

文章编号:1005-0108(2006)04-0240-04

肥牛木枝条化学成分的分离与鉴定

梅文莉^{1,2}, 戴好富¹, 吴大刚²

(1. 中国热带农业科学院 热带生物技术研究 所 热带作物生物技术国家重点实验室, 海南 海口 571101;

2. 中国科学院 昆明植物研究所 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650204)

摘 要:目的 对肥牛木 [*Cephalomappa sinensis* (Chun et How) Kosterm.] 的化学成分进行研究。方法 用多种色谱技术对化合物进行分离纯化, 并根据化合物的理化性质及波谱数据鉴定化合物的结构。结果 从肥牛木的枝条乙醇提取物中分离得到 6 个化合物, 分别鉴定为羽扇豆醇(1)、乙酰油桐酸(2)、没食子酸(3)、(3*S*, 5*R*, 6*S*, 7*E*, 9*R*)-3, 6-dihydroxy-5, 6-dihydro- β -ionol(4)、(3 *β* , 4 *α* , 5 *α* , 6 *α* H, 7*E*, 9*S*)-3, 4-dihydroxy-5, 6-dihydro- β -ionol(5)、东莨菪素(6)。结论 化合物 1、4 和 5 均为首次从该植物中分离得到。

关键词: 药物化学; 结构鉴定; 柱色谱法; 肥牛木; 化学成分

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

Isolation and identification of the chemical constituents from *Cephalomappa sinensis*

MEI Wen-li^{1,2}, DAI Hao-fu¹, WU Da-gang²

(1. State Key Laboratory of Tropical Crops Biotechnology, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agriculture Sciences, Haikou 571101, China;

2. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China)

Abstract: **Aim** To study the chemical constituents of *Cephalomappa sinensis* (Chun et How) Kosterm. **Methods** The constituents were isolated and purified by column chromatography, and their structures were identified by physicochemical data and spectral data. **Results** Six compounds were isolated from the ethanol extract of the twigs of *Cephalomappa sinensis*, and their structures were elucidated as lupeol (1), acetylauritolic acid (2), gallic acid (3), (3*S*, 5*R*, 6*S*, 7*E*, 9*R*)-3, 6-dihydroxy-5, 6-dihydro- β -ionol (4), (3 *β* , 4 *α* , 5 *α* , 6 *α* H, 7*E*, 9*S*)-3, 4-dihydroxy-5, 6-dihydro- β -ionol (5), and scopoletin (6), respectively. **Conclusion** Compounds 1, 4, and 5 are isolated from this plant for the first time.

Key words: medicinal chemistry; structural identification; column chromatography; *Cephalomappa sinensis*; chemical constituents

肥牛木(或称肥牛树) [*Cephalomappa sinensis* (Chun et How) Kosterm.] 为大戟科(Euphorbiaceae)一单种属常绿乔木。其分布狭窄, 仅限于广西西南部石灰岩山地。由于近年来遭受滥伐, 将有濒临

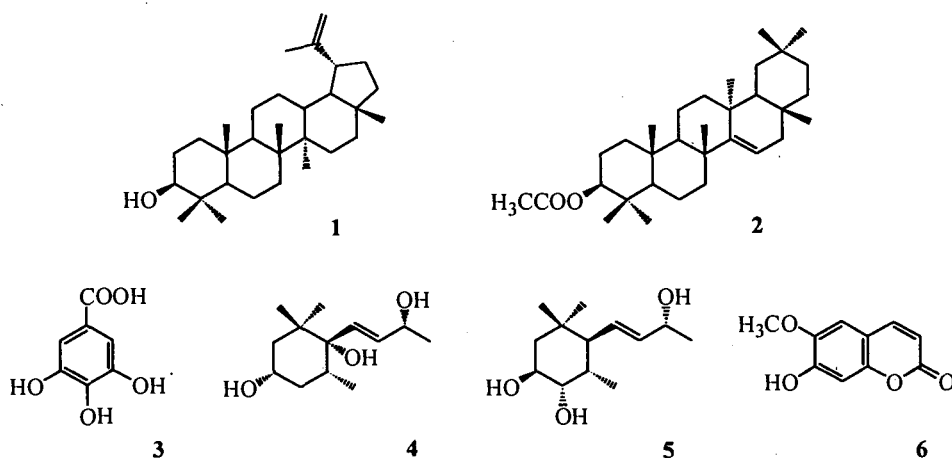
灭绝的危险, 已被国家列为稀有濒危植物。肥牛木为优良的木本饲料树种, 是牛、马、羊的好饲料, 据文献报道, 用该植物的叶饲牛, 可使牛肥壮, 故有肥牛木的名称^[1]。为了寻找其中的生理活性

收稿日期: 2006-04-17

作者简介: 梅文莉(1974-), 女(汉族), 博士, 湖北黄石人, 副研究员, Tel: (0898)66988061, E-mail: meiwenli@yahoo.com.cn; 戴好富(1974-), 男(汉族), 江西吉安人, 博士, 研究员, 博士生导师, Tel: (0898)66988061, E-mail: hfdai2001@yahoo.com.cn.

成分,本文作者先后报道了肥牛木根、叶乙醇提取物的乙酸乙酯萃取部分的化学成分^[2~4],其枝条的化学成分尚未见报道。本文对肥牛木枝条进行较为系统的植物化学分析,对肥牛木枝条 95% (体积分数)乙醇提取物的乙酸乙酯萃取部分进行了化学成分分离,得到 6 个化合物,经波谱分析确定它们的结构分别为:羽扇豆醇(1)、乙酰油桐酸(2)、没食子酸(3)、(3*S*, 5*R*, 6*S*, 7*E*, 9*R*)-3, 6-di-

hydroxy-5, 6-dihydro- β -ionol (4)、(3 β , 4 α , 5 α , 6 α H, 7*E*, 9*S*)-3, 4-dihydroxy-5, 6-dihydro- β -ionol (5)、东茛菪素(6)。其中,化合物 1、4 和 5 为首次从该植物中分离得到。研究表明,从肥牛木叶、根和枝条中分离到的化学成分均有所不同,其中叶子中主要含酚酸性成分^[2],根中主要含三萜、甾体和少量的酚性成分^[3,4],枝条中除三萜和酚性成分外,还发现有较为少见的降倍半萜类成分。



1 仪器与试药

熔点用北京泰克仪器有限公司生产的 X-5 型显微熔点仪测定。旋光度在 JASCO-20C 数字旋光仪上测定。IR 用 Bio-Rad FTS 仪测定, KBr 压片。MS 用 VG Autospec-3000 型测定。NMR 用 Bruker AM-400 和 DRX-500 超导核磁共振仪测定, TMS 为内标。薄层色谱和柱色谱用硅胶为青岛海洋化工厂产品, Sephadex LH-20 为 Merck 公司产品。肥牛木 (*Cephalomappa sinensis*) 枝条于 1999 年采自广西壮族自治区大新县, 由中国科学院广西植物研究所邓德山博士鉴定, 凭证标本存放于中国科学院昆明植物研究所。

2 提取与分离

肥牛木的枝条晒干后加工成粗粉(14.0 kg), 用体积分数为 95% 的工业乙醇回流提取 3 次, 减压回收乙醇至无醇味。将乙醇提取物分散于水中成悬浊液, 依次用氯仿、乙酸乙酯、正丁醇萃取 3 次。将乙酸乙酯萃取液减压浓缩得浸膏(130.0 g), 再进行硅胶柱色谱分离, 以氯仿-丙酮(体积比为 9:1 $\rightarrow$ 7:3)梯度洗脱得到 7 个部分(Fr.1~Fr.7)。将 Fr.1 部分(34.6 g)进行 Sephadex LH-20 柱色谱, 以体积分

数为 95% 的乙醇洗脱得到 3 个部分(Fr.1-1~Fr.1-3)。Fr.1-1~Fr.1-3 经硅胶柱色谱, 以氯仿-丙酮(体积比 8:1)为洗脱液, 分别得到化合物 1 (37.0 mg)、化合物 2 (42.0 mg) 和化合物 3 (51.0 mg)。Fr.2 部分(20.6 g)经多次 Sephadex LH-20 柱色谱(体积分数 95% 乙醇洗脱)和硅胶柱色谱(氯仿-丙酮洗脱)得到化合物 4 (25.0 mg)、化合物 5 (28.0 mg) 和化合物 6 (22.0 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 白色针晶(氯仿-丙酮), mp 213~215 $^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +26.6^{\circ}$ (c 0.5, CHCl_3)。薄层色谱用硫酸显色呈红色, Liebermann-Burchard 反应呈阳性。IR (KBr) σ : 3410 (羟基)、2945、2860、1635 (末端双键)、1455、1380、1040、880 (末端双键) cm^{-1} 。EI-MS m/z (%): 426 (48) $[\text{M}]^{+}$ 、411 (10)、218 (100)、207 (25)、189 (26)、135 (28)、121 (30), 提示化合物相对分子质量为 426, 结合 ^{13}C -NMR 和 DEPT 谱数据可推导其分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ 。 ^{13}C -NMR (DEPT) 谱显示有 30 个碳信号, 其中有一个被羟基取代的次甲基信号 (δ 79.2) 和一个末端双键的信号 (δ : 150.8、110.0), 初步推测该化合物为一个羽扇豆烷型三

萆。经比较该化合物的 NMR 数据与文献[5]的羽扇豆醇的数据吻合。3 位氢的化学位移(δ 3.17)和偶合常数(dd, $J = 11.0, 5.2$ Hz)说明 3 位羟基的构型为 β 型。综合上述信息, 化合物 1 推定为羽扇豆醇。具体的碳氢化学位移归属如下: $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 4.66 (1H, m, H-29a)、4.54 (1H, m, H-29b)、3.17 (1H, dd, $J = 11.0, 5.2$ Hz, H-3)、2.38 (1H, m, H-19)、1.69 (3H, s, H-30)、1.36 (1H, m, H-18)、1.23 (1H, s, H-9)、1.04 (3H, s, H-26)、0.98 (3H, s, H-23)、0.96 (3H, s, H-27)、0.84 (3H, s, H-25)、0.80 (3H, s, H-28)、0.73 (3H, s, H-24); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 38.6 (C-1)、27.6 (C-2)、79.2 (C-3)、38.8 (C-4)、55.6 (C-5)、18.6 (C-6)、34.5 (C-7)、41.0 (C-8)、50.6 (C-9)、37.3 (C-10)、21.0 (C-11)、25.4 (C-12)、38.2 (C-13)、43.0 (C-14)、27.6 (C-15)、35.8 (C-16)、43.1 (C-17)、48.6 (C-18)、48.1 (C-19)、150.8 (C-20)、30.1 (C-21)、40.1 (C-22)、28.1 (C-23)、15.6 (C-24)、16.2 (C-25)、16.1 (C-26)、14.7 (C-27)、18.1 (C-28)、110.0 (C-29)、19.4 (C-30)。

化合物 2: 无色晶体(氯仿-丙酮), mp 301 ~ 302 $^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +25.0^{\circ}$ (c 0.5, CHCl_3)。薄层色谱用硫酸显色呈红色, Liebermann-Burchard 反应呈阳性。IR (KBr) σ : 1735 (羰基)、1240、1689 (双键)、830 cm^{-1} 。EI-MS m/z (%): 498 (4) $[\text{M}]^+$ 、452 (12)、368 (28)、329 (7)、269 (8)、234 (100)、189 (69), 提示化合物相对分子质量为 498, 结合 $^{13}\text{C-NMR}$ 和 DEPT 谱数据可推导其分子式为 $\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{O}_4$ 。 $^{13}\text{C-NMR}$ (DEPT) 谱显示有 32 个碳信号, 其中有一个羧基信号(δ 184.0)、一个酯基信号(δ 170.9)和一个被羟基取代的次甲基信号(δ 81.0), 初步推测该化合物为乙酰化的三萜酸。经比较, 该化合物与文献[6]中 acetylaleuritolic acid 的 NMR 数据吻合。3 位氢的化学位移(δ 4.44)和偶合常数(dd, $J = 10.0, 6.0$ Hz)说明 3 位羟基的构型为 β 型。综合上述信息, 化合物 2 推定为乙酰油桐酸。具体的碳氢化学位移归属如下: $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 5.50 (1H, dd, $J = 8.0, 4.0$ Hz, H-15)、4.44 (1H, dd, $J = 10.0, 6.0$ Hz, H-3)、2.36 (2H, m, H-16a)、1.90 (2H, m, H-16b)、2.25 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-18)、2.02 (3H, s, CH_3CO)、1.45 (1H, m, H-9)、1.0-0.7 (3H $\times$ 7, s, CH_3 -23-27, CH_3 -29, 30); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 37.8 (C-1)、23.5

(C-2)、81.0 (C-3)、37.8 (C-4)、55.7 (C-5)、18.8 (C-6)、40.9 (C-7)、39.1 (C-8)、49.2 (C-9)、38.0 (C-10)、17.4 (C-11)、33.4 (C-12)、37.4 (C-13)、160.6 (C-14)、116.6 (C-15)、31.5 (C-16)、51.4 (C-17)、41.6 (C-18)、35.5 (C-19)、29.3 (C-20)、33.8 (C-21)、30.8 (C-22)、28.0 (C-23)、16.6 (C-24)、15.6 (C-25)、26.2 (C-26)、22.5 (C-27)、184.0 (C-28)、32.0 (C-29)、28.7 (C-30)、30.8 (C- CH_3CO)、170.9 (C- CH_3CO)。

化合物 3: 无色针晶(甲醇), mp 231 ~ 233 $^{\circ}\text{C}$ 。IR (KBr) σ : 3496 ~ 2670 (br, COOH)、1705 (羰基)、1619、1542、1452、1385、1338、1250、1208、956、905、867 cm^{-1} , 红外数据说明化合物中含有羧基和苯环。EI-MS m/z (%): 170 (100) $[\text{M}]^+$ 、153 (95)、135 (29)、125 (52)、113 (25)、107 (20)、79 (61), 结合 $^{13}\text{C-NMR}$ 和 DEPT 谱数据可推导其分子式为 $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (CD_3COCD_3 , 400 MHz) 谱显示 δ 7.16 (2H, s, H-2, 6), 说明苯环具有对称性, 且为 1, 3, 4, 5-四取代苯环。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3COCD_3 , 100 MHz) δ : 167.7 (s, COOH)、146.1 (s, C-3, 5)、138.7 (s, C-4)、122.2 (s, C-1)、110.3 (d, C-2, 6)。上述数据与文献[7]中没食子酸数据吻合, 综合上述信息, 化合物 3 推定为没食子酸。

化合物 4: 无色油状物, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -10.1^{\circ}$ (c 1.0, CHCl_3)。EI-MS m/z (%): 228 (6) $[\text{M}]^+$ 、210 (4)、195 (3)、167 (4)、142 (34)、128 (16)、124 (100)、111 (39)、98 (24), 提示化合物相对分子质量为 228, 结合 $^{13}\text{C-NMR}$ 和 DEPT 谱数据可推导其分子式为 $\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{O}_3$ 。 $^1\text{H-NMR}$ 谱给出一个反式双键信号 δ : 5.76 (1H, dd, $J = 15.6, 6.0$ Hz)、5.58 (1H, d, $J = 16.0$ Hz)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (DEPT) 谱显示 4 个甲基(δ : 25.1、24.5、23.9、15.8)、2 个亚甲基(δ : 45.4、39.3)、1 个双键(δ : 134.5、133.0)、3 个次甲基(其中 2 个被羟基取代, δ : 68.5、66.7、34.1)和 2 个季碳(其中 1 个被羟基取代, δ : 77.0、39.5), 初步推定该化合物为一个降倍半萜类化合物。化合物 4 的全部氢和碳的化学位移由 2D-NMR 指定, 具体归属如下: $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 5.76 (1H, dd, $J = 15.6, 6.0$ Hz, H-8)、5.58 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7)、4.39 (1H, t, $J = 6.0$ Hz, H-9)、3.87 (1H, m, H-3)、1.91 (1H, m, H-5)、1.79 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-4eq)、1.62 (1H, t, $J = 12.0$ Hz, H-2ax)、1.53 (1H, m, H-2eq)、1.36

(1H, q, $J = 12.0$ Hz, H-4_{ax})、1.30 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, CH₃-10)、0.98 (3H, s, CH₃-11)、0.89 (3H, s, CH₃-12)、0.80 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, CH₃-13); ¹³C-NMR(CDCl₃, 100 MHz) δ : 39.5 (s, C-1)、45.4 (t, C-2)、66.7 (d, C-3)、39.3 (t, C-4)、34.1 (d, C-5)、77.0 (s, C-6)、133.0 (d, C-7)、134.5 (d, C-8)、68.5 (d, C-9)、23.9 (q, CH₃-10)、25.1 (q, CH₃-11)、24.5 (q, CH₃-12)、15.8 (q, CH₃-13)。上述数据包括比旋光度与文献[8]报道的(3*S*, 5*R*, 6*S*, 7*E*, 9*R*)-3, 6-dihydroxy-5, 6-dihydro- β -ionol 吻合, 说明两个化合物的构型也一致, 最终确定化合物 4 为(3*S*, 5*R*, 6*S*, 7*E*, 9*R*)-3, 6-dihydroxy-5, 6-dihydro- β -ionol。

化合物 5: 无色油状物, $[\alpha]_{22}^D = -15.6^\circ$ (c 0.5, CH₃OH)。负离子 FAB-MS 显示准分子离子峰 m/z 227 $[M-H]^-$, 结合 ¹³C-NMR 和 DEPT 谱数据可推导其分子式为 C₁₃H₂₄O₃。与化合物 4 比较, 化合物 5 的 ¹³C-NMR(DEPT)谱上少了 1 个季碳和 1 个亚甲基信号, 但多了 2 个次甲基信号(δ : 71.6, 55.8), 其中一个为羟基所取代。由此可知化合物 5 和化合物 4 为同一结构类型, 均为降倍半萜类化合物, 两个化合物的区别仅为其中的 1 个羟基取代位置发生了变化。根据 2D-NMR, 可对化合物 5 的所有碳和氢的化学位移进行归属, 发现化合物 5 的 3 位为羟基取代, 而 6 位则无羟基取代。具体的碳氢化学位移归属如下: ¹H-NMR(CDCl₃, 400 MHz) δ : 5.50 (1H, dd, $J = 15.2$, 6.4 Hz, H-8)、5.29 (1H, dd, $J = 15.6$, 8.8 Hz, H-7)、4.32 (1H, m, H-9)、3.63 (1H, m, H-3)、2.95 (1H, t, $J = 9.2$ Hz, H-4)、1.73 (1H, dd, $J = 12.8$, 4.8 Hz, H-2_{ax})、1.49 (2H, m, H-5, 6)、1.27 (1H, m, H-2_{eq})、1.28 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, CH₃-10)、0.94 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, CH₃-13)、0.89 (3H, s, CH₃-12)、0.84 (3H, s, CH₃-11); ¹³C-NMR(CDCl₃, 100 MHz) δ : 34.5 (s, C-1)、47.0 (t, C-2)、71.6 (d, C-3)、81.5 (d, C-4)、37.2 (d, C-5)、55.8 (d, C-6)、129.6 (d, C-7)、137.7 (d, C-8)、68.7 (d, C-9)、23.7 (q, CH₃-10)、30.9 (q, CH₃-11)、21.5 (q, CH₃-12)、16.5 (q, CH₃-13)。上述数据包括比旋光度与文献[8]报道的(3 *β* , 4 *α* , 5 *α* , 6 *α* H, 7*E*, 9*S*)-3, 4-dihydroxy-5, 6-dihydro- β -ionol 吻合, 说明两个化合物的构型也一致, 最终确定化合物 4 为(3 *β* , 4 *α* , 5 *α* , 6 *α* H, 7*E*, 9*S*)-3, 4-dihydroxy-5, 6-dihydro- β -ionol。

化合物 6: 淡黄色针晶(氯仿-甲醇), mp 201 ~ 203 $^\circ\text{C}$ 。薄层色谱用硫酸显色呈黄色, 紫外灯(254 nm)下显蓝色荧光, 结合氢谱中 δ 7.59 (1H, d, $J = 9.5$ Hz) 和 δ 6.26 (1H, d, $J = 9.5$ Hz) 两处质子信号, 说明该化合物有可能为香豆素类化合物。FeCl₃ 反应呈阳性, 说明结构中含有酚羟基。IR(KBr) σ : 3340、3028、2992、2948、1704、1629、1608、1566、1511、1291、1140 cm^{-1} 。EI-MS m/z (%): 192 (100) $[M]^+$ 、177 (79)、164 (48)、149 (68)、121 (38)、79 (45)、69 (39)。具体的碳氢化学位移归属如下: ¹H-NMR(CDCl₃, 400 MHz) δ : 7.59 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-4)、6.92 (1H, s, H-5)、6.85 (1H, s, H-8)、6.26 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3)、3.96 (3H, s, 6-OCH₃)。 ¹³C-NMR(CDCl₃, 100 MHz) δ : 161.6 (C-2)、111.6 (C-3)、143.4 (C-4)、113.6 (C-5)、149.9 (C-6)、150.4 (C-7)、103.3 (C-8)、144.2 (C-9)、113.6 (C-10)、56.6 (OCH₃)。化合物 6 的 ¹³C-NMR 数据与文献[9]报道的东莨菪素一致, 鉴定化合物 6 为东莨菪素。

参考文献:

- [1] 陈焕镛, 侯宽昭. 华南经济树木六新种[J]. 植物学报, 1956, 5: 15-16.
- [2] 梅文莉, 戴好富, 吴大刚. 肥牛木叶的酚类成分研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2006, 14(2): 157-159.
- [3] Mei WL, Dai HF, Wu SH. A new triterpene from *Cephalomappa sinensis*[J]. Chin Chem Lett, 2001, 12(6): 507-508.
- [4] 梅文莉, 戴好富, 吴大刚. 肥牛木根的化学成分[J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(2): 243-245.
- [5] Sholichin M, Yamasaki K, Kasai R, et al. ¹³C-NMR nuclear magnetic resonance of lupane-type triterpenes, lupeol, betulin and betulinic acid[J]. Chem Pharm Bull, 1980, 28: 1006-1008.
- [6] Mclean S, Perpich-Dumont M. Unambiguous structural and nuclear magnetic resonance spectral characterization of two triterpenoids of *Maprounea guianensis* by two-dimensional nuclear magnetic resonance spectroscopy[J]. Can J Chem, 1987, 65: 2519-2525.
- [7] 张雯洁, 刘玉清, 李兴从, 等. 云南“生态茶”的化学成分[J]. 云南植物研究, 1995, 17(2): 204-208.
- [8] Perez C, Trujillo J, Almonacid LM, et al. Absolute structures of two new C₁₃-norisoprenoids from *Apollonias barbujana*[J]. J Nat Prod, 1996, 59(1): 69-72.
- [9] Abyshev AZ, Zmeikov VP. ¹³C-NMR spectra and structure of bungeidiol and its transformation products[J]. Chem Nat Compd, 1982, 18(3): 270-276.