

• 化学成分 •

三桠苦的化学成分研究

朱盛华^{1,2}, 高幼衡^{1*}, 魏志雄¹, 许睿¹

1. 广州中医药大学, 广东 广州 510405

2. 广东食品药品职业学院, 广东 广州 510520

摘要: 目的 研究三桠苦 *Melicope pteleifolia* 的化学成分。方法 三桠苦用 80%乙醇渗漉提取, 提取物用色谱技术分离, 采用波谱技术 (EI-MS、¹H-NMR、¹³C-NMR 等) 和化学方法进行结构鉴定。结果 从三桠苦乙醇提取物的石油醚部位和醋酸乙酯部位分离出 4 个化合物, 分别鉴定为 3, 5, 3'-三羟基-4'-甲氧基-7-异戊烯氧基黄酮 (1)、3, 7-二甲氧基山柰酚 (2)、香草酸 (3)、β-谷甾醇 (4)。结论 化合物 1 是新化合物, 命名为三桠苦素 C, 化合物 2、3 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 三桠苦; 3, 5, 3'-三羟基-4'-甲氧基-7-异戊烯氧基黄酮; 三桠苦素 C; 3, 7-二甲氧基山柰酚; 香草酸

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)10-1891-03

Chemical constituents of *Melicope pteleifolia*ZHU Sheng-hua^{1,2}, GAO You-heng¹, WEI Zhi-xiong¹, XU Rui¹

1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China

2. Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou 510520, China

Abstract: Objective To study the constituents of *Melicope pteleifolia*. **Methods** Plant material was percolated with 80% EtOH. Compounds were separated with chromatography technology and their structures were elucidated by spectral analysis (EI-MS, ¹H-NMR, and ¹³C-NMR) and chemical evidence. **Results** Four compounds were isolated from petroleum ether and ethyl acetate soluble fractions. Their structures were identified as: 3, 5, 3'-trihydroxy-4'-methoxy-7-(3-methylbut-2-enyloxy) flavone (1), 3, 7-methoxyl kaempferol (2), vanillic acid (3), and β-sitosterol (4). **Conclusion** Compound 1 is a new compound named pteleifolosin C. Compounds 2 and 3 are isolated from this plant for the first time.

Key words: *Melicope pteleifolia* (Champ. ex Benth.) Hartley; 3, 5, 3'-trihydroxy-4'-methoxy-7-(3-methylbut-2-enyloxy) flavone; pteleifolosin C; 3, 7-methoxyl kaempferol; vanillic acid

三桠苦 *Melicope pteleifolia* (Champ. ex Benth.) Hartley 为芸香科蜜茱萸属植物。《中国植物志》1997 年版将其归属于芸香科吴茱萸属 [*Evodia lepta* (Spreng.) Merr.]^[1], 2008 年出版的《中国植物志》英文版将其归属到蜜茱萸属^[2]。三桠苦分布在我国南部诸省及东南亚地区, 是岭南常用中草药。《中药大辞典》记载其味苦, 性寒, 有清热解毒、祛风除湿的功效, 主治咽喉肿痛、疟疾、黄疸型肝炎、风湿骨痛、湿疹、皮炎和疮疡等^[3]。为寻找其活性成分, 本课题组在前人研究^[4-6]基础上, 继续报道分离出的 4 个化合物, 分别是 3, 5, 3'-三羟基-4'-甲氧基-

7-异戊烯氧基黄酮[3, 5, 3'-trihydroxy-4'-methoxy-7-(3-methylbut-2-enyloxy) flavone, 1]、3, 7-二甲氧基山柰酚 (3, 7-methoxyl kaempferol, 2)、香草酸 (vanillic acid, 3)、β-谷甾醇 (β-sitosterol, 4)。其中化合物 1 是新化合物, 命名为三桠苦素 C, 已以快报形式报道^[7], 化合物 2、3 为首次从该植物中分离得到。

1 仪器与材料

三桠苦叶 2008 年 6 月采自广州从化良口镇, 经广州中医药大学中药学院潘超美教授鉴定为芸香科植物三桠苦 *Melicope pteleifolia* (Champ. ex

收稿日期: 2011-03-12

作者简介: 朱盛华 (1966—), 男, 土家族, 湖北利川人, 讲师, 博士, 研究方向为中药活性成分与质量标准。

Tel: (020)28854880 E-mail: zsh321321@163.com

*通讯作者 高幼衡 Tel: (020)39358083 E-mail: gaoyouheng@yahoo.com.cn

Benth.) Hartley。植物标本存放于广州中医药大学中药学院中药化学研究室。X—5 显微熔点测定仪(北京泰克仪器有限公司)。WQF—410 型红外光谱仪(KBr 压片)。Bruker Avance 500 MHz 超导核磁共振谱仪和 Bruker DRX—400 型核磁共振仪。岛津 QP5050A 型质谱仪; HR-EI-MS 用 MAT95XP 测定。薄层色谱硅胶和柱色谱硅胶(160~200 目, 青岛海洋化工厂), Sephadex LH-20 (Pharmacia)。硅胶 G、硅胶 GF₂₅₄, 青岛海洋化工厂。所用试剂均为分析纯。

2 提取与分离

新鲜采集的三桠苦叶阴干, 取 5 kg, 粉碎成粗粉, 用 80%乙醇冷浸 24 h, 再渗漉提取, 得渗漉液。减压回收乙醇后于瓷盘上蒸干, 得 1.53 kg 浸膏。取 160~200 目硅胶 500 g、硅藻土 1 000 g 与浸膏拌匀, 装入改良索氏提取器, 依次用石油醚(60~90 °C)、醋酸乙酯、丙酮、甲醇连续回流提取, 得到各部位浸膏 125、400、380、430 g。石油醚部分 125 g 上硅胶柱, 石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱, 再经 Sephadex LH-20 分离, 氯仿-甲醇(1:1)洗脱得黄色粉末, 再经半制备 HPLC 纯化得到化合物 **1** (25 mg)。醋酸乙酯部位取 300 g, 上硅胶柱, 经氯仿-甲醇(99.5:0.5→8:2)再至氯仿-甲醇-水(7:3:0.3)梯度洗脱, 500 mL 为一份额, 共收集 407 流份。第 35~40 流份合并, 再经 Sephadex LH-20 分离, 氯仿-甲醇(1:1)洗脱得到化合物 **2** (19 mg)。第 42~81 流份同样处理得化合物 **3** 粗品, 再经石油醚-丙酮重结晶得到化合物 **3** 的淡黄色羽毛状结晶(33 mg)。石油醚部位的第 98~138 流份合并后再经 Sephadex LH-20 分离得到化合物 **4** (1 500 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 黄色粉末, mp 182~184 °C, 易溶于吡啶、二甲亚砜, 可溶于甲醇, 微溶于丙酮, 不溶于氯仿、石油醚。盐酸-镁粉反应阳性, 提示为黄酮。

高分辨质谱给出分子式为 C₂₁H₂₀O₇ (m/z : 384.119 7, 理论值 384.120 4)。DEPT 显示 3 个伯碳、1 个仲碳、6 个叔碳以及 11 个季碳, 连在碳上的氢共有 17 个, 故剩下的 3 个氢为活泼氢。¹H-NMR 中有一个甲氧基信号 δ 3.85 (3H, s), 加上黄酮母核中两个氧和 3 个连活泼氢的氧, 共有 6 个氧原子, 剩下一个氧应是一醚键。除黄酮母核的 15 个碳和一个甲氧基的碳外剩下 5 个碳, 同时有 ¹H-NMR δ 1.76 (3H, s), 1.73 (3H, s), 5.46 (1H, t, J = 6.5 Hz), 4.64 (2H, d, J = 6.5 Hz), 推测是异戊烯基^[8-9], 且 ¹H-NMR

谱中 δ 4.64 的两个氢对应于 ¹³C-NMR 谱中 δ 65.3 的仲碳, 从化学位移判断该碳连在氧原子上, 故该异戊烯基通过氧以醚键连接在黄酮母核上。EI-MS 给出的 m/z 316 (100) 的基峰是分子离子峰 m/z 384 丢失 [C₅H₈]⁺ 的碎片而形成的, 并再失去甲基而得到 m/z 301 (27) 的峰, 这些正是异戊烯氧基黄酮的特征碎片离子^[10]。因此, 在黄酮母核上共有 5 个取代基, 分别为: 3 个羟基、1 个甲氧基、1 个异戊烯氧基。

¹H-NMR 中 δ 7.72 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-2'), 7.09 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5') 和 7.68 (1H, dd, J = 1.6, 8.5 Hz, H-6') 是 B 环 3', 4'-二取代形成的 ABX 耦合系统。HMBC 显示(图 1), 与 δ 3.85 的甲氧基氢唯一有相关的碳位移值在 δ 149.4, 而该碳又与 δ 7.68 的 6' 位氢和 7.72 的 2' 位氢有远程相关, 因此该碳位于 4' 位, 即 4' 位连接甲氧基。位于 δ 9.31 的羟基上活泼氢与 δ 114.7 (C-2'), 146.2 (C-3'), 149.4 (C-4') 的远程相关说明该羟基连在 3' 位。

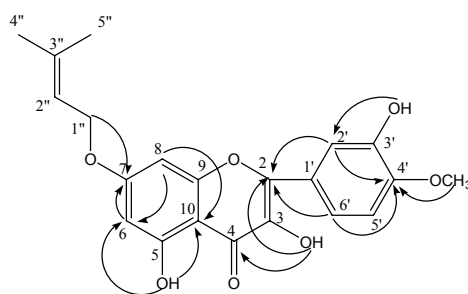


图 1 化合物 **1** 的化学结构式及 HMBC 相关关系

Fig. 1 Structure and HMBC correlations of compound **1**

¹H-NMR 中 δ 6.33 (1H, d, J = 2.0 Hz) 和 6.72 (1H, d, J = 2.0 Hz) 是处于间位的 6, 8 位质子信号, 显示 A 环是 5, 7 位二取代。 δ 12.43 是 5 位羟基氢的特征值, 在 HMBC 中, 该氢与 δ 97.9 的叔碳相关, 因此 δ 97.9 是 6 位碳信号, 而 HSQC 谱显示连在 6 位的氢信号是 δ 6.33。与 6 位氢有远程相关的碳除 δ 160.3 (s, C-5), 103.9 (s, C-10) (同时与 5 位羟基氢相关) 外, 还有属于 7 位和 8 位的 164.1 (s) 和 92.5 (d) 两个碳信号。而 HMBC 显示异戊烯氧基的 1'' 位上的氢 δ 4.64 (2H) 与位于 7 位 164.1 的碳相关, 因此异戊烯氧基连在 7 位。

¹H-NMR 中芳香区没有单峰质子信号, 说明 3 位被取代, 同时所余一个羟基上的活泼氢 δ 9.55 与 4 位羰基碳 δ 176.0 有远程相关, 故 3 号位连接该羟基。化合物 **1** 结构见图 1, NMR 数据见表 1。

表1 化合物1的NMR光谱数据(DMSO-*d*₆)
Table 1 NMR data of compound 1 (in DMSO-*d*₆)

碳位	¹³ C-NMR	¹ H-NMR
2	146.7	
3	136.4	9.55(1H, s, -OH)
4	176.0	
5	160.3	12.43(1H, s, -OH)
6	97.9	6.33 (1H, d, <i>J</i> = 2.0 Hz)
7	164.1	
8	92.5	6.72 (1H, d, <i>J</i> = 2.0 Hz)
9	156.0	
10	103.9	
1'	123.3	
2'	114.7	7.72 (1H, d, <i>J</i> = 1.6 Hz)
3'	146.2	9.31 (1H, s, -OH)
4'	149.4	
5'	111.8	7.09 (1H, d, <i>J</i> = 8.5 Hz)
6'	119.7	7.68 (1H, dd, <i>J</i> = 1.6, 8.5 Hz)
1''	65.3	4.64 (2H, d, <i>J</i> = 6.5 Hz)
2''	119.0	5.46 (1H, t, <i>J</i> = 6.5 Hz)
3''	138.1	
4''	25.3	1.76 (3H, s)
5''	18.0	1.73 (3H, s)
-OCH ₃	55.6	3.85 (3H, s)

化合物 2: 淡黄色针晶 (甲醇-水), 易溶于甲醇、丙酮, mp 243~245 °C。盐酸-镁粉反应阳性。UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 268, 351。EI-MS *m/z*: 314 (100), 295 (21), 285 (21), 271 (30), 255 (11), 228 (11), 187 (16), 167 (18), 143 (34), 121 (43)。¹H-NMR (400 MHz, pyridine-*d*₅) δ: 13.35 (1H, br s), 12.65 (1H, br s), 8.19 (2H, d, *J* = 8 Hz), 7.29 (2H, d, *J* = 8 Hz), 6.69 (1H, d, *J* = 3 Hz), 6.62 (1H, d, *J* = 3 Hz), 3.95 (3H, s), 3.77 (3H, s); ¹³C-NMR (100 MHz, pyridine-*d*₅) δ: 156.7 (C-2), 138.8 (C-3), 179.1 (C-4), 157.2 (C-5), 98.4 (C-6), 165.9 (C-7), 92.5 (C-8), 162.5 (C-9), 106.4 (C-10), 121.6 (C-1'), 131.1 (C-2', 6'), 116.6 (C-3', 5'), 162.0 (C-4'), 116.6 (C-3', 5'), 131.1 (C-2', 6'), 60.0 (3-CH₃O), 56.0 (7-CH₃O)。与文献数据基本一致^[11], 确定化合物 2 为 3, 7-二甲氧基山柰酚。

化合物 3: 淡黄色羽毛状结晶 (石油醚-丙酮),

易溶于丙酮、甲醇。mp 167~171 °C。UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 219, 261, 293。EI-MS *m/z*: 168 (100), 153 (72), 125 (20), 97 (27), 79 (8)。¹H-NMR (400 MHz, acetone-*d*₆) δ: 7.53 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 7.55 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz), 6.88 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 3.87 (3H, s); ¹³C-NMR (100 MHz, acetone-*d*₆) δ: 167.7 (-COOH), 152.0 (C-4), 148.0 (C-3), 124.7 (C-6), 122.8 (C-1), 115.4 (C-5), 113.4 (C-2), 56.2 (-OCH₃)。与文献数据基本一致^[12], 鉴定化合物 3 为香草酸。

化合物 4: 白色片晶 (氯仿-甲醇), mp 139~140 °C, 与 β-谷甾醇对照品混合熔点不下降, 在薄层上 R_f 值一致。因此鉴定化合物 4 为 β-谷甾醇。

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]. 第43卷. 北京: 科学出版社, 1997.
- [2] Flora of China Editorial Committee. *Melicope pteleifolia*: *Flora of China*. 2008(2009-04-07). http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=2&taxon_id=242413701.
- [3] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科技出版社, 1986.
- [4] 刁远明, 高幼衡, 彭新生. 三叉苦化学成分研究 (I) [J]. 中草药, 2004, 35(10): 1098-1099.
- [5] 刁远明, 高幼衡, 彭新生, 等. 三叉苦化学成分研究 (II) [J]. 中草药, 2006, 37(9): 1309-1311.
- [6] 高幼衡, 朱盛华, 魏志雄, 等. 三叉苦中一个新的香豆素类化合物 [J]. 中草药, 2009, 40(12): 1860-1862.
- [7] Zhu S H, Gao Y H, Wei Z R, *et al*. A new phenylated flavone from *Melicope pteleifolia* [J]. *Chin Herb Med*, 2011, 3(2): 81-83.
- [8] Amaral D F, Arruda M S P, Arruda A C, *et al*. Flavones from the leaves of *Ficus gomelleira* [J]. *J Braz Chem Soc*, 2001, 12(4): 538-541.
- [9] Ahsan M, Armstrong J A, Gibbons S, *et al*. Novel *O*-prenylated flavonoids from two varieties of *Boronia coerulescens* [J]. *Phytochemistry*, 1994, 37(1): 256-266.
- [10] 丛浦珠, 李笋玉. 天然有机质谱学 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2003.
- [11] Dong H, Gou Y, Cao S, *et al*. Eicosenones and methylated flavonols from *Amomum koenigii* [J]. *Phytochemistry*, 1999, 50(5): 899-902.
- [12] Lai A, Monduzzi M, Saba G. Carbon-13 NMR studies on catechol, phenol and benzene derivatives of biological relevance [J]. *Magn Reson Chem*, 1985, 23(5): 379-383.