• 化学成分 •

黔产黄苞大戟中 1 个新的 megastigmane 糖苷

杜彩霞 1,2,3, 易 平 1,2, 陈俊磊 1,2, 熊 燕 1,2, 张嘉瑜 1,2, 黄烈军 1,2, 苑春茂 1,2, 郝小江 1,2*, 顾 玮 1,2*

- 1. 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室,贵州 贵阳 550014
- 2. 贵州医科大学 省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室,贵州 贵阳 550014
- 3. 毕节医学高等专科学校,贵州 毕节 551700

摘 要:目的 研究黔产黄苞大戟 *Euphorbia sikkimensis* 的化学成分。方法 采用正相硅胶、RP-C₁₈、HPLC、Sephadex LH-20 等色谱技术对黄苞大戟化学成分进行分离纯化,并运用 NMR、MS 等现代谱学技术进行化学结构鉴定。结果 从黄苞大戟 80% 乙醇提取物中分离鉴定出 5 个化合物,分别鉴定为 (6S,9S)-布卢姆醇-6'-O-没食子酸酯 (1)、(6R,9S)-布卢姆醇-6'-O-没食子酸酯 (2)、ent-kaurane-3-oxo-16β-17-diol (3)、ent-16α,17-dihydroxy-atisan-3-one (4)、短叶苏木酚酸甲酯 (5)。结论 化合物 1 为新的 megastigmane 糖苷类化合物,命名为黄苞大戟苷 A; 化合物 $2\sim 5$ 首次从黄苞大戟中分离得到。

关键词: 黄苞大戟; megastigmane 糖苷; 黄苞大戟苷 A; (6R,9S)-布卢姆醇-6'-O-没食子酸酯; 短叶苏木酚酸甲酯

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253 - 2670(2021)08 - 2205 - 05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.08.002

A new megastigmane glycoside from Euphorbia sikkimensis from Guizhou Province

DU Cai-xia^{1, 2, 3}, YI Ping^{1, 2}, CHEN Jun-lei^{1, 2}, XIONG Yan^{1, 2}, ZHANG Jia-yu^{1, 2}, HUANG Lie-jun^{1, 2}, YUAN Chun-mao^{1, 2}, HAO Xiao-jiang^{1, 2}, GU Wei^{1, 2}

- 1. Key Laboratory of Chemistry of Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550014, China
- 2. State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Guizhou Medicinal University, Guiyang 550014, China
- 3. Bijie Medical College, Bijie 551700, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents of *Euphorbia sikkimensis*. Methods The chemical constituents were isolated and purified by column chromatography, RP-C₁₈, HPLC and Sephadex LH-20, and their chemical structures were elucidated on the basis of 1D-NMR, 2D-NMR, and MS data. Results Five compounds were isolated from *E. sikkimensis* and identified as (6*S*,9*S*)-blumenol-6'-*O*-gallate (1), (6*R*, 9*S*)-blumenol-6'-*O*-gallate (2), *ent*-kaurane-3-oxo 16β-17-diol (3), *ent*-16α, 17-dihydroxy-atisan-3-one (4) and methyl brevifolincarboxylate (5). Conclusion Compound 1 is a new megastigmane glycoside, named sikkimenside A, compounds 2—5 are isolated from *E. sikkimensis* for the first time.

Key words: *Euphorbia sikkimensis* Boiss.; megastigmane glycoside; sikkimenside A; (6*R*,9*S*)-blumenol-6'-*O*-gallate; methyl brevifolincarboxylate

黄苞大戟 Euphorbia sikkimensis Boiss.是大戟科大戟属植物的多年生草本植物,又名草蔺如、水黄花、刮金板、粉背刮金板、中尼大戟。产于我国广西、贵州、四川、西藏、湖北、云南。生于海拔 600~

4500 m 的山坡、灌丛或疏林下。主要用于治疗小儿 黄水疥、水肿、水臌^[1]。黄苞大戟在贵州分布广泛, 多个少数民族均有记载其用法,苗族将其煎水服用 于治疗便秘;布依族将其与蜂蜜、一支箭一起煎水

收稿日期: 2020-12-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(U1812403); 国家自然科学基金资助项目(31860074); 贵州省科技计划项目(黔科合支撑[2018]2799号)

作者简介: 杜彩霞, 女, 硕士, 研究方向为天然药物化学。E-mail: 1370809176@qq.com

^{*}通信作者: 顾 玮,女,博士,副研究员,研究方向为民族药物化学。E-mail: guwei2009@126.com 郝小江,男,博士,研究员,研究方向为化学生物学。E-mail: haoxj@mail.kib.ac.cn

服用于治疗水臌病; 仡佬族将其与灯心草、刺五加、 菖蒲、茜草等一起配伍煎水服治疗水急病[2]。据报 道,黄苞大戟中主要有萜类、黄酮类、多酚类等化 学成分[3-6],现代药理研究表明,黄苞大戟具有抗肿 瘤、抗艾滋病毒的作用[3-4]。作为一种重要的苗药资 源,目前国内外对于黄苞大戟的化学成分和功效的 研究报道较少,因此对其化学成分和药理活性进行 系统研究, 可以更深入的阐明该植物的药效物质基 础,为该植物的开发应用提供科学依据。本实验对 黔产黄苞大戟全草进行了化学成分研究,共分离得 到 5 个化合物,分别鉴定为 (6S,9S)-布卢姆醇-6'-O-没食子酸酯 [(6S,9S)-blumenol-6'-O-gallate, 1]、 (6R,9S)- 布卢姆醇-6'-O-没食子酸酯 [(6R,9S)blumenol-6'-O-gallate, 2], ent-kaurane-3-oxo-16β-17-diol (**3**), *ent*-16α,17-dihydroxy-atisan-3-one (**4**), 短叶苏木酚酸甲酯(methyl brevifolincarboxylate, 5)。化合物 1 为 1 个新的 megastigmane 糖苷类化合 物,命名为黄苞大戟苷 A (sikkimenside A),化合 物 2~5 首次从黄苞大戟中分离得到。

1 仪器与材料

Bruker Avance NEO 600MHz 超导核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); HITACHI 高效液相色谱仪 Primaide (日本日立公司); Agilent ZORBAX SB-C₁₈色谱柱(半制备柱, 250 mm×9.4 mm, 5 μm, 美国安捷伦公司); QE Focus 型串联四极杆飞行时 间液质谱联用仪 (赛默飞世尔科技有限公司); Chirascan 型圆二色谱仪(英国应用光物理公司); EYELA-1100 型旋转蒸发仪(日本东京理化器械株式 会社); 40~80 目和 200~300 目柱色谱硅胶(青岛海 洋化工厂); 反相填充材料 RP-C₁₈ (25~40 μm, 德国 默克公司); Sephadex LH-20凝胶 (Pharmacia 公司); 甲醇、石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯等试剂购买于天 津市富字精细化工有限公司;色谱甲醇(上海星可高 纯溶剂有限公司)。

黄苞大戟样品2017年5月采自贵州省黔东南苗 族侗族自治州,经贵州省中国科学院天然产物重点 实验室顾玮副研究员鉴定为黄苞大戟 E. sikkimensis Boiss., 凭证标本 (HGK-2015-25) 存放于贵州省中 国科学院天然产物重点实验室。

2 提取与分离

黄苞大戟(19kg)粉碎后用80%乙醇回流提取 4次,每次分别提取4、3、3、2h,滤过,合并提 取液,减压浓缩后将浸膏(2 kg)分散于水中,依 次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取。将各个部位 萃取液浓缩,得到石油醚部位(230 g),醋酸乙酯 萃取部位(350g),正丁醇部位(523g)。醋酸乙酯 部位首先通过正相硅胶柱色谱(40~80 目),二氯 甲烷-甲醇(100:0→0:100)梯度洗脱,经薄层色 谱(TLC)分析合并相似流分 Fr. 1~18。

Fr. 2 首先经过 RP-C₁₈柱色谱, 水-甲醇(60: 0→0:100) 梯度洗脱, 其次经过 Sephadex LH-20 凝胶[二氯甲烷-甲醇(1:1)]发现有结晶洗出,最 后将其结晶洗出后通过 HPLC 半制备色谱分离[水-甲醇(30:70)],得到化合物 $3(t_R=37.7 \text{ min}, 4.3)$ mg), **4** (t_R=41.4 min, 5.5 mg)。Fr. 3 经反复硅胶 柱色谱(200~300 目)后经过 Sephadex LH-20 凝 胶分离得到化合物 5(28.2 mg)。Fr. 5 首先经 RP-C18 分段,其次反复通过硅胶柱色谱(200~300目)分 离得到化合物 1 和 2 的混合物,最后经 HPLC 半制 备色谱分离[水-甲醇(40:60)],得到化合物 1(13.1 mg, t_R =36.5 min) 和 2 (23.5 mg, t_R =41.4 min)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 淡黄色粉末, $[\alpha]_p^{20}+80.0^\circ$ (c 0.1, MeOH), HR-ESI-MS 给出准分子离子峰为 m/z: 523.216 3 [M-H]-(计算值 523.217 9), 结合 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 谱推断其分子式为 C₂₆H₃₆O₁₁, 不饱和度为 9。化合物的 IR 光谱中可以看到羟基 (3423 cm⁻¹) 和双键(1454、1405 cm⁻¹) 的伸缩峰。 通过 ¹H-NMR (表 1) 可以判断该化合物中有 4 个 甲基信号 [$\delta_{\rm H}$ 0.88 (3H, s), 0.91 (3H, s), 1.90 (3H, s) 和 1.17 (3H, d, J = 6.0 Hz)], 2 个苯环氢信号 [$\delta_{\rm H}$ 7.07 (2H, s)], 1 个双键氢信号 [$\delta_{\rm H}$ 5.70 (1H, brs)], 1 组糖基氢信号。化合物的 13C-NMR(表 1)以及 DEPT 谱显示有 26 个碳信号,包括 8 个季碳、10 个次甲 基、4个亚甲基、4个甲基。从 HMBC 谱中(图 1) 可以看到 H-11 与 C-1、C-2、C-6、C-12 有相关, H-12 与 C-1、C-2、C-6、C-11 有相关,说明 H-11 和H-12是1个偕二甲基。进一步观察可以看出H-13 和 C-4、C-5、C-6 有 HMBC 相关 (图 1), 结合 13 C-NMR 谱可以推测化合物含有 $1 \land \alpha, \beta$ 不饱和共 轭基团。从 HMBC 谱中(图 1) H-2 和 C-3 相关, H-13 和 C-6 相关可以判断上述推测的 2 个基团(邻 二甲基和 α , β 不饱和共轭基团) 通过 C-2 与 C-3, C-5 与 C-6 分别相连而闭环成 1 个六元环。 'H-'H COSY 谱中显示 H-6/H-7、H-7/H-8、H-8/H-9、 H-9/H-10 有相关,由此可以推测 C-6 含有 1 个正丁

表 1 化合物 1 和 2 的波谱数据
Table 1 NMR data for compound 1 and 2 (600/150 MHz, CD₃OD)

碳位 -	1		2	
	δ н	$\delta_{ m C}$	δ H	$\delta_{ m C}$
1		37.2		37.1
2	1.85(1 H, d, J = 11.4 Hz)	48.2	1.85 (1H, d, $J = 17.4 \text{ Hz}$)	48.1
	2.32 (1H, d, $J = 11.4$ Hz)		2.31 (1H, d, J = 17.4 Hz)	
3		202.7		202.7
4	5.70 (1H, brs)	125.3	5.69 (1H, brs)	125.2
5		170.4		170.3
6	1.82 (1H, t, $J = 4.8 \text{ Hz}$)	52.0	1.75 (1H, t, $J = 4.9$ Hz)	52.0
7	1.67 (1H, m)	26.9	1.33 (1H, m)	26.6
	1.54 (1H, m)		1.87 (1H, m)	
8	1.58 (2H, m)	37.5	1.53 (2H, m)	37.5
9	3.41(1H, m)	78.0	3.40 (1H, m)	78.0
10	1.17 (3H, d, $J = 6.0$ Hz)	20.4	1.17 (3H, d, $J = 6.0 \text{ Hz}$)	20.5
11	0.88 (3H, s)	28.9	0.87 (3H, s)	28.9
12	0.91 (3H, s)	27.2	0.93 (3H, s)	27.3
13	1.90 (3H, s)	25.0	1.88 (3H, s)	24.8
1′	4.33 (1H, d, J = 7.6 Hz)	102.7	4.34 (1H, d, J = 7.8 Hz)	103.0
2′	3.18 (1H, m)	75.1	3.18 (1H, m)	75.1
3′	3.42 (1H, m)	78.0	3.41 (1H, m)	78.0
4′	3.40 (1H, m)	71.9	3.40 (1H, m)	72.0
5′	3.56 (1H, m)	75.0	3.57 (1H, m)	75.1
6′	4.40 (1H, dd, J = 12.0, 2.4 Hz)	64.8	4.40 (1H, dd, J = 12.0, 1.8 Hz)	64.8
	4.52 (1H, dd, J = 12.0, 6.6 Hz)		4.52 (1H, dd, J = 12.0, 6.0 Hz)	
1"		121.5		121.4
2"	7.07 (1H, s)	110.2	7.07 (1H, s)	110.2
3"		146.6		146.5
4"		140.1		139.9
5"		146.6		146.5
6"	7.07 (1H, s)	110.2	7.07 (1H, s)	110.2
7"		168.3		168.3

基,进一步可以通过HMBC确证(图1)。从 ¹³C-NMR 谱中可以看到6个己糖碳信号,结合 ¹H-NMR, ¹H-¹H COSY 谱可推测为吡喃葡萄糖,通过 HMBC 谱(图1)中 H-1′和 C-9 相关,可确定葡萄糖连在 C-9 位。此外,通过 HMBC 谱中 H-2″和 C-1″、C-3″、C-4″、C-6″、C-7″相关(图1),并结合 ¹H-NMR、HR-ESI-MS可推测结构中存在 3″,4″,5″-三羟基苯甲酰基。进一步通过 H-6′和 C-7″存在 HMBC 相关可以推测 C-7″连接在葡萄糖 6′位(图1)。基于以上信息,并与文献中数据比对「7」,可以确定该化合物平面结构与 (6R,9S)-布卢姆醇-6′-O-没食子酸酯相同,其 NMR 数据见表

1, 关键 ¹H-¹H COSY 和 HMBC 相关见图 1。

化合物 2: 淡黄色粉末,TLC 检测,喷雾 10% 硫酸乙醇试液显褐色。[α] $_{0}^{10}$ -80.0° (c 0.1, MeOH),HR-ESI-MS m/z: 523.216 3 [M-H] $^{-}$ (C_{26} H $_{35}$ O $_{11}$,计算值 523.217 9),推测分子式为 C_{26} H $_{36}$ O $_{11}$, 1 H-NMR 和 13 C-NMR 数据见表 1,通过与文献数据比对可以鉴定化合物 2 为(6R,9S)-布卢姆醇-6'-O-没食子酸酯 $^{[7]}$ 。 化合物 1 和 2 的 13 C-NMR 数值基本一致,但是从 1 H-NMR 图谱可以看出化合物 1 中 H-6 的化学位移 [δ _H 1.82 (t, J = 4.8 Hz)] 相比化合物 2 中 H-6 的化学位移 [δ _H 1.75 (t, J = 4.9 Hz)] 向高场移动;化合物 1

图 1 化合物 1 的关键 HMBC 和 1 H- 1 H COSY 相关 Fig. 1 Key 1 H- 1 H COSY and HMBC correlations of compound 1

中 H-7 化学位移 [$\delta_{\rm H}$ 1.54 (1H, m), 1.67 (1H, m)] 与 化合物 **2** [$\delta_{\rm H}$ 1.33 (1H, m), 1.87 (1H, m)] 也有显著 差异,结合二者的比旋光度数值差别。可初步判断 化合物 **1** 和 **2** 可能为 1 对差向异构体。

通过化合物 1 和 2 的 ROSEY 谱(图 2)可以看出,化合物 1 中,H-6 和 H-8、H-12 相关;化合物 2 中,H-6 和 H-11、H-12 相关,H-7 和 H-12 相

关,H-8 和 H-10 相关,H-和 H-13 相关。但 H-6 所处的位置特殊,邻位是 2 个甲基 (C-11、C-12)、1 个季碳 (C-1)、1 个 CH₂ (C-7),所以仍不能确定其绝对构型。进一步通过化合物 1 和 2 的 ECD 计算证明二者计算值分别与实验值的吻合度良好(图 3),从而最终确定化合物 1 和 2 的绝对构型。故最终鉴定化合物 1 为 (6S,9S)-布卢姆醇-6'-O-没食子酸酯,命名为黄苞大戟苷 A (sikkimenside A)。化合物 2 为 (6R,9S)-布卢姆醇-6'-O-没食子酸酯。结构见图 4。

化合物 **3**: 白色粉末,TLC 检测,喷雾 10%硫酸乙醇试液显紫红色,ESI-MS m/z: 343.4 [M+Na]+,分子式为 $C_{20}H_{32}O_3$ 。 ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 3.51 (1H, d, J=10.8 Hz, H-17 α), 3.42 (1H, d, J=10.8 Hz, H-17 β), 2.51 (1H, dd, J=8.4, 6.6 Hz, H-2), 2.13 (1H, m, H-1 α), 2.07 (1H, m, H-13 α), 1.98 (1H, m, H-14 α), 1.42 \sim 1.64 (8H, m, H-6, 7, 11, 12), 1.24 (1H, d, J=9.0 Hz, H-9 β), 1.10 (3H, s, H-20), 1.09 (3H, s,

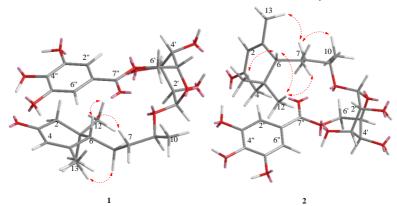


图 2 化合物 1 和 2 的选择性 ¹H-¹H ROSEY 相关

Fig. 2 Selected ¹H-¹H ROESY correlations of compounds 1 and 2

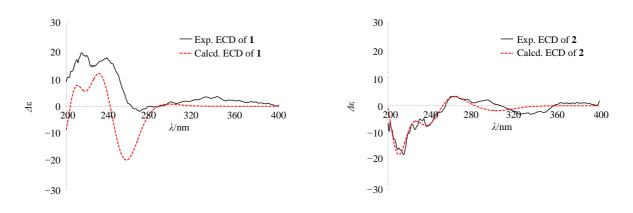


图 3 化合物 1 和 2 的 ECD 谱 Fig. 3 ECD spectra of compounds 1 and 2

图 4 化合物 1 和 2 的结构

Fig. 4 Structures of compounds 1 and 2

H-18), 1.04 (3H, s, H-19); 13 C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 37.8 (C-1), 34.1 (C-2), 218.3 (C-3), 47.14 (C-4), 55.6 (C-5), 21.2 (C-6), 39.3 (C-7), 43.3 (C-8), 54.3 (C-9), 38.5 (C-10), 19.3 (C-11), 26.6 (C-12), 40.6 (C-13), 40.8 (C-14), 52.2 (C-15), 79.7 (C-16), 69.8 (C-17), 27.3 (C-18), 21.0 (C-19), 17.6 (C-20)。以上数据同文献对比一致^[8],故鉴定化合物 3 为 *ent*-kaurane-3-oxo-16β-17-diol。

化合物 4: 白色粉末, TLC 检测, 喷雾 10%硫 酸乙醇试液显紫红色, ESI-MS m/z: 343.4 [M+ Na]+, 分子式为 C₂₀H₃₂O₃。 ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 3.60 (1H, d, J = 10.8 Hz, H-17 α), 3.47 (1H, d, J = 10.8 Hz, H-17 β), 2.60 (1H, m, H-2), 2.33 (1H, m, H-2), 2.03 (1H, m, H-11α), 1.87 (1H, m, H-14'), 1.85 (1H, m, H-1\beta), 1.82 (1H, m, H-12), 1.63 (1H, m, H-13'), 1.49 (1H, m, H-13), 1.47 (1H, m, H-6α), 1.46 $(1H, m, H-6\beta), 1.42 (1H, m, H-7\beta), 1.37 (1H, m,$ H-1a), 1.31 (1H, m, H-9), 1.29 (1H, m, H-5), 1.24 (1H, m, H-11\beta), 1.23 (1H, m, H-15'), 1.13 (3H, s, H-20), 1.10 (3H, s, H-18), 1.06 (3H, s, H-19), 0.82 (1H, m, H-14); 13 C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 38.0 (C-1), 34.1 (C-2), 217. 6 (C-3), 47.6 (C-4), 55.7 (C-5), 19.6 (C-6), 38.7 (C-7), 32.9 (C-8), 50.9 (C-9), 37.2 (C-10), 23.0 (C-11), 32.1 (C-12), 23.2 (C-13), 27.2 (C-14), 52.5 (C-15), 74.1 (C-16), 69.0 (C-17), 26.2 (C-18), 21.6 (C-19), 13.5 (C-20)。以上数据与文献对 比基本一致[9], 故鉴定化合物 4 为 ent-16a,17dihydroxy-atisan-3-one.

化合物 **5**: 淡黄色粉末,TLC 检测,喷雾 10% 硫酸乙醇试液显黑色,ESI-MS m/z: 329.2 [M+Na]+,分子式 $C_{14}H_{10}O_8$ 。 ¹H-NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.29 (1H, s, H-7), 4.42 (1H, dd, J=2.0,

7.7 Hz, H-9), 3.63 (3H, s, OCH₃), 2.98 (1H, dd, J=7.7, 18.7 Hz, H-10a), 2.47 (1H, dd, J=2.0, 18.7 Hz, H-10b); 13 C-NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 145.9 (C-2), 138.5 (C-3), 112.9 (C-3a), 143.7 (C-4), 140.6 (C-5), 149.7 (C-6), 108.1 (C-7), 115.1 (C-7a), 160.2 (C-8), 40.6 (C-9), 37.0 (C-10), 52.1 (OCH₃)。以上数据经文献对比一致 $^{[10]}$,故鉴定化合物 **5** 为短叶苏木 酚酸甲酯。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突 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: 76-79.
- [2] 孙庆文, 罗迎春. 贵州民族常用天然药物 (第一卷) [M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2013: 166-167.
- [3] Yang D S, Zhang Y L, Peng W B, *et al.* Jatropholane-type diterpenes from *Euphorbia sikkimensis* [J]. *J Nat Prod*, 2013, 76(2): 265-269.
- [4] Jiang C, Luo P, Zhao Y, *et al.* Carolignans from the aerial parts of *Euphorbia sikkimensis* and their anti-HIV activity [J]. *J Nat Prod*, 2016, 79(3): 578-583.
- [5] 江程, 顾琼, 徐峻. 黄苞大戟的化学成分研究 [J]. 中草药, 2019, 50(7): 1546-1550.
- [6] 杨大松,魏建国,杨永平,等.黄苞大戟化学成分研究 [J].中国中药杂志,2013,38(23):4094-4098.
- [7] Nomoto Y, Sugimoto S, Matsunami K, *et al.* Hirtionosides A-C, gallates of megastigmane glucosides, 3-hydroxyoctanoic acid glucosides and a phenylpropanoid glucoside from the whole plants of *Euphorbia hirta* [J]. *J Nat Med*, 2013, 67(2): 350-358.
- [8] 秦友沐, 吴艳萍, 欧杜哈, 等. 泽漆化学成分研究 [J]. 中草药, 2018, 49(7): 1520-1524.
- [9] 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.
- [10] 田瑛, 孙立敏, 刘细桥, 等. 中药地锦草酚性成分 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(5): 613-615.

[责任编辑 王文倩]