

Med Chem Res, 2014, 23(6): 2712-2714.

[16] 刘电航, 左月明, 张忠立, 等. 栀子化学成分研究 (V) [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(7): 46-49.

[17] Guo J, Zhang J, Wang W, et al. Isolation and identification of bound compounds from corn bran and their antioxidant and angiotensin I-converting enzyme inhibitory activities[J]. Eur Food Res Technol, 2015, 241(1): 37-47.

[18] 王 政, 丘鹰昆. 仙人掌的化学成分研究[J]. 中草药, 2012, 43(9): 1688-1690.

[19] 范雪梅, 陈 刚, 郭丽娜, 等. 瓜蒌化学成分分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报, 2011, 28(11): 871-874.

[20] 杨鹏飞, 王振中, 王洪庆, 等. 桂枝茯苓胶囊化学成分研究 (Ⅲ) [J]. 中草药, 2012, 43(3): 463-466.

柳杉枝叶化学成分的研究

丁林芬¹, 谢章巧^{1,2}, 晏 通^{1,2}, 程 彬^{1,2}, 郭亚东¹, 宋流东¹, 吴兴德^{2*}
(1. 昆明医科大学药学院暨云南省天然药物药理重点实验室, 云南 昆明 650500; 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 650201)

摘要: **目的** 研究柳杉 *Cryptomeria fortunei* Hooibrenk ex Otto et Dietr. 枝叶的化学成分。**方法** 柳杉枝叶95%乙醇提取物的乙酸乙酯部位采用硅胶、中压液相 (MCI)、Sephadex LH-20 柱进行分离纯化, 根据理化性质及波谱数据鉴定所得化合物的结构。**结果** 从中分离得到 11 个化合物, 分别鉴定为异海松酸 (1)、山达海松酸 (2)、乙酰基异柏酸 (3)、复瓦杉酸 (4)、异柏酸 (5)、松叶酸 (6)、13-表柏油酸 (7)、19-acetylagnathadiol (8)、agathadiol (9)、植醇 (10)、榄香醇 (11)。**结论** 化合物 1~10 为二萜, 化合物 11 为倍半萜; 化合物 2、3、6~11 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 柳杉; 枝; 叶; 化学成分; 分离鉴定

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2018)03-0622-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.03.023

Chemical constituents from the twigs and leaves of *Cryptomeria fortunei*

DING Lin-fen¹, XIE Zhang-qiao^{1,2}, YAN Tong^{1,2}, CHENG Bin^{1,2}, GUO Ya-dong¹, SONG Liu-dong¹, WU Xing-de^{2*}
(1. School of Pharmaceutical Science and Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical University, Kunming 650500, China; 2. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in Western China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China)

ABSTRACT: **AIM** To study the chemical constituents from the twigs and leaves of *Cryptomeria fortunei* Hooibrenk ex Otto et Dietr. **METHODS** The ethyl acetate fraction of 95% ethanol extract from *C. fortunei* was isolated and purified by silica, MCI, and Sephadex LH-20 column, then the structures of obtained compounds were identified by physicochemical properties and spectral data. **RESULTS** Eleven compounds were isolated and identified as isopimaric acid (1), sandaracopimaric acid (2), acetylisocupressic acid (3), imbricataloic acid (4), isocupressic acid (5), pinifolic acid (6), 13-epicupressic acid (7), 19-acetylagnathadiol (8), agathadiol (9), phytol (10), elemol (11). **CONCLUSION** Compounds 1–10 are identified as diterpenoids and compound 11 is identified as sesquiterpenoid; Compounds 2, 3, 6–11 are obtained from this plant for the first time.

收稿日期: 2017-09-01
基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (21402212); 云南省应用基础研究计划面上项目 (2015FB173)
作者简介: 丁林芬 (1985—), 女, 实验师, 研究方向为天然药物化学和药物分析。Tel: (0871) 65922809, E-mail: dinglinfen2007@163.com
* 通信作者: 吴兴德 (1984—), 男, 副研究员, 研究方向为天然药物化学。Tel: (0871) 65223013, E-mail: wuxingde@mail.kib.ac.cn

KEY WORDS: *Cryptomeria fortunei* Hooibrenk ex Otto et Dietr. ; twigs; leaves; chemical constituents; isolation and identification

柳杉 *Cryptomeria fortunei* Hooibrenk ex Otto et Dietr. 是杉科柳杉属高大乔木, 为我国特有树种, 主产于浙江、福建及江西, 在我国大部分地区均有栽培^[1]。《中华本草》记载柳杉树皮具有解毒、杀虫、止痒的功效, 用于治疗癬疮、鹅掌风、烫伤等; 柳杉叶具有清热解毒的功能, 用于治疗痈疽疮毒^[2]。目前, 国内外学者已从柳杉的树皮和果子中报道倍半萜、二萜、三萜、黄酮类成分^[3-5], 但关于其枝叶的化学成分研究未见报道。为了更好地开发和利用柳杉资源, 本实验对其枝叶进行化学成分研究, 从中分离得到 11 个萜类化合物, 其中化合物 **1** ~ **10** 为二萜类成分, 化合物 **11** 为倍半萜类成分; 化合物 **2**、**3**、**6** ~ **11** 为首次从该植物中分离得到。

1 仪器与材料

Bruker AM-400 MHz、Avance III 500 MHz 及 Avance III 600 MHz 核磁共振仪 (瑞士 Bruker 公司); 柱色谱硅胶 (临沂市海洋化工厂, 100 ~ 200、200 ~ 300 目); GF₂₅₄ 薄层色谱硅胶板 (临沂市海洋化工厂); Sephadex LH-20 (瑞典 Pharmacia 公司)。甲醇 (天津市风船化学试剂科技有限公司, 分析纯); 石油醚、氯仿、乙酸乙酯、甲醇、丙酮等均为工业纯有机试剂 (重蒸使用)。柳杉枝叶于 2013 年 6 月采自昆明植物园, 经中国科学院昆明植物研究所成晓副研究员鉴定为正品, 标本保存于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 (20130615c)。

2 提取与分离

取干燥柳杉枝叶 5 kg, 粉碎, 用 95% 乙醇 (每次 30 L) 室温浸泡提取 3 次, 每次 2 d, 合并提取液, 减压浓缩, 得到浸膏 830 g。加水混悬, 用乙酸乙酯萃取 3 次 (每次 5 L), 得乙酸乙酯萃取物 610 g。该部分经硅胶柱层析, 石油醚-丙酮 (9 : 1 → 1 : 1) 梯度洗脱, 根据 TLC 检测合并成 5 个部分 Fr. 1 ~ 5。其中, Fr. 2 (150 g) 经中压液相 (MCI), 甲醇-水 (60 : 40 → 100 : 0) 梯度洗脱得 6 个部分 Fr. 2. 1 ~ 2. 6。Fr. 2. 3 经甲醇重结晶得到化合物 **1** (500 mg); Fr. 2. 5 经硅胶柱层析 (石油醚-丙酮、氯仿-丙酮), Sephadex LH-20 凝胶柱层析 (氯仿: 甲醇 = 1 : 1) 分离后得到化合物 **4** (16 mg)、**8** (21 mg)、**9** (7 mg); Fr. 2. 6 经硅胶柱层

析, 石油醚-丙酮 (20 : 1 → 7 : 3) 梯度洗脱, 得到化合物 **2** (7 mg)、**6** (11 mg); Fr. 3 (170 g) 经中压液相 (MCI), 甲醇-水 (55 : 45 → 100 : 0) 梯度洗脱得 5 个部分 Fr. 3. 1 ~ 3. 5; Fr. 3. 2 经硅胶柱层析, 石油醚-乙酸乙酯 (9 : 1 → 6 : 4) 梯度洗脱, 得到化合物 **5** (16 mg)、**7** (9 mg)、**11** (14 mg); Fr. 3. 4 经硅胶柱层析 (石油醚-丙酮、氯仿-丙酮) 和 Sephadex LH-20 层析 (氯仿: 甲醇 = 1 : 1) 分离后得到化合物 **3** (15 mg)、**10** (12 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色晶体, ESI-MS m/z : 301 $[M - H]^-$, 分子式 $C_{20}H_{30}O_2$ 。¹H-NMR (400 MHz, C_5D_5N) δ : 5.82 (1H, dd, $J = 17.5, 10.8$ Hz, H-15), 5.32 (1H, m, H-7), 5.00 (1H, d, $J = 17.5$ Hz, H-16 a), 4.92 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-16b), 1.48 (3H, s, H-19), 0.89 (3H, s, H-17), 0.84 (3H, s, H-20)。¹³C-NMR (100 MHz, C_5D_5N) δ : 39.3 (C-1), 18.5 (C-2), 37.8 (C-3), 46.5 (C-4), 45.6 (C-5), 25.7 (C-6), 121.9 (C-7), 135.6 (C-8), 52.3 (C-9), 35.3 (C-10), 20.3 (C-11), 36.3 (C-12), 37.1 (C-13), 46.4 (C-14), 150.6 (C-15), 109.7 (C-16), 21.6 (C-17), 181.2 (C-18), 18.1 (C-19), 15.5 (C-20)。以上数据与文献 [6] 一致, 故鉴定为异海松酸。

化合物 **2**: 白色晶体, ESI-MS m/z : 301 $[M - H]^-$, 分子式 $C_{20}H_{30}O_2$ 。¹H-NMR (400 MHz, C_5D_5N) δ : 5.82 (1H, dd, $J = 17.3, 10.6$ Hz, H-15), 5.29 (1H, s, H-14), 5.00 (1H, d, $J = 17.3$ Hz, H-16 a), 4.93 (1H, d, $J = 10.6$ Hz, H-16b), 1.42 (3H, s, H-19), 1.09 (3H, s, H-17), 0.84 (3H, s, H-20)。¹³C-NMR (100 MHz, C_5D_5N) δ : 38.8 (C-1), 18.7 (C-2), 37.7 (C-3), 47.4 (C-4), 49.5 (C-5), 25.4 (C-6), 36.0 (C-7), 137.3 (C-8), 50.9 (C-9), 38.1 (C-10), 18.9 (C-11), 34.8 (C-12), 37.8 (C-13), 129.3 (C-14), 149.2 (C-15), 110.6 (C-16), 26.3 (C-17), 181.3 (C-18), 17.8 (C-19), 15.4 (C-20)。以上数据与文献 [7] 一致, 故鉴定为山达海松酸。

化合物 **3**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 401 $[M + K]^+$, 分子式 $C_{22}H_{34}O_4$ 。¹H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.31 (1H, t, $J = 6.8$ Hz, H-14), 4.84

(1H, brs, H-17 a), 4.57 (2H, d, $J = 6.8$ Hz, H-15 a, 15b), 4.47 (1H, brs, H-17b), 2.14 (3H, s, -OCOCH₃), 1.68 (3H, s, H-16), 1.32 (3H, s, H-18), 0.58 (3H, s, H-20)。¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 39.1 (C-1), 19.9 (C-2), 37.9 (C-3), 44.2 (C-4), 55.4 (C-5), 26.0 (C-6), 38.4 (C-7), 147.8 (C-8), 56.3 (C-9), 40.5 (C-10), 21.8 (C-11), 38.8 (C-12), 142.9 (C-13), 118.0 (C-14), 61.5 (C-15), 16.5 (C-16), 106.5 (C-17), 29.0 (C-18), 184.2 (C-19), 12.8 (C-20), 21.1 (-OCOCH₃), 171.2 (-OCOCH₃)。以上数据与文献 [8] 一致, 故鉴定为乙酰基异柏酸。

化合物 4: 白色粉末, ESI-MS m/z : 319 [M - H]⁻, 分子式 C₂₀H₃₂O₃。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 4.84 (1H, brs, H-17 a), 4.46 (1H, brs, H-17b), 1.23 (3H, brs, H-18), 0.96 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-16), 0.58 (3H, brs, H-20)。¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 39.1 (C-1), 19.8 (C-2), 37.9 (C-3), 44.1 (C-4), 56.3 (C-5), 25.9 (C-6), 38.7 (C-7), 148.0 (C-8), 56.4 (C-9), 40.5 (C-10), 21.2 (C-11), 36.1 (C-12), 28.9 (C-13), 50.8 (C-14), 203.2 (C-15), 20.2 (C-16), 106.4 (C-17), 29.2 (C-18), 183.7 (C-19), 12.7 (C-20)。以上数据与文献 [9] 一致, 故鉴定为复瓦杉酸。

化合物 5: 白色粉末, ESI-MS m/z : 319 [M - H]⁻, 分子式 C₂₀H₃₂O₃。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.37 (1H, t, $J = 6.9$ Hz, H-14), 4.85 (1H, brs, H-17 a), 4.52 (1H, brs, H-17b), 4.15 (2H, d, $J = 6.9$ Hz, H-15 a, 15b), 1.67 (3H, s, H-16), 1.23 (3H, s, H-18), 0.65 (3H, s, H-20)。¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 39.1 (C-1), 19.9 (C-2), 37.9 (C-3), 44.1 (C-4), 55.5 (C-5), 26.0 (C-6), 38.4 (C-7), 147.9 (C-8), 56.3 (C-9), 40.4 (C-10), 21.9 (C-11), 38.7 (C-12), 140.5 (C-13), 122.9 (C-14), 59.4 (C-15), 16.3 (C-16), 106.5 (C-17), 28.9 (C-18), 183.4 (C-19), 12.8 (C-20)。对以上数据与文献 [10] 一致, 故鉴定为异柏酸。

化合物 6: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 335 [M - H]⁻, 分子式 C₂₀H₃₂O₄。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 4.85 (1H, s, H-17 a), 4.51 (1H, s, H-17b), 1.23 (3H, s, H-18), 0.97 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-16), 0.53 (3H, s, H-20)。¹³C-NMR (150

MHz, CDCl₃) δ : 39.1 (C-1), 19.9 (C-2), 37.9 (C-3), 44.2 (C-4), 56.2 (C-5), 26.0 (C-6), 38.7 (C-7), 148.1 (C-8), 56.6 (C-9), 40.5 (C-10), 21.9 (C-11), 36.4 (C-12), 31.2 (C-13), 41.9 (C-14), 180.0 (C-15), 21.7 (C-16), 106.7 (C-17), 16.9 (C-18), 184.1 (C-19), 12.9 (C-20)。以上数据与文献 [11] 一致, 故鉴定为松叶酸。

化合物 7: 无色油状, ESI-MS m/z : 319 [M - H]⁻, 分子式 C₂₀H₃₂O₃。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.89 (1H, dd, $J = 17.4, 10.8$ Hz, H-14), 5.21 (1H, dd, $J = 17.4, 1.2$ Hz, H-15 a), 5.06 (1H, dd, $J = 10.8, 1.2$ Hz, H-15b), 4.83 (1H, brs, H-17 a), 4.49 (1H, brs, H-17b), 1.26 (3H, s, H-18), 1.23 (3H, s, H-16), 0.60 (3H, s, H-20)。¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 39.1 (C-1), 19.8 (C-2), 37.9 (C-3), 44.1 (C-4), 56.3 (C-5), 26.0 (C-6), 38.7 (C-7), 148.0 (C-8), 56.4 (C-9), 40.6 (C-10), 17.9 (C-11), 41.3 (C-12), 73.7 (C-13), 144.9 (C-14), 111.7 (C-15), 28.0 (C-16), 106.5 (C-17), 28.9 (C-18), 183.2 (C-19), 12.7 (C-20)。以上数据与文献 [12] 一致, 故鉴定为 13-表柏油酸。

化合物 8: 无色油状, ESI-MS m/z : 371 [M + Na]⁺, 分子式 C₂₂H₃₆O₃。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.38 (1H, t, $J = 6.8$ Hz, H-14), 4.82 (1H, brs, H-17 a), 4.51 (1H, s, H-17b), 4.22 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-19 a), 4.19 (2H, d, $J = 6.8$ Hz, H-15), 3.83 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-19b), 2.03 (3H, s, -OCOCH₃), 1.71 (3H, s, H-16), 0.96 (3H, s, H-18), 0.68 (3H, s, H-20)。¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 38.9 (C-1), 18.9 (C-2), 36.2 (C-3), 37.3 (C-4), 56.1 (C-5), 24.4 (C-6), 38.3 (C-7), 147.8 (C-8), 56.3 (C-9), 39.5 (C-10), 21.9 (C-11), 38.5 (C-12), 140.1 (C-13), 123.1 (C-14), 59.5 (C-15), 16.4 (C-16), 106.8 (C-17), 27.6 (C-18), 66.8 (C-19), 15.5 (C-20), 21.9 (-OCOCH₃), 171.4 (-OCOCH₃)。以上数据与文献 [13] 一致, 故鉴定为 19-acetylgaathadiol。

化合物 9: 无色油状, ESI-MS m/z : 329 [M + Na]⁺, 分子式 C₂₀H₃₄O₂。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.39 (1H, t, $J = 6.7$ Hz, H-14), 4.83 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-17 a), 4.52 (1H, s, H-

17b), 4.14 (2H, d, $J = 6.7$ Hz, H-15), 3.74 (1H, d, $J = 10.9$ Hz, H-19a), 3.49 (1H, d, $J = 10.9$ Hz, H-19b), 1.69 (3H, s, H-16), 0.96 (3H, s, H-18), 0.64 (3H, s, H-20)。¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 38.4 (C-1), 18.9 (C-2), 35.4 (C-3), 39.5 (C-4), 56.3 (C-5), 24.4 (C-6), 38.9 (C-7), 148.1 (C-8), 56.4 (C-9), 39.0 (C-10), 21.9 (C-11), 38.6 (C-12), 140.5 (C-13), 123.0 (C-14), 59.4 (C-15), 16.4 (C-16), 106.6 (C-17), 27.1 (C-18), 65.0 (C-19), 15.3 (C-20)。以上数据与文献 [14] 一致, 故鉴定为 agatadiol。

化合物 **10**: 无色油状, ESI-MS m/z : 295 [M-H]⁻, 分子式 C₂₀H₄₀O。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.40 (1H, t, $J = 6.9$ Hz, H-2), 4.14 (2H, d, $J = 6.9$ Hz, H-1), 2.17 (2H, m, H-4), 1.66 (3H, s, H-17), 0.83 – 0.87 (12H, m, H-16, 18, 19, 20)。¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 59.4 (C-1), 123.1 (C-2), 140.3 (C-3), 39.9 (C-4), 25.1 (C-5), 37.3 (C-6), 32.7 (C-7), 39.4 (C-8), 24.8 (C-9), 37.4 (C-10), 32.8 (C-11), 37.4 (C-12), 24.5 (C-13), 37.3 (C-14), 27.9 (C-15), 22.6 (C-16), 16.2 (C-17), 19.7 (C-18), 19.8 (C-19), 22.7 (C-20)。以上数据与文献 [15] 一致, 故鉴定为植醇。

化合物 **11**: 白色针晶, ESI-MS m/z : 259 [M + Na]⁺, 分子式 C₁₆H₂₈O。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 5.80 (1H, dd, $J = 17.8, 10.5$ Hz, H-1), 4.91 (1H, d, $J = 10.5$ Hz, H-2a), 4.87 (1H, s, H-3a), 4.83 (1H, d, $J = 17.8$ Hz, H-2b), 4.58 (1H, s, H-3b), 1.71 (3H, s, H-14), 1.19 (6H, s, H-12, 13), 0.96 (3H, s, H-15)。¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 150.2 (C-1), 109.9 (C-2), 111.9 (C-3), 147.9 (C-4), 52.6 (C-5), 28.4 (C-6), 49.3 (C-7), 22.5 (C-8), 39.8 (C-9), 39.7 (C-10), 72.7 (C-11), 27.1 (C-12, 13), 24.8 (C-14), 16.5 (C-15)。以上数据与文献 [16] 一致, 故鉴定为榄香醇。

参考文献:

[1] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1978: 294.

[2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草第四卷 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 311.

[3] Yao S, Tang C P, Ke C Q, *et al.* Abietane diterpenoids from the bark of *Cryptomeria fortunei* [J]. *J Nat Prod*, 2008, 71 (7): 1242-1246.

[4] Wu J, Zhao W M. New sesquiterpene and triterpene from the fruits of *Cryptomeria fortunei* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2010, 12(5): 382-387.

[5] 郑宗平, 梁敬钰, 胡立宏. 柳杉茎皮化学成分研究 [J]. 中国天然药物, 2004, 2(5): 272-275.

[6] Zhao Y X, Zhou L, Guo L, *et al.* A new diterpenoid and active stilbenes from *Pinus armandii* heartwood [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2005, 7(3): 259-264.

[7] Kitajima J, Komori T, Kawasaki T. Studies on the constituents of the crude drug “*Fritillariae Bulbus*.” III. On the diterpenoid constituents of fresh bulbs of *Fritillaria thunbergii* Miq [J]. *Chem Pharm Bull*, 1982, 30(11): 3912-3921.

[8] Popova M P, Chinou I B, Marekov I N, *et al.* Terpenes with antimicrobial activity from *Cretan propolis* [J]. *Phytochemistry*, 2009, 70(10): 1262-1271.

[9] Lin S J, Short R E, Ford S P, *et al.* *In vitro* biotransformations of isocupressic acid by cow rumen preparations: formation of agathic and dihydroagathic acids [J]. *J Nat Prod*, 1998, 61 (1): 51-56.

[10] Fang J M, Hsu K C, Cheng Y S. Terpenoids from leaves of *Calocedrus formosana* [J]. *Phytochemistry*, 1989, 28 (4): 1173-1175.

[11] Teng J, Zhang R, Zhang YW, *et al.* A new labdanic norditerpene from *Pinus sylvestris* [J]. *Nat Prod Res*, 2010, 24(17): 1587-1591.

[12] 李林珍, 王孟华, 孙建博, 等. 粉条儿菜化学成分的研究 [J]. 中国药科大学学报, 2014, 45(2): 175-177.

[13] Su W C, Fang J M, Cheng Y S. Labdanes from *Cryptomeria japonica* [J]. *Phytochemistry*, 1994, 37(4): 1109-1114.

[14] Feliciano A S, Medarde M, Lopez J L, *et al.* Terpenoids from leaves of *Juniperus thurifera* [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27 (7): 2241-2248.

[15] 丁林芬, 王海垠, 王 扣, 等. 福建柏化学成分研究 [J]. 中草药, 2017, 48(4): 639-643.

[16] Elgamal M H, Wolff P. A further contribution to the sesquiterpenoid constituents of *Cymbopogon proximus* [J]. *Planta Med*, 1987, 53(3): 293-294.