

文章编号: 1674-7054(2021)03-0319-07



黎药光叶巴豆枝叶的化学成分分析

程子安¹, 梅文莉², 陈惠琴², 王昊², 盖翠娟²,
胡佳萌¹, 刘寿柏¹, 戴好富²

(1. 海南大学 林学院/热带特色林木花卉遗传与种质创新教育部重点实验室/海南省热带特色花木资源生物学重点实验室, 海口 570228; 2. 中国热带农业科学院 热带生物技术研究所/海南省黎药资源天然产物研究与利用重点实验室, 海口 571101)

摘要: 为研究光叶巴豆枝叶的化学成分, 笔者采用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20、半制备高效液相色谱等多种色谱技术进行化合物的分离纯化, 通过化合物的波谱数据和理化性质鉴定其结构。从光叶巴豆枝叶95%乙醇提取物中分离得到12个化合物, 分别鉴定为: (3*S*, 5*R*, 6*S*, 7*E*, 9*R*)-3, 6-dihydroxy-5, 6-dihydro- β -ionol (1)、吐叶醇 (2)、4, 5-dihydroblumenol A (3)、5-*epi*-eudesma-4(15)-ene-1 β , 6 β -diol (4)、aromadendrane-4 β , 10 β -diol (5)、*ent*-4(15)-eudesmene-1 β , 6 α -diol (6)、(7*R**)-opposit-4(15)-ene-1 β , 7-diol (7)、丁香脂素 (8)、*rel*-(3*R*, 3'*S*, 4*R*, 4'*S*)-3, 3', 4, 4'-tetrahydro-6, 6'-dimethoxy[3, 3'-bi-2*H*-benzopyran]-4, 4'-diol (9)、(+)-皮树脂醇 (10)、*theroficusesquilignan* A (11) 和反式对羟基桂皮酸甲酯 (12), 这些化合物均为首次从光叶巴豆中分离得到。采用贝尔曼漏斗法和MTT法对化合物1~12进行了生物活性测试, 结果表明, 化合物8~12对全齿复活线虫具有较好的致死活性, 且所有化合物均无细胞毒活性。

关键词: 光叶巴豆; 枝叶; 萜类; 苯丙素类; 生物活性

中图分类号: R 284.2 **文献标志码:** A

引用格式: 程子安, 梅文莉, 陈惠琴, 等. 黎药光叶巴豆枝叶的化学成分分析 [J]. 热带生物学报, 2021, 12(3): 319-325. DOI: 10.15886/j.cnki.rdswwb.2021.03.007

光叶巴豆 (*Croton laevigatus* Vahl) 为大戟科 (Euphorbiaceae) 巴豆属 (*Croton*) 植物, 广泛分布于我国的广东、海南、云南等地^[1], 全年均可采摘, 其根、叶可入药, 在中医学中光叶巴豆是治疗胃痛、疟疾、骨折的传统药物^[2]。现代植物化学研究表明, 光叶巴豆的特征化合物为二萜类化合物, 主要包括西松烷型二萜^[3]、半日花烷型二萜^[4-5]、克罗烷型二萜^[6-7]、laevinane 型二萜^[6, 8]等, 其中, 西松烷型内酯类二萜 laevigatolactones B 和克罗烷型二萜 laevigatbenzoate 对 HeLa 细胞具有细胞毒活性, 其 IC_{50} 值分别为 $38.4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[3] 和 $45.4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[7]; 克罗烷型二萜 furocrotilinolide A 和 3, 4, 15, 16-diepoxy-cleroda-13, 14-diene-12, 17-olide 对 LPS 诱导 RAW 264.7 小鼠巨噬细胞产生 NO 具有抑制作用, 其 IC_{50} 值分别为 $(10.4 \pm 0.8) \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $(96.0 \pm 1.0) \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ [阳性对照 $(13.1 \pm 1.9) \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$]^[5]; 半日花烷型二萜 3 α -Hydroxy-*ent*-labda-8, 12*E*, 14-triene-18-oic acid 和 *ent*-labda-8(17), 12*E*, 14-triene-3 α , 18-diol 对蛋白质酪氨酸磷酸酶 (PTP1B) 具有抑制活性, 其 IC_{50} 值分别为 4.11 和 $8.33 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[6]。因此, 为进一步探究光叶巴豆的化学成分, 笔者对海南产光叶巴豆枝叶的化学成分及生物活性进行研究, 旨在为该植物资源的开发利用提供科学依据。

收稿日期: 2021-01-15 **修回日期:** 2021-04-06

基金项目: 海南省自然科学基金创新团队项目 (2018CXTD331); 海南大学科研启动费项目 (KYQD(ZR)1831); 中国热带农业科学院院级创新团队南药产业技术创新团队项目 (17CXTD-15); 现代农业产业技术体系建设专项资助项目 (CARS-21)

第一作者: 程子安 (1994-), 男, 海南大学林学院 2018 级硕士研究生. E-mail: 812368083@qq.com

通信作者: 刘寿柏 (1983-), 男, 博士, 讲师. 研究方向: 天然产物化学. E-mail: liushoubai@hainanu.edu.cn; 戴好富 (1974-), 男, 博士, 研究员. 研究方向: 天然产物化学. E-mail: daihaofu@itbb.org.cn

1 材料与方法

1.1 仪器与材料 核磁共振波谱仪 (德国 Bruker AV-500); 旋转蒸发仪 (德国 Heidolph Laborota); Sephadex LH-20 (德国 Merck); 氘代试剂 (德国 Merck); 分析型高效液相色谱仪 (美国 Agilent Technologies 1260 Infinity); 半制备高效液相色谱仪 (美国 Agilent Technologies 1260 Infinity II); 半制备色谱柱 (C_{18} , 250 mm \times 10.0 mm, ID) (日本 COSMOSIL 公司); 超纯水装置 (上海博讯实业有限公司); 薄层色谱硅胶板及柱色谱硅胶 (青岛海洋化工厂); 色谱级试剂 (天津康科德公司); 其他试剂均为重蒸工业试剂; 顺铂 (上海源叶生物科技有限公司); 阿维菌素 (上海源叶生物科技有限公司); 人慢性髓原白血病细胞株 K562、人肝癌细胞株 BEL-7401、人胃癌细胞株 SCG-7901、人肺癌细胞株 A549 和 HeLa 人宫颈癌细胞均购自中国科学院上海生命科学研究院细胞库; 全齿复活线虫由云南大学莫明和教授提供。

光叶巴豆采自海南省昌江县, 经中国热带农业科学院热带生物技术研究所黄圣卓博士鉴定为大戟科 (Euphorbiaceae) 巴豆属 (*Croton*) 植物光叶巴豆 (*Croton laevigatus*)。

1.2 提取与分离 将干燥的光叶巴豆枝叶样品 (4.15 kg) 经 $\phi=95\%$ 的乙醇常温浸泡提取 3 次, 时间依次为 7、5、3 d, 合并提取液, 过滤, 减压浓缩至无醇味, 得乙醇提取物。将乙醇提取物分散于水中形成悬浊液, 再依次用乙酸乙酯、正丁醇进行萃取, 对萃取液进行减压浓缩得到干浸膏, 最终获得乙酸乙酯部位 (159.0 g)、正丁醇部位 (70.0 g)。

乙酸乙酯萃取物 (159.0 g) 经小孔吸附树脂, 以甲醇/水 (40% ~ 100%, 体积分数) 进行梯度洗脱, 经薄层色谱检测, 合并相同流分后, 得到 14 个组分 (Fr.1 ~ Fr.14)。Fr.2 (790.0 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱洗脱, 洗脱剂为甲醇, 得到 6 个亚组份 (Fr.2.1 ~ Fr.2.6), Fr.2.1 (433.7 mg) 经硅胶柱色谱, 以石油醚-乙酸乙酯 (3 : 1 ~ 2 : 1, 体积比) 为洗脱剂, 得到化合物 **1** (5.0 mg)、化合物 **2** (4.6 mg)。Fr.3 (500.0 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱洗脱, 洗脱剂为甲醇, 得到 2 个亚组份 Fr.3.1 和 Fr.3.2, Fr.3.1 (333.1 mg) 经硅胶柱色谱, 以氯仿-甲醇 (250 : 1 ~ 50 : 1, 体积比) 为洗脱剂, 得到化合物 **3** (7.0 mg)。Fr.4 (4.29 g) 经 ODS 柱色谱, 以甲醇/水 (40% ~ 100%, 体积分数) 进行梯度洗脱, 得到 16 个亚组份 (Fr.4.1 ~ Fr.4.16), Fr.4.3 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱洗脱, 洗脱剂为甲醇, 得到 4 个流分 (Fr.4.3.1 ~ Fr.4.3.4), Fr.4.3.3 (98.1 mg) 经硅胶柱色谱, 以氯仿-甲醇 (500 : 1 ~ 400 : 1, 体积比) 为洗脱剂, 得到化合物 **8** (13.1 mg), Fr.4.3.4 (50.8 mg) 经硅胶柱色谱, 以石油醚-乙酸乙酯 (6 : 1 ~ 5 : 1, 体积比) 为洗脱剂, 得到化合物 **9** (4.1 mg)、**12** (1.1 mg)。Fr.4.8 (53.9 mg) 经硅胶柱色谱, 以石油醚-乙酸乙酯 (16 : 1 ~ 8 : 1, 体积比) 为洗脱剂, 得到化合物 **4** (1.7 mg)、**5** (3.1 mg)。Fr.4.9 (283.6 mg) 经硅胶柱色谱, 以石油醚-乙酸乙酯 (19 : 1 ~ 16 : 1, 体积比) 为洗脱剂, 得到化合物 **6** (17.3 mg)。Fr.4.12 (131.6 mg) 经硅胶柱色谱, 以石油醚-乙酸乙酯 (16 : 1 ~ 12 : 1, 体积比) 为洗脱剂, 得到化合物 **7** (4.2 mg)。Fr.5 (10.0 g) 经 ODS 柱色谱, 以甲醇/水 (50% ~ 100%, 体积分数) 进行梯度洗脱, 得到 27 个亚组份 (Fr.5.1-Fr.5.27), Fr.5.2 (73.5 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱洗脱, 洗脱剂为甲醇, 得到 2 个流分 (Fr.5.2.1 和 Fr.5.2.2), Fr.5.2.1 (17.1 mg) 经半制备型高效液相色谱, 以 C_{18} 柱为色谱柱, 用甲醇/水 (45 : 55, 体积比) 为洗脱剂, 得到化合物 **10** (2.1 mg), Fr.5.3 (252.6 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱洗脱, 洗脱剂为甲醇, 得到 5 个流分 (Fr.5.3.1-Fr.5.3.5), Fr.5.3.5 (22.2 mg) 经半制备型高效液相色谱, 以 C_{18} 柱为色谱柱, 用甲醇/水 (47 : 53, 体积比) 为洗脱剂, 得到化合物 **11** (2.4 mg)。

1.3 生物活性测试 利用贝尔曼漏斗法^[9]和 MTT 法^[10]分别测定化合物 **1** ~ **12** 的全齿复活线虫 (*Panagrellus redivivus*) 致死活性和细胞毒活性。

2 结果与分析

本实验从光叶巴豆中一共分离得到 12 个化合物, 并根据 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 和 ESI-MS 数据鉴定了化合物 **1** ~ **12** 的结构 (图 1)

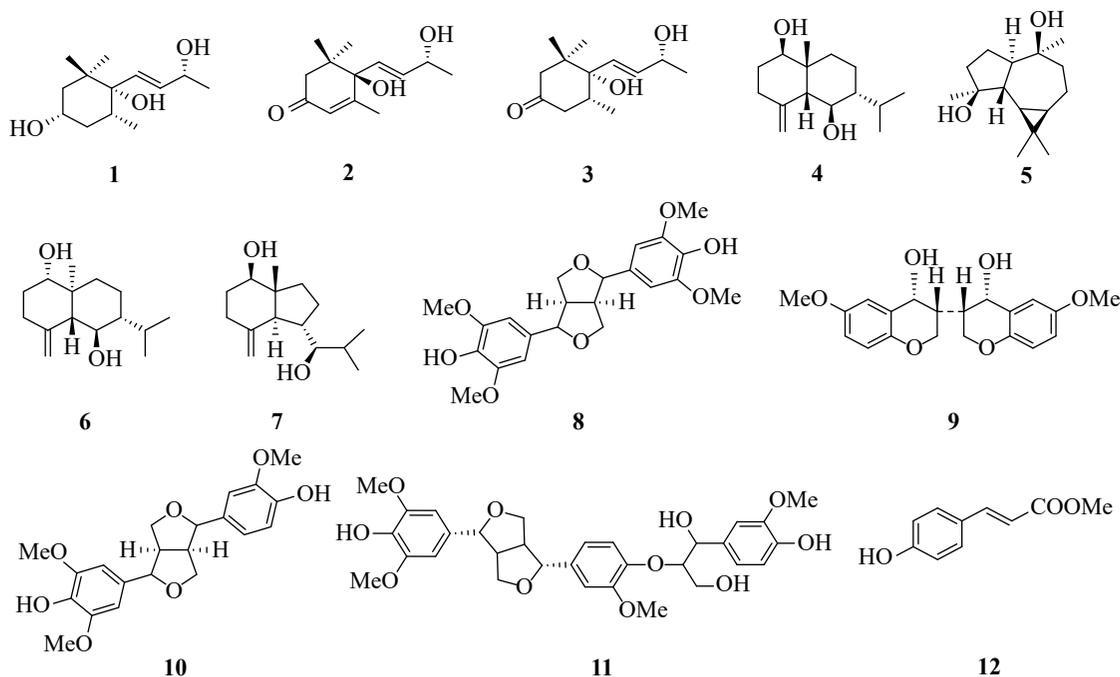


图1 化合物1~12结构图

Fig. 1 The chemical structures of compounds 1 - 12

化合物 1 无色油状物 (CHCl₃); ESI-MS: m/z 229 [M+H]⁺, 分子式 C₁₃H₂₄O₃; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 5.75 (1H, dd, $J = 15.7, 6.0$ Hz, H-8), 5.58 (1H, d, $J = 15.7$ Hz, H-7), 4.39 (1H, t, $J = 6.0$ Hz, H-9), 3.86 (1H, m, H-3), 1.93 (1H, m, H-5), 1.78 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-4a), 1.61 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-2a), 1.52 (1H, m, H-2b), 1.35 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-4b), 1.30 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-10), 0.96 (3H, s, H-11), 0.87 (3H, s, H-12), 0.79 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-13); ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ : 39.6 (C-1), 45.3 (C-2), 66.8 (C-3), 39.3 (C-4), 34.2 (C-5), 77.0 (C-6), 133.1 (C-7), 134.5 (C-8), 68.7 (C-9), 24.0 (C-10), 25.1 (C-11), 24.7 (C-12), 16.0 (C-13)。以上波谱数据与文献 [11] 报道的基本一致, 故鉴定为 (3*S*, 5*R*, 6*S*, 7*E*, 9*R*)-3, 6-dihydroxy-5, 6-dihydro- β -ionol。

化合物 2 无色油状物 (CHCl₃); ESI-MS: m/z 225 [M+H]⁺, 分子式 C₁₃H₂₀O₃; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 5.90 (1H, m, H-7), 5.85 (1H, m, H-8), 5.78 (1H, s, H-4), 4.40 (1H, m, H-9), 2.44 (1H, d, $J = 17.1$ Hz, H-2a), 2.23 (1H, d, $J = 17.1$ Hz, H-2b), 1.89 (3H, s, H-13), 1.29 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-10), 1.07 (3H, s, H-11), 1.00 (3H, s, H-12); ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ : 41.3 (C-1), 49.8 (C-2), 198.2 (C-3), 127.0 (C-4), 163.0 (C-5), 79.2 (C-6), 129.0 (C-7), 135.9 (C-8), 68.2 (C-9), 24.2 (C-10), 23.0 (C-11), 23.9 (C-12), 19.1 (C-13)。以上波谱数据与文献 [12] 报道的基本一致, 故鉴定为吐叶醇。

化合物 3 无色油状物 (CHCl₃); ESI-MS: m/z 227 [M+H]⁺, 分子式 C₁₃H₂₂O₃; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 5.83 (1H, dd, $J = 15.8, 5.8$ Hz, H-8), 5.70 (1H, dd, $J = 15.8, 1.0$ Hz, H-7), 4.42 (1H, m, H-9), 2.83 (1H, d, $J = 13.6$ Hz, H-2a), 2.41 (1H, t, $J = 13.0$ Hz, H-4a), 2.26 (1H, m, H-4b), 2.19 (1H, ddd, $J = 13.7, 4.5, 2.2$ Hz, H-5), 1.90 (1H, dd, $J = 13.6, 1.9$ Hz, H-2b), 1.32 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, C-10), 0.96 (3H, s, C-12), 0.93 (3H, s, C-11), 0.88 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, C-13); ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ : 42.7 (C-1), 51.6 (C-2), 211.6 (C-3), 36.6 (C-4), 45.3 (C-5), 77.3 (C-6), 131.9 (C-7), 135.3 (C-8), 68.5 (C-9), 24.1 (C-10), 24.6 (C-11), 24.5 (C-12), 16.0 (C-13)。以上波谱数据与文献 [13] 报道的基本一致, 故鉴定为 4, 5-dihydroblumenol A。

化合物 4 无色油状物 (CHCl₃); ESI-MS: m/z 239 [M+H]⁺, 分子式 C₁₅H₂₆O₂; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 4.98 (1H, s, H-15b), 4.84 (1H, s, H-15a), 3.95 (1H, dd, $J = 11.7, 4.9$ Hz, H-1), 3.51 (1H, t, $J = 10.1$ Hz, H-6), 2.29 (2H, m, H-3), 2.21 (1H, m, H-11), 2.06 (1H, dt, $J = 14.0, 3.2$ Hz, H-9b), 1.89 (1H, m, H-2a), 1.84 (1H,

d, $J = 10.1$ Hz, H-5), 1.62 (1H, dd, $J = 11.7, 5.9$ Hz, H-2b), 1.47 (1H, m, H-8b), 1.29 (1H, m, H-8a), 1.26 (1H, m, H-7), 1.05 (1H, td, $J = 14.0, 4.0$ Hz, H-9a), 0.94 (3H, d, $J = 7.1$ Hz, H-13), 0.87 (3H, s, H-14), 0.84 (3H, d, $J = 7.1$ Hz, H-12); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ : 68.3 (C-1), 31.2 (C-2), 29.9 (C-3), 145.6 (C-4), 61.8 (C-5), 67.3 (C-6), 49.2 (C-7), 18.2 (C-8), 34.5 (C-9), 40.2 (C-10), 26.6 (C-11), 16.4 (C-12), 21.1 (C-13), 21.5 (C-14), 114.4 (C-15)。以上波谱数据与文献 [14] 报道的基本一致, 故鉴定为 *5-epi-eudesma-4 (15)-ene-1 β , 6 β -diol*。

化合物 5 淡黄色油状物 (CHCl_3); ESI-MS: m/z 239 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_2$; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 1.50 ~ 1.90 (8H, m, H-1, 2, 3, 8, 9), 1.25 (3H, s, H-14), 1.21 (1H, m, H-5), 1.17 (3H, s, H-15), 1.04 (6H, s, H-12, 13), 0.91 (1H, m, H-8), 0.64 (1H, ddd, $J = 11.0, 9.6, 6.2$ Hz, H-7), 0.43 (1H, dd, $J = 11.0, 9.6$ Hz, H-6); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ : 56.5 (C-1), 23.9 (C-2), 41.3 (C-3), 80.5 (C-4), 48.6 (C-5), 28.4 (C-6), 26.8 (C-7), 20.3 (C-8), 44.6 (C-9), 75.2 (C-10), 19.7 (C-11), 28.8 (C-12), 16.6 (C-13), 24.7 (C-14), 20.5 (C-15)。以上波谱数据与文献 [15] 报道的基本一致, 故鉴定为 *aromadendrane-4 β , 10 β -diol*。

化合物 6 无色油状物 (CHCl_3); ESI-MS: m/z 239 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_2$; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 5.01 (1H, s, H-15a), 4.73 (1H, s, H-15b), 3.70 (1H, t, $J = 9.8$ Hz, H-6), 3.41 (1H, dd, $J = 11.6, 4.7$ Hz, H-1), 2.32 (1H, ddd, $J = 13.2, 5.0, 2.1$ Hz, H-3a), 2.23 (1H, m, H-11), 2.07 (1H, td, $J = 13.2, 5.3$ Hz, H-3b), 1.90 (1H, m, H-9a), 1.86 (1H, m, H-2b), 1.73 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, H-5), 1.55 (1H, m, H-2a), 1.51 (1H, m, H-8b), 1.29 (1H, m, H-7), 1.24 (1H, m, H-8a), 1.23 (1H, m, H-9b), 0.93 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-12), 0.85 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-13), 0.69 (3H, s, H-14), ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ : 79.1 (C-1), 32.0 (C-2), 35.2 (C-3), 146.3 (C-4), 56.0 (C-5), 67.2 (C-6), 49.4 (C-7), 18.2 (C-8), 36.4 (C-9), 41.8 (C-10), 26.1 (C-11), 21.2 (C-12), 16.3 (C-13), 11.7 (C-14), 107.9 (C-15)。以上波谱数据与文献 [16] 报道的基本一致, 故鉴定为 *ent-4 (15)-eudesmene-1 β , 6 α -diol*。

化合物 7 淡黄色油状物 (CHCl_3); ESI-MS: m/z 239 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_2$; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 4.95 (1H, d, $J = 1.1$ Hz, H-15b), 4.81 (1H, d, $J = 1.1$ Hz, H-15a), 3.59 (1H, dd, $J = 11.3, 4.9$ Hz, H-1), 3.23 (1H, dd, $J = 9.8, 2.4$ Hz, H-7), 2.33 (1H, m, H-6), 2.30 (1H, m, H-3b), 2.11 (1H, td, $J = 13.5, 5.7$ Hz, H-3a), 1.92 (1H, m, H-8b), 1.87 (1H, m, H-2a), 1.83 (1H, d, $J = 10.9$ Hz, H-5), 1.74 (1H, m, H-9b), 1.74 (1H, m, H-11), 1.50 (1H, m, H-2b), 1.39 (1H, m, H-9a), 1.32 (1H, m, H-8a), 0.99 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-13), 0.90 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-12), 0.66 (3H, s, H-14); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ : 79.1 (C-1), 32.0 (C-2), 35.1 (C-3), 149.1 (C-4), 56.6 (C-5), 39.5 (C-6), 82.9 (C-7), 26.2 (C-8), 37.5 (C-9), 49.7 (C-10), 31.5 (C-11), 14.9 (C-12), 20.7 (C-13), 12.4 (C-14), 107.8 (C-15)。以上波谱数据与文献 [17] 报道的基本一致, 故鉴定为 *(7R*)-opposit-4 (15)-ene-1 β , 7-diol*。

化合物 8 乳白色油状物 (CHCl_3); ESI-MS: m/z 419 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式 $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_8$; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 6.58 (4H, s, H-2, 6, 2', 6'), 5.53 (2H, s, OH-4, 4'), 4.73 (2H, d, $J = 3.9$ Hz, H-7, 7'), 4.28 (2H, dd, $J = 8.8, 6.5$ Hz, H-9a, 9'a), 3.92 (2H, m, H-9b, 9'b), 3.89 (12H, s, OMe-3, 5, 3', 5'), 3.09 (2H, m, H-8, 8'); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ : 54.5 (C-8, 8'), 86.1 (C-7, 7'), 71.9 (C-9, 9'), 132.1 (C-1, 1'), 102.8 (C-2, 6, 2', 6'), 147.2 (C-3, 5, 3', 5'), 134.3 (C-4, 4'), 56.5 (OMe-3, 5, 3', 5')。以上波谱数据与文献 [18] 报道的基本一致, 故鉴定为丁香脂素。

化合物 9 乳白色油状物 (CHCl_3); ESI-MS: m/z 739 $[2\text{M}+\text{Na}]^+$, 分子式 $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_6$; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 6.90 (2H, d, $J = 2.1$ Hz, H-5, 5'), 6.89 (2H, d, $J = 8.1$ Hz, H-8, 8'), 6.82 (2H, dd, $J = 8.1, 2.1$ Hz, H-7, 7'), 4.74 (2H, d, $J = 4.2$ Hz, H-4, 4'), 4.24 (2H, dt, $J = 9.2, 6.9$ Hz, H-2b, 2b'), 3.91 (6H, s, OMe-6, 6'), 3.88 (2H, dd, $J = 9.2, 3.6$ Hz, H-2a, 2a'), 3.10 (2H, m, H-3, 3'); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ : 71.8 (C-2, 2'), 54.3 (C-3, 3'), 86.0 (C-4, 4'), 108.7 (C-5, 5'), 146.8 (C-6, 6'), 119.1 (C-7, 7'), 114.4 (C-8, 8'), 145.4 (C-9, 9'), 133.1 (C-10, 10'), 56.1 (OMe-6, 6')。以上波谱数据与文献 [19] 报道的基本一致, 故鉴定为 *rel- (3R, 3'S,*

4*R*, 4'*S*)-3, 3', 4, 4'-tetrahydro-6, 6'-dimethoxy[3, 3'-bi-2*H*-benzopyran]-4, 4'-diol。

化合物 10 无色油状物 (CHCl₃); ESI-MS: *m/z* 411 [M+Na]⁺, 分子式 C₂₁H₂₄O₇; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 6.92 (2H, m, H-2', 5'), 6.82 (1H, dd, *J* = 8.1, 1.8 Hz, H-6'), 6.58 (2H, s, H-2, 6), 5.59 (1H, s, OH-4'), 5.49 (1H, s, OH-4), 4.75 (1H, d, *J* = 4.8 Hz, H-7), 4.72 (1H, d, *J* = 4.8 Hz, H-7'), 4.26 (2H, m, H-9b, 9'b), 3.91 (3H, s, OMe-3'), 3.90 (6H, s, OMe-3, 5), 3.88 (2H, m, H-9a, 9'a), 3.10 (2H, m, H-8, 8'); ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ: 132.3 (C-1), 102.8 (C-2, 6), 147.3 (C-3, 5), 134.4 (C-4), 86.0 (C-7), 54.3 (C-8), 71.8 (C-9), 133.0 (C-1'), 108.7 (C-2'), 146.8 (C-3'), 145.4 (C-4'), 114.4 (C-5'), 119.1 (C-6'), 86.3 (C-7'), 54.6 (C-8'), 72.0 (C-9'), 56.5 (OMe-3, 5), 56.1 (OMe-3')。以上波谱数据与文献 [20] 报道的基本一致, 故鉴定为 (+)-皮树脂醇。

化合物 11 无色油状物 (CHCl₃); ESI-MS: *m/z* 583 [M-H]⁻, 分子式 C₃₁H₃₆O₁₁; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 6.96 (1H, d, *J* = 1.2 Hz, H-2''), 6.90 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, H-2'), 6.89 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-5'), 6.85 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-5''), 6.83 (1H, dd, *J* = 8.1, 1.5 Hz, H-6'), 6.74 (1H, dd, *J* = 8.2, 1.2 Hz, H-6''), 6.63 (2H, s, H-2, 6), 4.99 (1H, t, *J* = 3.9 Hz, H-7''), 4.77 (1H, d, *J* = 4.9 Hz, H-7'), 4.75 (1H, d, *J* = 4.9 Hz, H-7), 4.29 (2H, m, H-9a, 9'a), 4.12 (1H, m, H-8''), 3.93 (3H, m, H-9b, 9'b, 9'a), 3.91 (3H, s, OMe-3'), 3.90 (6H, s, OMe-3, 5), 3.89 (3H, s, OMe-3''), 3.49 (3H, m, H-9''b), 3.12 (2H, m, H-8, 8'); ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ: 138.0 (C-1), 102.9 (C-2, 6), 153.6 (C-3, 5), 134.4 (C-4), 86.2 (C-7), 54.7 (C-8), 72.3 (C-9), 132.9 (C-1'), 108.7 (C-2'), 146.9 (C-3'), 145.5 (C-4'), 114.4 (C-5'), 119.1 (C-6'), 85.9 (C-7'), 54.2 (C-8'), 71.7 (C-9'), 131.4 (C-1''), 108.5 (C-2''), 146.7 (C-3''), 145.0 (C-4''), 114.3 (C-5''), 118.9 (C-6''), 72.7 (C-7''), 87.3 (C-8''), 60.7 (C-9''), 56.4 (OMe-3,5), 56.1 (OMe-3', 3'')。以上波谱数据与文献 [21] 报道的基本一致, 故鉴定为 *theroficusesquilignan A*。

化合物 12 淡黄色油状物 (CHCl₃); ESI-MS: *m/z* 179 [M+H]⁺, 分子式 C₁₀H₁₀O₃; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 7.64 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-7), 7.43 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-2, 6), 6.84 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3, 5), 6.30 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-8), 3.79 (3H, s, OMe-9); ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ: 127.1 (C-1), 130.1 (C-2, 6), 116.0 (C-3, 5), 157.7 (C-4), 144.6 (C-7), 115.5 (C-8), 167.9 (C-9), 51.7 (OMe-9)。以上波谱数据与文献 [22] 报道的基本一致, 故鉴定为反式对羟基肉桂酸甲酯。

本研究从光叶巴豆中共分离鉴定了 12 个化合物, 其中, 包括降倍半萜类化合物 3 个, 倍半萜类化合物 4 个及苯丙素类化合物 5 个, 全齿复活线虫致死活性测试结果 (表 1) 表明, 倍半萜类化合物 1~7 对全齿复活线虫的致死活性相对较低或没有, 而苯丙素类化合物 8~12 对全齿复活线虫具有较好的致死活性。所有化合物均无细胞毒活性。

表 1 化合物 1~12 生物活性测试

Tab. 1 Biological activities of compounds 1-12 against *Panagrellus redivivus*

组别 Group	全齿复活线虫校正死亡率/% Corrected mortality of <i>P. redivivus</i>	组别 Group	全齿复活线虫校正死亡率/% Corrected mortality of <i>P. redivivus</i>
1	14.40 ± 0.04	8	34.45 ± 0.02
2	—	9	52.42 ± 0.08
3	—	10	49.16 ± 0.06
4	—	11	62.91 ± 0.04
5	—	12	91.42 ± 0.01
6	7.71 ± 0.04	阳性对照	100 ± 0.00
7	33.35 ± 0.06		

注: 阳性对照为阿维菌素 (2.5 g·L⁻¹); 化合物质量浓度为 2.5 g·L⁻¹; “—”在活性初筛条件下未观测到抑制活性。

Note: Abamectin (2.5 g·L⁻¹) was used as positive control; the mass concentration of the compounds was 2.5 g·L⁻¹; “—”: No inhibitory activity.

3 讨论

本实验获得的 12 个化合物均为首次从光叶巴豆中分离得到,其中,苯丙素类化合物(8~12)对全齿复活线虫具有较好的致死活性,以反式对羟基桂皮酸甲酯(12)活性最高。据文献[23]报道,顺式对羟基桂皮酸甲酯具有较好的全齿复活线虫致死活性,因此,推测苯丙素类化合物可能对全齿复活线虫具有一定程度的致死活性,其具体作用机制尚有待进一步的研究。前人对光叶巴豆研究多是基于抗炎活性、细胞毒活性、酶抑制活性等方面^[5-7]。本研究首次对光叶巴豆化合物进行了全齿复活线虫致死活性和细胞毒活性测试,旨在进一步探索光叶巴豆的开发利用,使这一传统黎药资源能在更广阔的领域得到利用。

参考文献:

- [1] 邱华兴. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1996, 44(2): 136 - 137.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海: 科学技术出版社, 1975, 881 - 882.
- [3] ZOU G A, DING G, SU Z, et al. Lactonecembranoids from *Croton laevigatus* [J]. *J. Nat Prod.*, 2010, 73(4): 792 - 795.
- [4] HUANG H, QI F, YUAN J, et al. Labdane-type diterpenoids from *Croton laevigatus* [J]. *RSC Adv.*, 2014, 4(74): 39530 - 39540.
- [5] LIU M, ZHANG M, LI J, et al. Six new diterpenoids from *Croton laevigatus* [J]. *J. Asian Nat Prod Res.*, 2018, 20(10): 909 - 919.
- [6] ZHANG J, TANG Y, HUANG J, et al. Bioactive diterpenoids from *Croton laevigatus* [J]. *Phytochemistry*, 2017, 144: 151 - 158.
- [7] ZOU G A, ZHANG H, AISA H A, et al. Laevigatbenzoate from *Croton laevigatus* Vahl [J]. *J. Nat Med.*, 2011, 65(2): 391 - 394.
- [8] WANG G, ZHANG H, LIU H, et al. Laevinoids A and B: two diterpenoids with an unprecedented backbone from *Croton laevigatus* [J]. *Org Lett*, 2013, 15(18): 4880 - 4883.
- [9] 马青云, 黄圣卓, 李红芳, 等. 杠板归中化学成分生防活性研究[J]. *湖北农业科学*, 2013, 52(21): 5245 - 5247.
- [10] ELLMAN G L, COURTNEY K D, ANDRES V, et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity [J]. *Biochem Pharmacol*, 1961, 7(2): 88 - 95.
- [11] 梅文莉, 戴好富, 吴大刚, 等. 肥牛木枝条化学成分的分离与鉴定[J]. *中国药物化学杂志*, 2006, 16(4): 240 - 243.
- [12] 徐有伟, 周洪雷, 任冬梅, 等. 潺槁木姜子地上部位化学成分[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2016, 54(3): 45 - 49.
- [13] AREERST S, ING O M, ANAKE K, et al. Constituents of *Polyalthia jucunda* and their cytotoxic effect on human cancer cell lines [J]. *Pharm Biol.*, 2007, 45(7): 575 - 579.
- [14] SUN Z H, CHEN B, ZHANG S, et al. Four new eudesmanes from *Caragana intermedia* and their biological activities [J]. *J. Nat Prod.*, 2004, 67(12): 1975 - 1979.
- [15] WU T S, CHAN Y Y, LEU Y L, et al. The constituents of the root and stem of *Aristolochia heterophylla* Hemsl [J]. *Chem Pharm Bull*, 2000, 48(3): 357 - 361.
- [16] NAGASHIMA F, KISHI K, HAMADA Y, et al. Ent-verticillane-type diterpenoids from the Japanese liverwort *Jackiella javanica* [J]. *Phytochemistry*, 2005, 66(14): 1662 - 1670.
- [17] IJIMA T, YAOITA Y, KIKUCHU M, et al. Five new sesquiterpenoids and a new diterpenoid from *Erigeron annuus* (L.) PERS. *Erigeron philadelphicus* L. and *Erigeron sumatrensis* RETZ [J]. *Chem Pharm Bull*, 2003, 51(5): 545 - 549.
- [18] 程永现, 周俊, 丁中涛, 等. 粗梗木莲的酚性成分[J]. *云南植物研究*, 2000, 22(3): 365 - 367.
- [19] YANF G Z, YIN X Q, LI Y C, et al. Chemical constituents of *Tripterygium wilfordii* [J]. *Helv Chim Acta*, 2000, 83: 3344 - 3350.
- [20] 于凯, 宋洋, 路阳, 等. 无梗五加根中苯丙素类化合物的研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2012, 24(4): 469 - 472.
- [21] 李薇, 梅文莉, 王昊, 等. 白木香树干的化学成分研究[J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(17): 2826 - 2831.
- [22] 李奕星, 左文健, 王辉, 等. 异叶三宝木枝条的化学成分研究[J]. *中国药物化学杂志*, 2012, 22(2): 120 - 123.
- [23] 邝彤东, 陈惠琴, 李薇, 等. 人工打洞沉香中 1 个新的倍半萜[J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(23): 4618 - 4623.

Chemical Constituents from the Twigs and Leaves of *Croton laevigatus*, a Li Folk Medicine

CHENG Zian¹, MEI Wenli², CHEN Huiqin², WANG Hao²,

Gai Cuijuan², HU Jiameng¹, LIU Shoubai¹, DAI Haofu²

(1. Key Laboratory of Genetics and Germplasm Enhancement in Tropical Specific Forest Trees and Ornamental Plants, Ministry of Education/Hainan Key Laboratory for Biology of Tropical Specific Ornamental Plants Germplasm, College of Forestry, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China;

2. Hainan Key Laboratory for Research and Development of Natural Products from Li Folk Medicine, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou, Hainan 571101, China)

Abstract: The twigs and leaves of *Croton laevigatus*, a Li Folk Medicine, were extracted with ethanol, from which compounds were separated and purified by using column chromatography on silica gel, sephadex LH-20 and semi-preparative HPLC, and their structures were identified on the basis of spectroscopic data and physicochemical properties. Twelve compounds were separated from the 95% ethanol extract of the twigs and leaves of *C. laevigatus*, including (3*S*, 5*R*, 6*S*, 7*E*, 9*R*)-3,6-dihydroxy-5,6-dihydro- β -ionol (1), vomifoliol (2), 4,5-dihydroblumenol A (3), 5-*epi*-eudesma-4(15)-ene-1 β , 6 β -diol (4), aromadendrane-4 β , 10 β -diol (5), *ent*-4(15)-eudesmene-1 β , 6 α -diol (6), (7*R*^{*})-*opposit*-4(15)-ene-1 β , 7-diol (7), (+)-syringaresinol (8), *rel*-(3*R*, 3'*S*, 4*R*, 4'*S*)-3,3',4,4'-tetrahydro-6, 6'-dimethoxy[3,3'-bi-2H-benzopyran]-4,4'-diol (9), (+)-medioresinol (10), *thero*-ficusquignan A (11), trans-*p*-hydroxycinnamic acid methyl ester (12). Compounds 1–12 were obtained from *C. laevigatus* for the first time. The bioassay of the compounds 1–12 was conducted with Behrman and MTT methods. The bioassay showed that the compounds 8–12 had significant nematocidal activity against *Panagrellus redivivus*, and that all the compounds were inactive against the selected human cancer cell lines.

Keywords: *Croton laevigatus*; twigs and leaves; terpenoids; phenylpropanoids; bioactivity

(责任编辑: 谭正洪 责任编辑: 潘学峰)