

## 霸王鞭乙酸乙酯部分化学成分研究

段云凤,王计宏,娄嘉豪,赵紫艳,赖 祺,尹俊林\*,曾广智\*

云南民族大学民族医药学院 民族药资源化学国家民委-教育部重点实验室,昆明 650500

**摘要:**为了研究霸王鞭(*Euphorbia royleana* Boiss.)的化学成分及其卤虫致死活性,采用正相硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱及半制备型高效液相色谱等方法从霸王鞭甲醇提取物的乙酸乙酯萃取部位中分离得到 15 个化合物。通过现代波谱学技术鉴定它们的结构分别为 5(6)-guten-3 $\alpha$ -ol(1)、蒲公英赛醇(2)、异蒲公英赛醇(3)、熊果酸(4)、齐墩果酸(5)、1-羟基-3,7,8-三甲氧基黄酮(6)、甲基獐牙菜素(7)、槲皮素(8)、胡萝卜苷(9)、 $\beta$ -谷甾醇(10)、甾甾醇(11)、香草醛(12)、十二烷醇(13)、植物醇(14)、1-[(12E,16E)-12,16-二十碳二烯酰基]-2-[(E,E)-7,11-十八碳二烯酰基]-3-硬脂酰基甘油(15)。化合物 1,3,4,5,6,7,12,13,14 和 15 均首次从该植物中分离得到。对所得到的化合物进行了卤虫致死活性研究,发现化合物 4 表现出较强卤虫致死活性,其 LD<sub>50</sub> 为 7.687  $\mu$ M。

**关键词:**霸王鞭;化学成分;卤虫致死活性

中图分类号:R932

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2022)2-0232-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2022.2.008

## Study on chemical constituents from ethyl acetate extract of *Euphorbia royleana* Boiss.

DUAN Yun-feng, WANG Ji-hong, LOU Jia-hao, ZHAO Zi-yan, LAI Qi, YIN Jun-lin\*, ZENG Guang-zhi\*

Key Laboratory of Chemistry in Ethnic Medicinal Resources, State Ethnic Affairs Commission & Ministry of Education, School of Ethnic Medicine, Yunnan Minzu University, Kunming 650500, China

**Abstract:** To study the chemical composition of *Euphorbia royleana* Boiss. and the brine shrimp lethal activity, 15 compounds were isolated from the ethyl acetate extract of this plant by normal phase silica gel, sephadex LH-20 and semi-preparative high-performance liquid chromatography (HPLC). Their structures were identified by modern spectroscopic techniques as 5(6)-gluten-3 $\alpha$ -ol(1), taraxerol(2), epitaraxerol(3), ursolic acid(4), oleanolic acid(5), 1-hydroxy-3,7,8-trimethoxyxanthone(6), methylswertianin(7), quercetin(8), daucosterol(9),  $\beta$ -sitosterol(10), stigmasterol(11), vanillin(12), 1-dodecanol(13), trans-phytol(14), 1-[(12E,16E)-12,16-eicosadienoyl]-2-[(E,E)-7,11-octadecadienoyl]-3-stearoylglycerol(15). Compounds 1,3,4,5,6,7,12,13,14 and 15 were isolated from this plant for the first time. Through the brine shrimp lethal activity test, compound 4 showed strong brine shrimp lethal activity, LD<sub>50</sub> was 7.687  $\mu$ M.

**Key words:** *Euphorbia royleana* Boiss.; chemical composition; brine shrimp lethal activity

大戟属(*Euphorbia* L.)是大戟科(Euphorbiaceae)植物,该属植物中多数种类属于传统中药材<sup>[1]</sup>。霸王鞭(*Euphorbia royleana* Boiss.)为大戟科大戟属植物,有小毒<sup>[2]</sup>。根据文献报道,该植物中含有二萜<sup>[3]</sup>、三萜<sup>[4]</sup>、甾体<sup>[5]</sup>和酚性成分<sup>[6]</sup>等次生代谢产物。有记载表明霸王鞭具有祛风、消炎、防腐杀菌的功效,其乳胶还可以用来填补烂掉的牙齿和抵抗感

染<sup>[7]</sup>;此外,文献还报道过霸王鞭的乙酸乙酯提取物有显著的抗炎<sup>[8]</sup>、镇痛和解热<sup>[9]</sup>等功效。

目前关于霸王鞭的化学成分研究主要集中在其乳胶上,报道的化合物主要是二萜和三萜类,而药理活性的研究也相对较少。卤虫模型是 Meyer 等<sup>[10]</sup>开发的快速测定样品毒性和筛选生物活性物质的方法,具体方法是将卤虫的虫卵在有光照的条件下,在海水中快速孵化,依照趋光性挑选孵化的卤虫幼虫,放入孔板中并加入不同浓度的待测样品对刚孵化的卤虫进行致死性测试,从而得到半数致死量

收稿日期:2021-04-25

接受日期:2020-01-14

基金项目:国家自然科学基金(21768005,31760095,81960639)

\* 通信作者 Tel:86-018213459908; E-mail: yinjunlin1979@sina.com,

gz\_h\_zeng@163.com

(LD<sub>50</sub>),该模型被广泛应用于生物化学的研究,有利于进行大量样品的初筛。Sasidharan 等<sup>[11]</sup>同样用卤虫模型,对大戟科药用植物一品红的甲醇提取物进行了卤虫致死活性实验,实验结果表明:一品红的花和根的甲醇粗提物具有生物毒性,并且此研究也发现了卤虫致死率与一品红甲醇粗提物的浓度呈正相关;Meyer<sup>[10]</sup>比较了41种大戟科植物种子的乙醇提取物对卤虫的作用,发现14种大戟科植物种子对卤虫具有细胞毒活性;Barth 等<sup>[12]</sup>使用卤虫模型,对大戟科植物巴豆树的乙醇提取物进行了生物毒性评价,实验结果表明巴豆树的乙醇提取物具有明显的生物毒性;但霸王鞭的次生代谢产物的卤虫致死活性未见报道。为了充分开发和利用霸王鞭资源,本实验对霸王鞭全株的化学成分及卤虫致死活性进行研究。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与amp;仪器

DRX-400 共振仪 (Bruker, 瑞士); NP7000 泵-NU3000 制备液相 (江苏汉邦, 中国); BS124S 型电子分析天平 (Sartorius, 德国); EYELA N-1300 自动旋转蒸发仪 (上海圣科, 中国)。

柱色谱用硅胶 (100~400 目; 青岛海洋, 中国); Sephadex LH-20 (GE Healthcare, 美国); 薄层色谱硅胶板 GF254 (青岛海洋, 中国); 半制备色谱柱为 Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub> (9.4 mm × 250 mm, 5 μm); 色谱级甲醇 (霍尼韦尔, 美国); 纯净水 (娃哈哈, 中国); 其他化学试剂均为分析纯 (上海科技, 中国); 显色剂: 5% 硫酸-乙醇溶液 (105 °C 加热显色)、10% 磷钼酸-乙醇溶液和茴香醛显色剂。

### 1.2 植物材料

霸王鞭样品于2019年03月购于云南省昭通市巧家县白鹤滩镇巧家营三家村,药材经昆明采智技术有限公司鉴定为霸王鞭 (*Euphorbia royleana* Boiss.) 全株。标本保存于云南民族大学民族药资源化学国家民委-教育部重点实验室 (样品编号为201903BWB)。

### 1.3 提取与amp;分离

取干燥的霸王鞭31 kg 粉碎后,浸泡在95% 甲醇溶液中,每24 h 提取1次,共提取3次,合并浓缩后得到浸膏2.8 kg。将浸膏溶解在水相中,分别用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取3次,合并浓缩得到

石油醚部分365.5 g,乙酸乙酯部分485 g,正丁醇部分423.7 g。

乙酸乙酯部分用60~100 目540 g 硅胶拌样后装柱,洗脱体系为石油醚-乙酸乙酯(50:1、25:1、10:1、5:1、1:1、0:1) 进行洗脱,经TLC 检测后合并,共得到7个组分,记为Fr. A~Fr. G。

Fr. C (47.1 g) 用MCI 树脂(甲醇-水,50% → 100%) 梯度洗脱后,得到6个组分Fr. C-1~Fr. C-6。Fr. C-3 (10.52 g) 经多次硅胶柱分离,洗脱体系为石油醚-乙酸乙酯(50:1、25:1、15:1、10:1、3:1、0:1) 洗脱,得到4个组分Fr. C-3-1~Fr. C-3-4。Fr. C-3-2 (2.3 g) 经Sephadex LH-20 分离,洗脱体系为二氯甲烷-甲醇(1:1),得到化合物**1** (6.9 mg)。Fr. C-3-3 (3.6 g) 硅胶柱层析后,用HPLC (流动相甲醇-水70:10,流速1.5 mL/min,保留时间分别为35 min 和40 min) 分离,经凝胶、硅胶柱分离纯化,得到化合物**2** (8.2 mg)、**3** (5.1 mg)。

Fr. D (38.8 g) 经硅胶柱色谱分离,石油醚-乙酸乙酯(50:1→5:1) 梯度洗脱,得到7个组分Fr. D-1~Fr. D-7。Fr. D-1 (8.2 g) 经Sephadex LH-20 凝胶柱层层析分离,洗脱体系为二氯甲烷-甲醇(1:1),得到化合物**4** (11.2 mg),剩余洗脱液再经重结晶得到化合物**5** (20.4 mg)、化合物**6** (13.4 mg)。将组分Fr. D-2 (14.5 g) 用硅胶进行柱色谱(洗脱体系为石油醚-二氯30:1→0:1) 分离,经TLC 检测合并为得到4个组分(Fr. D-5-1~Fr. D-5-4)。组分Fr. D-5-2 (4.2 g) 用Sephadex LH-20 (甲醇体系) 分离纯化,洗脱液合并后经反复硅胶柱分离纯化,分别得到化合物**7** (11.3 mg)、化合物**8** (15.1 mg)。组分Fr. D-3 (12.9 g) 经硅胶柱色谱分离,石油醚-乙酸乙酯(35:1→1:1) 梯度洗脱,TLC 检测合并得到3个组分Fr. D-3-1~Fr. D-3-3。组分Fr. D-3-2 (3.3 g) Sephadex LH-20 (甲醇体系) 分离纯化,洗脱液合并后再经反复硅胶柱色谱纯化得到化合物**9** (5.4 mg)、化合物**10** (7.9 mg) 和化合物**11** (6.2 mg)。

Fr. F (81.3 g) 部分进行硅胶柱色谱粗分离,依次用流动相为石油醚-乙酸乙酯(50:1、25:1、10:1、5:1、2:1、1:1) 进行梯度洗脱,得到6个组分(Fr. F-1~Fr. F-6)。组分Fr. F-3 (32.2 g) 经用硅胶柱色谱洗脱(洗脱体系为二氯-甲醇100:1、50:1、25:1、10:1、5:1、1:1) 分离,TLC 检测合并相同组分,得到5个

组分(Fr. F-3-1 ~ Fr. F-3-5)。Fr. F-3-2(15.1 g)经反复硅胶柱层析得到化合物 **12**(22.3 mg)、化合物 **13**(37.8 mg)。Fr. F-3-3(4.7 g)经反复硅胶柱层析后重结晶(二氯甲烷),得到化合物 **14**(32.1 mg),重结晶(甲醇)得到化合物 **15**(17.9 mg)。

#### 1.4 化合物的卤虫致死活性研究

取 1 000 mg 卤虫虫卵于可乐瓶中,再加入 500 mL 海水于 26 °C 光照条件下培养 24 h。然后依照其趋光性取 10 只卤虫幼虫放入 96 孔板中,96 孔板的海水体积为 90  $\mu$ L,样品初浓度为 100  $\mu$ mol/L 稀释到 10  $\mu$ mol/L,加样体积为 5  $\mu$ L,将加样的 96 孔板放在有光照并且恒温为 24 °C 的培养箱中培养,整个实验过程对于卤虫将不再进行饲喂,24 h 后,观察卤虫的死亡情况,如果在 10 s 内没有观察到卤虫有趋光性,则将卤虫记为死亡。以 4% 的二甲基亚砜(DMSO)水溶液为空白组,100  $\mu$ mol/L 的硫酸长春新碱(vincristine sulfate)为阳性对照,每组实验三次取平均值。对存活数和总数(全部杀死后计数)来

计算 LD<sub>50</sub> 值。LD<sub>50</sub> 值计算方法参考文献<sup>[13]</sup>。

## 2 实验结果

### 2.1 结构鉴定

**化合物 1** 白色结晶;分子式 C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O, EI-MS:  $m/z$  426 [M]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 0.83(s, 3H, H-25), 0.96(s, 3H, H-29), 0.99(s, 3H, H-30), 1.03(s, 3H, H-27), 1.06(s, 3H, H-24), 1.09(s, 3H, H-26), 1.13(s, 3H, H-23), 1.16(s, 3H, H-28), 3.46(br s, 1H, H-3), 5.62(d, 1H,  $J = 8.7$  Hz, H-6); <sup>13</sup>C NMR(100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 16.2(C-25), 18.2(C-1), 18.4(C-26), 19.6(C-27), 23.6(C-7), 25.4(C-24), 27.8(C-30), 33.1(C-19), 34.5(C-29), 34.6(C-11), 34.8(C-9), 35.0(C-21), 36(C-22), 37.8(C-13), 38.9(C-16), 39.3(C-14), 40.8(C-4), 43(C-18), 47.4(C-8), 49.7(C-10), 76.3(C-3), 122.0(C-6), 141.6(C-5)。以上数据与文献<sup>[14]</sup>报道一致,确定化合物 **1** 为 5(6)-gluten-3 $\alpha$ -ol, 结构见图 1。

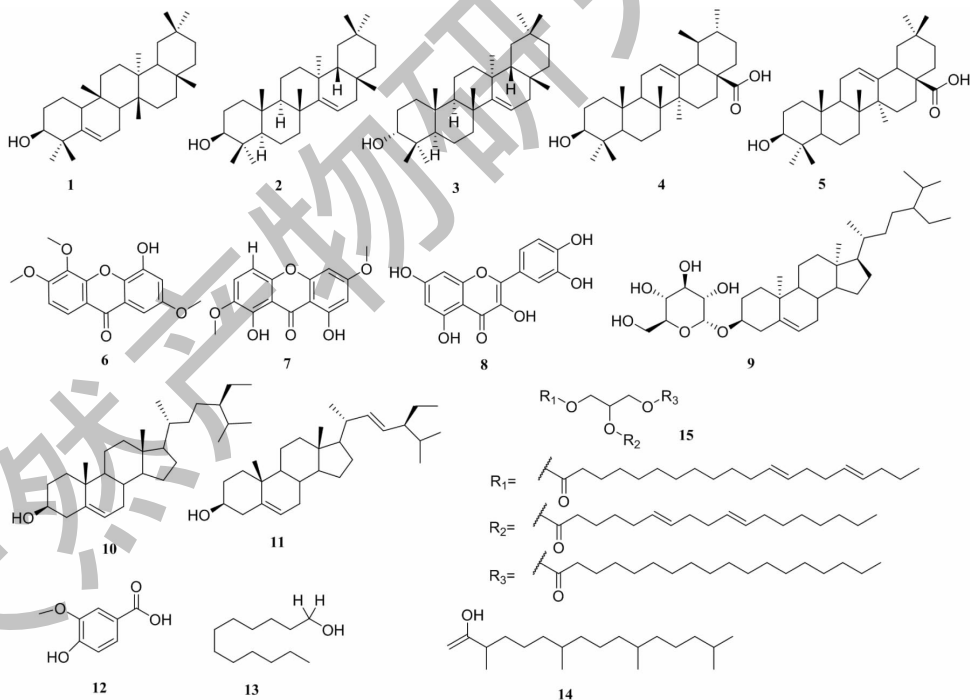


图 1 化合物 1 ~ 15 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1-15

**化合物 2** 白色结晶;分子式 C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O, EI-MS:  $m/z$  427 [M + H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 0.74(s, 3H, H-28), 0.76(s, 3H, H-23), 0.85(s, 3H, H-30), 0.85(s, 3H, H-27), 0.87(s, 3H, H-24), 0.89

(s, 3H, H-29), 0.91(s, 3H, H-25), 1.03(s, 3H, H-26), 3.12(m, 1H, H-3), 5.47(dd,  $J = 8.2, 3.1$  Hz, 1H, H-15)。 <sup>13</sup>C NMR(100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 15.4(C-25), 15.5(C-24), 17.5(C-11), 18.8(C-6), 21.3(C-

30), 27.1 (C-27), 28.0 (C-2), 28.8 (C-28), 29.7 (C-23), 29.8 (C-26), 29.9 (C-29), 33.0 (C-22), 33.3 (C-21), 33.7 (C-7), 35.0 (C-12), 35.8 (C-16), 36.7 (C-13), 37.5 (C-10), 37.7 (C-17), 38.0 (C-1), 38.8 (C-8), 39.0 (C-4), 41.3 (C-19), 48.7 (C-9), 49.3 (C-18), 55.5 (C-5), 79.0 (C-3), 116.9 (C-15), 158.0 (C-14)。以上数据与文献<sup>[15]</sup>报道一致, 确定化合物 **2** 为蒲公英赛醇。

**化合物 3** 白色结晶; 分子式  $C_{30}H_{50}O$ , EI-MS:  $m/z$  426  $[M]^+$ ;  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 0.82 (s, 3H, H-28), 0.85 (s, 3H, H-23), 0.91 (s, 3H, H-27), 0.91 (s, 3H, H-30), 0.94 (s, 3H, H-24), 0.95 (s, 3H, H-25), 0.95 (s, 3H, H-29), 1.09 (s, 3H, H-26), 3.40 (t, 1H,  $J = 2.6$  Hz, H-3), 5.52 (dd, 1H,  $J = 8.1, 3.1$  Hz, H-15);  $^{13}C$  NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 15.2 (C-25), 17.4 (C-11), 18.7 (C-6), 21.2 (C-27), 22.2 (C-24), 25.0 (C-2), 26.0 (C-26), 28.2 (C-23), 28.8 (C-20), 29.8 (C-28), 29.9 (C-30), 32.2 (C-1), 33.0 (C-21), 33.3 (C-29), 35.0 (C-12), 35.1 (C-22), 35.8 (C-10), 36.6 (C-19), 37.3 (C-4), 37.5 (C-13), 37.7 (C-16), 38.0 (C-17), 39.1 (C-8), 41.2 (C-7), 48.7 (C-18), 48.9 (C-9), 49.2 (C-5), 76.2 (C-3), 116.7 (C-15), 158.1 (C-14)。以上数据与文献<sup>[16]</sup>报道一致, 确定化合物 **3** 为异蒲公英赛醇。

**化合物 4** 白色结晶; 分子式  $C_{30}H_{48}O_3$ , ESI-MS:  $m/z$  456.4  $[M]^+$ ;  $^1H$  NMR (400 MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$ : 0.67 (s, 3H, H-25), 0.74 (s, 3H, H-24), 0.80 (d, 3H,  $J = 6.5$  Hz, H-30), 0.86 (s, 3H, H-26), 0.89 (s, 3H, H-23), 0.90 (d, 3H,  $J = 6.5$  Hz, H-29), 1.03 (s, 3H, H-27), 2.98 (t, 1H,  $J = 5.0$  Hz, H-3), 5.12 (br s, 1H, H-12);  $^{13}C$  NMR (100 MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$ : 15.1 (C-26), 16.0 (C-25), 16.9 (C-24), 17.0 (C-6), 17.9 (C-29), 21.0 (C-16), 22.8 (C-2), 23.2 (C-11, 23), 23.8 (C-30), 26.9 (C-27), 27.5 (C-21), 28.2 (C-20), 30.1 (C-19), 32.7 (C-15), 36.3 (C-7), 36.5 (C-22), 38.2 (C-10), 38.4 (C-1), 38.4 (C-8), 38.5 (C-4), 41.6 (C-14), 46.8 (C-17), 47.0 (C-9), 52.3 (C-5), 54.7 (C-18), 76.8 (C-3), 124.5 (C-12), 138.1 (C-13), 178.3 (C-28)。以上数据与文献<sup>[17]</sup>报道一致, 确定化合物 **4** 为熊果酸。

**化合物 5** 白色结晶; 分子式  $C_{30}H_{48}O_3$ , EI-MS:  $m/z$  456  $[M]^+$ ;  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 0.73 (s, 3H, H-25), 0.76 (s, 3H, H-29), 0.77 (s, 3H, H-

24), 0.92 (s, 3H, H-30), 0.98 (s, 3H, H-26), 1.08 (s, 3H, H-23), 1.11 (s, 3H, H-27), 3.15 (dd,  $J = 9.0, 7.2$  Hz, H-18), 3.21 (dd,  $J = 11.4, 3.6$  Hz, H-3 $\alpha$ ), 5.28 (t,  $J = 5.4$  Hz, H-12);  $^{13}C$  NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 15.3 (C-25), 15.5 (C-24), 17.1 (C-26), 18.3 (C-6), 22.9 (C-11), 23.4 (C-16), 23.6 (C-30), 25.9 (C-27), 27.2 (C-2), 27.7 (C-15), 28 (C-23), 30.7 (C-20), 32.4 (C-22), 32.6 (C-7), 33.0 (C-29), 33.8 (C-21), 37.0 (C-10), 38.4 (C-1), 38.8 (C-8), 39.2 (C-4), 40.9 (C-14), 41.6 (C-18), 45.9 (C-19), 46.5 (C-17), 47.6 (C-9), 55.2 (C-5), 79.0 (C-3), 122.6 (C-12), 143.6 (C-13), 183.2 (C-28)。以上数据与文献<sup>[18]</sup>报道一致, 确定化合物 **5** 为齐墩果酸。

**化合物 6** 淡黄色结晶; 分子式  $C_{16}H_{14}O_6$ , EI-MS:  $m/z$  302  $[M]^+$ ;  $^1H$  NMR (400 MHz,  $C_5D_5N$ )  $\delta$ : 3.86 (s, 3H, 8-OCH<sub>3</sub>), 3.92 (s, 3H, 7-OCH<sub>3</sub>), 3.98 (s, 3H, 3-OCH<sub>3</sub>), 6.25 (d, 1H,  $J = 2.1$  Hz, H-2), 6.30 (d, 1H,  $J = 2.1$  Hz, H-4), 7.13 (d, 1H,  $J = 8.4$  Hz, H-5), 7.34 (d, 1H,  $J = 8.4$  Hz, H-6);  $^{13}C$  NMR (100 MHz,  $C_5D_5N$ )  $\delta$ : 55.9 (3-OCH<sub>3</sub>), 56.7 (7-OCH<sub>3</sub>), 61.6 (8-OCH<sub>3</sub>), 92.3 (C-4), 97.4 (C-2), 104.4 (C-8b), 113.1 (C-5), 116.0 (C-8a), 120.8 (C-6), 148.9 (C-7), 149.3 (C-4b), 151 (C-8), 157.5 (C-4a), 164.3 (C-1), 166.9 (C-3), 181.5 (C-9)。以上数据与文献<sup>[19]</sup>报道一致, 确定化合物 **6** 为 1-羟基-3,7,8-三甲氧基黄酮。

**化合物 7** 淡黄色粉末; 分子式  $C_{15}H_{12}O_6$ , ESI-MS:  $m/z$  289  $[M + H]^+$ ;  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 3.84 (s, 3H, 3-OCH<sub>3</sub>), 3.89 (s, 3H, 7-OCH<sub>3</sub>), 6.39 (d, 1H,  $J = 2.0$  Hz, H-2), 6.60 (d, 1H,  $J = 2.0$  Hz, H-4), 6.98 (d, 1H,  $J = 9.2$  Hz, H-5), 7.51 (d, 1H,  $J = 9.2$  Hz, H-6), 11.80 (s, 1H, 8-OH), 11.82 (s, 1H, 1-OH)。  $^{13}C$  NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 55.9 (7-OCH<sub>3</sub>), 57.0 (3-OCH<sub>3</sub>), 92.9 (C-4), 97.2 (C-2), 102.4 (C-8b), 105.6 (C-5), 107.8 (C-8a), 120.4 (C-6), 142.9 (C-7), 149.6 (C-8), 150.1 (C-4b), 158.0 (C-4a), 162.9 (C-1), 167.5 (C-3), 185.0 (C-9)。以上数据与文献<sup>[20]</sup>报道一致, 确定化合物 **7** 为甲基獐牙菜素。

**化合物 8** 黄色结晶; 分子式  $C_{15}H_{10}O_7$ , EI-MS:  $m/z$  302  $[M]^+$ ;  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 6.19 (d, 1H,  $J = 2.4$  Hz, H-6), 6.41 (d, 1H,  $J = 2.4$

Hz, H-8), 6.89 (d, 1H,  $J = 8.4$  Hz, H-5'), 7.55 (dd, 1H,  $J = 2.4, 8.4$  Hz, H-6'), 7.69 (d, 1H,  $J = 2.4$  Hz, H-2'), 12.50 (s, 1H, 5-OH)。 $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 94.4 (C-8), 99.3 (C-6), 104.5 (C-10), 115.9 (C-2'), 116.2 (C-5'), 121.7 (C-6'), 124.1 (C-1'), 137.3 (C-3), 146.2 (C-3'), 147.9 (C-2), 148.8 (C-4'), 158.2 (C-9), 162.5 (C-5), 165.7 (C-7), 177.3 (C-4)。以上数据与文献<sup>[21]</sup>报道一致, 确定化合物 **8** 为槲皮素。

**化合物 9** 白色粉末; 分子式  $\text{C}_{35}\text{H}_{60}\text{O}_6$ , ESI-MS:  $m/z$  599.4  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 0.65 (s, 3H, H-18), 0.79 (d, 3H,  $J = 6.9$  Hz, H-27), 0.81 (d, 3H,  $J = 7.0$  Hz, H-26), 0.83 (t, 3H,  $J = 6.2$  Hz, H-29), 0.90 (d, 3H,  $J = 6.5$  Hz, H-21), 0.95 (s, 3H, H-19), 4.22 (d, 1H,  $J = 7.8$  Hz, H-1), 4.42 (t, 1H,  $J = 5.8$  Hz, H-3), 5.33 (s, 1H, H-6)。 $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 11.7 (C-18), 11.8 (C-29), 18.6 (C-21), 18.9 (C-19), 19.0 (C-26), 19.7 (C-27), 20.6 (C-11), 22.6 (C-28), 23.8 (C-15), 25.4 (C-23), 27.8 (C-16), 28.6 (C-25), 29.2 (C-2), 31.4 (C-7, 8), 33.3 (C-22), 35.5 (C-20), 36.2 (C-10), 36.8 (C-1), 38.3 (C-4), 41.8 (C-13), 45.0 (C-24), 49.6 (C-9), 55.4 (C-17), 56.1 (C-14), 61.0 (C-6'), 70.0 (C-4'), 73.4 (C-2'), 76.7 (C-3, 3'), 76.8 (C-5'), 100.7 (C-1'), 121.2 (C-6), 140.4 (C-5)。以上数据与文献<sup>[22]</sup>报道一致, 确定化合物 **9** 为胡萝卜苷。

**化合物 10** 白色絮状物; 分子式  $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$ , ESI-MS:  $m/z$  437.3  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.68 (s, 3H, H-18), 0.81 (d, 3H,  $J = 6.9$  Hz, H-27), 0.83 (d, 3H,  $J = 7.0$  Hz, H-26), 0.84 (t, 3H,  $J = 7.6$  Hz, H-29), 0.92 (d, 3H,  $J = 6.5$  Hz, H-21), 1.00 (s, 3H, H-19), 3.52 (m, 1H, H-3 $\alpha$ ), 5.35 (d, 1H,  $J = 5.2$  Hz, H-6)。 $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 11.9 (C-18), 12.0 (C-26), 18.8 (C-29), 19.0 (C-25), 19.4 (C-21), 19.8 (C-19), 21.0 (C-27), 23.0 (C-28), 24.3 (C-23), 26.0 (C-15), 28.3 (C-11), 29.1 (C-16), 31.7 (C-2), 31.9 (C-7), 33.9 (C-8, C-20), 36.1 (C-22), 36.5 (C-10), 37.2 (C-1), 39.8 (C-24), 42.2 (C-12), 42.3 (C-13), 45.8 (C-4), 50.1 (C-9), 56.0 (C-17), 56.8 (C-14), 71.8 (C-3), 121.7 (C-6), 140.8 (C-5)。以上数据与文献<sup>[23]</sup>报道一致, 确定化合物 **10** 为  $\beta$ -谷甾醇。

**化合物 11** 白色结晶; 分子式  $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$ , ESI-MS:  $m/z$  435  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.79 (d, 3H,  $J = 5.5$  Hz, H-27), 5.36 (br d, 1H,  $J = 5.0$  Hz, H-6), 3.55 (m, 1H, H-3), 0.69 (s, 3H, H-18), 0.81 (t, 3H,  $J = 7.4$  Hz, H-29), 0.83 (s, 3H, H-19), 0.84 (d, 3H,  $J = 6.3$  Hz, H-26), 0.91 (d, 3H,  $J = 6.0$  Hz, H-21), 5.01 (dd, 1H,  $J = 8.0, 15.1$  Hz, H-23), 5.13 (dd, 1H,  $J = 8.0, 15.1$  Hz, H-22);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 11.9 (C-18), 12.0 (C-29), 18.8 (C-21), 19.0 (C-27), 19.1 (C-19), 19.4 (C-26), 19.8 (C-11), 21.1 (C-28), 23.1 (C-15), 24.3 (C-23), 26.1 (C-16), 28.3 (C-25), 29.1 (C-2), 31.6 (C-7), 31.9 (C-8), 33.9 (C-22), 36.2 (C-20), 36.5 (C-10), 37.3 (C-1), 39.8 (C-12), 42.2 (C-13), 42.3 (C-4), 45.8 (C-24), 50.1 (C-9), 56.1 (C-17), 56.8 (C-14), 71.7 (C-3), 121.7 (C-6), 140.8 (C-5)。以上数据与文献<sup>[23]</sup>报道一致, 确定化合物 **11** 为甾甾醇。

**化合物 12** 黄色粉末; 分子式  $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$ , ESI-MS:  $m/z$  167  $[\text{M} - \text{H}]^-$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 3.96 (s, 3H, 3-OCH<sub>3</sub>), 6.13 (s, 1H, 4-OH), 7.03 (d, 1H,  $J = 8.4$  Hz, H-5), 7.41 (d, 1H,  $J = 1.8$  Hz, H-2), 7.42 (dd, 1H,  $J = 8.4, 1.8$  Hz, H-6), 9.81 (s, 1H, 1-CHO);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 56.3 (OCH<sub>3</sub>), 111.2 (C-2), 116.4 (C-5), 128.0 (C-6), 130.6 (C-1), 149.8 (C-3), 154.9 (C-4), 191.9 (C=O)。以上数据与文献<sup>[24]</sup>报道一致, 确定化合物 **12** 为香草醛。

**化合物 13** 白色油状物; 分子式  $\text{C}_{12}\text{H}_{26}\text{O}$ , EI-MS:  $m/z$  185  $[\text{M} - \text{H}]^-$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.88 (t, 3H,  $J = 6.9$  Hz, H-12), 1.22 ~ 1.39 (br s, 18H, H3 ~ H11), 1.57 (m, 2H, H-2), 3.64 (t, 2H,  $J = 6.6$  Hz, H-1)。 $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 14.2 (C-12), 22.7 (C-11), 25.8 (C-10), 29.4 (C-9), 29.5 (C-8), 29.6 (C-7), 29.7 (C-6), 29.7 (C-5), 29.7 (C-4), 31.9 (C-3), 32.8 (C-2), 63.1 (C-1)。以上数据与文献<sup>[25]</sup>报道一致, 确定化合物 **13** 为十二烷醇。

**化合物 14** 淡黄色油状物; 分子式  $\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}$ , EI-MS:  $m/z$  296  $[\text{M}]^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.83 ~ 0.87 (12H, H-16, 18, 19, 20), 1.66 (s, 3H, H-17), 2.02 (m, 2H, H-4), 4.15 (d, 2H,  $J = 7.0$  Hz, H-1), 5.41 (t, 1H,  $J = 7.0$  Hz, H-2);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 16.2 (C-20), 19.7 (C-18), 19.7 (C-

19), 22.6(C-16), 22.7(C-17), 24.5(C-9), 24.8(C-13), 25.2(C-5), 27.9(C-15), 32.7(C-11), 32.8(C-7), 36.7(C-6), 37.3(C-12), 37.4(C-8), 37.4(C-10), 39.4(C-14), 39.9(C-4), 59.4(C-1), 123.1(C-2), 140.3(C-3)。以上数据与文献<sup>[25]</sup>报道一致, 确定化合物 **14** 为植物醇。

**化合物 15** 白色油状物; 分子式  $C_{60}H_{108}O_5$ , EI-MS:  $m/z$  933.1  $[M + Na]^+$ ;  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 0.89 (m, 9H, 3  $\times$   $-CH_3$ ), 1.27 (m, 58H, 29  $\times$   $-CH_2$ ), 1.61 (br s, 6H, 3  $\times$   $\beta$ - $CH_2$ ), 2.04 (m, 12H, 6  $\times$  C = C- $CH_2$ ), 2.30 (m, 6H, 3  $\times$   $\alpha$ - $CH_2$ ), 2.77 (t, 2H,  $J = 5.9$  Hz, C = C- $CH_2$ -C = C), 4.14 (dd, 2H,  $J = 4.3, 11.9$  Hz, H-3 或 H-1), 4.31 (dd, 2H,  $J = 4.3, 11.9$  Hz, H-1 或 H-3), 5.27 (m, 1H, H-2), 5.34 (m, 8H, 4  $\times$  CH = CH);  $^{13}C$  NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 14.1, 14.2, 22.6, 22.7, 24.8, 24.9, 25.6, 27.2, 27.2, 27.2, 29.0, 29.1, 29.1, 29.2, 29.2, 29.2, 29.3, 29.4, 29.4, 29.4, 29.5, 29.6, 29.6, 29.7, 29.7, 29.8, 31.5, 31.9, 31.9, 34.0, 34.0, 34.2, 62.1 (C-1), 68.8 (C-2, 3), 127.9, 129.7, 129.7, 129.9, 130.0, 130.0, 130.2, 172.9, 173.3, 173.4。以上数据与文献<sup>[26]</sup>报道一致, 确定化合物 **15** 为 1-[(12E, 16E)-12, 16-二十碳二烯酰基]-2-[(E, E)-7, 11-十八碳二烯酰基]-3-硬脂酰基甘油。

## 2.2 化合物的卤虫致死活性研究结果

通过卤虫致死活性测试, 致死试验为 24 h, 使用存活数和总数 (全部杀死后计数) 来计算  $LD_{50}$  值。 $LD_{50}$  值计算方法参考文献<sup>[13]</sup>。化合物 **4** 表现出较强的卤虫致死活性, 其  $LD_{50}$  为 7.687  $\mu M$  (见表 1)。

表 1 化合物 **1~14** 的卤虫致死活性

Table 1 Brine shrimp lethal activity of compounds **1~14**

化合物 Compound	半数致死量 $LD_{50}$ ( $\mu M$ )	化合物 Compound	半数致死量 $LD_{50}$ ( $\mu M$ )
<b>1</b>	39.464	<b>9</b>	64.067
<b>2</b>	43.275	<b>10</b>	52.694
<b>3</b>	61.433	<b>11</b>	79.250
<b>4</b>	7.687	<b>12</b>	56.216
<b>5</b>	40.742	<b>13</b>	64.342
<b>6</b>	75.089	<b>14</b>	48.436
<b>7</b>	67.897	硫酸长春新碱 Vincristine sulfate *	1.490
<b>8</b>	45.789		

注: \* 阳性对照。

Note: \* Positive control.

## 3 讨论与结论

该研究对霸王鞭的化学成分及药理活性进行了研究, 从其甲醇提取物的乙酸乙酯萃取部分中分离得到了 15 个化合物, 化合物类型包括三萜 (**1~5**)、黄酮 (**6~8**)、甾体 (**9~11**)、酚类 (**12**)、脂肪醇 (**13**)、链状二萜 (**14**) 和脂肪酸 (**15**)。对化合物 **1~14** 进行了卤虫致死活性研究, 实验结果显示化合物 **1~14** 均具有卤虫致死活性, 其中化合物 **4** 活性较强,  $LD_{50}$  为 7.687  $\mu M$ , 且化合物 **8** (甾体)、**14** (链状二萜) 的效果要好于化合物 **3** (三萜)。相较于前人只对霸王鞭的乳胶部分进行了化学成分的研究, 并且大戟科植物的卤虫致死活性也只局限在甲醇或乙醇提取物上, 本研究对霸王鞭的其他部分也进行了化学成分的研究, 而卤虫致死活性也针对单体化合物进行了初步的研究, 一定程度上丰富了霸王鞭的化学成分以及大戟科植物的药理活性研究。为了合理开发利用该植物资源, 有必要对霸王鞭中的活性成分开展进一步的系统研究, 深入探讨其活性机理及开展其体内活性验证。本研究为后续关于霸王鞭及大戟属植物的生物活性研究提供了物质及理论支持。

## 参考文献

- Shi QW, Su XH, Kiyota H. Chemical and pharmacological research of the plants in genus *Euphorbia* [J]. Chem Rev, 2008, 108:4295-4327.
- Editorial Committee of Chinese Flora of the Chinese Academy of Sciences. Flora of China (中国植物志) [M]. Beijing: Science Press, 1997, 4(3):29-31.
- Rizk AM, Hammouda FM, El-Missiry MM, et al. Macrocyclic diterpene esters from *Euphorbia royleana* [J]. Phytochemistry, 1984, 23:2377-2379.
- Dhaneshwar NN, Puranik VG, Tavale SS, et al. The structure of 24-methylene-9, 19-cyclolanostan-3 $\beta$ -ylacetate [J]. Acta Crystallogr A, 2010, 42:595-597.
- Wang H, Zhao M, Zhang SJ. Chemical constituents from the *Euphorbia antiquorum* L [J]. J Qiqihar Univ: Nat Sci (齐齐哈尔大学学报: 自然科学版), 2013, 29(1):73-79.
- Singh DK, Agarwal RA. Correlation of the anticholinesterase and molluscicidal activity of the latex of *Euphorbia royleana* on the snail *Lymnaea acuminata* [J]. J Nat Prod, 1984, 47(4):38-40.
- Yang DS, Li ZL, Wei JG, et al. Chemical constituents from the *Euphorbia antiquorum* L. [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2013, 44:2039-2043.

- 8 Bani S, Kaul A, Jaggi BS, et al. Anti-inflammatory activity of the hydrosoluble fraction of *Euphorbia royleana* latex [J]. *Fitoterapia*, 2000, 71: 655-662.
- 9 Bani S, Suri KA, Suri OP, et al. Analgesic and antipyretic properties of *Euphorbia royleana* latex [J]. *Phyther Res*, 1997, 11: 597-599.
- 10 Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, et al. Brine Shrimp-A convenient general bioassay for active-plant constituents [J]. *Planta Med*, 1982, 45(1): 31-34.
- 11 Sasidharan S, Kwan YP, Latha LY, et al. Acute toxicity impacts of *Euphorbia hirta* L extract on behavior, organs body weight index and histopathology of organs of the mice and *Artemia salina* [J]. *Pharmacog Res*, 2012, 4(3): 170-177.
- 12 Barth EF, Pinto LS, Dileli P, et al. Biological screening of extracts from leaf and stem bark of *Croton floribundus* Spreng. (Euphorbiaceae) [J]. *Braz J Biol*, 2018, 78: 601-608.
- 13 Yang SH. LD<sub>50</sub> quick calculation method [J]. *J Hygi Res (卫生研究)*, 1974, 16(5): 73-78.
- 14 Asmah Susidarti R, Rahmani M, Ismail HBM, et al. A new coumarin and triterpenes from Malaysian *Micromelum minutum* [J]. *Nat Prod Res*, 2006, 20(2): 145-151.
- 15 Zhang HL, Wang S, Chen RY, et al. Studies on chemical constituents of *Uvaria macrophylla* [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2002, 37(2): 44-47.
- 16 Tsai PW, Castro-Cruz KA, Shen CC, et al. Chemical constituents of *Broussonetia luzonensis* [J]. *Phcog J*, 2012, 4(31): 1-4.
- 17 Fan XN, Lin S, Zhu CG, et al. Aromatic constituents of *Heteroplexis microcephala* and their bioactivities [J]. *China J Chin Mater Med (中国中药杂志)*, 2011, 36(1): 48-56.
- 18 Guo N, Chen XY, Zhao QS, et al. A new polyisoprenylated benzoylphloroglucinol derivative from *Hypericum henryi* subsp. *uraloides* (Guttiferae) [J]. *Plant Divers (植物分类与资源学报)*, 2008, 30: 515-518.
- 19 Tang L, Cui J, Zhou S. Xanthones from *Comastoma pedunculatum* [J]. *Chem Nat Compd*, 2009, 45: 733-734.
- 20 Basnet P, Kadota S, Shimizu M, et al. Bellidifolin: A potent hypoglycemic agent in streptozotocin (STZ)-Induced diabetic rats from *Swertia japonica* [J]. *Planta Med*, 1994, 60: 507-511.
- 21 Luo L, Li ZQ, Ma GY. A new bridged ring compound from *Hypericum bellum* [J]. *Plant Divers (植物分类与资源学报)*, 2003, 25(50): 620-624.
- 22 Sun LP, Zheng SZ, Shen XW. Triterpenoid glycoside from *Astragalus adsurgens* Pall [J]. *Indian J Chem B*, 1997, 36: 840-841.
- 23 Umlauf D, Zapp J, Becker H, et al. Biosynthesis of the irregular monoterpene artemisia ketone, the sesquiterpene germacrene D and other isoprenoids in *Tanacetum vulgare* L. (Asteraceae) [J]. *Phytochemistry*, 2004, 65: 2463-2470.
- 24 Sakushima A, Ohno K, Maoka T, et al. Guaiacylglycerol-7'-O-methyl 8'-vanillic acid ether and related compounds from *Boreava orientalis* [J]. *Phytochem Anal*, 2003, 14(1): 48-53.
- 25 Sakai N, Kawana K, Ikeda R. InBr<sub>3</sub>-catalyzed deoxygenation of carboxylic acids with a hydrosilane: reductive conversion of aliphatic or aromatic carboxylic acids to primary alcohols or diphenylmethanes [J]. *Eur J Org Chem*, 2011(17): 3178-3183.
- 26 Dixon DD, Boddy CN, Doyle RP. Reinvestigation of coenzyme Q10 isolation from *Sporidiobolus johnsonii* [J]. *Chem Biodivers*, 2011, 8: 1033-1051.