

海南产木薯茎化学成分研究

李姗姗^{1,2}, 戴好富^{2,3}, 赵友兴², 左文健^{2,3}, 李小娜^{2,3}, 梅文莉^{2,3*}

(1. 海南大学农学院, 海口 570228; 2. 中国热带农业科学院热带生物技术研究所, 农业部热带作物生物技术重点开放实验室, 海口 571101; 3. 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: 从木薯(*Manihot esculenta* Crantz)茎的乙醇提取物中分离得到 6 个化合物, 通过波谱分析, 分别鉴定为呋喃(1)、肥牛木素(2)、3-吡啶甲酸(3)、3,9,13-megastigmanetriol (4)、穗花杉双黄酮(5)、yucalexin P-21 (6), 其中化合物 1~5 为首次从该植物中分离得到。用滤纸片琼脂扩散法测定了这些化合物的抗菌活性, 结果表明化合物 1、3、4 和 6 对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)和金黄色葡萄球菌均有抑制作用。

关键词: 木薯; 茎; 化学成分; 抗菌活性

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2012.02.015

Chemical Constituents from the Stems of Cassava (*Manihot esculenta*) in Hainan

LI Shan-shan^{1,2}, DAI Hao-fu^{2,3}, ZHAO You-xing², ZUO Wen-jian^{2,3}, LI Xiao-na^{2,3}, MEI Wen-li^{2,3*}

(1. College of Agriculture, Hainan University, Haikou 570228, China; 2. Key Laboratory of Tropical Crop Biotechnology, Ministry of Agriculture, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China; 3. Hainan Key Laboratory for Research and Development of Natural Product from Li Folk Medicine, Haikou 571101, China)

Abstract: Six compounds were isolated from the EtOH extract of *Manihot esculenta* (cassava) stems. On the basis of spectral data, they were identified as furan (1), ceplignan (2), indole-3-carboxylic acid (3), 3,9,13-megastigmanetriol (4), amentoflavone (5) and yucalexin P-21 (6). Compounds 1–5 were obtained from cassava for the first time. Antibacterial activity was assayed by paper disk diffusion method, and compounds 1, 3, 4, and 6 showed inhibitory activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and *S. aureus*.

Key words: *Manihot esculenta*; Stem; Chemical constituents; Antibacterial activity

木薯 (*Manihot esculenta* Crantz) 为大戟科 (Euphorbiaceae) 木薯属植物, 直立灌木, 为世界三大薯类作物之一, 有地下粮仓、淀粉之王和特用作物之誉称。木薯在全世界热带地区广泛栽培, 我国海南、广东、广西、贵州、云南、福建及台湾等省区有栽培^[1]。木薯具有解毒消肿的作用, 常用于治疗疮癣^[2]。在亚马逊丛林地区生活的印第安人把木薯叶作为一种草药使用^[3]。前人对其化学成分的研究主要集中在根部, 发现了氰苷、黄酮和二萜等化

合物^[4]。本文对木薯茎的化学成分进行了研究, 为更好地开发利用木薯资源提供科学参考。

1 材料和方法

1.1 材料

木薯(*Manihot esculenta* Crantz)茎于 2008 年 11 月采自海南省文昌市, 经中国热带农业科学院热带生物技术研究所代正福研究员鉴定, 凭证标本 (BL20081106) 存放于中国热带农业科学院热带生

收稿日期: 2011-07-06 接受日期: 2011-09-06

基金项目: 国家 973 计划项目(2010CB126606); 中央级科研院所基本科研业务费专项基金(ITBBZD2007-4-1)资助

作者简介: 李姗姗(1986.11 ~), 女, 硕士研究生, 研究方向为生物化学与分子生物学(天然产物的应用与开发)。E-mail: shanshanli.hainan@gmail.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: meiwenli@yahoo.com.cn

物技术研究所。

耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) ATCC9551、金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*) ATCC51650 由海南省药品检验所提供。

1.2 仪器和试剂

北京泰克 X-5 型显微熔点仪(温度未校正);API QSTAR Pulsar 质谱仪;Brucker AV-400 型超导核磁仪(TMS 为内标);Rudolph Autopol III 旋光仪;CO₂ 培养箱(Sheldon Manufacturing Inc.);超净工作台(上海博讯实业有限公司医疗设备厂);柱层析硅胶(200~300 目)和薄层层析硅胶(青岛海洋化工厂), Sephadex LH-20 (Merck 公司), 四甲基偶氮唑盐 (MTT), 硫酸卡那霉素(上海生工有限公司)。

1.3 提取和分离

木薯茎晒干后加工成粗粉(75.0 kg),用 95% 乙醇浸提 3 次,减压浓缩至无乙醇味后得浸膏,将浸膏分散于水中成为悬浊液,依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取。乙酸乙酯部分(66.0 g)经减压硅胶柱层析,以三氯甲烷-甲醇(100:1~0:1)梯度洗脱,得到 8 个流分(Fr.1~Fr.8)。Fr.7 (10.8 g)经硅胶柱层析,以三氯甲烷-甲醇(15:1)洗脱,得到 5 个流分,Fr.7.3 (2.2 g)依次经 Sephadex LH-20 柱层析(三氯甲烷-甲醇 1:1 洗脱)和反复硅胶柱层析(石油醚-乙酸乙酯 1:1 洗脱),得到化合物 **1** (9.7 mg) 和 **6** (3.8 mg);Fr.6 (4.9 g)经硅胶柱层析,以石油醚-乙酸乙酯(8:1~0:1)梯度洗脱,得到 10 个流分,Fr.6.8 (475.7 mg)依次经 Sephadex LH-20 柱层析(95% 乙醇洗脱)和反复硅胶柱层析(石油醚-乙酸乙酯 7:3 洗脱),得到化合物 **2** (4.7 mg)。Fr.8 (1.8 g)经硅胶柱层析,以三氯甲烷-甲醇 20:1 洗脱,得到 6 个流分,Fr.8.3 (580.0 mg)依次经 Sephadex LH-20 柱层析(三氯甲烷-甲醇 1:1 洗脱)和反相柱层析(甲醇-水 4:6 洗脱),得到化合物 **3** (3.7 mg) 和 **5** (16.0 mg)。Fr.8.4 (978.0 mg)依次经 Sephadex LH-20 柱层析(三氯甲烷-甲醇 1:1 洗脱)和反复硅胶柱层析(三氯甲烷-甲醇 20:1 洗脱),得到化合物 **4** (3.4 mg)。

1.4 抗菌活性测试

采用滤纸片琼脂扩散法^[5]。将 *S. aureus* 和 MRSA 分别制成一定浓度的菌悬液($10^5 \sim 10^7$ cfu mL⁻¹),用棉签将其均匀涂布于供试无菌

NA 培养基平板,制成含菌平板,选用直径为 6 mm 的灭菌滤纸片,将化合物配成浓度为 20 mg mL⁻¹ 的样品溶液,吸取 25 μ L 于滤纸片上,待溶剂挥干后放置于含菌平板上,每处理重复 3 次,以硫酸卡那霉素为阳性对照,37℃ 恒温培养。12 h 后观察结果,测量并记录抑菌圈直径。

1.5 结构鉴定

呋喃(furan, 1) 无色油状;分子式 C₄H₄O; ESIMS m/z : 69 [M + H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 7.40 (2H, d, $J=7.6$ Hz, H-2, H-5), 5.62 (2H, d, $J=7.6$ Hz, H-3, H-4); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD): δ 143.5 (C-2,5), 107.8 (C-3,4)。上述波谱数据与 SDBS 数据报道一致,故鉴定为呋喃。

肥牛木素(ceplignan, 2) 黄色粉末;分子式 C₁₈H₁₈O₇; mp 98℃~100℃, [α]_D³³ +45° (c 0.2, MeOH); ESIMS m/z : 347 [M + H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 7.63 (1H, br s, H-4), 7.56 (1H, br s, H-6), 6.94 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H-2'), 6.83 (1H, dd, $J=1.8, 8.1$ Hz, H-6'), 6.78 (1H, d, $J=8.1$ Hz, H-5'), 5.62 (1H, d, $J=6.4$ Hz, H-2), 3.90 (3H, s, 7-OMe), 3.84 (2H, m, H-9), 3.82 (3H, s, 3'-OMe), 3.56 (1H, m, H-3); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD): δ 90.2 (C-2), 54.6 (C-3), 130.5 (C-3a), 120.9 (C-4), 125.2 (C-5), 115.6 (C-6), 145.3 (C-7), 153.9 (C-7a), 169.8 (C-8), 64.6 (C-9), 134.0 (C-1'), 110.7 (C-2'), 149.2 (C-3'), 147.9 (C-4'), 116.3 (C-5'), 119.9 (C-6'), 56.8 (7-OMe), 56.5 (3'-OMe)。上述波谱数据与文献[6]报道一致,故鉴定为肥牛木素。

3-吲哚甲酸(indole-3-carboxylic acid, 3)

浅黄色晶体(甲醇);分子式 C₉H₇NO₂; mp 226℃~228℃, ESIMS m/z : 162 [M + H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 8.05 (1H, d, $J=7.1$ Hz, H-4), 7.93 (1H, s, H-2), 7.42 (1H, d, $J=7.1$ Hz, H-7), 7.16 (2H, m, H-5, H-6); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD): δ 169.4 (COOH), 138.2 (C-8), 133.4 (C-2), 127.6 (C-9), 123.6 (C-5), 122.4 (C-6), 122.0 (C-4), 112.9 (C-7), 108.9 (C-3)。上述波谱数据与文献[7]报道一致,故鉴定为 3-吲哚甲酸。

3,9,13-megastigmanetriol (4) 无色油状;分子式 C₁₃H₂₆O₃; [α]_D²⁰ -6.8° (c 0.1, py); ESIMS m/z : 231 [M + H]⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ

0.80 (1H, m, H-6), 0.88 (3H, s, H-11), 1.01 (3H, s, H-12), 0.91 (1H, m, H-4ax), 1.08 (1H, m, H-2ax), 1.18 (3H, d, $J=6.3$ Hz, H-10), 1.44 (1H, m, H-5), 1.53 (4H, m, H-7, H-8), 1.56 (1H, m, H-2eq), 2.15 (1H, m, H-4eq), 3.44 (1H, dd, $J=10.5, 7.0$ Hz, H-13a), 3.71 (1H, m, H-3), 3.75 (1H, dd, $J=10.5, 2.7$ Hz, H-13b); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 36.5 (C-1), 51.5 (C-2), 67.3 (C-3), 40.5 (C-4), 42.5 (C-5), 48.3 (C-6), 25.8 (C-7), 41.7 (C-8), 68.7 (C-9), 23.5 (C-10), 21.3 (C-11), 31.2 (C-12), 65.8 (C-13)。上述波谱数据与文献[8, 9]报道一致,故鉴定为 3,9,13-megastigmanetriol。

穗花杉双黄酮(amentoflavone, 5) 浅黄色粉末; 分子式 $\text{C}_{30}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$; ESIMS m/z : 538 $[\text{M} + \text{H}]^+$; ^1H NMR (CD_3OD , 400 MHz): δ 7.90 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2'), 7.82 (1H, dd, $J=8.2, 2.0$ Hz, H-6'), 7.46 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-2''', 6'''), 7.06 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-5'), 6.69 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-3''', 5'''), 6.37 (1H, s, H-3), 6.33 (1H, s, H-3''), 6.55 (H, s, H-6''), 6.54 (H, s, H-8), 6.15 (1H, s, H-6); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ 184.2 (C-4''), 183.8 (C-4), 166.2 (C-2), 166.0 (C-2''), 165.9 (C-7), 163.6 (C-7''), 163.2 (C-4'''), 162.5 (C-5), 162.5 (C-5''), 161.6 (C-4'), 159.4 (C-9), 156.5 (C-9''), 132.8 (C-6'), 129.3 (C-2''', 6'''), 128.9 (C-2'), 123.2 (C-3'),

123.2 (C-1'), 121.4 (C-1'''), 117.5 (C-5'), 116.8 (C-3''', 5'''), 105.4 (C-10), 105.3 (C-10''), 105.4 (C-8''), 104.1 (C-3), 103.4 (C-3''), 100.2 (C-6''), 100.1 (C-6), 95.2 (C-8)。上述波谱数据与文献[10]报道一致,故鉴定为穗花杉双黄酮。

Yucalexin P-21 (6) 无色油状; 分子式 $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_2$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 28^\circ$ (c 0.1, CHCl_3); ESIMS m/z : 305 $[\text{M} + \text{H}]^+$; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ 2.43 (2H, m, H-1), 2.05 (2H, m, H-2), 3.06 (1H, m, H-3), 2.68 (2H, m, H-6), 5.75 (1H, m, H-16a), 5.03 (1H, s, H-14), 6.28 (1H, dd, $J=13.7, 7.1$ Hz, H-15), 5.38 (2H, m, H-16b), 1.09 (3H, s, 17- CH_3), 1.02 (3H, s, 18- CH_3), 0.83 (3H, s, 19- CH_3), 0.76 (3H, s, 20- CH_3); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz): δ 23.2 (C-1), 29.8 (C-2), 82.9 (C-3), 44.9 (C-4), 46.2 (C-5), 24.3 (C-6), 43.9 (C-7), 137.2 (C-8), 54.2 (C-9), 35.4 (C-10), 36.8 (C-11), 68.5 (C-12), 49.8 (C-13), 126.6 (C-14), 144.8 (C-15), 115.9 (C-16), 26.3 (C-17), 28.3 (C-18), 17.0 (C-19), 14.3 (C-20)。上述波谱数据与文献[11]报道一致,故鉴定为 yucalexin P-21。

1.6 抗菌活性

用滤纸片琼脂扩散法测定了 6 个化合物的抗菌活性,化合物 1、3、4 和 6 对 MRSA 和金黄色葡萄球菌均有抑制作用(表 1)。

表 1 化合物 1~6 的抗菌活性

Table 1 Antibacterial activities of compounds 1-6

	抑菌圈直径 Diameter of inhibition zone (mm)						硫酸卡那霉素
	1	2	3	4	5	6	Kanamycin sulfate
MRSA	8.0	—	9.4	11.8	—	8.1	23.9
<i>S. aureus</i>	7.0	—	9.0	7.6	—	7.2	19.6

2 结果和讨论

从木薯茎乙醇提取物的乙酸乙酯部分分离鉴定出 6 个化合物,包括 1 个含氧杂环化合物:呋喃(1),1 个木脂素:肥牛木素(2),1 个生物碱:3-吡啶甲酸(3),1 个 C_{13} -降异戊二烯衍生物:3,9,13-megastigmanetriol (4),1 个双黄酮:穗花杉双黄酮(5),1 个二萜:yucalexin P-21 (6),其中化合物 1~5 为首次从该植物中分离得到。抗菌活性结果显示,化合物 1、3、4 和 6 对 MRSA 和金黄色葡萄球菌均有抑制作用。

根据文献报道,化合物 5 具有多种生物功能,如细胞毒活性和抗肿瘤作用^[12]、抗病毒作用^[13]、抑菌抗炎作用^[14]、抗氧化和舒张血管^[15]、保护神经^[16]等作用。本研究结果可为木薯茎的开发利用提供科学依据。

参考文献

[1] Onwueme I C. Cassava in Asia and the Pacific [M]// Hillocks R J, Tresh J M, Bellotti A C. Cassava: Biology, Production and Utilization. Oxon, New York: CABI Publishing, 2002: 1-55.
[2] Editorial Committee of Chinese Materia Medica(国家中医药管

- 理局), State Administration of Traditional Chinese Medicine of China(《中华本草》编委会). Chinese Materia Medica Vol. 2 [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1999: 1–464.(in Chinese)
- [3] Kubo I, Masuoka N, Nihei K I, et al. Maniçoba: A quercetin-rich Amazonian dish [J]. J Food Comp Anal, 2006, 19 (6/7): 579–588.
- [4] Blagbrough I S, Bayoumi S A L, Rowanet M G, et al. Cassava: An appraisal of its phytochemistry and its biotechnological prospects [J]. Phytochemistry, 2010, 71(17/18): 1940–1951.
- [5] Xu S Y(徐叔云), Bian R L(卞如濂), Chen X(陈修). Methods of pharmacology experiment [M]. Beijing: People's Sanitation Press, 1982: 1–651.(in Chinese)
- [6] Mei W L(梅文莉), Dai H F(戴好富), Wu D G(吴大刚). A new norneolignan from *Cephalomappa sinensis* [J]. Chem J Chin Univ(高等学校化学学报), 2006, 27 (8): 1480 – 1481.(in Chinese)
- [7] Li D L(李冬利), Li X M(李晓明), Cui C M(崔传明), et al. Chemical constituents of *Hypocreales* sp.: An endophytic fungus derived from the red alga *Symphyocladia latiuscula* [J]. Mar Sci(海洋科学), 2008, 32(11): 51–55.(in Chinese)
- [8] Nakanishi T, Konishi M, Murata H, et al. Phytochemical studies on meliaceous plants: VII. The structures of two new ionone glucosides from *Melia toosendan* Sieb. et Zucc. and a novel type of selective biooxidation by a kind of protease [J]. Chem Pharm Bull, 1991, 39(10): 2529–2533.
- [9] Sueyoshi E, Liu H, Matsunami K, et al. Bridelionosides A–F: Megastigmane glucosides from *Bridelia glauca* f. *balansae* [J]. Phytochemistry, 2006, 67(22): 2483–2493.
- [10] Feng W S, Zhu B, Zheng X K, et al. Chemical constituents of *Selaginella stautoniana* [J]. Chin J Nat Med, 2011, 9 (2): 108–111.
- [11] Sakai T, Nakagawa Y. Diterpenic stress metabolites from cassava roots [J]. Phytochemistry, 1988, 27(12): 3769–3779.
- [12] Pan X L, Tan N H, Zeng G Z, et al. Amentoflavone and its derivatives as novel natural inhibitors of human Cathepsin B [J]. Bioorg Med Chem, 2005, 13(20): 5819–5825.
- [13] Lin Y M, Flavin M T, Schure R, et al. Antiviral activities of biflavonoids [J]. Planta Med, 1999, 65(2): 120–125.
- [14] Hyun J J, Woo S S, Yeo S H, et al. Antifungal effect of amentoflavone derived from *Selaginella tamariscina* [J]. Arch Pharm Res, 2006, 29(9): 746–751.
- [15] Yin M H, Kang D G, Choi D H, et al. Screening of vasorelaxant activity of some medicinal plants used in Oriental medicines [J]. J Ethnopharmacol, 2005, 99(1): 113–117.
- [16] Cardoso C R P, de Syllos C I M, Bernardi C C, et al. Mutagenic activity promoted by amentoflavone and methanolic extract of *Byrsonima crassa* Niedenzu [J]. Toxicology, 2006, 225(1): 55–63.