火殃勒地上部分中二萜类化学成分的研究

宋 辉, 马仁芬, 张 华*

(济南大学生物科学与技术学院, 山东 济南 250022)

摘要: 对大戟科大戟属药用植物火殃勒 (*Euphorbia antiquorum*) 地上部分的化学成分进行了研究。采用正相硅胶、反相十八烷基硅烷键合硅胶、Sephadex LH-20凝胶柱色谱及半制备高效液相色谱等分离手段, 从火殃勒90%乙醇提取物的乙酸乙酯萃取相中分离纯化了13个化合物, 并通过波谱学技术 (MS、NMR、ECD等) 鉴定了它们的结构, 分别为5个海松烷型 (pimarane, **1**～**5**)、2个松香烷型 (abietane, **6**和**7**) 和6个阿替生烷型 (atisane, **8**～**13**) 二萜, 其中化合物**1**和**6**为新化合物。对部分二萜类成分进行了*α*-葡萄糖苷酶抑制活性的测试, 实验结果显示, 化合物**1**对该酶具有中等抑制作用, IC_{50}值为150.03 ± 3.41 μmol·L^{-1}, 略低于阳性对照药阿卡波糖的数据。

关键词: 火殃勒; 结构鉴定; 二萜; *α*-葡萄糖苷酶; 降糖活性

中图分类号: R284 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2025)06-1828-08

Diterpenoid constituents from the aerial parts of *Euphorbia antiquorum*

SONG Hui, MA Ren-fen, ZHANG Hua*

(*School of Biological Science and Technology, University of Jinan, Jinan 250022, China*)

Abstract: The chemical constituents of the aerial parts of *Euphorbia antiquorum* (family Euphorbiaceae) were investigated. From the EtOAc partition of the 90% EtOH extract of the title species, thirteen compounds were separated by silica gel, octadecylsilyl silica gel and Sephadex LH-20 column chromatographies, as well as semi-preparative HPLC. The structures of these isolates were characterized as five pimarane-type (**1**−**5**), two abietane-type (**6**, **7**) and six atisane-type (**8**−**13**) diterpenoids on the basis of spectroscopic analyses (MS, NMR, ECD, *etc*.). Among them, compounds **1** and **6** were identified as two previously unreported ones. The *α*-glucosidase inhibitory activity of selective diterpenoids was further evaluated in the current work. Compound **1** exhibited moderate inhibition against the enzyme, with an IC_{50} of 150.03 ± 3.41 μmol·L^{-1}, being lower than that of the reference drug acarbose.

Key words: *Euphorbia antiquorum*; structural characterization; diterpenoid; *α*-glycosidase; hypoglycemic activity

火殃勒 (*Euphorbia antiquorum* L.) 为大戟科大戟属多年生灌木植物, 广泛分布于亚热带地区[1]。该植物全株入药, 在中国、印度、泰国等传统医学体系中, 被用于治疗水肿、肝功能障碍、风湿性关节炎及皮肤溃疡等疾病[2,3]。

前人对火殃勒化学成分的研究表明, 其小分子代谢产物以二萜类成分为主, 目前已鉴定的结构类型包括松香烷 (abietane)、瑞香烷 (daphnane) 及海松烷 (pimarane) 等二萜骨架[4]。本课题组近几年对大戟科药用植物中的萜类成分进行了专门系统的研究, 其中对采自云南省普洱市的火殃勒的研究工作发现, 其主要二萜类成分为巨大戟烷型 (ingenane) 和续随子烷型 (lathyrane), 部分化合物显示了良好的抗炎和逆转肿瘤多药耐药活性[5,6]。为了进一步全面阐明该药用植物中的二萜类成分及其生物活性, 作者对前期剩余的

收稿日期: 2025-04-01; 修回日期: 2025-04-25.
基金项目: 济南大学高层次人才科研启动项目.
*通讯作者 E-mail: bio_zhangh@ujn.edu.cn
DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-0365

浸膏进行了再研究, 共分离鉴定出13个其他类型二萜 (图1), 其中有5个海松烷型 (**1**～**5**)、2个松香烷型 (abietane, **6**和**7**) 和6个阿替生烷型 (atisane, **8**～**13**), 且**1**和**6**为首次发现的新化合物。对部分二萜进行α-葡萄糖苷酶抑制活性测试, 结果显示化合物**1**对该酶具有中等抑制活性。

结果与讨论

1　新化合物结构鉴定

化合物**1**为白色无定型粉末。根据其高分辨质谱 (HR-ESI-MS) 中的加钠准分子离子峰 (*m*/*z* 325.214 2, 计算值325.213 8) 推断其分子式为$C_{20}H_{30}O_2$, 不饱和度为6。其核磁共振氢谱显示了6个烯氢 [δ_H 6.12 (dd, *J* = 9.9, 3.1 Hz), 5.17 (s), 5.76 (dd, *J* = 17.3, 10.4 Hz), 5.71 (dd, *J* = 9.9, 2.3 Hz), 5.02 (d, *J* = 17.3 Hz), 4.95 (d, *J* = 10.4 Hz)]、两个连氧次甲基 [δ_H 3.31 (dd, *J* = 11.6, 4.5 Hz), 3.71 (brs)] 和4个单峰甲基 (δ_H 0.71, 0.85, 1.07, 1.15) 信号。其核磁共振碳谱显示了20个碳信号, 包括6个双键碳 (δ_C 146.6, 136.5, 130.4, 128.5, 127.9, 114.9)、4个甲基碳 (δ_C 28.0, 23.5, 16.1, 13.4)、3个sp^3杂化亚甲基碳 (δ_C 35.1, 27.7, 25.3)、4个sp^3杂化次甲基碳 (δ_C 79.0, 72.1, 55.2, 43.8) 及3个sp^3杂化季碳 (δ_C 44.2, 38.6, 37.2)。与已知化合物*ent*-3β,12α-dihydroxy-pimara-8(14),15-diene[7]相比, 化合物**1**的核磁数据少了两个sp^3杂化亚甲基的信号、多了一个双键的信号。进一步根据H-5/H-6/H-7的关键^{1}H-^{1}H COSY信号, 以及H-5与C-6和C-7、H-14与C-7和C-8之间的HMBC信号, 判断化合物**1**的结构中有一个Δ^6双键; 仔细分析其所有上述二维核磁谱图中的数据, 确定其平面结构如图2中所示。

化合物**1**的相对构型通过分析其NOESY实验数据 (图2) 确定。H-5同时与H-3和δ_H 1.22处的H-1有相关信号, 说明三者位于A环同侧, 为1,3,5-直立键关系, A环呈椅式构象; 同时H-9与H-5也有相关信号, 说明二者在B环中为同侧的1,3-直立键关系。此外H_3-20与H_3-19之间的NOESY信号说明这两个甲基在A环中也是1,3-直立键关系, 因此它们位于H-5的异侧; 而H_3-20与δ_H 4.95处的H-16之间的NOESY信号说明Δ^{15}双键与甲基-20位于分子平面的同侧, 且Δ^{15}基团在C环中位于准直立键位置; 因此氢谱中呈宽单峰的H-12 (半峰宽约为8 Hz) 与两个H-11之间耦合常数都较小 (ae键和ee键耦合), 说明H-12处于准平伏键位置, 与Δ^{15}双键位于C环的同侧。最后, 通过基于密度泛函理论的量子化学方法计算了化合物**1**的两个对映异构体的圆二色谱 (ECD), 与实验数据对比后 (图3), 确定化合物**1**的绝对构型为3*R*,5*S*,9*S*,10*S*,12*R*,13*R*, 其氢谱和碳谱数据见表1。

化合物**6**为淡黄色胶状固体。根据HR-ESI-MS数据 (*m*/*z* 377.232 8 $[M+H]^+$, 计算值377.232 3) 确定其分子式为$C_{22}H_{32}O_5$, 不饱和度为7。其氢谱和碳谱数据与以前报道的7-deoxylangduin B[8]的数据基本一致, 唯一区别是化合物**6**中多了一个乙氧基的信号。进一步根据乙氧基的亚甲基氢与C-12 (δ_C 105.5) 之间的HMBC相关信号, 确定**6**中乙氧基的位置在C-12位。上述结

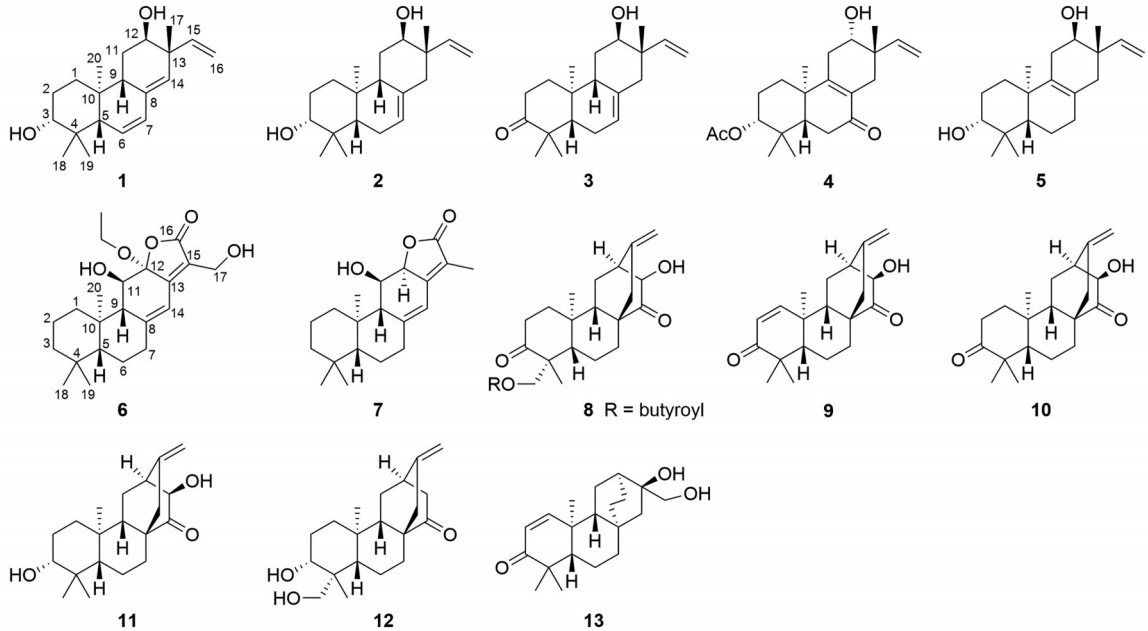


Figure 1　The structures of compounds **1**–**13**

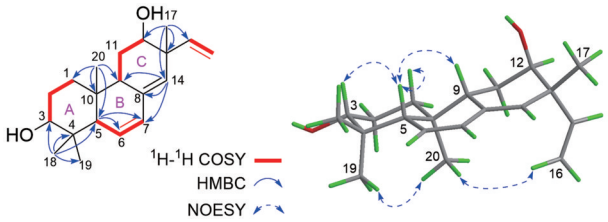


Figure 2 Key ^{1}H-^{1}H COSY, HMBC and NOESY correlations for **1**

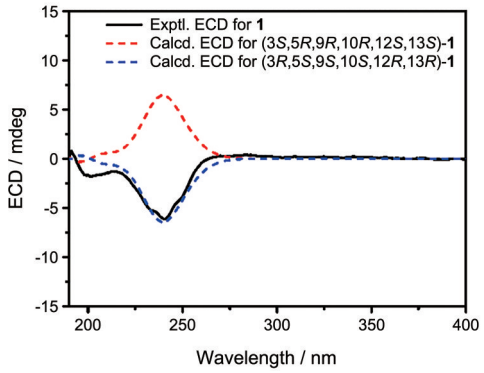


Figure 3 Experimental and calculated ECD spectra for **1**

Table 1 ^{1}H and ^{13}C NMR data of **1** and **6** in $CDCl_3$

No.	**1**		**6**	
	δ_C	δ_H (J, Hz)	δ_C	δ_H (J, Hz)
1	35.1	1.61, m	40.3	1.83, m
		1.22, m		1.44, m
2	27.7	1.70, m	19.0	1.49, m
		1.61, m		1.49, m
3	79.0	3.31, dd (11.6, 4.5)	42.0	1.44, m
				1.21, m
4	38.6		33.7	
5	55.2	2.00, brs	54.3	1.26, m
6	127.9	5.71, dd (9.9, 2.3)	23.5	1.83, m
				1.44, m
7	130.4	6.12, dd (9.9, 3.1)	36.7	2.53, ddd (14.2, 4.8, 1.9)
				2.26, td (14.2, 6.0)
8	136.5		157.7	
9	43.8	2.22, m	61.0	2.15, d (6.7)
10	37.2		41.2	
11	25.3	1.70, m	71.0	3.77, m
		1.61, m		
12	72.1	3.71, brs	105.5	
13	44.2		153.3	
14	128.5	5.17, brs	112.1	6.29, brs
15	146.6	5.76, dd (17.3, 10.4)	122.4	
16	114.9	5.02, dd (17.3, 1.5)	171.4	
		4.95, dd (10.4, 1.5)		
17	23.5	1.15, s	55.8	4.48, d (14.2)
				4.45, d (14.2)
18	28.0	1.07, s	22.1	0.84, s
19	16.1	0.85, s	33.7	0.91, s
20	13.4	0.71, s	15.3	0.73, s
OEt			58.7	3.40, dq (8.8, 7.1)
				3.16, dq (8.8, 7.1)
			15.1	1.14, t (7.1)

构推理通过仔细检查分析其所有^{1}H-^{1}H COSY和HMBC数据 (图4) 得到确证。根据二者高度吻合的对应核磁数据, 化合物**6**的相对构型被定为与7-deoxylangduin B一致, 并通过进一步分析其NOESY信号证实 (图4)。最终根据二者一致的ECD曲线, 将其绝对构型也定为相同, 由此确定了化合物**6**的结构, 其氢谱和碳谱数据见表1。因为植物原材料的提取使用了乙醇, 推测**6**可能是提取过程中生成的人工产物。

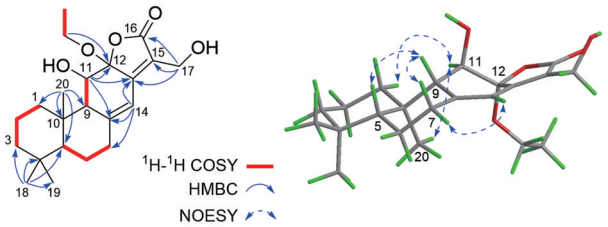


Figure 4 Key ^{1}H-^{1}H COSY, HMBC and NOESY correlations for **6**

2 活性评价

火殃勒作为传统药用植物, 主要用于治疗水肿、肝功能障碍、风湿性关节炎及皮肤溃疡等疾病, 并且还具有降糖功效。本课题对部分化合物 (**1**～**3**、**5**、**13**) 进行了α-葡萄糖苷酶抑制活性检测, 选择第一代糖苷酶抑制剂阿卡波糖作为阳性对照药 (IC_{50} = 517.80 ± 7.10 μmol·L^{-1})。结果显示, 化合物**1**具有一定的糖苷酶抑制活性, 其IC_{50}值为150.03 ± 3.41 μmol·L^{-1} (图5)。

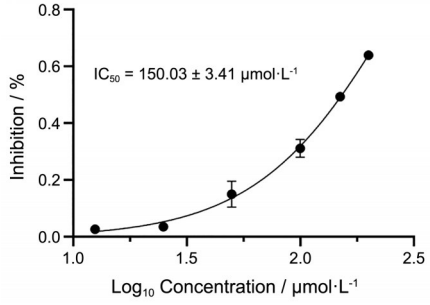


Figure 5 α-Glucosidase inhibitory curve for compound **1**

实验部分

Bruker Avance DRX600核磁共振波谱仪 (以TMS为内标, 化学位移δ, 耦合常数J, 瑞士布鲁克公司); 安捷伦6460三重四级杆低分辨质谱仪和安捷伦6545四级杆−飞行时间高分辨质谱仪 (德国安捷伦科技有限公司); Rudolph VI高精旋光仪 (美国鲁道夫公司); R-300旋转蒸发仪 (瑞士步琦有限公司); Chirascan VX圆二色谱仪 (英国应用光物理公司); DLSK-10/20循环冷凝泵 (郑州科泰试验设备有限公司); Agilent 1260高效液相色谱仪 (安捷伦科技中国有限公司); LA104/A分

析天平 (济南东仪实验室设备有限公司)。

硅胶 (H、200～300 目、300～400 目, 青岛海洋化工有限公司); Sephadex LH-20 凝胶 (瑞典 Amershan Pharmacia 公司); YMC-Pack ODS-A 色谱柱 (10 mm × 250 mm, 日本 YMC 株式会社); 薄层色谱 (TLC) 硅胶板 (青岛海洋化工有限公司); 氘代试剂 (德国 Merck 公司); 色谱纯溶剂 (瑞典欧普森化工有限公司); 分析纯试剂 (天津富宇精细化工有限公司)。如无特殊说明, 化合物分离过程中使用的溶剂体系均为体积比。

火殃勒 (*Euphorbia antiquorum* Linn.) 地上部位于 2022 年 4 月采自中国云南省普洱市景东彝族自治县 (地理坐标: 东经 100°50′33.03″, 北纬 24°27′4.81″), 并由山东中医药高等专科学校魏国栋教授鉴定。标本现保存于济南大学生物科学与技术学院天然药物化学生物学实验室 (标本号: npmc-072)。

1　提取与分离

将 20.0 kg 风干火殃勒的块茎粉碎后用 90% 乙醇室温浸提三次 (每次溶剂用量 25.0 L, 浸提周期两周), 提取液合并后经减压浓缩获得粗提物 2.3 kg。将粗提物重新悬浮溶解于 3.0 L 蒸馏水, 以乙酸乙酯 (3 × 2.0 L) 进行萃取。收集乙酸乙酯相除去溶剂后用 D-101 大孔吸附树脂柱色谱分段, 使用乙醇–水系统 (30%、50%、80%、95%) 梯度洗脱, 获得四个组分 (A～D)。其中组分 C (310.0 g) 通过硅胶柱色谱进一步分离, 以石油醚–乙酸乙酯 (10∶1→1∶3) 梯度洗脱, 根据 TLC 检测结果合并收集为 11 个亚组分 (C1～C11)。

组分 C9 (8.0 g) 再通过反相 C_{18} 柱色谱 (甲醇–水, 50%→100%) 分离得到 10 个亚组分 (C9a～C9j)。其中亚组分 C9a (500 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶色谱 (二氯甲烷–甲醇, 1∶1) 初步纯化后, 再通过半制备 HPLC (37% 乙腈–水) 分离, 最终获得化合物 **1** (28.0 mg, t_R = 8.0 min)、**2** (59.6 mg, t_R = 25.0 min) 和 **3** (10.0 mg, t_R = 29.0 min)。

组分 C10 (90 g) 经硅胶柱色谱分离 (石油醚–乙酸乙酯 5∶1→0∶1, 梯度洗脱) 得到亚组分 C10a～C10i)。组分 C10c (6.5 g) 经反相 C_{18} 柱色谱分离 (甲醇–水, 50%→100%), 获得 7 个次组分 (C10c1～C10c7)。次组分 C10c4 (800 mg) 先用硅胶柱色谱 (二氯甲烷–甲醇, 200∶1→50∶1) 处理后, 再通过 HPLC (55% 乙腈–水) 分离, 最终获得化合物 **4** (0.5 mg, t_R = 27.0 min) 和 **5** (68.0 mg, t_R = 29.0 min); 次组分 C10c6 (200 mg) 直接用 HPLC (65% 乙腈–水) 进行分离, 获得化合物 **6** (33.8 mg, t_R = 23.5 min)、**7** (40.0 mg, t_R = 26.5 min) 和 **8** (7.0 mg, t_R = 27.0 min)。组分 C10d (950 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶色谱 (氯仿–甲醇, 1∶1) 分离, 获得五个次组分 (C10d1～C10d5), 其中次组分 C10d1 (135 mg) 通过 HPLC (45% 乙腈–水) 进行分离, 最终获得化合物 **9** (1.7 mg, t_R = 12.0 min)、**10** (25.0 mg, t_R = 34.0 min) 和 **11** (0.5 mg, t_R = 38.0 min)。组分 C10e (3.0 g) 经反相 C_{18} 柱色谱 (甲醇–水, 60%→100%) 分离, 得到 6 个次组分 (C10e1～C10e6), 其中次组分 C10e2 (600 mg) 先用 Sephadex LH-20 凝胶色谱 (二氯甲烷–甲醇, 1∶1) 处理后, 再用 HPLC (45% 乙腈–水), 进行分离, 最终获得化合物 **12** (3.0 mg, t_R = 13.0 min) 和 **13** (10.0 mg, t_R = 17.0 min)。

2　ECD 计算

化合物 **1** 的 ECD 的计算: 首先用 ChemDraw_Pro_14.1 软件进行 MM2 力场分析方法初步建立化合物 **1** 的初始构象并保存为 Mol2 格式的文件, 再利用 Maestro 10.2 软件在 3.01 kcal·mol^{-1} 的能量窗口中使用 MMFFs 力场进行构象搜索。通过 Gaussian 09 软件在 B3LYP/6-311G(d,p) 水平上对优化后的构象进行重新优化和含时密度泛函理论 (TD-DFT) 计算, 以确认重新优化的各构象能量处于最低。最后使用 SpecDis 1.71 软件获得理论 ECD 谱图。

3　新化合物理化数据与已知化合物鉴定

ent-3*β*,12*α*-Dihydroxy-pimara-6,8(14),15-triene (**1**): 白色无定形粉末; $[\alpha]_D^{25}$ −4.6 (*c* 0.28, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 238 (3.55) nm; ECD (0.28 mg·mL^{-1}, MeOH) λ ($\Delta\varepsilon$) 202 (−0.59), 213 (−0.42), 240 (−2.00) nm; ^{1}H 和 ^{13}C NMR (in $CDCl_3$) 见表 1; HR-ESI-MS *m*/*z* 325.214 2 $[M+Na]^+$ (计算值 $C_{20}H_{30}O_2Na^+$, 325.213 8)。

化合物 **2**: 无色胶状固体; ESI-MS *m*/*z* 339.3 $[M+Cl]^-$, 分子式为 $C_{20}H_{32}O_2$; $[\alpha]_D^{30}$ +10 (*c* 0.13, MeOH); ECD (0.13 mg·mL^{-1}, MeOH) λ ($\Delta\varepsilon$) 206 (−1.34) nm; ^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H 5.69 (dd, *J* = 17.7, 10.9 Hz, 1H, H-15), 5.39 (m, 1H, H-7), 5.02 (d, *J* = 17.7 Hz, H_a-16), 4.99 (d, *J* = 10.9 Hz, H_b-16), 3.62 (s, 1H, H-12), 3.22 (dd, *J* = 11.6, 4.4 Hz, 1H, H-3), 2.32 (d, *J* = 13.7 Hz, 1H, H_a-14), 2.02 (overlapped, 2H, H-9, H_b-14), 1.94 (m, 2H, H-6), 1.74 (overlapped, 2H, H_a-1 and H-2), 1.57 (m, 2H, H-11), 1.16 (overlapped, 2H, H_b-1 and H-5), 1.01 (s, 3H, Me-17), 0.97 (s, 3H, Me-19), 0.87 (s, 3H, Me-18), 0.77 (s, 3H, Me-20); ^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ_C 144.7 (C-15), 134.9 (C-8), 121.1 (C-7), 113.8 (C-16), 79.3 (C-3), 74.4 (C-12), 50.1 (C-5), 45.3 (C-9), 41.3 (C-13), 39.3 (C-14), 38.7 (C-4), 37.7 (C-1), 35.0 (C-10), 28.4 (C-19), 27.9 (C-2), 27.4 (C-11), 24.9 (C-17), 23.2 (C-6), 15.6 (C-18), 14.7 (C-20)。以上波谱数据与文献[9]中报道的 euphlactenoid F 的波谱数据一致, 因此鉴定化合物 **2** 为

euphlactenoid F。

化合物**3**: 无色胶状固体; ESI-MS *m*/*z* 337.4 $[M+Cl]^-$, 分子式为$C_{20}H_{30}O_2$; $[\alpha]_D^{30}$ −43 (*c* 0.14, MeOH); ECD (0.14 mg·mL^{-1}, MeOH) λ ($\Delta\varepsilon$) 205 (−3.58), 294 (+1.30) nm; ^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H 5.72 (dd, *J* = 17.7, 10.9 Hz, 1H, H-15), 5.44 (dd, *J* = 5.8, 2.8 Hz, 1H, H-7), 5.06 (d, *J* = 17.7 Hz, H_a-16), 5.02 (d, *J* = 10.9 Hz, H_b-16), 3.66 (brs, 1H, H-12), 2.66 (td, *J* = 14.5, 5.3 Hz, 1H, H_a-1), 2.35 (d, *J* = 14.9 Hz, 1H, H_a-14), 2.24 (dt, *J* = 14.5, 3.9 Hz, 1H, H_b-1), 2.12 (m, 1H, H_a-6), 2.07 (d, *J* = 14.9 Hz, 1H, H_b-14), 2.03 (m, 1H, H_a-2), 1.91 (m, 1H, H_b-6), 1.68 (m, 2H, H-11), 1.59 (dd, *J* = 12.0, 4.2 Hz, 1H, H-5), 1.49 (td, *J* = 14.0, 4.1 Hz, 1H, H_b-2), 1.11 (s, 3H, Me-19), 1.06 (s, 3H, Me-18), 1.03 (s, 3H, Me-17), 1.00 (s, 3H, Me-20); ^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ_C 216.9 (C-3), 144.5 (C-15), 135.1 (C-8), 120.7 (C-7), 113.8 (C-16), 74.1 (C-12), 51.7 (C-5), 47.5 (C-13), 44.4 (C-9), 41.3 (C-4), 39.2 (C-14), 37.9 (C-1), 34.8 (C-10), 34.7 (C-2), 27.9 (C-11), 25.5 (C-18), 24.9 (C-17), 23.8 (C-6), 22.5 (C-19), 14.4 (C-20)。以上波谱数据与文献[9]中报道的euphlactenoid E的波谱数据一致, 因此鉴定化合物**3**为euphlactenoid E。

化合物**4**: 淡黄色胶状固体; ESI-MS *m*/*z* 361.3 $[M+H]^+$, 分子式为$C_{22}H_{32}O_4$; $[\alpha]_D^{30}$ +10 (*c* 0.01, MeOH); ECD (0.25 mg·mL^{-1}, MeOH) λ ($\Delta\varepsilon$) 217 (−4.79), 251 (+7.01), 326 (−2.15) nm; ^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H 5.74 (dd, *J* = 17.5, 10.8 Hz, 1H, H-15), 5.21 (dd, *J* = 10.8, 1.1 Hz, 1H, H_a-16), 5.18 (dd, *J* = 17.5, 1.1 Hz, 1H, H_b-16), 4.53 (dd, *J* = 11.8, 4.4 Hz, 1H, H-3), 3.57 (m, 1H, H-12), 2.52 (m, 1H, H_a-11), 2.48 (dd, 1H, *J* = 13.9, 3.9 Hz, H_a-6), 2.43 (d, 1H, *J*=13.9 Hz, H_b-6), 2.18 (m, 1H, H_b-11), 2.07 (s, 3H, OAc), 1.90 (dt, *J* = 13.1, 3.5 Hz, 1H, H-14), 1.82 (overlapped, 2H, H_a-2 and H-5), 1.71 (m, 1H, H_b-2), 1.53 (m, 1H, H-1), 1.13 (s, 3H, Me-20), 0.97 (s, 3H, Me-18), 0.92 (s, 3H, Me-17), 0.89 (s, 3H, Me-19); ^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ_C 199.1 (C-7), 171.0 (C-OAc), 162.2 (C-9), 145.0 (C-15), 128.4 (C-8), 115.6 (C-16), 79.6 (C-3), 71.2 (C-12), 49.4 (C-5), 40.2 (C-13), 39.3 (C-10), 37.7 (C-4), 34.9 (C-6), 34.7 (C-14), 33.7 (C-1), 30.2 (C-11), 27.5 (C-19), 23.8 (C-2), 21.4 (C-OAc), 18.0 (C-20), 16.4 (C-18), 14.9 (C-17)。以上波谱数据与文献[9]报道的euphlactenoid G的波谱数据基本一致, 因此鉴定化合物**4**为euphlactenoid G。

化合物**5**: 白色固体粉末; ESI-MS *m*/*z* 339.5 $[M+Cl]^-$, 分子式为$C_{20}H_{32}O_2$; $[\alpha]_D^{30}$ −46 (*c* 0.08, MeOH); ECD (0.04 mg·mL^{-1}, MeOH) λ ($\Delta\varepsilon$) 214 (+13.84) nm; ^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H 5.75 (dd, *J* = 17.5, 10.8 Hz, 1H, H-15), 5.17 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H, H_a-16), 5.13 (d, *J* = 17.5 Hz, 1H, H_b-16), 3.55 (dd, *J* = 9.6, 5.6 Hz, 1H, H-12), 3.24 (dd, *J* = 11.7, 4.5 Hz, 1H, H-3), 2.28 (dd, *J* = 16.7, 4.1 Hz, 1H, H_a-11), 1.99 (d, *J* = 17.4 Hz, 1H, H_a-14), 1.89 (m, 1H, H_b-11), 1.69 (d, *J* = 17.4 Hz, 1H, H_b-14), 1.12 (brd, *J* = 12.5, 1H, H-5), 1.01 (s, 3H, Me-18), 0.97 (s, 3H, Me-20), 0.94 (s, 3H, Me-17), 0.81 (s, 3H, Me-19); ^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ_C 146.4 (C-15), 134.7 (C-9), 124.4 (C-8), 114.7 (C-16), 79.0 (C-3), 72.4 (C-12), 51.0 (C-5), 43.1 (C-14), 41.1 (C-13), 38.9 (C-4), 37.4 (C-10), 34.8 (C-1), 32.2 (C-11), 28.7 (C-19), 28.2 (C-2), 27.8 (C-7), 19.4 (C-6), 18.7 (C-20), 15.7 (C-18), 14.5 (C-17)。以上波谱数据与文献[10]报道的*ent*-3*β*,11*α*-dihydroxypimara-8,15-diene的波谱数据基本一致, 因此鉴定化合物**5**为*ent*-3*β*,11*α*-dihydroxypimara-8,15-diene。

7-Deoxy-12-*O*-ethyl-langduin B (**6**): 淡黄色胶状固体; $[\alpha]_D^{25}$ −86 (*c* 0.05, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 231 (4.13), 288 (4.08) nm; ECD (0.50 mg·mL^{-1}, MeOH) λ ($\Delta\varepsilon$) 198 (−0.90), 248 (+1.40), 289 (−2.23) nm; ^{1}H 和 ^{13}C NMR (in $CDCl_3$) 见表1; HR-ESI-MS *m*/*z* 377.232 8 $[M+H]^+$ (计算值$C_{22}H_{33}O_5^+$, 377.232 3)。

化合物**7**: 白色固体粉末; ESI-MS *m*/*z* 317.2 $[M+H]^+$, 分子式为$C_{20}H_{28}O_3$; $[\alpha]_D^{30}$ +118 (*c* 0.14, MeOH); ECD (0.35 mg·mL^{-1}, MeOH) λ ($\Delta\varepsilon$) 211 (−1.28), 221 (−1.16), 238 (−1.60), 277 (+4.49) nm; ^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H 6.31 (s, 1H, H-14), 4.90 (m, 1H, H-12), 4.49 (t, *J* = 2.7 Hz, 1H, H-11), 2.53 (m, 1H, H-7), 2.25 (m, 1H, H-9), 1.94 (d, *J* = 12.8 Hz, 1H, H-6), 1.86 (s, 3H, Me-15), 1.24 (m, 1H, H-5), 0.92 (s, 6H, Me-18, Me-20), 0.86 (s, 3H, Me-19); ^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ_C 175.5 (C-16), 152.7 (C-8), 150.1 (C-13), 118.1 (C-15), 113.5 (C-14), 79.5 (C-12), 64.5 (C-11), 60.9 (C-9), 55.4 (C-5), 41.7 (C-3), 40.3 (C-10), 39.4 (C-1), 37.1 (C-7), 33.9 (C-18), 33.6 (C-4), 23.8 (C-6), 21.8 (C-19), 19.0 (C-2), 17.3 (C-20), 8.5 (C-17)。以上波谱数据与文献[11]中报道的*ent*-11*α*-hydroxyabieta-8(14),13(15)-dien-16,12-olide的波谱数据基本一致, 因此鉴定化合物**7**为*ent*-11*α*-hydroxy-abieta-8(14),13(15)-dien-16,12-olide。

化合物**8**: 无色胶状固体; ESI-MS *m*/*z* 425.2 $[M+Na]^+$, 分子式为$C_{24}H_{34}O_5$; $[\alpha]_D^{30}$ +32 (*c* 0.68, MeOH); ECD (0.34 mg·mL^{-1}, MeOH) λ ($\Delta\varepsilon$) 200 (+1.70), 225 (−0.99), 309 (+1.05) nm; ^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H 5.03 (s, 1H, H_a-17), 4.87 (s, 1H, H_b-17), 4.59 (d, *J* =

11.4 Hz, 1H, H_a-19), 3.89 (br s, 1H, H-13), 3.85 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H, H_b-19), 2.83 (m, 1H, H-12), 2.72 (m, 1H, H_a-2), 2.43 (m, 1H, H_a-7), 2.33 (overlapped, 3H, H_b-2, H_2-15), 2.21 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, OBu), 2.03 (m, 1H, H_a-11), 1.93 (m, 1H, H_a-1), 1.76 (m, 1H, H_b-11), 1.38 (overlapped, 2H, H_b-1, H-5), 1.16 (s, 3H, Me-18), 0.94 (s, 3H, Me-20), 0.91 (t, 3H, *J* = 7.4 Hz, Me-butyroyl); ^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ_C 217.8 (C-14), 212.3 (C-3), 173.6 (C-21), 142.2 (C-16) 111.4 (C-17), 75.2 (C-13), 65.8 (C-19), 56.9 (C-5), 51.9 (C-4), 51.3 (C-9), 47.3 (C-8), 44.8 (C-12), 43.7 (C-15), 37.7 (C-10), 37.3 (C-1), 36.1 (C-22), 34.9 (C-2), 30.8 (C-7), 25.7 (C-11), 21.3 (C-18), 20.1 (C-6), 18.4 (C-23), 14.4 (C-20), 13.7 (C-24)。以上波谱数据与文献[12]中报道的antiquorpene F的波谱数据基本一致, 因此鉴定化合物**8**为antiquorpene F。

化合物**9**: 暗红色胶状固体; ESI-MS *m*/*z*: 349.0 $[M+Cl]^-$, 分子式为$C_{20}H_{26}O_3$; $[\alpha]_D^{30}$ +38 (*c* 0.13, MeOH); ECD (0.13 mg·mL^{-1}, MeOH) λ ($\Delta\varepsilon$) 200 (+3.76), 219 (−2.02), 306 (+1.85) nm; ^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H 6.81 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H, H-1), 5.91 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H, H-2), 5.05 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H, H_a-17), 4.89 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H, H_b-17), 3.88 (d, *J* = 3.0 Hz 1H, H-13), 2.88 (q, *J* = 3.3 Hz, 1H, H-12), 2.46 (dt, *J* = 13.6, 3.3 Hz, 1H, H-7), 2.35 (brs, 2H, H-15), 2.19 (m, 2H, H-11), 1.16 (s, 3H, Me-18), 1.05 (s, 3H, Me-19), 0.91 (s, 3H, Me-20); ^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ_C 217.8 (C-14), 204.4 (C-3), 154.8 (C-1), 141.8 (C-16), 126.7 (C-2), 111.5 (C-17), 75.1 (C-13), 52.7 (C-5), 47.6 (C-8), 46.9 (C-9), 44.6 (C-4), 44.5 (C-12), 43.6 (C-15), 40.2 (C-10), 30.3 (C-7), 27.5 (C-18), 25.5 (C-11), 21.7 (C-19), 19.3 (C-6), 17.1 (C-20)。以上波谱数据与文献[13]报道的euphwanoid F的波谱数据基本一致, 因此鉴定化合物**9**为euphwanoid F。

化合物**10**: 白色固体粉末; ESI-MS *m*/*z* 317.2 $[M+H]^+$, 分子式为$C_{20}H_{28}O_3$; $[\alpha]_D^{30}$ +44 (*c* 0.13, MeOH); ECD (0.13 mg·mL^{-1}, MeOH) λ ($\Delta\varepsilon$) 200 (+5.07), 218 (−2.55), 305 (+2.27) nm; ^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H 5.00 (brs, 1H, H_a-17), 4.83 (brs, 1H, H_b-17), 3.86 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H, H-13), 2.79 (q, *J* = 3.0 Hz, 1H, H_a-12), 2.52 (ddd, *J* = 15.8, 13.2, 6.4 Hz, 1H, H_a-2), 2.38 (dt, *J* = 13.6, 3.3 Hz, 1H, H_b-2), 2.31 (m, 1H, H_b-2), 2.29 (m, 2H, H_2-15), 1.99 (ddd, *J* = 14.1, 11.6, 3.8 Hz, 1H, H_a-11), 1.84 (ddd, *J* = 13.4, 6.4, 3.2 Hz, 1H, H_a-1), 1.73 (ddd, *J* = 14.1, 6.3, 2.6 Hz, 1H, H_b-11), 1.64 (dd, *J* = 11.6, 63 Hz, 1H, H-9), 1.48 (m, 2H, H_2-6), 1.37 (td, *J* = 13.4, 5.5 Hz, 1H, H_b-1), 1.29 (m, 1H, H-5), 1.06 (s, 3H, Me-18), 0.98 (s, 3H, Me-19), 0.92 (m, 1H, H_b-7), 0.82 (s, 3H, Me-20); ^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ_C 218.1 (C-14), 216.1 (C-3), 142.3 (C-16), 111.1 (C-17), 75.1 (C-13), 55.1 (C-5), 51.1 (C-9), 47.5 (C-4), 47.3 (C-8), 44.8 (C-12), 43.6 (C-15), 37.5 (C-10), 36.7 (C-1), 34.1 (C-2), 30.4 (C-7), 26.1 (C-18), 25.3 (C-11), 21.9 (C-19), 19.9 (C-6), 13.7 (C-20)。以上波谱数据与文献[14]报道的*ent*-(13*S*)-13-hydroxyatis-16-ene-3,14-dione的波谱数据基本一致, 因此鉴定化合物**10**为*ent*-(13*S*)-13-hydroxyatis-16-ene-3,14-dione。

化合物**11**: 无色胶状固体; ESI-MS *m*/*z*: 341.2 $[M+Na]^+$, 分子式为$C_{20}H_{30}O_3$; $[\alpha]_D^{30}$ +16 (*c* 0.08, MeOH); ECD (0.08 mg·mL^{-1}, MeOH) λ ($\Delta\varepsilon$) 199 (+2.72), 218 (−1.96), 301 (+1.34) nm; ^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H 5.00 (brs, 1H, H_a-17), 4.84 (brs, 1H, H_b-17), 3.85 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H, H-13), 3.22 (dd, *J* = 11.6, 4.1 Hz, 1H, H-3), 2.78 (q, *J* = 3.0 Hz, 1H, H-12), 2.39 (m, 1H, H_a-7), 2.29 (t, *J* = 2.4 Hz, 2H, H_2-15), 1.95 (ddd, *J* = 14.2, 11.5, 3.8 Hz, 1H, H_a-11), 1.39 (m, 2H, H_2-6), 1.00 (s, 3H, Me-18), 0.90 (td, *J* = 13.4, 4.7 Hz, 1H, H_b-7), 0.76 (s, 3H, Me-19), 0.67 (s, 3H, Me-20); ^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ_C 218.5 (C-14), 142.9 (C-16), 110.9 (C-17), 79.0 (C-3), 75.3 (C-13), 54.7 (C-5), 52.1 (C-9), 47.5 (C-8), 45.0 (C-12), 44.1 (C-15.), 38.8 (C-4), 38.0 (C-10), 36.5 (C-1), 30.9 (C-7), 28.6 (C-18), 27.0 (C-2), 25.4 (C-11), 19.0 (C-6), 15.7 (C-19), 14.2 (C-20)。以上波谱数据与文献[15]报道的*ent*-3β,13*S*-dihydroxyatis-16-en-14-one的波谱数据基本一致, 因此鉴定化合物**11**为*ent*-3β,13*S*-dihydroxyatis-16-en-14-one。

化合物**12**: 无色胶状固体; ESI-MS *m*/*z* 317.1 $[M-H]^-$, 分子式为$C_{20}H_{30}O_3$; $[\alpha]_D^{30}$ +10 (*c* 0.01, MeOH); ECD (0.24 mg·mL^{-1}, MeOH) λ ($\Delta\varepsilon$) 198 (+3.87), 215 (−2.57), 295 (+1.33) nm; ^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H 4.87 (s, 1H, H_a-17), 4.66 (s, 1H, H_b-17), 4.15 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H, H_a-19), 3.42 (dd, *J* = 11.3, 5.0 Hz, 1H, H-3), 3.32 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H, H_b-19), 2.69 (t, *J* = 3.1 Hz, 1H, H-12), 2.28 (m, 4H, H_a-7, H-13, H_a-15), 2.19 (m, 1H, H_b-15), 1.85 (m, 1H, H_a-11), 1.74 (m, 1H, H_a-2), 1.69 (m, 1H, H_b-2), 1.54 (dd, *J* = 10.8, 6.7 Hz, 1H, H-9), 1.42 (qd, *J* = 13.1, 3.9 Hz, 1H, H_b-6), 1.23 (s, 3H, Me-18), 0.98 (m, 1H, H_b-1), 0.93 (dd, *J* = 12.7, 2.2 Hz, 1H, H_b-7), 0.86 (td, *J* = 13.2, 4.8 Hz, 1H, H_b-7), 0.64 (s, 3H, Me-20); ^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ_C 216.6 (C-14), 147.3 (C-16), 106.9 (C-17), 80.8 (C-3), 64.2 (C-19), 55.4 (C-5), 52.7 (C-9), 47.7 (C-8), 44.5 (C-13), 42.7 (C-4), 42.6 (C-

15), 38.4 (C-12), 37.6 (C-10), 36.5 (C-1), 31.8 (C-7), 28.1 (C-11), 27.3 (C-2), 22.6 (C-18), 18.9 (C-6), 14.0 (C-20)。以上波谱数据与文献[16]报道的phorneroid J的波谱数据基本一致, 因此鉴定化合物**12**为phorneroid J。

化合物**13**: 无色胶状固体; ESI-MS *m*/*z* 317.3 [M−H]$^-$, 分子式为$C_{20}H_{30}O_3$; $[\alpha]_D^{30}$ +34 (*c* 1.0, MeOH); ECD (0.25 mg·mL^{-1}, MeOH) λ ($\Delta\varepsilon$) 208 (+4.18), 236 (−9.99), 341 (+2.00) nm; ^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H 6.93 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H, H-1), 5.82 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H, H-2), 3.59 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H, H_a-17), 3.45 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H, H_b-17), 2.21 (m, 1H, H_a-13), 1.89 (m, 1H, H-12), 1.64 (m, 1H, H-5), 1.58 (m, 2H, H_2-6), 1.48 (m, 1H, H_b-13), 1.23 (s, 3H, Me-18), 1.17 (dd, *J* = 13.9, 3.6 Hz, 1H, H_b-7), 1.14 (s, 3H, Me-19), 1.08 (s, 3H, Me-20), 0.85 (m, 1H, H-14); ^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ_C 205.4 (C-3), 158.7 (C-1), 125.1 (C-2), 74.1 (C-16), 68.8 (C-17), 53.7 (C-5), 52.3 (C-15), 46.0 (C-9), 44.7 (C-4), 40.2 (C-10), 38.8 (C-7), 33.5 (C-8), 32.1 (C-12), 27.7 (C-14), 27.5 (C-18), 23.1 (C-13), 23.0 (C-11), 21.6 (C-19), 19.0 (C-6), 17.5 (C-20)。以上波谱数据与文献[17]报道的eupneria H的波谱数据基本一致, 因此鉴定化合物**13**为eupneria H。

4 活性测试

4.1 反应溶液的准备

4.1.1 配制底物溶液 精确称取3.2 mg 4-硝基苯基-*β*-*D*-吡喃葡糖糖苷 (pNPG), 加0.1 mol·L^{-1}的磷酸缓冲液 (PBS, pH 6.8) 溶解, 配置成16.0 mmol·L^{-1}的母液。将母液分别稀释成8.0、4.0、2.0、1.0、0.5 mmol·L^{-1} 5个不同梯度的标准品溶液, 备用。

4.1.2 配制*α*-葡萄糖苷酶溶液 将冻干酶粉 (酶活力为16.0 U·mg^{-1}) 用0.1 mol·L^{-1} PBS溶液溶解, 配制成3.2 U·mL^{-1}的母液。然后将酶溶液分别稀释, 配制成1.6、0.8、0.4、0.2、0.1 U·mL^{-1}的酶溶液, 备用。

4.1.3 配制0.2 mol·L^{-1}的Na_2CO_3溶液 称取1.08 g Na_2CO_3于烧杯中, 加入50 mL蒸馏水溶解, 4 °C下保存, 备用。

4.2 *α*-葡萄糖苷酶抑制活性的测定

首先摸索pNPG溶液和酶溶液的最佳浓度, 分别确定为4.0 mmol·L^{-1}和0.4 U·mL^{-1}。

参照本课题组和文献中的方法[18,19]。实验在96孔板中进行, 分为空白组、对照组、阳性对照组和样品组。样品和阿卡波糖用DMSO配制成20 mmol·L^{-1}初始溶液, 空白组依次加入99.0 μL PBS缓冲液、1.0 μL DMSO、25.0 μL PBS; 对照组依次加入99.0 μL PBS缓冲液、1.0 μL DMSO、25.0 μL 0.4 U·mL^{-1}酶溶液; 阳性对照组依次加入99.0 μL PBS缓冲液、1.0 μL阿卡波糖溶液、25.0 μL 0.4 U·mL^{-1}酶溶液; 样品组依次加入99.0 μL PBS缓冲液、1.0 μL样品、25.0 μL 0.4 U·mL^{-1}酶溶液。混合均匀, 于37 °C摇床培养15.0 min, 然后加入25.0 μL pNPG溶液 (4.0 mmol·L^{-1}) 继续于37 °C摇床培养15.0 min, 结束后加入50.0 μL 0.2 mol·L^{-1}的Na_2CO_3溶液中止反应。由于pNPG在*α*-葡萄糖苷酶的作用下能水解产生葡萄糖和PNP, PNP在405 nm处有最大吸收, 用酶标仪测定其在405 nm处的吸光度, 并计算抑制率和IC_{50}值。

作者贡献: 宋辉负责化学成分的提取分离、结构鉴定、活性测试、数据处理及文章初稿撰写; 马仁芬参与结构鉴定、数据分析处理及论文修改; 张华负责经费获取、课题管理、数据核实及论文修改。

利益冲突: 本文中所有作者声明无任何利益冲突。

References

[1] Flora of China Editorial Committee of Chinese Academy of Sciences. Flora of China (中国植物志) [M]. Beijing: Science Press, 1997, 44:62.

[2] Yuan WJ, Gao WF, Zhao JY, et al. Diterpenes with potential treatment of vitiligo from the aerials parts of *Euphorbia antiquorum* L. [J]. Fitoterapia, 2020, 144: 104583.

[3] Tran CL, Dao TBN, Tran TN, et al. Alpha-glucosidase inhibitory diterpenes from *Euphorbia antiquorum* growing in Vietnam [J]. Molecules, 2021, 26: 2257.

[4] Saikia L, Bhattacharyya J, Sen S, et al. A review on ethnobotany, phytochemistry and pharmacological activities of *Euphorbia antiquorum* L. [J]. Chem Biodivers, 2024, 21: e202400331.

[5] Ma RF, Wu Q, Pan YB, et al. Ingenane diterpenoids with anti-inflammatory activity from *Euphorbia antiquorum* [J]. Fitoterapia, 2025, 180: 106350.

[6] Ma RF, Wu Q, Pan YB, et al. Lathyrane diterpenoids with multidrug resistance reversal activity from the tubers of *Euphorbia antiquorum* [J]. Phytochemistry, 2024, 228: 114233.

[7] Chao CH, Cheng JC, Shen DY, et al. Anti-hepatitis C virus dinorditerpenes from the roots of *Flueggea virosa* [J]. J Nat Prod, 2014, 77: 22-28.

[8] Wang CJ, Yan QL, Ma YF, et al. *ent*-Abietane and tigliane diterpenoids from the roots of *Euphorbia fischeriana* and their inhibitory effects against *Mycobacterium smegmatis* [J]. J Nat Prod, 2017, 80: 1248-1254.

[9] Zhao Y, Hua C, Sha Y, et al. Diterpenoids from *Euphorbia lactea* and their anti-HIV-1 activity [J]. Phytochemistry, 2023, 213: 113745.

[10] Dräger G, Jeske F, Kunst E, et al. Tonantzitlolone and other diterpenes from *Stillingia sanguinolenta* [J]. Eur J Org Chem, 2007, 36: 6128.

[11] Lal AR, Cambie RC, Rutledge PS, et al. *ent*-Pimarane and *ent*-

abietane diterpenes from *Euphorbia fidjiana* [J]. Phytochemistry, 1990, 29: 2239-2246.

[12] Liang Y, An L, Shi Z, et al. Bioactive diterpenoids from the stems of *Euphorbia antiquorum* [J]. J Nat Prod, 2019, 82: 1634-1644.

[13] Wang Y, Zhu M, Liang J, et al. Diterpenoids from the whole plant of *Euphorbia wallichii* and their protective effects on H_2O_2-induced BV-2 microglial cells injury [J]. Bioorg Chem, 2022, 128: 106067.

[14] Lal AR, Cambie RC, Rutledge PS, et al. *ent*-Atisane diterpenes from *Euphorbia fidjiana* [J]. Phytochemistry, 1990, 29: 1925-1935.

[15] Zhang BY, Wang H, Luo XD, et al. Bisyinshanic acids A and B, two novel diterpene dimers from the roots of *Euphorbia yinshanica* [J]. Helv Chim Acta, 2012, 95: 1672-1679.

[16] Gao Y, Zhou JS, Liu HC, et al. Phorneroids A–M, diverse types of diterpenoids from *Euphorbia neriifolia* [J]. Phytochemistry, 2022, 198: 113142.

[17] Yang HY, Wen ML, Fu SJ, et al. *ent*-Atisane diterpenoids from *Euphorbia helioscopia* and their anti-inflammatory activities [J]. Chem Biodivers, 2023, 20: e202301454.

[18] Song XQ, Sun J, Yu JH, et al. Prenylated indole alkaloids and lignans from the flower buds of *Tussilago farfara* [J]. Fitoterapia, 2020, 146: 104729.

[19] Yan X, Qin L, Zang R, et al. Chemical consitituents and hypoglycemic activity of *Sophora tonkinensis* [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2024, 59: 3135−3140.