

长序三宝木枝叶乙醇提取物二氯甲烷部分的化学成分

杨长水^{1,2,3}, 杨超¹, 姜厚礼¹, 冒浩羽¹, 董小耘^{1,2,①}

[1. 扬州大学医学院(转化医学研究院), 江苏 扬州 225009; 2. 江苏省中西医结合老年病防治重点实验室, 江苏 扬州 225009; 3. 国家中医药管理局胃癌毒邪论治重点研究室, 江苏 扬州 225009]

摘要: 从长序三宝木(*Trigonostemon howii* Merr. et Chun)枝叶乙醇提取物的二氯甲烷部分中分离并鉴定出9个化合物,分别是丁香酸乙酯(1)、阿魏酸乙酯(2)、对羟基苯甲醛(3)、异香兰醛(4)、对羟基苯乙酮(5)、硬脂酸(6)、木栓酮(7)、木栓酮-25-醛(8)和豆甾醇(9)。除化合物2和5外,其余化合物均为首次从长序三宝木中分离获得,其中化合物1,3,4,7和8均首次从三宝木属(*Trigonostemon* Blume)植物中分离获得。

关键词: 长序三宝木; 乙醇提取物; 芳香族化合物; 三萜类

中图分类号: Q946; R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2022)01-0089-03

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2022.01.12

Chemical constituents of dichloromethane fraction of ethanol extract from branches and leaves of *Trigonostemon howii* YANG Changshui^{1,2,3}, YANG Chao¹, JIANG Houli¹, MAO Haoyu¹, DONG Xiaoyun^{1,2,①} (1. Institute of Translational Medicine, Medical College, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China; 2. Jiangsu Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Prevention and Treatment of Senile Diseases, Yangzhou 225009, China; 3. The Key Laboratory of Syndrome Differentiation and Treatment of Gastric Cancer of the State Administration of Traditional Chinese Medicine, Yangzhou 225009, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2022, 31(1): 89-91

Abstract: Nine compounds were isolated and identified from dichloromethane fraction of ethanol extract from branches and leaves of *Trigonostemon howii* Merr. et Chun, viz. ethyl syringate (1), ethyl ferulate (2), *p*-hydroxybenzaldehyde (3), isovanillin (4), *p*-hydroxyacetophenone (5), stearic acid (6), friedelin (7), friedelan-3-one-25-al (8), and stigmasterol (9). All compounds, except compound 2 and 5, are isolated from *T. howii* for the first time, and compound 1, 3, 4, 7, and 8 are firstly isolated from *Trigonostemon* Blume.

Key words: *Trigonostemon howii* Merr. et Chun; ethanol extract; aromatic compounds; triterpenoids

长序三宝木(*Trigonostemon howii* Merr. et Chun)隶属于大戟科(Euphorbiaceae)三宝木属(*Trigonostemon* Blume),为中国海南的特有植物^[1]。三宝木属植物是在中国和泰国广泛应用的民族民间药,大多具有防腐、杀菌、止泻、化痰的功效^[2-4]。三宝木属植物主要含有瑞香烷型二萜^[5]和生物碱类^[6]等化学成分,并含有一些三萜类成分^[7]和一系列香豆素类成分^[8]。相关研究表明:长序三宝木中含有二萜和四氢呋喃衍生物等化学成分,具有抗肿瘤和抗艾滋病病毒(HIV)等生物活性^[9,10],可见,长序三宝木是具有潜在开发价值并有待深入研究的药用植物。

为进一步明确长序三宝木中的活性成分结构与功能,作者对长序三宝木枝叶95%乙醇提取物的二氯甲烷部分的组成成分进行了分离和结构鉴定,以为长序三宝木药用活性成分的开发利用提供基础研究资料。

1 材料和方法

1.1 材料

供试长序三宝木的完整叶片及多年生和当年生枝条均于2019年3月采集自海南省陵水县,由中国医学科学院药用植物研究所云南分所李海涛副研究员鉴定。叶片和枝条在自然条件下晾干后混匀并粉碎,备用。

主要仪器:LC3000型半制备高效液相色谱仪(北京创新通恒科技有限公司),AVANCE 600 MHz型核磁共振仪(德国Bruker公司),maXis超高分辨飞行时间质谱仪(德国Bruker公司),DHG-9246A型电热干燥箱(上海精宏实验设备有限公司),KQ-500DE型数控超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司)。

收稿日期: 2021-06-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(32070384; 21502165); 江苏省自然科学基金资助项目(BK20130439); 江苏省高校自然科学研究面上项目(13KJB360014); 中国博士后基金资助项目(2014M551671); 江苏省博士后基金资助项目(1401156C)

作者简介: 杨长水(1982—),男,河南信阳人,博士,副教授,主要从事中药及天然产物结构与功能方面的研究。

①通信作者 E-mail: xydong@yzu.edu.cn

引用格式: 杨长水, 杨超, 姜厚礼, 等. 长序三宝木枝叶乙醇提取物二氯甲烷部分的化学成分[J]. 植物资源与环境学报, 2022, 31(1): 89-91.

主要试剂:柱色谱硅胶(100~200目)(青岛海洋化工有限公司),小孔吸附树脂(MCI,GEL CHP20P,75~150 μm ,北京元宝山色谱科技有限公司),凝胶过滤树脂(Sephadex LH-20,美国GE公司),二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇、甲醇和体积分数95%乙醇等普通试剂均为分析纯(国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 方法

取22 kg样品,加入140 L体积分数95%乙醇回流提取3次,每次提取3 h;合并提取液,回收溶剂后得到乙醇总浸膏1 667 g;加入10 L蒸馏水混悬后,依次用二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇各4 L萃取,各萃取4次,合并各萃取液并回收溶剂,分别得到二氯甲烷部分浸膏196.3 g、乙酸乙酯部分浸膏130.2 g和正丁醇部分浸膏280.5 g。

二氯甲烷部分浸膏经硅胶柱层析分离,用石油醚-乙酸乙酯溶液(体积比100:0~0:100)梯度洗脱,得到11个组分(Fr.1~Fr.11)。Fr.4(20.0 g)经硅胶柱层析分离,用石油醚-乙酸乙酯溶液(体积比50:1~2:1)梯度洗脱,再经结晶和重结晶,得到化合物6(26.1 mg)和化合物7(141.5 mg)。Fr.5(11.3 g)经硅胶柱层析分离,用石油醚-乙酸乙酯溶液(体积比50:1~1:1)梯度洗脱,得到化合物8(29.6 mg)。Fr.7(5.7 g)用石油醚-乙酸乙酯溶液(体积比50:1~1:1)梯度洗脱,得到7个亚组分(Fr.7-1~Fr.7-7),其中,Fr.7-5经石油醚-乙酸乙酯溶液(体积比20:1~1:1)梯度洗脱,得到化合物9(22.2 mg)。Fr.9(9.8 g)用石油醚-乙酸乙酯溶液(体积比20:1~0:1)梯度洗脱,得到4个亚组分(Fr.9-1~Fr.9-4),其中,Fr.9-1用MCI柱以甲醇-水溶液(体积比3:7~1:0)梯度洗脱后,再用半制备高效液相色谱柱[洗脱剂为甲醇-水溶液(体积比50:50)]分离,分别得到化合物2(5.0 mg)和化合物5(8.0 mg);Fr.9-3用MCI柱以甲醇-水溶液(体积比3:7~1:0)梯度洗脱后,再用半制备高效液相色谱柱[洗脱剂为甲醇-水溶液(体积比40:60)]分离,分别得到化合物3(1.2 mg)和化合物4(4.2 mg);Fr.9-4用MCI柱以甲醇-水溶液(体积比3:7~1:0)梯度洗脱后,再依次用半制备高效液相色谱柱[洗脱剂为甲醇-水溶液(体积比83:17)]分离和Sephadex LH-20柱以甲醇洗脱纯化,得到化合物1(80.2 mg)。

将所得化合物的理化性质及波谱数据与相关文献的数据进行比对,从而鉴定化合物的结构。

2 结 果

化合物1:白色针晶(甲醇);HR-ESI-MS m/z :249.073 6 [M+Na]⁺;分子式C₁₁H₁₄O₅。¹H-NMR(CDCl₃,600 MHz) δ :7.33(2H,s,H-2,6),5.88(1H,s,4-OH),4.38(2H,q,J=7.2 Hz,H-1'),3.95(6H,s,3,5-OCH₃),1.41(3H,t,J=7.2 Hz,H-2')。¹³C-NMR(CDCl₃,150 MHz) δ :121.5(C-1),106.6(C-2,6),146.6(C-3,5),139.1(C-4),166.4(C-7),60.9(C-1'),

56.4(3,5-OCH₃),14.4(C-2')。以上波谱数据与文献[11]基本一致,故确定化合物1为丁香酸乙酯(ethyl syringate)。

化合物2:白色粉末;HR-ESI-MS m/z :245.078 8 [M+Na]⁺;分子式C₁₂H₁₄O₄。¹H-NMR(CDCl₃,600 MHz) δ :7.62(1H,d,J=10.2 Hz,H-7),7.07(1H,d,J=5.6 Hz,H-5),7.03(1H,s,H-2),6.91(1H,d,J=5.6 Hz,H-6),6.29(1H,d,J=10.2 Hz,H-8),5.90(1H,s,4-OH),4.26(2H,q,J=4.8 Hz,H-1'),3.92(3H,s,3-OCH₃),1.34(3H,t,J=4.8 Hz,H-2')。¹³C-NMR(CDCl₃,150 MHz) δ :127.0(C-1),114.7(C-2),146.7(C-3),147.9(C-4),115.6(C-5),123.0(C-6),144.7(C-7),109.3(C-8),167.3(C-9),60.4(C-1'),14.3(C-2'),55.9(3-OCH₃)。以上波谱数据与文献[12]基本一致,故确定化合物2为阿魏酸乙酯(ethyl ferulate)。

化合物3:黄色固体;HR-ESI-MS m/z :121.029 0 [M-H]⁻;分子式为C₇H₆O₂。¹H-NMR(CDCl₃,600 MHz) δ :9.87(1H,s,7-CHO),7.81(2H,dd,J=8.4,2.4 Hz,H-2,6),6.96(2H,dd,J=8.4,2.4 Hz,H-3,5)。¹³C-NMR(CDCl₃,150 MHz) δ :130.2(C-1),132.4(C-2,6),116.0(C-3,5),161.1(C-4),190.8(7-CHO)。以上波谱数据与文献[13]基本一致,故确定化合物3为对羟基苯甲醛(*p*-hydroxybenzaldehyde)。

化合物4:黄色固体;HR-ESI-MS m/z :151.038 6 [M-H]⁻;分子式为C₈H₈O₃。¹H-NMR(CDCl₃,600 MHz) δ :9.82(1H,s,7-CHO),7.42(2H,m,H-2,6),7.02(1H,d,J=8.8 Hz,H-5),6.17(1H,s,4-OH),3.96(3H,s,2-OCH₃)。¹³C-NMR(CDCl₃,150 MHz) δ :130.0(C-1),147.2(C-2),127.6(C-3),151.7(C-4),114.4(C-5),108.8(C-6),56.2(4-OCH₃),190.9(7-CHO)。以上波谱数据与文献[14]基本一致,故确定化合物4为异香草醛(isovanillin)。

化合物5:白色粉末;HR-ESI-MS m/z :159.041 9 [M+Na]⁺;分子式为C₈H₈O₂。¹H-NMR(CDCl₃,600 MHz) δ :7.97(1H,s,4-OH),7.94(2H,dd,J=8.4 Hz,H-2,6),6.98(2H,dd,J=8.4 Hz,H-3,5),2.62(3H,s,H-8)。¹³C-NMR(CDCl₃,150 MHz) δ :129.5(C-1),131.3(C-2,6),115.6(C-3,5),161.5(C-4),198.9(C-7),26.3(C-8)。以上波谱数据与文献[15]基本一致,故确定化合物5为对羟基苯乙酮(*p*-hydroxyacetophenone)。

化合物6:白色固体;HR-ESI-MS m/z :283.264 3 [M-H]⁻;分子式为C₁₈H₃₆O₂。¹H-NMR(CDCl₃,600 MHz) δ :2.36(2H,t,J=7.8 Hz,H-2),1.64(2H,m,H-3),1.25(28H,m,H-4~17),0.88(3H,t,J=6.6 Hz,H-18)。¹³C-NMR(CDCl₃,150 MHz) δ :179.4(C-1),33.9(C-2),31.9(C-3),29.7~29.2(C-4~14),29.0(C-15),24.7(C-16),22.7(C-17),14.3(C-18)。以上波谱数据与文献[16]基本一致,故确定化合物6为硬脂酸(stearic acid)。

化合物7:白色粉末;HR-ESI-MS m/z :449.376 7 [M+Na]⁺;分子式为C₃₀H₅₀O。¹H-NMR(CDCl₃,600 MHz) δ :0.88

(3H, d, $J=7.0$ Hz, H-23), 0.73(3H, s, H-24), 0.87(3H, s, H-25), 1.01(3H, s, H-26), 1.05(3H, s, H-27), 1.18(3H, s, H-28), 1.00(3H, s, H-29), 0.95(3H, s, H-30)。 ^{13}C -NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ : 22.3(C-1), 42.2(C-2), 213.2(C-3), 59.5(C-4), 41.5(C-5), 41.3(C-6), 18.2(C-7), 53.1(C-8), 37.4(C-9), 58.2(C-10), 35.6(C-11), 30.5(C-12), 38.3(C-13), 39.7(C-14), 32.4(C-15), 36.0(C-16), 30.0(C-17), 42.8(C-18), 35.3(C-19), 28.1(C-20), 32.8(C-21), 39.3(C-22), 6.8(C-23), 14.6(C-24), 18.0(C-25), 20.3(C-26), 18.7(C-27), 32.1(C-28), 35.0(C-29), 31.8(C-30)。以上波谱数据与文献[17]基本一致, 故确定化合物 7 为木栓酮(friedelin)。

化合物 8: 白色粉末; HR-ESI-MS m/z : 463.355 5 [M+Na]⁺; 分子式为 C₃₀H₄₈O₂。 ^1H -NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ : 0.92(3H, s, H-23), 0.65(3H, s, H-24), 10.18(1H, s, 25-CHO), 0.96(3H, s, H-26), 1.05(3H, s, H-27), 1.15(3H, s, H-28), 0.96(3H, s, H-29), 0.96(3H, s, H-30)。 ^{13}C -NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ : 22.8(C-1), 42.8(C-2), 211.7(C-3), 57.1(C-4), 39.0(C-5), 39.4(C-6), 19.7(C-7), 53.1(C-8), 41.0(C-9), 30.2(C-10), 38.5(C-11), 31.2(C-12), 40.3(C-13), 35.2(C-14), 28.9(C-15), 35.7(C-16), 52.5(C-17), 41.6(C-18), 31.3(C-19), 28.2(C-20), 53.4(C-21), 59.0(C-22), 7.3(C-23), 15.9(C-24), 205.0(C-25), 17.2(C-26), 18.5(C-27), 34.9(C-28), 31.6(C-29), 32.7(C-30)。以上波谱数据与文献报道[18]基本一致, 故确定化合物 8 为木栓酮-25-醛(friedelan-3-one-25-al)。

化合物 9: 白色针晶, 与豆甾醇对照品共同进行薄层色谱(TLC)分析, 在 3 种溶剂系统中展开, 经体积分数 10% 硫酸-乙醇显色, 呈现紫色斑点, 且其与对照品 R_f 值完全一致, 故鉴定为豆甾醇(stigmasterol)。

上述结果表明: 长序三宝木枝叶乙醇提取物的二氯甲烷部分含有 5 个小分子芳香族化合物(化合物 1~5)、2 个三萜类化合物(化合物 7 和 8)、1 个脂肪酸类化合物(化合物 6) 和 1 个甾醇类化合物(化合物 9)。除化合物 2 和 5 外, 其余化合物均从长序三宝木中首次分离获得, 其中化合物 1、3、4、7 和 8 首次从三宝木属种类中分离获得。

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: 第四十四卷 第二分册[M]. 北京: 科学出版社, 1996: 164.
[2] XU J B, YUE J M. Recent studies on the chemical constituents of

- Trigonostemon* plants [J]. *Organic Chemistry Frontiers*, 2014, 1 (10): 1225-1252.
[3] 王博闻, 郁 萌, 冯 剑, 等. 三宝木属植物化学成分及其药理活性研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(19): 4589-4597.
[4] 岑长春, 刘景龙, 张卫丽, 等. 三宝木属植物化学成分和药理活性研究进展[J]. *海南师范大学学报(自然科学版)*, 2009, 22 (4): 436-440.
[5] YANG B, MENG Z Q, LI Z L, et al. Three daphnane diterpenoids from *Trigonostemon xyphophylloides* [J]. *Phytochemistry Letters*, 2015, 11: 270-274.
[6] LI S F, ZHANG Y, LI Y, et al. β -carboline alkaloids from the leaves of *Trigonostemon lii* Y. T. Chang [J]. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2012, 22(6): 2296-2299.
[7] 杨长水, 韩苏乔, 沈新宇, 等. 黄花三宝木枝叶化学成分的研究[J]. *中成药*, 2017, 39(7): 1427-1430.
[8] YANG C S, HAN S Q, WANG X, et al. RRLC-DAD-ESI-MS based and bioactivity guided phytochemical analysis and separation of coumarins from raw extracts of *Trigonostemon lutescens* [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2019, 169: 293-302.
[9] LIU Y P, ZHAO W H, FENG X Y, et al. Novel tetrahydrofuran derivatives from *Trigonostemon howii* with their potential anti-HIV-1 activities [J]. *Bioorganic Chemistry*, 2018, 79: 111-114.
[10] DONG S H, ZHANG C R, XU C H, et al. Daphnane-type diterpenoids from *Trigonostemon howii* [J]. *Journal of Natural Products*, 2011, 74(5): 1255-1261.
[11] 张艳军, 聂 辉, 周德雄, 等. 桂野桐化学成分的研究[J]. *中草药*, 2017, 48(11): 2172-2176.
[12] 刘 杰, 李国强, 吴 霞, 等. 连钱草的化学成分研究[J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(4): 695-698.
[13] 刘遂库, 确 生, 程 伟, 等. 藏飞廉中酚酸类成分研究[J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(14): 2334-2337.
[14] 陶曙红, 曾凡林, 陈艳芬, 等. 鸭脚木化学成分研究[J]. *中草药*, 2015, 46(21): 3151-3154.
[15] 孙志国, 马延蕾, 唐进英, 等. 长序三宝木枝叶中化学成分研究[J]. *广东化工*, 2018, 45(7): 39-40.
[16] 蔡金艳, 官立孟, 张勇慧, 等. 金线莲化学成分的研究[J]. *中药材*, 2008, 31(3): 370-372.
[17] 李淑敏, 杨俊玲, 刘艳萍, 等. 羊角棉中非生物碱类化学成分研究[J]. *中草药*, 2015, 46(18): 2683-2688.
[18] ANJANEYULU A S R, RAO M N. Elaeodendrol and elaeodendradiol, new nor-triterpenes from *Elaeodendron glaucum* [J]. *Phytochemistry*, 1980, 19(6): 1163-1169.

(责任编辑: 吴蕊夷)