

黄皮种子的化学成分及生物活性研究

陈惠琴¹, 范玉娇^{1,2#}, 蔡彩虹¹, 董文化¹, 黄绵佳², 许书慧³, 李飞翔⁴, 梅文莉^{1*}, 戴好富^{1*}

1. 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学与遗传资源利用重点实验室, 海南 海口 571101

2. 海南大学热带农林学院, 海南 海口 570228

3. 海口市人民医院 药学部, 海南 海口 570208

4. 海南黎药堂生物科技开发有限公司, 海南 海口 570216

摘要: 目的 研究黄皮 *Clausena lansium* 种子中的化学成分及其生物活性。方法 采用多种色谱技术如硅胶、Sephadex LH-20 凝胶和半制备高效液相色谱法等对黄皮种子中的化合物进行分离纯化, 并根据理化常数、核磁和质谱数据进行结构鉴定; 以及通过 PNPG 法和贝曼漏斗法对化合物进行体外降血糖活性和全齿复活线虫致死活性测试。结果 从黄皮种子中共分离到 11 个化合物, 分别鉴定为 (4*R**,6*R**)-6-羟基胡椒酮(1)、(4*S**,6*R**)-6-羟基胡椒酮(2)、(1*S**,2*S**,4*R**)-1-methyl-4-(prop-1-en-2-yl) cyclohexane-1,2-diol (3)、subamone (4)、methyl (1*R**,2*R**,2'*Z*)-2-(5'-hydroxy-pent-2'-enyl)-3-oxo-cyclopentane acetate (5)、5-hydroxy-4-phenyl-5*H*-furan-2-one (6)、黑麦草内酯(7)、xylogranatinin (8)、2,6-dihydroxyhumula-3(12),7(13),9(*E*)-triene (9)、xanthoxol (10) 和 ligballinol (11)。结论 化合物 1~8 均为首次从该属植物中分离得到, 化合物 9 为首次从该植物中分离得到。其中化合物 8 具有较强的体外 α -葡萄糖苷酶抑制活性, 化合物 5 具有较强的全齿复活线虫致死活性。

关键词: 芸香科; 黄皮; (4*R**,6*R**)-6-羟基胡椒酮; α -葡萄糖苷酶抑制活性; 全齿复活线虫致死活性

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)02-0324-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.02.009

Chemical constituents and their bioactivities from seeds of *Clausena lansium*

CHEN Hui-qin¹, FAN Yu-jiao^{1,2}, CAI Cai-hong¹, DONG Wen-hua¹, HUANG Mian-jia², XU Shu-hui³,
LI Fei-xiang⁴, MEI Wen-li¹, DAI Hao-fu¹

1. Key Laboratory of Biology and Genetic Resources of Tropical Crops, Ministry of Agriculture, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China

2. School of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Haikou 570228, China

3. Department of Pharmacy, Haikou People's Hospital, Haikou 570208, China

4. Hainan Liyaotang Biotechnology Development Co., Ltd., Haikou 570216, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents and their biological activities of the seeds of *Clausena lansium*. **Methods** The compounds were isolated by various column chromatographic techniques including silica gel, Sephadex LH-20, semi-preparative HPLC, *et al.*, and their structures were identified through a combined analysis of physicochemical properties, as well as NMR and MS data. The *in vitro* α -glucosidase inhibitory activity and nematocidal activity against *Panagrellus redivivus* were screened by PNPG and Berman funnel methods, respectively. **Results** Eleven compounds were isolated and identified as (4*R**,6*R**)-6-hydroxypiperitone (1), (4*S**,6*R**)-6-hydroxypiperitone (2), (1*S**,2*S**,4*R**)-1-methyl-4-(prop-1-en-2-yl) cyclohexane-1,2-diol (3), subamone (4), methyl (1*R**,2*R**,2'*Z*)-2-(5'-hydroxy-pent-2'-enyl)-3-oxo-cyclopentane acetate (5), 5-hydroxy-4-phenyl-5*H*-furan-2-one (6), loliolide (7), xylogranatinin (8), 2,6-dihydroxyhumula-3(12),7(13),9(*E*)-triene (9), xanthoxol (10), and ligballinol (11). **Conclusion** Compounds

收稿日期: 2018-08-06

基金项目: 海南省重点研发计划项目 (ZDYF2017124, ZDYF2018070); 海南省卫生计生科教项目 (16A200125); 中国热带农业科学院基本科研业务费专项资金 (17CXTD-15); 中国热带农业科学院热带生物技术研究所基本科研业务费专项 (1630052016008); 海南省自然科学基金创新研究团队项目 (2017CXTD020)

作者简介: 陈惠琴 (1985—), 女, 助理研究员, 博士, 从事天然产物化学研究。Tel: 17889989196 E-mail: chenhuaiqin@itbb.org.cn

***通信作者** 梅文莉 (1974—), 女, 研究员, 博士, 从事天然产物化学研究。E-mail: meiwenli@itbb.org.cn

戴好富 (1974—), 男, 研究员, 博士, 从事天然产物化学研究。E-mail: daihaofu@itbb.org.cn

#并列第一作者 范玉娇 (1993—), 女, 硕士研究生, 从事天然产物化学研究。E-mail: 634447748@qq.com

1—8 are isolated from the genus for the first time, and compound 9 is first isolated from this species. Compound 8 showed strong α -glucosidase inhibitory activity, and compound 5 exhibited potent nematocidal activity.

Key words: Rutaceae; *Clausena lansium* (Lour.) Skeels; (4*R**,6*R**)-6-hydroxypiperitone; α -glucosidase inhibitory activity; nematocidal activity against *Panagrellus redivivus*!

黄皮 *Clausena lansium* (Lour.) Skeels 为芸香科黄皮属植物,在广东、广西、台湾、福建、云南、海南等地均有广泛栽培。黄皮的药用历史由来已久,民间多用于治疗食积胀满、脘腹疼痛、疝疼、痰饮、咳嗽等症^[1]。文献报道黄皮中含有丰富的呋喃类^[2]、酰胺类生物碱^[3]及香豆素^[4],还有少量的萜类、木脂素、苯丙素等。现代药理研究表明,该植物具有保肝解毒^[5]、促智^[6]、降血糖^[7]、抑菌^[8]和细胞毒^[9]等广泛的药理活性。本研究前期分别对黄皮果皮和种子的乙醇提取物进行了化学成分研究,发现了大量香豆素类和生物碱类化合物^[10-13]。为进一步丰富黄皮的化学成分及其生物活性,本研究继续对黄皮种子的化学成分进行研究,共分离得到8个化合物,分别为(4*R**,6*R**)-6-羟基胡椒酮 [(4*R**,6*R**)-6-hydroxypiperitone, 1]、(4*S**,6*R**)-6-羟基胡椒酮 [(4*S**,6*R**)-6-hydroxypiperitone, 2]、(1*S**,2*S**,4*R**)-1-methyl-4-(prop-1-en-2-yl)cyclohexane-1,2-diol (3)、subamone (4)、methyl (1*R**,2*R**,2'*Z*)-2-(5'-hydroxypent-2'-enyl)-3-oxo-cyclopentane acetate (5)、5-hydroxy-4-phenyl-5*H*-furan-2-one (6)、黑麦草内酯 (loliolide, 7)、xylogranatinin (8)、2,6-dihydroxyhumula-3(12),7(13),9(*E*)-triene (9)、xanthoxol (10) 和 ligballinol (11)。化合物1~8为首次从该属植物中分离得到,化合物9为首次从该种植物中分离得到。并发现化合物8具有较强的降血糖活性,化合物5具有较强的杀线虫活性。

1 仪器与材料

Brucker AV-500 核磁共振波谱仪(TMS 为内标,瑞士 Brucker 公司); Micromass Autospec-Uitima-TOF 质谱仪(美国 Waters 公司); 安捷伦 1260 分析型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司); 戴安 SUMMITP680A 半制备高效液相色谱仪(美国戴安公司); 旋转蒸发仪(德国 Heidolph 公司); 万分之一电子秤(北京赛多利斯天平有限公司); 超纯水装置(厦门锐思捷水纯化技术有限公司); 超净工作台(上海博讯实业有限公司)。

黄皮果实于2011年5月购自海南省儋州市,经中国热带农业科学院热带生物技术研究所王军博士

鉴定为黄皮 *Clausena lansium* (Lour.) Skeels。标本(CL20110501)现存放于中国热带农业科学院热带生物技术研究所。

2 方法

2.1 提取与分离

黄皮种子晒干粉碎后在室温下用95%乙醇浸提3次,每次7d。所得浸提液滤过后经减压浓缩得乙醇粗浸膏,随后将其分散于水中成悬浊液,依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取,分别减压浓缩得到石油醚萃取物、醋酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物和水相4个部分。

醋酸乙酯萃取物(84.6 g)重结晶除去大量黄色结晶后,剩余样品经大孔吸附树脂以甲醇-水(40%~100%)和丙酮先后进行洗脱,分段收集,通过 TLC 薄层色谱检测,合并相同的部分,得到13个流分 Fr. 1~13。Fr. 2 (7.6 g)经 RP-18 反相色谱,以甲醇-水(30%~100%)为流动相进行梯度洗脱得到13个流分 Fr. 2.1~2.13。流分 Fr. 2.4 (520.6 mg)经硅胶柱色谱,以氯仿-甲醇(0:1→1:0)为流动相进行梯度洗脱得到9个流分 Fr. 2.4.1~2.4.9。流分 Fr. 2.4.1 (50.8 mg)经半制备高效液相色谱(30%乙腈为流动相)分离得到化合物4 (9.6 mg, t_R =8.6 min),流分 Fr. 2.4.3 经半制备高效液相色谱(20%乙腈为流动相)分离得到化合物1 (6.3 mg, t_R =18.8 min)和2 (4.4 mg, t_R =15.9 min),流分 Fr. 2.4.4 (138.6 mg)经半制备高效液相色谱(20%乙腈为流动相)分离得到化合物3 (3.0 mg, t_R =13.9 min)和6 (2.4 mg, t_R =17.4 min),流分 Fr. 2.4.7 (22.8 mg)经半制备高效液相色谱(15%乙腈为流动相)分离得到化合物5 (5.7 mg, t_R =37.4 min),流分 Fr. 2.4.8 经半制备高效液相色谱(15%乙腈为流动相)分离得到化合物8 (0.8 mg, t_R =19.3 min)。流分 Fr. 1 经凝胶柱色谱(甲醇为流动相)分离得到 Fr. 1.3 (20.8 mg),后经半制备高效液相色谱(15%乙腈为流动相)分离得到化合物7 (2.6 mg, t_R =24.2 min)。Fr. 4 (1.5 g)经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(甲醇为流动相)分离得到18个流分 Fr. 4.1~4.18。流分 Fr. 4.5 (96.0 mg)经硅胶柱色

谱,以氯仿-甲醇(80:1~10:1)梯度洗脱,得到13个流分Fr. 4.5.1~4.5.13。Fr. 4.5.2经半制备高效液相色谱(65%甲醇为流动相)纯化后得化合物**9**(5.0 mg, t_R =25.6 min)。流分Fr. 4.12经半制备高效液相色谱(以30%乙腈为流动相)分离得到Fr. 4.12.2,后经硅胶柱色谱(以氯仿-甲醇20:1为流动相)纯化后得到化合物**11**(10.3 mg)。流分Fr. 4.13通过重结晶得到化合物**10**(9.9 mg)。

2.2 α -葡萄糖苷酶抑制活性

采用PNPG法^[14]评价各单体化合物的 α -葡萄糖苷酶抑制活性。先配制好PBS缓冲溶液(pH 6.8, 0.2 mol/L)及待测化合物溶液(用20 μ L的DMSO将1 mg的待测化合物溶解,取5 μ L该溶液加入45 μ L PBS溶液,混合均匀即为5 mg/mL的待测化合物溶液)。将以下各溶液于96孔酶标板混匀后置于酶标仪中:10 μ L待测样品溶液+70 μ L PBS溶液+20 μ L PBS溶液溶解的2 U/mL α -葡萄糖苷酶溶液(实验组),10 μ L 10%的DMSO-PBS溶液+70 μ L PBS溶液+20 μ L PBS溶液溶解的2 U/mL α -葡萄糖苷酶溶液(阴性对照),10 μ L的5 mg/mL阿卡波糖溶液+70 μ L PBS溶液+20 μ L PBS溶液溶解的2 U/mL α -葡萄糖苷酶溶液(阳性对照),10 μ L待测样品溶液+90 μ L PBS溶液(背景对照),10 μ L 10%的DMSO-PBS溶液+90 μ L的PBS溶液(空白对照)。将96孔板于37 $^{\circ}$ C下温育15 min,之后分别加入20 μ L PNPG溶液(2.5 mmol/L);将96孔板于37 $^{\circ}$ C下温育30 min,加入80 μ L Na₂CO₃终止液(0.2 mol/L),用酶标仪(测定波长405 nm)测定并记录每孔的吸光度(A)值,重复3次取平均值。按照公式计算化合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性。

$$\text{抑制率} = [(A_{\text{阴性}} - A_{\text{空白}}) - (A_{\text{实验}} - A_{\text{背景}})] / (A_{\text{阴性}} - A_{\text{空白}})$$

2.3 全齿复活线虫致死活性研究

全齿复活线虫致死活性测定方法参照马青云等^[15]的方法。全齿复活线虫接种于燕麦培养基上,28 $^{\circ}$ C条件下培养7~10 d。按贝曼漏斗法,利用多层擦镜纸于无菌水中滤过线虫3次,获得线虫悬浮液。将1 mg待测样品溶于20 μ L DMSO中配制成待测样品。于96孔板中分别配制以下反应体系:5 μ L待测样品(终质量浓度为2.5 mg/mL)+30 μ L线虫悬浮液(200~300条线虫)+无菌水65 μ L作为实验组;5 μ L DMSO+30 μ L线虫悬浮液(200~300条线虫)+无菌水65 μ L作为阴性对照组;5 μ L除线磷(终质量浓度为2.5 mg/mL)+30 μ L线虫悬

浮液(200~300条线虫)+无菌水65 μ L作为阳性对照组,混匀后于室温条件下培养24 h,在解剖镜下观察并统计线虫死亡数,统计的线虫数量不少于100条。每个处理均设3次重复。

$$\text{线虫死亡率} = \text{死亡线虫数} / \text{计数线虫总数}$$

$$\text{线虫校正死亡率} = (\text{处理线虫死亡率} - \text{对照线虫死亡率}) / (1 - \text{对照线虫死亡率})$$

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物**1**:无色油状物(CH₃OH);ESI-MS m/z :191.3 [M+Na]⁺;分子式为C₁₀H₁₆O₂; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.85 (1H, s, H-2), 4.47 (1H, dd, J = 10.6, 4.5 Hz, H-4), 2.53 (1H, m, H-7), 2.26 (1H, m, H-5a), 2.19 (1H, m, H-6), 2.03 (3H, s, 3-CH₃), 1.73 (1H, m, H-5b), 0.96 (3H, d, J = 7.1 Hz, 7a-CH₃), 0.80 (3H, d, J = 6.8 Hz, 7b-CH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 199.8 (C-1), 127.6 (C-2), 163.2 (C-3), 70.6 (C-4), 32.7 (C-5), 51.1 (C-6), 25.7 (C-7), 20.5 (3-CH₃), 19.6 (7a-CH₃), 17.6 (7b-CH₃)。根据以上波谱数据及化合物的理化性质,结合文献比对^[16],鉴定化合物**1**为(4*R**,6*R**)-6-羟基胡椒酮。

化合物**2**:无色油状物(CH₃OH);ESI-MS m/z :191.3 [M+Na]⁺;分子式为C₁₀H₁₆O₂; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.81 (1H, s, H-2), 4.36 (1H, t, J = 4.9 Hz, H-4), 2.37 (1H, m, H-6), 2.26 (1H, m, H-7), 2.16 (1H, m, H-5a), 2.05 (1H, m, H-5b), 2.03 (3H, s, 3-CH₃), 0.94 (3H, d, J = 6.9 Hz, 7a-CH₃), 0.89 (3H, d, J = 6.8 Hz, 7b-CH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 200.8 (C-1), 127.6 (C-2), 159.0 (C-3), 67.5 (C-4), 32.5 (C-5), 48.5 (C-6), 26.5 (C-7), 21.1 (3-CH₃), 20.8 (7a-CH₃), 19.2 (7b-CH₃)。根据以上波谱数据及化合物的理化性质,结合文献比对^[16],鉴定化合物**2**为(4*S**,6*R**)-6-羟基胡椒酮。

化合物**3**:无色油状物(CH₃OH);ESI-MS m/z :193.4 [M+Na]⁺;分子式为C₁₀H₁₈O₂; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 4.73 (2H, brs, H-9), 3.64 (1H, d, J = 2.9 Hz, H-2), 2.26 (1H, m, H-4), 1.93 (1H, ddd, J = 13.7, 11.7, 2.9 Hz, H-3a), 1.76 (1H, m, H-6a), 1.73 (3H, s, 7-CH₃), 1.68~1.67 (2H, m, H-3b, 5a), 1.56 (2H, m, H-5b, 6b), 1.27 (3H, s, CH₃-10); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 71.4 (C-1), 74.1 (C-2), 34.2 (C-3), 37.6 (C-4), 26.4 (C-5), 33.8 (C-6), 26.9 (C-7), 149.5 (C-8), 109.2 (C-9), 21.2 (C-10)。根据以上波谱

数据及化合物的理化性质, 结合文献比对^[17], 鉴定化合物 **3** 为(1*S**, 2*S**, 4*R**)-1-methyl-4-(prop-1-en-2-yl)cyclohexane-1,2-diol。

化合物 **4**: 无色油状物 (CH₃OH); ESI-MS *m/z*: 191.3 [M+Na]⁺; 分子式为 C₁₀H₁₆O₂; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 6.72 (1H, s, H-2), 4.29 (1H, d, *J* = 9.8 Hz, H-7), 2.37 (1H, dd, *J* = 16.0, 3.7 Hz, H-5b), 2.20 (1H, m, H-4, 5a), 1.91 (1H, m, H-6), 1.74 (3H, s, 3-CH₃), 0.96 (3H, d, *J* = 6.9 Hz, 6-CH₃), 0.90 (3H, d, *J* = 6.9 Hz, 4-CH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ: 202.4 (C-1), 135.4 (C-2), 152.0 (C-3), 27.3 (C-4), 37.2 (C-5), 51.2 (C-6), 69.4 (C-7), 15.4 (3-CH₃), 16.7 (4-CH₃), 20.9 (6-CH₃)。根据以上波谱数据及化合物的理化性质, 结合文献比对^[18], 鉴定化合物 **4** 为 subamone。

化合物 **5**: 无色油状物 (CH₃OH); ESI-MS *m/z*: 263.3 [M+Na]⁺; 分子式为 C₁₃H₁₈O₄; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 5.51 (1H, m, H-2'), 5.47 (1H, m, H-3'), 3.72 (3H, s, 8-CH₃), 3.68 (2H, t, *J* = 6.3 Hz, H-5'), 2.71 (1H, dd, *J* = 19.0, 8.5 Hz, H-6a), 2.45~2.13 (8H, m, H-4a, 4b, 1'a, 1'b, 4'a, 4'b, 5b, 6b), 1.94 (1H, m, H-2), 1.52 (1H, m, H-5a); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 37.9 (C-1), 54.2 (C-2), 219.4 (C-3), 37.9 (C-4), 27.4 (C-5), 39.0 (C-6), 172.9 (C-7), 51.9 (C-8), 25.5 (C-1'), 128.7 (C-2'), 128.5 (C-3'), 31.1 (C-4'), 62.2 (C-5')。根据以上波谱数据及化合物的理化性质, 结合文献比对^[19], 鉴定化合物 **5** 为 methyl (1*R**, 2*R**, 2'*Z*)-2-(5'-hydroxy-pent-2'-enyl)-3-oxo-cyclopentaneacetate。

化合物 **6**: 无色油状物 (CH₃OH); ESI-MS *m/z*: 199.2 [M+Na]⁺; 分子式为 C₁₀H₈O₃; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 7.70 (2H, m, H-2', 6'), 7.49 (3H, m, H-3', 4', 5'), 6.52 (1H, s, H-4), 6.40 (1H, s, H-2); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 170.7 (C-1), 115.2 (C-2), 162.7 (C-3), 97.9 (C-4), 129.1 (C-1'), 128.1 (C-2', 6'), 129.3 (C-3', 5'), 132.0 (C-4')。根据以上波谱数据及化合物的理化性质, 结合文献比对^[20], 鉴定化合物 **6** 为 5-hydroxy-4-phenyl-5*H*-furan-2-one。

化合物 **7**: 无色针晶 (CH₃OH); ESI-MS *m/z*: 219.3 [M+Na]⁺; 分子式为 C₁₁H₁₆O₃; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 5.77 (1H, s, H-3), 4.23 (1H, m, H-6), 2.44 (1H, dd, *J* = 14.0, 4.0 Hz, H-7a), 2.01 (1H, dd, *J* = 14.5, 3.5 Hz, H-5a), 1.78 (3H, s, 7a-CH₃), 1.76

(1H, dd, *J* = 14.0, 4.0 Hz, H-7b), 1.55 (1H, dd, *J* = 14.5, 3.5 Hz, H-5b), 1.49 (3H, s, 4-CH₃), 1.29 (3H, s, 4-CH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ: 185.7 (C-2), 113.3 (C-3), 174.4 (C-3a), 37.2 (C-4), 46.4 (C-5), 67.2 (C-6), 48.0 (C-7), 89.0 (C-7a), 31.0 (7a-CH₃), 27.4 (4-CH₃), 27.0 (4-CH₃)。根据以上波谱数据及化合物的理化性质, 结合文献比对^[21], 鉴定化合物 **7** 为黑麦草内酯。

化合物 **8**: 黄色油状物 (CH₃OH); ESI-MS *m/z*: 215.2 [M+Na]⁺; 分子式为 C₉H₈N₂O₃; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 7.84 (1H, d, *J* = 9.3 Hz, H-8), 7.05 (1H, s, H-5), 6.70 (1H, s, H-2), 6.12 (1H, d, *J* = 9.3 Hz, H-7), 3.89 (3H, s, 3-OCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ: 104.2 (C-2), 148.1 (C-3), 109.2 (C-5), 164.6 (C-6), 111.1 (C-7), 146.4 (C-8), 152.3 (C-9), 155.1 (C-10), 56.7 (3-OCH₃)。根据以上波谱数据及化合物的理化性质, 结合文献比对^[22], 鉴定化合物 **8** 为 xylogranatinin。

化合物 **9**: 黄色油状物 (CH₃OH); ESI-MS *m/z*: 245.3 [M+Na]⁺; 分子式为 C₁₄H₂₂O₂; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 5.41 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-10), 5.33 (1H, m, H-9), 5.11 (1H, s, H-12a), 5.09 (1H, s, H-13a), 4.94 (1H, s, H-12b), 4.84 (1H, s, H-13a), 3.99 (1H, dd, *J* = 8.3, 5.1 Hz, H-6), 3.91 (1H, dd, *J* = 4.5, 1.2 Hz, H-2), 2.90 (1H, dd, *J* = 13.7, 7.0 Hz, H-8a), 2.68 (1H, dd, *J* = 13.7, 5.7 Hz, H-8b), 2.03 (2H, m, H-4), 1.82 (1H, m, H-5a), 1.76 (1H, m, H-1a), 1.52 (1H, m, H-5b), 1.46 (1H, dd, *J* = 14.1, 2.7 Hz, H-1b), 1.12 (3H, s, H-14), 1.00 (3H, s, H-15); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ: 51.8 (C-1), 69.5 (C-2), 153.7 (C-3), 31.8 (C-4), 34.6 (C-5), 75.5 (C-6), 150.9 (C-7), 36.4 (C-8, 11), 125.7 (C-9), 142.5 (C-10), 109.7 (C-12), 114.6 (C-13), 31.3 (C-14), 24.1 (C-15)。根据以上波谱数据及化合物的理化性质, 结合文献比对^[23], 鉴定化合物 **9** 为 2,6-dihydroxyhumula-3(12),7(13),9(*E*)-triene。

化合物 **10**: 橙黄色针状结晶 (CH₃OH); ESI-MS *m/z*: 225.3 [M+Na]⁺; 分子式为 C₁₁H₆O₄; ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.6 (1H, brs, OH), 8.11 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-4), 8.08 (1H, d, *J* = 2.8 Hz, H-9), 7.44 (1H, s, H-5), 7.03 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-10), 6.40 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-3); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 160.1 (C-2), 113.8 (C-3), 145.6 (C-4), 116.3 (C-4a), 110.2 (C-5), 125.2 (C-6), 145.4 (C-7),

130.1 (C-8), 139.7 (C-8a), 147.5 (C-9), 107.1 (C-3')。根据以上波谱数据及化合物的理化性质, 结合文献比对^[24], 鉴定化合物 **10** 为 xanthoxol。

化合物 **11**: 黄色粉末 (CH₃OH); ESI-MS *m/z*: 321.5 [M+Na]⁺; 分子式为 C₁₈H₁₈O₄; ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 9.41 (2H, brs, 2×OH), 7.15 (4H, d, *J* = 8.5 Hz, H-2, 6, 2', 6'), 6.72 (4H, d, *J* = 8.5 Hz, H-3, 5, 3', 5'), 4.59 (2H, d, *J* = 4.2 Hz, H-7, 7'), 4.07 (2H, dd, *J* = 9.0, 6.9 Hz, H-9a, 9'a), 3.69 (2H, dd, *J* = 9.0, 3.6 Hz, H-9b, 9'b), 2.99 (2H, dd, *J* = 6.4, 4.6 Hz, H-8, 8'); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ _C 131.5 (C-1, 1'), 127.5 (C-2, 6, 2', 6'), 115.0 (C-3, 5, 3', 5'), 156.8 (C-4, 4'), 85.0 (C-7, 7'), 53.6 (C-8, 8'), 70.8 (C-9, 9')。根据以上波谱数据及化合物的理化性质, 结合文献比对^[25], 鉴定化合物 **11** 为 ligballinol。

3.2 活性测试结果

3.2.1 α -葡萄糖苷酶抑制活性测试结果 对化合物 **1~9** 进行 α -葡萄糖苷酶抑制活性测试, 结果显示, 化合物 **8** 具有较强的抑制活性, 在质量浓度 0.25 mg/mL 下, 其抑制率为 93.5%, 强于阳性对照阿卡波糖 (抑制率为 54.2%), 化合物 **9** 具有弱的抑制活性, 抑制率为 40.5%。

3.2.2 全齿复活线虫致死活性测试结果 对化合物 **1~8** 进行全齿复活线虫致死活性测试, 结果显示, 化合物 **5** 具有较强的致死活性, 在质量浓度 2.5 mg/mL 下, 其致死率为 92.8%, 强于阳性对照阿维菌素 (抑制率为 80.6%)。

4 讨论

本实验从黄皮种子中共分离得到了 11 个化合物, 结构类型主要有萜类、呋喃衍生物和生物碱。化合物 **1~8** 均为首次从该属植物中分离得到。并且发现化合物 **5** 具有较强的全齿复活线虫致死活性, 化合物 **8** 具有较强的 α -葡萄糖苷酶抑制活性。研究表明黄皮中的 lansiumamide B 等生物碱对线虫具有很高的毒杀活性^[26], 本研究又发现了新的线虫致死活性成分, 为黄皮杀虫活性的研究提供了新的思路。另外 α -葡萄糖苷酶抑制活性化合物的发现则可能是黄皮降血糖作用的活性成分, 为黄皮的药理作用研究提供了物质基础。通过该研究也为黄皮种子这一废弃物的开发利用奠定了物质基础。

参考文献

[1] 张瑞明, 万树青, 赵冬香. 黄皮的化学成分及生物活性研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(1):

118-123.

- [2] Du Y Q, Liu H, Li C J, *et al.* Bioactive carbazole alkaloids from the stems of *Clausena lansium* [J]. *Fitoterapia*, 2015, 103: 122-128.
- [3] Shen D Y, Kuo P C, Huang S C, *et al.* Constituents from the leaves of *Clausena lansium* and their anti-inflammatory activity [J]. *J Nat Med*, 2017, 71(1): 96-104.
- [4] 任强, 李芳, 罗秀珍, 等. 黄皮属植物香豆素类成分研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(5): 1283-1286.
- [5] 官堂明, 刘德承, 王珺飞, 等. 黄皮果提取物对急性乙醇中毒致小鼠肝损伤的保护作用 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2012, 26(6): 829-824.
- [6] 张均田, 段文贞, 刘少林, 等. (-)黄皮酰胺的抗老年痴呆作用 [J]. 医药导报, 2001, 20(7): 403-404.
- [7] Adebajo A C, Iwalewa E O, Obuotor E M, *et al.* Pharmacological properties of the extract and some isolated compounds of *Clausena lansium* stem bark: Anti-trichomonal, antidiabetic, anti-inflammatory, hepatoprotective and antioxidant effects [J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 122(1): 10-19.
- [8] 刘艳霞, 巩自勇, 万树青. 黄皮酰胺类生物碱的提取及对 7 种水果病原真菌的抑菌活性 [J]. 植物保护, 2009, 35(5): 53-56.
- [9] Prasad K N, Xie H H, Hao J, *et al.* Antioxidant and anticancer activities of 8-hydroxypsoralen isolated from wampee [*Clausena lansium* (Lour.) Skeels] peel [J]. *Food Chem*, 2010, 118(1): 62-66.
- [10] 邓会栋, 梅文莉, 左文健, 等. 黄皮果皮中的抗菌活性成分研究 [J]. 热带亚热带植物学报, 2014, 22(2): 195-200.
- [11] Deng H D, Mei W L, Guo Z K, *et al.* Monoterpenoid coumarins from the peels of *Clausena lansium* [J]. *Planta Med*, 2014, 80(11): 955-958.
- [12] Deng H D, Mei W L, Wang H, *et al.* Carbazole alkaloids from the peels of *Clausena lansium* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2014, 16(10): 1024-1028.
- [13] 范玉娇, 陈惠琴, 梅文莉, 等. 黄皮种子中酰胺类生物碱及其杀线虫活性研究 [J]. 热带亚热带植物学报, 2018, 26(1): 85-91.
- [14] 张智圆. 黄芪知母口服吸收有效成分分析鉴定及药理作用研究 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨商业大学, 2010.
- [15] 马青云, 黄圣卓, 李红芳, 等. 杠板归中化学成分生防活性研究 [J]. 湖北农业科学, 2013, 52(21): 5245-5247.
- [16] 徐有伟. 坚叶樟化学成分研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2016.

- [17] Kumar S C S, Manjunatha J R, Srinivas P, *et al.* Eco-friendly kinetic separation of trans-limonene and carvomenthene oxides [J]. *J Chem Sci*, 2014, 126(3): 875-880.
- [18] 叶凤梅, 谢阳国, 朱 艳, 等. 贡山八角枝叶化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(4): 604-608.
- [19] Nakamura Y, Miyatake R, Inomata S, *et al.* Synthesis and bioactivity of potassium beta-D-glucopyranosyl 12-hydroxy jasmonate and related compounds [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2008, 72(11): 2867-2876.
- [20] Miki K, Kondo R, Renganathan V, *et al.* Mechanism of aromatic ring cleavage of a β -biphenyl ether dimer catalyzed by lignin peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium* [J]. *Biochemistry*, 1988, 27(13): 4787-4794.
- [21] 李 燕, 王春兰, 王芳菲, 等. 铁皮石斛化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(13): 1715-1719.
- [22] Zhou Y, Wu J, Zou K. Xylogranatinin, a new pyrido [1,2-a] pyrazine alkaloid from the fruit of a Chinese mangrove *Xylocarpus granatum* [J]. *Chem Nat Compd*, 2007, 43(4): 426-428.
- [23] 彭文文, 宋卫武, 黄茂波, 等. 小叶臭黄皮中单萜和倍半萜类成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(9): 1620-1624.
- [24] Marumoto S, Miyazawa M. Biotransformation of isoimperatorin and imperatorin by *Glomerella cingulata* and β -secretase inhibitory activity [J]. *Bioorg Med Chem*, 2010, 18(1): 455-459.
- [25] Wang X W, Zhang H P, Chen F, *et al.* A new lignan from *Gynostemma pentaphyllum* [J]. *Chin Chem Lett*, 2009, 20(5): 589-591.
- [26] 马伏宁, 万树青, 刘序铭, 等. 黄皮种子中杀松材线虫成分分离及活性测定 [J]. 华南农业大学学报, 2009, 30(1): 23-26.