

米碎花茎枝的化学成分研究

刘新红^{1,2}, 黄日明¹, 李干龙³, 钟艳霞^{1,2}, 徐志防^{1*}, 邱声祥^{1*}

(1. 中国科学院华南植物园, 广州 510650; 2. 中国科学院大学, 北京 100049; 3. 赣南师范学院, 江西 赣州 341000)

摘要: 为探讨山茶科(Theaceae)柃木属植物米碎花(*Eurya chinensis* R. Brown)茎枝的化学成分, 从米碎花茎枝 95% 乙醇提取物中分离得到 8 个化合物。根据现代波谱技术和文献对照, 鉴定其结构分别为: 高根二醇 (1)、白桦酸 (2)、木栓酮 (3)、羽扇豆醇 (4)、 β -谷甾醇 (5)、豆甾醇 (6)、邻羟基苯甲醛 (7)、正二十九烷醇 (8)。所有化合物均为首次从该植物中分离得到。

关键词: 山茶科; 米碎花; 茎枝; 化学成分

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2013.06.012

Chemical Constituents from the Stems of *Eurya chinensis*

LIU Xin-hong^{1,2}, HUANG Ri-ming¹, LI Gan-long³, ZHONG Yan-xia^{1,2}, XU Zhi-fang^{1*}, QIU Sheng-xiang^{1*}

(1. South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Gannan Normal University, Ganzhou 341000, China)

Abstract: To study the chemical constituents of *Eurya chinensis* R. Brown, eight compounds were isolated from the 95% ethanol extract of its stems. They were identified by comparison of their spectroscopic data with those reported in the literature and elucidated as: erythrodiol (1), betulinic acid (2), friedelin (3), lupeol (4), β -sitosterol (5), stigmasterol (6), salicylic aldehyde (7), nonacosanol (8). All the compounds were obtained from *Eurya chinensis* for the first time.

Key words: Theaceae; *Eurya chinensis* R. Brown; Stem; Chemical constituent

米碎花(*Eurya chinensis* R. Brown), 又名岗茶、梅养东、虾辣眼, 为山茶科(Theaceae)柃木属的一种小灌木, 多生于海拔 800 m 以下的低山丘陵、山坡灌丛、路边或溪河沟谷灌丛中^[1-2], 广泛分布于江西南部、福建东南沿海及西南部、台湾、湖南南部、广东、广西南部等地。越南、缅甸、印度、斯里兰卡、印度尼西亚等国家也都有发现。

作为中草药植物, 米碎花具有很高的药用价值。《中华本草》、《全国中草药汇编》、《贵州草药》、《中药大辞典》等对其药用功效皆有记载。常章富等^[3]认为米碎花以茎叶入药, 味甘、淡、微涩、性凉, 具有清热解毒、利湿消肿、止血的功效; 主治感冒发

热, 湿热黄疸, 疮疡肿毒, 水火烫伤, 蛇虫咬伤, 外伤出血等。米碎花根亦可入药, 味微苦, 性凉; 具有清热解毒的功能, 主治疮疡肿毒。在岭南地区有使用米碎花作为“灰碱”制作年糕的传统, 且历史悠久。目前尚未见有关米碎花化学成分的研究报道, 本文首次对它的化学成分进行了研究, 为米碎花资源的开发利用提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

米碎花茎枝于 2012 年采自江西省赣州南康

收稿日期: 2013-03-19

接受日期: 2013-04-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(81373293; 31100260); 国家科技重大专项(2014ZX10005-002)资助

作者简介: 刘新红, 女, 硕士研究生, 研究方向为天然药物化学。E-mail: qinganglan@163.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mails: xuzf@scib.ac.cn; sxqiu@scbg.ac.cn

市,经中国科学院华南植物园邢福武研究员鉴定为山茶科柃木属植物米碎花(*Eurya chinensis* R. Brown),标本保存于中国科学院华南植物园天然产物化学生物学实验室。

1.2 仪器和试剂

MS用VG Autospec-3000型质谱仪测定;¹H NMR和¹³C NMR用Bruker AM-400核磁共振光谱仪测定,以四甲基硅烷(TMS)为内标;柱色谱硅胶(200~300目)和薄层色谱硅胶GF254均为青岛谱科分离材料有限公司生产;反相薄层层析板(Silica gel 60 RP-18)为默克公司生产;Sephadex LH-20为Pharmacia公司产品;中压制备色谱(Dr Flash II)为上海利穗化工科技有限公司出品;氘代试剂为青岛腾龙微波科技有限公司的产品;其他溶剂和化学药品均为国产分析纯。

1.3 提取和分离

米碎花茎枝(20 kg)粉碎后用95%乙醇浸泡提取3次,第1次4 d,其余两次各2 d,合并3次乙醇提取浓缩液。将稠浸膏1.8 kg用1.8 L 60%乙醇溶解使成悬浮状,依次用等体积的正己烷、乙酸乙酯各萃取3次。将正己烷萃取液减压浓缩后得浸膏150 g,乙酸乙酯萃取液减压浓缩得浸膏940 g,剩余为水部680 g。

乙酸乙酯萃取部分采用硅胶柱层析(100~200目),正己烷-丙酮(100:0~3:7)溶剂系统梯度洗脱,最后用甲醇冲洗,检测合并主点相同流份,得到Fr. E1~Fr. E8共8个流份。Fr. E1经硅胶柱层析,以正己烷-丙酮(50:1~5:1)洗脱,得到6个亚组分(Fr. E1-1~Fr. E1-6),Fr. E1-2经Sephadex LH-20柱层析(氯仿:甲醇,1:1)、硅胶柱色谱得到化合物**3**(18.1 mg);Fr. E1-3经硅胶柱层析(正己烷:丙酮,9:1),凝胶柱层析(氯仿:甲醇,1:1),重结晶得化合物**7**(2.3 mg);Fr. E1-4过凝胶柱层析(氯仿:甲醇,1:1),收集流份点板合并后分成3个组分,第1组分经重结晶得化合物**8**(6.0 mg),第2组分经硅胶柱层析(二氯甲烷:乙酸乙酯,90:1)得化合物**4**(16.8 mg);Fr. E1-7经凝胶柱层析(氯仿:甲醇,1:1)得化合物**1**(28.5 mg)。Fr. E3经硅胶柱层析,以正己烷-丙酮(9:1~3:7)洗脱,得到6个亚组分(Fr. E3-1~Fr. E3-6);Fr. E3-3出现大量结晶,经重结晶、抽滤、用甲醇、正己烷多次洗涤,得化合物**2**(18.2 g);

Fr. E3-4结晶除去化合物**2**后,滤液经硅胶柱层析(正己烷:乙酸乙酯:丙酮,9:1:1),凝胶柱层析(氯仿:甲醇,1:3)得化合物**5**(3.3 mg)。

正己烷部分采用硅胶柱层析(100~200目),正己烷-丙酮(80:0~1:1)溶剂系统梯度洗脱,检测合并主点相同流份,得到Fr. N1~Fr. N7共7个流份。Fr. N5析出大量结晶,抽滤,并用甲醇、乙醇、丙酮多次洗涤,得化合物**6**(2.4 g)。

1.4 结构鉴定

高根二醇(Erythrodiol, 1) 无色针状结晶;分子式C₃₀H₅₀O₂;分子量442;ESI-MS *m/z*: 465 [M+Na]⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 0.79 (3H, s, H-25), 0.87 (3H, s, H-26), 0.89 (3H, s, H-29), 0.93 (3H, s, H-30), 0.94 (3H, s, H-24), 0.99 (3H, s, H-23), 1.16 (3H, s, H-27), 3.21 (1H, m, H-3), 3.22 (1H, d, *J* = 11.0 Hz, H-28), 3.56 (1H, d, *J* = 11.0 Hz, H-28), 5.19 (1H, t, *J* = 3.6 Hz, H-12)。该化合物¹H NMR和¹³C NMR数据与文献[4]报道一致,其¹³C NMR数据见表1。

白桦酸(Betulinic acid, 2) 白色针状结晶;分子式C₃₀H₄₈O₃;分子量456;ESI-MS *m/z*: 455 [M-H]⁻; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 0.74 (3H, s, H-30), 0.85 (3H, s, H-27), 0.94 (3H, s, H-26), 0.96 (3H, s, H-25), 1.00 (3H, s, H-24), 1.68 (3H, s, H-23), 3.12 (1H, dd, *J* = 10.4, 4.8 Hz, H-3), 4.58 (1H, s, H-29), 4.70 (1H, s, H-29)。该化合物¹H NMR和¹³C NMR数据与文献[4~5]报道基本一致,其¹³C NMR数据见表1。

木栓酮(Friedelin, 3) 白色粉末;分子式C₃₀H₅₀O;分子量426;ESI-MS *m/z*: 425 [M-H]⁻; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 0.75 (3H, s, H-24), 0.90 (3H, d, H-25), 0.91 (3H, s, H-30), 0.98 (3H, s, H-23), 1.02 (3H, s, H-26), 1.03 (3H, s, H-29), 1.08 (3H, s, H-27), 1.21 (3H, s, H-28), 2.38 (1H, d, *J* = 4.0 Hz, H-4), 2.40 (1H, dd, *J* = 2.0, 5.1 Hz, H-2), 2.43 (1H, dd, *J* = 2.0, 5.1 Hz, H-2);DEPT-135显示有11个仲碳,7个季碳。该化合物¹H NMR和¹³C NMR数据与文献[4, 6]报道一致,其¹³C NMR数据见表1。

羽扇豆醇(Lupeol, 4) 白色粉末;分子式C₃₀H₅₀O;分子量426;ESI-MS *m/z*: 427 [M+H]⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 0.79 (3H, s, H-24), 0.81 (3H, s, H-28), 0.86 (3H, s, H-25), 0.97 (3H, s, H-27),

0.99 (3H, s, H-23), 1.06 (3H, s, H-26), 1.70 (3H, s, H-30), 2.40 (1H, m, H-19), 3.21 (1H, dd, $J = 4.0$, 12.0 Hz, H-3), 4.59 (1H, d, $J = 0.8$ Hz, H-29), 4.71 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-29); DEPT-135 显示有 11 个仲碳, 6 个季碳。该化合物 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据与文献 [4~5] 报道一致, 其 ^{13}C NMR 数据见表 1。

β -谷甾醇 (β -Sitosterol, 5) 白色针状结晶, 分子式 $\text{C}_{29}\text{H}_{52}\text{O}$; 分子量 416; 薄层层析时, 与 β -谷甾醇标准品共同点样, 以 3 种不同展开剂展开, 均只出现一个斑点; 分开单独点样的 Rf 值相同、显色行为一致, 故鉴定化合物为 β -谷甾醇 (β -sitosterol)。

豆甾醇 (Stigmasterol, 6) 白色片状结

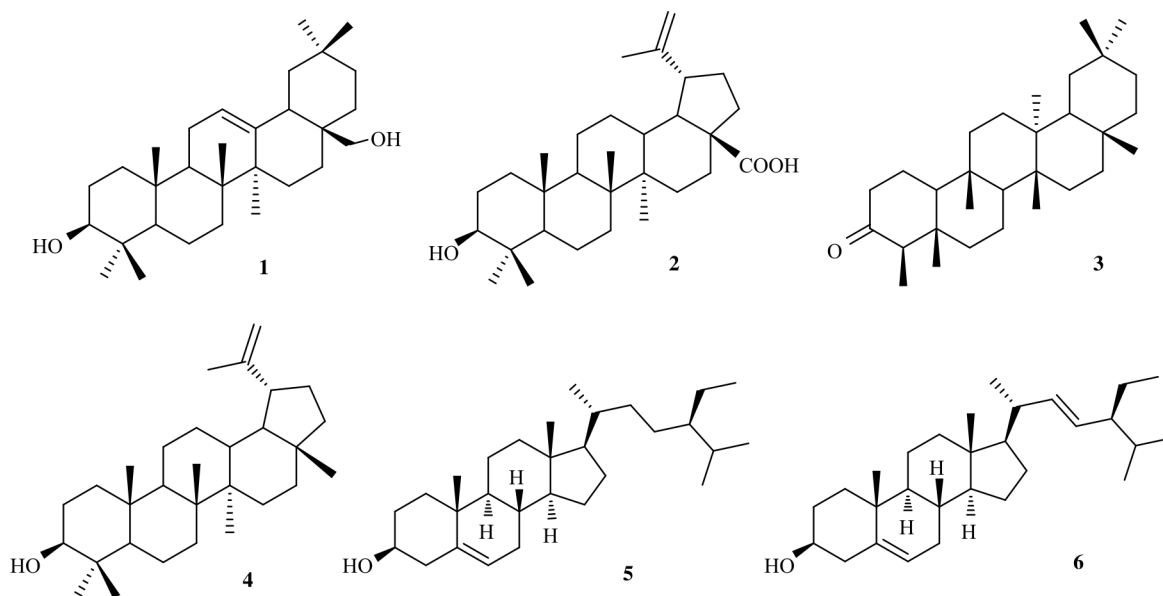


图 1 化合物 1~6 的结构式

Fig. 1 Structures of compounds 1–6

表 1 化合物 1、2、3、4、6 的 ^{13}C NMR 数据

Table 1 ^{13}C NMR data of compounds 1, 2, 3, 4, and 6

位置 Position	化合物 Compound					位置 Position	化合物 Compound				
	1	2	3	4	6		1	2	3	4	6
1	38.6	38.3	22.3	38.7	37.2	16	22.0	31.7	36.0	35.6	29.1
2	27.2	27.2	41.5	27.4	31.6	17	36.9	55.4	30.5	43.0	56.0
3	79.0	76.8	213.3	79.0	71.8	18	42.3	46.6	42.8	48.3	12.2
4	38.8	38.5	58.2	38.9	42.2	19	46.4	48.5	35.3	48.0	19.4
5	55.1	54.9	42.1	55.3	140.7	20	30.9	150.3	28.1	151.0	40.5
6	18.3	18.0	41.3	18.3	121.7	21	34.1	29.2	32.7	29.8	21.2
7	32.5	34.0	18.2	34.3	31.6	22	31.0	36.7	39.2	40.0	138.2
8	39.7	40.2	53.1	40.8	31.9	23	28.1	28.1	6.8	28.0	129.2
9	47.6	49.9	37.4	50.4	50.1	24	15.5	15.7	14.6	15.4	51.2
10	36.9	37.5	59.4	37.2	36.5	25	15.6	15.8	17.9	16.1	31.9
11	23.6	20.5	35.6	20.9	21.1	26	16.7	16.0	20.2	16.0	19.0
12	122.4	25.1	30.5	25.1	39.7	27	25.9	14.4	18.6	14.5	21.2
13	144.2	38.3	39.7	38.0	42.3	28	69.7	177.2	32.1	18.0	24.5
14	41.7	42.0	38.3	42.8	56.7	29	33.2	109.6	35.0	109.3	11.8
15	25.5	30.1	32.4	27.4	24.3	30	23.5	19.0	31.8	19.3	

晶;分子式 $C_{29}H_{48}O$;分子量 412; 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ 0.70 (3H, s, H-18), 0.80 (3H, s, H-29), 0.83 (6H, s, H-26, H-27), 0.84 (3H, s, H-21), 1.01 (3H, s, H-19), 3.53 (1H, m, H-3), 5.01 (1H, dd, $J = 15.2$, 8.4 Hz, H-23), 5.15 (1H, dd, $J = 15.2$, 8.4 Hz, H-22), 5.35 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-6)。该化合物 1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据与文献[7~8]报道一致,其 ^{13}C NMR 数据见表 1。

邻羟基苯甲醛 (Salicylic aldehyde, 7) 黄色针状结晶;分子式 $C_7H_6O_2$;分子量 122;ESI-MS m/z : 145 $[M + Na]^+$; 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ 7.47 (1H, m, H-5), 7.71 (1H, m, H-4), 7.84 (1H, dd, $J = 6.4$, 3.2 Hz, H-3), 7.95 (1H, m, H-6), 8.58 (1H, s, H-CHO), 9.64 (1H, dd, $J = 5.6$, 3.2 Hz, 2-OH)。上述数据与文献[9]报道一致。

正二十九烷醇 (Nonacosanol, 8) 白色粉末;分子式 $C_{29}H_{60}O$;分子量 424;ESI-MS m/z : 423 $[M - H]^-$; 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ 0.90 (3H, t, $J = 6.8$ Hz), 1.28 (50H, br.s), 1.55~1.63 (4H, br. m), 3.66 (2H, t, $J = 6.8$ Hz)。上述波谱数据与文献[10]报道一致。

2 结果和讨论

米碎花茎枝 95% 乙醇提取物经硅胶、凝胶柱层析、MPLC、薄层制备色谱等分离得到了 8 个化合物,经波谱数据分析和文献对照,分别鉴定其结构为高根二醇 (1)、白桦酸 (2)、木栓酮 (3)、羽扇豆醇 (4)、 β -谷甾醇 (5)、豆甾醇 (6)、邻羟基苯甲醛 (7)、正二十九烷醇 (8)。这 8 个化合物均为首次从该植物中分离获得,其中 1、3、4、6、7 和 8 为首次从该属植物中分离得到。

研究表明,含五环三萜母核的萜类化合物具有广泛的药理活性,尤其在抗肿瘤、抗炎、抗菌、抗 HIV 和护肝等方面显现出令人关注的药理特性,已大量用于动物试验和临床预试研究,并且在治疗肿瘤、肝炎和生产化妆品等方面开发了许多药用产品^[11]。本研究鉴定的化合物中 1~4 为五环三萜类化合物,其中高根二醇 (1) 具有较强细胞毒活性,能够抑制结肠腺癌 HT-29 细胞增殖并促使其凋亡^[12-13];白桦酸 (2) 具有抑制多种肿瘤细胞增殖的活性,如黑色素瘤细胞、神经外胚层肿瘤细胞、口腔上皮癌细胞、恶性脑瘤细胞、白血病细胞等^[14];另

外白桦酸及其衍生物能通过抑制炎症过程中具有重要作用的磷脂酶 A2 (PLA2)活性,从而抑制炎症扩散^[15];木栓酮 (3) 能够抑制人慢性髓系白血病细胞株 K562 的增殖,并使 K562 细胞周期阻滞在 G2 期^[16];羽扇豆醇 (4) 具有明显的抗癌活性,经体外抗癌活性试验,对 KB 口腔癌细胞的增殖具有抑制作用^[17]。

米碎花在我国分布广泛,资源丰富,具有多种药用功效。依据文献报道,我们认为本次研究中分离得到的三萜化合物应与米碎花消肿止血、清热解毒等药用功效有一定相关性。本研究表明,米碎花中含有丰富的三萜类化合物,具有潜在的药用价值和商业利用价值,对于推进该植物深入的化学成分解析和活性评价具有积极意义。

参考文献

- [1] Yu B, Zeng G F. Flora Reipublicae Popularis Sinicae, Tomus 50(1) [M]. Beijing: Science Press, 1998: 132-133.
于拔,曾桂芳. 中国植物志,第50卷第1分册 [M]. 北京: 科学出版社, 1998: 132-133.
- [2] Chen F H, Wu D L. Flora of Guangdong, Tomus 2 [M]. Guangzhou: Guangdong Science and Technology Press, 1998: 1-175.
陈封怀,吴德邻. 广东植物志,第2卷 [M]. 广州: 广东科技出版社, 1998: 1-175.
- [3] Chang Z F, Chen J L, Fan D M, et al. Study on the effect of medical plants of Theaceae [J]. J Beijing Univ TCM, 1996, 19(1): 28-30.
常章富,陈京荔,范冬梅,等. 山茶科药用植物性效研究 [J]. 北京中医药大学学报, 1996, 19(1): 28-30.
- [4] Mahato S B, Kundu A P. ^{13}C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids: A compilation and some salient features [J]. Phytochemistry, 1994, 37(6): 1517-1575.
- [5] Gao S, Fu G M, Fan L H, et al. Studies on the chemical constituents from roots of *Lysidice rhodostegia* Hance [J]. Chin J Nat Med, 2005, 3(3): 144-147.
郜嵩,浮光苗,范丽华,等. 单刀根化学成分的研究 [J]. 中国天然药物, 2005, 3(3): 144-147.
- [6] Liu Y K, Wu D G. Studies on friedelane triterpenes of *Celastrus monospermus* Roxb. [J]. Chin Trad Herb Drugs, 1993, 24(8): 395-397,410.
刘钰葵,吴大刚. 独籽藤中木栓烷三萜化学成分 [J]. 中草药, 1993, 24(8): 395-397,410.
- [7] Chen H L, Su X L, Deng Y, et al. Chemical constituents from the bioactive extract of *Chuanminshen violaceum* [J]. Chin Trad Pat Med, 2008, 30(9): 1334-1336.

- 陈胡兰, 苏筱琳, 邓赟, 等. 川明参药效活性部位化学成分研究 [J]. 中成药, 2008, 30(9): 1334–1336.
- [8] Feng C G, Li Q. Studies on chemical constituents from herb of *Dracocephalum moldavica* [J]. Chin Trad Pat Med, 2006, 28(1): 94–98.
冯长根, 李琼. 香青兰化学成分研究 [J]. 中成药, 2006, 28(1): 94–98.
- [9] Shi D Y, Han L J, Sun J, et al. Chemical constituents from marine alga *Chaetomorpha basiretorsa* [J]. Chin J Chin Mate Med, 2005, 30(5): 347–350.
史大永, 韩丽君, 孙杰, 等. 海藻基根硬毛藻的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(5): 347–350.
- [10] Gao Y, Han L, Sun L, et al. Chemical constituents from *Hypericum ascyron* [J]. Chin J Nat Med, 2007, 5(6): 413–416.
高颖, 韩力, 孙亮, 等. 长柱金丝桃的化学成分 [J]. 中国天然药物, 2007, 5(6): 413–416.
- [11] Li H Y, Liu G M, Liu F, et al. Research of ursolic acid and similar pentacyclic triterpenoid [J]. J Hunan Univ Techn, 2009, 23(5): 18–21.
李宏杨, 刘国民, 刘飞, 等. 熊果酸及五环三萜同类物的研究进展 [J]. 湖南工业大学学报, 2009, 23(5): 18–21.
- [12] Juan M E, Wenzel U, Daniel H, et al. Erythrodiol, a natural triterpenoid from olives, has antiproliferative and apoptotic activity in HT-29 human adenocarcinoma cells [J]. Mol Nutr Food Res, 2008, 52(5): 595–599.
- [13] Yang G E, Chen B N, Zhang Z M, et al. Cytotoxic activities of extracts and compounds from *Viscum coloratum* and its transformation products by *Rhodobacter sphaeroides* [J]. Appl Biochem Biotechn, 2009, 152(3): 353–365.
- [14] Lan P, Zhang D M, Chen W M, et al. Advances in the study of structural modifications and biological activities of betulinic acids [J]. Acta Pharm Sin, 2010, 45(11): 1339–1345.
蓝平, 张冬梅, 陈卫民, 等. 白桦酸类化合物的结构修饰与生物活性研究进展 [J]. 药学学报, 2010, 45(11): 1339–1345.
- [15] Bernard P, Scior T, Didier B, et al. Ethnopharmacology and bioinformatic combination for leads discovery: Application to phospholipase A2 inhibitors [J]. Phytochemistry, 2001, 58(6): 865–874.
- [16] Zhang R, Liu Z G. Preliminary study on the mechanisms of K562 cell growth proliferation and cell cycle reduced by friedelin [J]. Shanxi Med J, 2012, 41(11): 1093–1095.
张嵘, 刘卓刚. 木栓酮调控K562细胞增殖和细胞周期机制的初步研究 [J]. 山西医药杂志, 2012, 41(11): 1093–1095.
- [17] Keawsa-ard S, Natakankitkul S, Liawruangrath S, et al. Anticancer and antibacterial activities of the isolated compounds from *Solanum spirale* Roxb. leaves [J]. Chiang Mai J Sci, 2012, 39(3): 445–454.