7 (C-2), 31.5 (C-7), 26.1 (C-11), 21.4 (C-19), 20.4 (C-6), 14.1 (C-20)。以上数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 **8** 为对映-(13*S*),18-二羟基阿替生烷-16-烯-3,14-二酮。

化合物 **9**: 无色油状物, 浓硫酸-乙醇 (10%) 显紫红色。ESI-MS m/z : 387 $[M+Na]^+$, 分子式 $C_{21}H_{32}O_5$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.00 (1H, s, H-17a), 4.83 (1H, s, H-17b), 3.85 (1H, d, $J = 2.8$ Hz, H-13), 3.65 (1H, s, OCH_3), 2.80 (1H, d, $J = 2.9$ Hz, H-12), 2.53 (1H, m, H-2a), 2.38 (1H, m, H-1a), 2.28 (2H, s, H-15), 2.25 (1H, m, H-7a), 2.20 (1H, m, H-2b),

1.92 (1H, m, H-11a), 1.80 (1H, m, H-11b), 1.77 (1H, m, H-9), 1.56 (1H, m, H-1b), 1.51 (2H, m, H-6), 1.40 (1H, m, H-5), 1.27 (3H, s, H-18), 1.19 (3H, s, H-19), 0.87 (1H, m, H-7b), 0.82 (3H, s, H-20); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 218.3 (C-14), 175.0 (C-3), 142.4 (C-16), 110.8 (C-17), 75.5 (C-4), 75.1 (C-13), 51.7 (OCH_3) 51.2 (C-5), 47.2 (C-8), 45.0 (C-9), 44.8 (C-12), 43.9 (C-15), 41.5 (C-10), 34.4 (C-18), 32.6 (C-1), 30.5 (C-7), 28.8 (C-2), 27.8 (C-19), 25.1 (C-11), 22.9 (C-6), 18.0 (C-20)。以上数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 **9** 为 4,13 β -二羟基-14-氧代-3,4-开环阿替生烷-16-烯-3-酸甲酯。

4 抗 HIV 活性测试

抗 HIV 活性筛选与美国杜克大学医学中心合作完成。采用 HIV-1 病毒株 NL4-3 感染的 MT-4 细胞作为细胞检测模型, 对所得化合物 **1~9** 进行抗 HIV-1 活性测试^[15]。阳性对照为 Zidovudine。检测指标: CC_{50} 为导致 50% 的宿主细胞产生毒性的化合物浓度; EC_{50} 为抑制 50% 的 HIV-1 感染细胞死亡时的化合物浓度。 $\text{SI} = \text{CC}_{50}/\text{EC}_{50}$ 。结果表明化合物 **4** 表现出了中度的抗 HIV-1 的活性, CC_{50} 为 16.7 $\mu\text{g/mL}$, EC_{50} 为 8.7 $\mu\text{g/mL}$, $\text{SI} = 1.92$ 。其他化合物在 20 $\mu\text{g/mL}$ 时对感染 HIV-1 NL4-3 病毒的 MT-4 细胞均无明显抑制作用。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1997.
- [2] 林艳芳, 依 专, 赵应红. 中国傣医药彩色图谱 [M]. 昆明: 云南民族出版社, 2008.
- [3] Zhao J X, Liu C P, Qi W Y, *et al.* Eurifoloids A-R, Structurally diverse diterpenoids from *Euphorbia neriifolia* [J]. *J Nat Prod*, 2014, 77(10): 2224-2233.
- [4] Li X L, Li Y, Wang S F, *et al.* Ingol and ingenol diterpenes from the aerial parts of *Euphorbia royleana* and their antiangiogenic activities [J]. *J Nat Prod*, 2009, 72(6): 1001-1005.
- [5] Marco J A, Sanz-Cervera J F, Yuste A. Ingenane and lathyrane diterpenes from the latex of *Euphorbia canariensis* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 45(3): 563-570.
- [6] Qi W Y, Zhang W Y, Shen Y, *et al.* Ingol-type diterpenes from *Euphorbia antiquorum* with mouse 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibition activity [J]. *J Nat Prod*, 2014, 77(6): 1452-1458.
- [7] Lin L J, Kinghorn A D. 8-Methoxyingol esters from the latex of *Euphorbia hermentiana* [J]. *Phytochemistry*, 1983, 22(12): 2795-2799.
- [8] Ravikanth V, Reddy V L N, Rao T P, *et al.* Macrocyclic diterpenes from *Euphorbia nivulia* [J]. *Phytochemistry*, 2002, 59(3): 331-335.
- [9] Connolly J D, Fakunle C O, Rycroft D S. Five ingol esters and a 17-hydroxyingenol ester from the latex of *Euphorbia Kamerunica*. Assignment of esters using ^{13}C NMR methods [J]. *Tetrahedron Lett*, 1984, 25(34): 3773-3776.
- [10] Huang C S, Luo S H, Li Y L, *et al.* Antifeedant and antiviral diterpenoids from the fresh roots of *Euphorbia jolkinii* [J]. *Nat Prod Bioprospect*, 2014, 4(2): 91-100.
- [11] Liu J H, Latif A, Ali M, *et al.* Diterpenoids from *Euphorbia neriifolia* [J]. *Phytochemistry*, 2012, 75(3): 153-158.
- [12] 王 环, 张晓峰, 马云保, 等. 大果大戟的二萜成分 [J]. 中草药, 2004, 35(6): 611-614.
- [13] 丁毅力, 刘育亨. 阿替烷类型二萜衍生物的 NMR 研究 [J]. 波谱学杂志, 1992, 9(3): 277-282.
- [14] Lal A R, Cambie R C, Rutledge P S, *et al.* Ent-atrisane diterpenes from *Euphorbia fidjiana* [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29(6): 1925-1935.
- [15] Dang Z, Zhu L, Lai W, Bogerd H, *et al.* Aloperine and its derivatives as a new class of HIV-1 entry inhibitors [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2016, 7(3): 240-244.