

鹊肾树树皮的化学成分和抗炎作用研究

陈自占¹, 李俊^{1,2*}, 吴强², 杨瑞云², 黎露清², 李珊^{1,3}, 黄纪国^{1,3}

(1. 珍稀濒危动植物生态与环境保护教育部重点实验室, 广西师范大学 环境与资源学院,

广西 桂林 541004; 2. 药用资源化学与药物分子工程教育部重点实验室, 广西 桂林

541004; 3. 广西环境工程与保护评价重点实验室, 广西 桂林 541004)

摘要: 通过药理实验确定了鹊肾树树皮的乙酸乙酯萃取物为抗炎活性部位, 并利用色谱技术从该部位中分离得到了 7 个化合物, 通过 UV、IR、NMR、MS 等现代谱学方法鉴定化合物的结构分别为: 丁二酸(1)、6-乙基-5-羟基-2,7-二甲氧基-1,4-萘醌(2)、3 β ,20-二羟基-5 β -孕甾烷(3)、5-羟基麦芽酚(4)、双[5-甲酰基糠基]醚(5)、5-羟甲基糠酸(6)、 β -胡萝卜素(7)。除 β -胡萝卜素, 其余 6 个化合物均为首次从该植物中发现。

关键词: 鹊肾树树皮; 抗炎; 化学成分; 分离鉴定

中图分类号: R914 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2011)06-0849-04

Chemical constituents and antiphlogistic activity of the bark of *Streblus asper*

CHEN Zi-Zhan¹, LI Jun^{1,2*}, Wu Qiang², Yang Rui-Yun²,

Li Lu-Qing², Li Shan^{1,3}, Huang Ji-Guo^{1,3}

(1. Key Laboratory of Ecology of Rare and Endangered Species and Environmental Protection (Ministry of Education of China), School of Environment and Resource of Guangxi Normal University, Guilin 541004, China; 2. Key Laboratory for the Chemistry and Molecular Engineering of Medicinal Resources (Ministry of Education of China), Guilin 541004, China;

3. The Guangxi Key Laboratory of Environment Engineering Protection and Assessment, Guilin 541004, China)

Abstract: The antiphlogistic part of the barks of *Streblus asper* was investigated through pharmacological experiments. Through the use of chromatographic technology, seven compounds were isolated from the antiphlogistic part of, and their structures were identified by spectroscopic analyses, especially NMR. They are: succinic acid(1), 6-ethyl-5-hydroxy-2,7-dimethoxy-1,4-naphthoquinone(2), 3 β ,20-dihydroxy-5 β -pregnanes(3), 5-oxymaltol(4), bis-(5-formyl-furfuryl) ether(5), 5-hydroxymethyl furoic acid(6) and β -daucosterol(7). All compounds were isolated from this plant for the first time except for β -daucosterol.

Key words: bark of *Streblus asper*; antiphlogistic; chemical constituents; isolation identification

鹊肾树(*Streblus asper*)为桑科(Moraceae)鹊肾树属(*Streblus*)植物,在我国分布于广西、云南、广东、海南等省区(中国科学院中国植物志编委会,1998),在国外主要分布于斯里兰卡、印度、马来西亚

等国。目前,国外对鹊肾树化学成分及药理的研究结果表明,该植物具有抗菌(Taweekaisupapong等,2000)、杀虫(Hashim等,2003)、抗癌(Sultana等,2001)等功效,可以治疗齿龈炎(Taweekaisupa-

收稿日期: 2011-01-14 修回日期: 2011-07-22

基金项目: 国家自然科学基金(20862002); 广西应用基础研究专项(桂科基 0832005); 药用资源化学与药物分子工程教育部重点实验室(桂科基 07109001-01); 广西环境工程与保护评价重点实验室[Supported by the National Natural Science Foundation of China(20862002); Key Basic Research of Apply of Guangxi(0832005); Key Laboratory for the Chemistry and Molecular Engineering of Medicinal Resources of Chinese Ministry of Education (07109001-01); Key Laboratory of Environment Engineering Protection and Assessment of Guangxi(09108003)]

作者简介: 陈自占(1984-),男,山东鄄城人,硕士研究生,从事天然产物的化学成分及生物活性研究。

通讯作者: 李俊,男,博士,教授,博士生导师,从事天然产物的化学成分及生物活性的教学和研究工作, (E-mail)lijun9593@163.com。

pong 等, 2006)、溃疡、发烧、痢疾(Gaitone 等, 1964)等疾病。为更全面系统了解鹊肾树各部位的抗炎化学成分, 更好地开发利用这一药用资源, 我们对鹊肾树树皮 75%乙醇提取物的化学成分进行研究, 从活性部位乙酸乙酯萃取物中分离得到 7 个化合物, 并通过 UV、IR、NMR、MS 等现代谱学方法鉴定化合物的结构。7 个化合物经鉴定为丁二酸(1)、6-乙基-5-羟基-2,7-二甲氧基-1,4-萘醌(2)、 β , 20-二羟基-5 β -孕甾烷(3)、5-羟基麦芽酚(4)、双[5-甲酰基糠基]醚(5)、5-羟甲基糠酸(6)、 β -胡萝卜素(7)。

1 仪器与材料

DRX-500M 核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司); VG Auto Spec 3000 型有机磁质谱仪(电离方式: ESI; 扫描范围: 50-1 300 u; 扫描速度: 5 000 u/s)(德国 Bruker 公司); 傅立叶变换红外分析仪(美国 Nicolet 公司); Alltech 426 型高效液相色谱仪(美国奥泰科技有限公司); U-1901 双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司); X-4 型显微熔点测定仪(温度计未校正)(北京泰克仪器有限公司); BS210S、BL610 电子天平(北京 Sartorius Balances, Ltd); 高效硅胶薄层板、柱层析硅胶(青岛海洋化工分厂); 葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20(上海安玛西亚生物技术有限公司); 试剂: 乙醇、甲醇、石油醚、正丁醇、乙酸乙酯、三氯甲烷, 以上试剂均为分析纯(AR, 广州化学试剂二厂)。

昆明种雄性小白鼠(20 $\pm$ 20)g(本校实验动物中心提供); 灌胃器、JN-A 型精密扭力天平(海第二天平仪器厂)、打孔器($d=6$ mm)、定量移液管、剪刀; 二甲苯(AR)、阿司匹林(上海医药(集团)有限公司信谊制药总厂)、CMC-Na(1%)、鹊肾树树皮。鹊肾树树皮于 2007 年 8 月采自广西桂林, 由中国科学院广西植物研究所黄定中鉴定为桑科鹊肾树属植物鹊肾树(*Streblus asper*)的树皮, 标本保存在广西师范大学环境与资源学院天然产物研究与开发实验室。

2 抗炎活性部位筛选

供试液的制备: 用 75%乙醇加热回流提取鹊肾树树皮粗粉 3 次, 每次 3 h, 回收乙醇后加适量水, 分别用氯仿、乙酸乙酯、正丁醇萃取, 回收溶剂后, 得各层浸膏, 按人日服剂量 2.14 g/kg, 折算成 20 g 小鼠

日服剂量约为 20 g/kg, 通过计算将总浸膏及各层浸膏分别配成相当于 1 g 生药/mL 浓度溶液, 乙酸乙酯层浸膏再多配成一份相当于 2 g 生药/mL 浓度的溶液, 放置冰箱备用。阳性对照药品溶液的制备: 精密称取阿司匹林 0.54 g, 研磨, 加入 1% CMC-Na 45 mL, 继续研磨, 均匀后转至瓶中, 得 0.012 g/mL 的阿司匹林混悬液 45 mL, 放置冰箱备用。空白溶液: CMC-Na(1%)。

采用小鼠耳肿胀法, 取雄性小鼠 90 只, 雄性, 随机分成 6 组, 每组 15 只, 即生理盐水阴性对照组、阿司匹林阳性对照组和鹊肾树皮各部分萃取物组。每天用相应的药物灌胃, 连续 3 d, 末次给药后 1 h, 将二甲苯 50 μ L 滴于小鼠右耳两面, 左耳不涂作为对照, 1 h 后, 将小鼠脱颈椎处死, 用直径 6 mm 打孔器分别在左、右耳同一部位打下圆耳片, 精密称重, 比较各组间差异(表 1)。表 1 显示, 在鹊肾树皮各部分萃取物中, 只有乙酸乙酯萃取物能较显著减轻二甲苯致炎小鼠的耳郭肿胀度, 表明鹊肾树皮乙酸乙酯萃取物具有较好的抗炎消肿作用。

表 1 鹊肾树皮各部分萃取物对二甲苯所致小鼠疼痛的影响

Table 1 Various extracts of *Streblus asper* bark in mice induced by xylene on the impact of pain

组别 Group	剂量 Dosage (g/kg)	左右耳重量差值 均值及标准差 Mean difference of weight between left and right ears and the standard deviation (g, n=15, $\pm$ s)
生理盐水	—	680 $\pm$ 124
阿司匹林	0.1	279 $\pm$ 141
鹊肾树皮氯仿萃取物	16	557 $\pm$ 138
鹊肾树皮乙酸乙酯萃取物	16	420 $\pm$ 118
鹊肾树皮正丁醇萃取物	16	604 $\pm$ 134
鹊肾树皮水萃取物	16	648 $\pm$ 120

3 提取与分离

取鹊肾树树皮 10 kg, 干燥, 粉碎, 用 75%乙醇回流提取 3 次, 每次 3 h, 减压浓缩提取液, 得褐色浸膏 957 g。将褐色浸膏悬浮于水中, 依次用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇萃取, 回收溶剂后, 得到石油醚部分 110.7 g、氯仿部分 155.5 g、乙酸乙酯部分 120.2 g、正丁醇部分 260.6 g。

将乙酸乙酯萃取物(120.2 g)进行硅胶(粒径 0.150~0.075 mm)柱层析, 首先用石油醚: 乙酸乙

酯(100:0~0:100)进行梯度洗脱,然后再用乙酸乙酯:甲醇(100:0~0:100)洗脱,得到5个组分:Fr. E-1(10.48 g)、Fr. E-2(27.82 g)、Fr. E-3(25.51 g)、Fr. E-4(20.36 g)、Fr. E-5(18.52 g)。取 Fr. E-1(10.48 g)进行硅胶(粒径 0.075~0.048 mm)柱层析,用石油醚:乙酸乙酯(100:0~0:100)进行梯度洗脱,收集合并得3个组分:Fr. E-1-1~Fr. E-1-3。Fr. E-1-2(3.35 g)经反复硅胶(粒径 0.048~0.038 mm)柱层析后,析出固体,用石油醚-氯仿体系重结晶,得化合物 5(20 mg)。取 Fr. E-2(27.82 g)进行硅胶(粒径 0.075~0.048 mm)柱层析,用石油醚:乙酸乙酯(0:100~20:80)进行梯度洗脱,得到4个组分:Fr. E-2-1~Fr. E-2-4。取 Fr. E-2-2(4.1 g)再经硅胶(粒径 0.048~0.038 mm)柱层析后,有固体析出,用石油醚-丙酮体系重结晶,得化合物 6(34 mg)。Fr. E-3(25.51 g)进行硅胶(粒径 0.150~0.075 mm)柱层析,依次用氯仿:甲醇(0:100~50:40)进行梯度洗脱,得到5个组分:Fr. E-3-1(2.8 g)、Fr. E-3-2(3.4 g)、Fr. E-3-3(4.7 g)、Fr. E-3-4(10.6 g)、Fr. E-3-5(5.5 g)。将 Fr. E-3-1(2.8 g)经 Sephadex LH-20 纯化后,析出固体,用氯仿-甲醇体系反复重结晶,得化合物 3(25 mg)。将 Fr. E-3-2(3.4 g)进行硅胶(粒径 0.075~0.048 mm)柱层析,用乙酸乙酯:甲醇(0:100~20:80)进行梯度洗脱,得4个组分:Fr. E-3-2-1~Fr. E-3-2-3。取 Fr. E-3-2-2(0.92 g)进行 Sephadex LH-20 柱层析分离,用水:甲醇(100:0~0:100)进行洗脱,得化合物 2(15 mg)。将 Fr. E-3-4(10.6 g)进行硅胶(粒径 0.075~0.048 mm)柱层析,依次用氯仿:甲醇(0:100~50:50)进行梯度洗脱,得到5个组分:Fr. E-3-4-1~Fr. 3-4-5。将 Fr. E-3-4-2(3.38 g)再进行硅胶(粒径 0.048~0.038 mm)柱层析,有固体析出,用氯仿-甲醇体系重结晶,得到化合物 4(19 mg)。将 Fr. E-4(20.36 g)进行硅胶(粒径 0.075~0.048 mm)柱层析,依次用甲醇:氯仿(0:100~50:50)进行梯度洗脱,得到3个组分:Fr. E-4-1~Fr. E-4-3。取 Fr. E-4-2(3.2 g)再进行硅胶(粒径 0.048~0.038 mm)柱层析,依次用乙酸乙酯:甲醇(0:100~30:70)进行梯度洗脱,有白色固体析出,利用甲醇-乙醚体系反复重结晶,得化合物 1(38 mg)。将 Fr. E-5(18.52 g)进行硅胶(粒径 0.075~0.048 mm)柱层析,依次用甲醇:氯仿(0:100~50:40)进行梯度洗脱,得到3个组分:Fr. E-5-1~Fr. E-5-

4。取 Fr. E-5-3(4.5 g)再进行硅胶(粒径 0.048~0.038 mm)柱层析,依次用氯仿:甲醇(0:100~30:70)进行梯度洗脱,有白色固体析出,用甲醇-氯仿体系重结晶,得化合物 7(17 mg)。

4 化合物结构鉴定

化合物 1 无色针状结晶(乙醚-甲醇), mp189~190 °C; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ (mg/L): 11.95 (2H, s, H-COOH), 2.58 (4H, s, H-CH₂); $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 125 MHz) (mg/L): 174.9 (C-COOH), 28.0 (C-CH₂)。以上数据与陈玉等(2005)报道乙二酸的碳氢数据基本一致,故鉴定其为乙二酸。

化合物 2 橙色针晶(石油醚-氯仿), mp186~188 °C; HR-ESIMS (m/z): 263.1256 [$M + H$]⁺ (calc. for C₁₄H₁₄O₅, 262.1539), $^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃, 500 MHz) δ (mg/L): 6.04 (1H, s, H-3), 7.27 (1H, s, H-8), 2.76 (2H, q, $J = 7.4$ Hz, H-CH₂), 1.14 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, H-CH₃), 3.92 (3H, s, H₂-OCH₃), 3.99 (3H, s, H₇-OCH₃), 12.52 (1H, s, H-OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl₃, 125 MHz) δ (mg/L): 188.5 (C-1), 154.5 (C-2), 109.3 (C-3), 197.8 (C-4), 155.4 (C-5), 130.8 (C-6), 160.6 (C-7), 102.9 (C-8), 128.3 (C-9), 129.5 (C-10), 16.3 (C-CH₂), 12.9 (C-CH₃), 56.5 (C₂-OCH₃), 56.2 (C₇-OCH₃)。以上数据与 Bentley 等(1981)报道的 6-乙基-5-羟基-2,7-二甲氧基-1,4-萘醌碳氢数据基本一致,故鉴定其为 6-乙基-5-羟基-2,7-二甲氧基-1,4-萘醌。

化合物 3 无色针状晶体(氯仿-甲醇), mp234.5~234.9 °C; HR-ESIMS (m/z): 320.1527 [$M + H$]⁺ (calc. for C₂₁H₃₅O₂, 319.1832), $^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃, 500 MHz) δ (mg/L): 3.68 (1H, m, H-20), 3.60 (1H, m, H-3), 1.25-2.00 (多 H, m), 1.24 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-21), 0.94 (3H, s, H-19), 0.67 (3H, s, H-18); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl₃, 125 MHz) δ (mg/L): 30.6 (C-1), 25.7 (C-2), 70.3 (C-3), 34.6 (C-4), 36.5 (C-5), 29.6 (C-6), 27.1 (C-7C), 35.4 (C-8), 39.2 (C-9), 35.5 (C-10), 20.5 (C-11), 40.5 (C-12), 42.1 (C-13), 56.4 (C-14), 24.1 (C-15), 26.5 (C-16), 58.6 (C-17), 12.6 (C-18), 23.4 (C-19), 71.8 (C-20), 24.4 (C-21)。以上数据与 Fumko 等(1976)报道的 3 β , 20-二羟基-5 β -孕甾烷碳氢数据基本一

致,故鉴定其为 $3\beta,20$ -二羟基- 5β -孕甾烷。

化合物 4 浅黄色针状晶体(氯仿-甲醇), mp152~153 °C; IR(KBr) $\nu_{\max}^{\text{cm}^{-1}}$: 3211(O-H 键的伸缩振动吸收); EA(%): C, 50.76%, H, 4.91%, N, 0%; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ (mg/L): 8.78(1H, br s, H3-OH), 8.95(1H, br s, H5-OH), 7.95(1H, s, H-6), 2.22(3H, s, H-CH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ (mg/L): 149.5(C-2), 141.8(C-3), 168.8(C-4), 144.6(C-5), 139.3(C-6), 14.8(C-CH₃)。以上数据与张君增等(1996)报道的 5-羟基麦芽酚碳氢数据基本一致,故鉴定其为 5-羟基麦芽酚。

化合物 5 淡黄色针状晶体(石油醚-氯仿), mp 105~107 °C; UV(MeOH) $\lambda_{\max}$ nm: 227, 279; HR-ESIMS m/z 235.1461 [$\text{M}+\text{H}$]⁺ (calc. for C₁₂H₁₀O₅, 234.1517), $^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃, 500 MHz) δ : 6.59(1H, d, $J=3.5$ Hz, H-3, 3'), 7.24(1H, d, $J=3.5$ Hz, H-4, 4'), 4.66(2H, s, H-6, 6'), 9.65(1H, s, H-CHO); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl₃, 125 MHz) δ : 157.2(C-2, 2'), 111.8(C-3, 3'), 121.7(C-4, 4'), 152.8(C-5, 5'), 64.6(C-7, 7'), 177.7(C-CHO)。以上数据与 Musau 等(1990)报道的双[5-甲酰基糠基]醚碳氢数据基本一致,故鉴定其为双[5-甲酰基糠基]醚。

化合物 6 无色片状晶体(石油醚-丙酮), mp164~165 °C; IR(KBr) $\nu_{\max}^{\text{cm}^{-1}}$: 3264, 3264~2530; $^1\text{H-NMR}$ (acetone- d_6 , 500 MHz) δ (mg/L): 7.19(1H, d, $J=3.4$ Hz, H-3), 6.50(1H, d, $J=3.4$ Hz, H-4), 4.61(2H, s, H-5'); $^{13}\text{C-NMR}$ (acetone- d_6 , 125 MHz) δ (mg/L): 158.6(C-2), 160.0(C-2'), 118.7(C-3), 108.7(C-4), 144.0(C-5), 56.5(C-5')。以上数据与刘海利等(2002)报道的 5-羟甲基糠酸碳氢数据基本一致,故鉴定其为 5-羟甲基糠酸。

化合物 7 白色片状晶体(氯仿-甲醇), mp298~299 °C; Liebermann Bruchard 反应阳性, 提示存在甾体母核; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃/CD₃OD, 500 MHz) δ (mg/L): 5.33(1H, d, $J=5.1$ Hz, H-6), 3.72(1H, m, H-3), 2.18(2H, m), 0.80~2.50(多个 H, m), 1.03(1H, s, H-18), 0.70(1H, s, H-19), 4.41(1H, d, $J=7.8$ Hz, H-1'), 3.20~4.20(5H, m, H-2', 3', 4', 5', 6'); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl₃/CD₃OD, 125 MHz) δ (mg/L): 37.8(C-1), 30.0(C-2), 79.5(C-3), 46.4(C-4), 140.9(C-5), 122.4(C-6), 32.4(C-7), 34.4(C-8), 50.8(C-9), 37.2(C-10), 21.7(C-11), 40.3(C-12), 42.8(C-13), 57.3(C-14), 26.6(C-15), 29.9

(C-16), 56.6(C-17), 12.1(C-18), 19.9(C-19), 36.4(C-20), 19.6(C-21), 36.6(C-22), 24.7(C-23), 45.1(C-24), 19.3(C-25), 12.2(C-26), 23.5(C-27), 21.5(C-28), 19.3(C-29), 101.6(C-1'), 74.1(C-2'), 76.5(C-3'), 70.9(C-4'), 77.1(C-5'), 62.3(C-6')。以上数据与李俊等(2006)报道的 β -胡萝卜素碳氢数据基本一致,故鉴定其为 β -胡萝卜素。

参考文献:

- 中国科学院中国植物志编委会. 1998. 中国植物志(第 1 分册) [M]. 北京: 科学出版社, 23: 38-41
- Bentley R, Banach WJ, McInnes AG. 1981. 6-Ethyl-5-hydroxy-2, 7-dimethoxy- 1, 4-naphthoquinone from *Hendersonula toruloides*; a biosynthetic study using ^{13}C labels detected by nuclear magnetic resonance and ^{14}C tracers[J]. *Bioorg Chem*, 10(4): 399-411
- Chen Y(陈玉), Yang GZ(杨光忠), Li YC(李援朝). 2005. Chemical constituents of *Tripterygium wilfordii* (雷公藤化学成分的研究)[J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 17(3): 301-302
- Fumko ABE, Tatsuo Yamauch. 1976. Pregnanes in the root bark of *Nerium odorum*[J]. *Phytochemistry*, 15(11): 1745-1748
- Gaitone BB, Vaz AX, Patel JR. 1964. Chemical and pharmacological study of root bark of *Streblus asper*[J]. *Indian J Med Sci*, 18(2): 191-199
- Hashim MS, Devi KS. 2003. Insecticidal action of the polyphenolic rich fractions from the stem bark of *Streblus asper* on *Dysdercus cingulatus*[J]. *Fitoterapia*, 74(7-8): 670-676
- Liu HL(刘海利), Wu LJ(吴立军), Li H(李华), et al. 2002. Study on the chemical constituents of *Isatis indigotica* fort(板蓝根的化学成分研究)[J]. *J Shenyang Pharm Univ*(沈阳药科大学学报), 19(2): 93-95
- Li J(李俊), Li F(李甫), Lu YY(陆园园), Huang XS(黄锡山), et al. 2006. Studies on the chemical constituents in seed of *Schisandra propinqua* (满山香种子中化学成分研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), 26(5): 690-691
- Musau RM, Munavu RM. 1990. The conversion of 2-furaldehyde into some potentially useful bifunctional derivatives[J]. *Bio-mass*, 23(4): 275-287
- Sultana A, Mosihuzzaman M, Nahar N. 2001. Studies of anticancer of *Streblus asper* leaves[J]. *Bangladesh J Sci Ind Res*, 36(1-4): 159-162
- Taweethaisupapong S, Wongkham S, Chareonsuk S, et al. 2000. Selective activity of *Streblus asper* on mutans streptococci[J]. *J Ethnopharmacol*, 70(1): 73-79
- Taweethaisupapong S, Klanrit P, Singhara S, et al. 2006. Inhibitory effect of *Streblus asper* leaf extract on adhesion of *Candida albicans* to denture acrylic[J]. *J Ethnopharmacol*, 106(3): 414-417
- Zhang ZJ(张君增), Fang QC(方起程), Liang XT(梁晓天), et al. 1996. Studies on the chemical constituents of the leaves of *Pseudotsuga chienii* (Cheng) Cheng(中国特有植物白豆杉的化学成分研究)[J]. *Acta Bot Sin*(植物学报), 38(5): 399-405