

• 化学成分 •

五叶山小橘化学成分的研究

田二丽¹, 杨光忠², 梅之南², 陈 玉^{1*}

1. 中南民族大学化学与材料科学学院, 湖北 武汉 430074

2. 中南民族大学药学院, 湖北 武汉 430074

摘要: 目的 研究五叶山小橘 *Glycosmis pentaphylla* 茎的化学成分。方法 采用正、反相硅胶柱色谱及半制备高效液相色谱等方法进行分离纯化, 根据理化性质及波谱数据鉴定化合物的结构。结果 从五叶山小橘茎 95%乙醇提取物的正丁醇部位分离得到 9 个化合物, 分别鉴定为 2-羟基苯甲酸甲酯-2-*O*- β -D-呋喃芹菜糖基-(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 (1)、肌苷 (2)、4-甲氧基-8-(*O*- β -D-吡喃葡萄糖)-2(1*H*)-喹啉酮 (3)、*threo*-guaiacyl-glycerol-8-*O*-4'-sinapyl ether 7-*O*- β -D-glucopyranoside (4)、牡荆素 (5)、乙基-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 (6)、异丙基-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 (7)、苏式-愈创木基甘油 (8) 和赤式-愈创木基甘油 (9)。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为五叶山小橘甲素。化合物 2~4、6~9 为首次从山小橘属植物中分离得到。

关键词: 五叶山小橘; 山小橘属; 五叶山小橘甲素; 肌苷; 牡荆素; 愈创木基甘油

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)10-1358-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.10.002

Chemical constituents from stems of *Glycosmis pentaphylla*TIAN Er-li¹, YANG Guang-zhong², MEI Zhi-nan², CHEN Yu¹

1. College of Chemistry and Materials Science, South Central University for Nationalities, Wuhan 430074, China

2. College of Pharmacy, South Central University for Nationalities, Wuhan 430074, China

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents in the stems of *Glycosmis pentaphylla*. **Methods** The constituents were isolated and purified by silica gel and preparative HPLC, and their structures were elucidated by means of physicochemical properties and spectroscopic analyses. **Results** Nine compounds were isolated from the *n*-butanol-soluble fraction of 95% ethanol extract from the stems of *G. pentaphylla*, and identified as methyl 2-hydroxybenzoate 2-*O*- β -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- β -D-glucopyranoside (1), inosine (2), 4-methoxy-8-(*O*- β -D-glucopyranosyloxy)-2(1*H*)-quinolinone (3), *threo*-guaiacyl-glycerol-8-*O*-4'-sinapyl ether 7-*O*- β -D-glucopyranoside (4), vitexin (5), ethyl-*O*- β -D-glucopyranoside (6), 2-propyl-*O*- β -D-glucopyranoside (7), *threo*-guaiacyl glycerol (8), and *erythro*-guaiacyl glycerol (9). **Conclusion** Compound 1 is a new phenolic glycoside named glycopentosine A, and compounds 2—4 and 6—9 are isolated from the plants of *Glycosmis* Correa for the first time.

Key words: *Glycosmis pentaphylla* (Retz.) Correa; *Glycosmis* Correa; glycopentosine A; inosine; vitexin; guaiacyl glycerol

五叶山小橘 *Glycosmis pentaphylla* (Retz.) Correa 是芸香科 (Rutaceae) 山小橘属 *Glycosmis* Correa 植物, 为我国传统傣药, 为滋补强壮药, 分布于云南西双版纳、耿马、双江、孟定, 生于海拔 500~1 100 m 的低山热带丛林。具有补土健胃、强身健体、除风通血止痛等功效^[1]。现代药理研究表明, 五叶山小橘茎及叶的醇提物具有抗微生物、抗氧化活性^[2], 以及表现出显著的体外抗肝癌细胞株 Hep3 B 的活性^[3]。前期对该植物化学成分的研究主要是针对脂

溶性的生物碱, 已报道的有吡啶酮^[4]、咪唑^[5]、喹诺酮^[6]和喹啉^[7-8]等结构类型, 而对其非生物碱成分研究很少, 目前仅有异黄酮苷^[9]和对苯二酚双糖苷^[10]等报道。本课题组在前期已对五叶山小橘醋酸乙酯部位进行了化学成分研究, 分离得到 10 个生物碱和 7 个非生物碱, 其中包括 3 个新的咪唑生物碱和 2 个新的黄烷醇, 并对生物碱的光活化抗微生物和 DNA 的结合性进行了研究^[11-13]。为了进一步从该植物中寻找活性成分, 阐明其药效作用的物质基

收稿日期: 2014-01-26

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2012BAI27B06); 湖北省自然科学基金和创新群体项目 (2013CFB450; 2013CFA013)

*通信作者 陈 玉, 女, 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要从事天然药物化学的研究。Tel: (027)67842752 E-mail: chenyuwh888@126.com

础,为开发新的药用植物资源提供依据。本实验对五叶山小橘茎的95%乙醇提取物的正丁醇部位进行了系统的化学研究,分离得到9个化合物,分别鉴定为2-羟基苯甲酸甲酯 2-*O*- β -*D*-呋喃芹菜糖基-(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷 (methyl 2-hydroxybenzoate 2-*O*- β -*D*-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- β -*D*-glucopyranoside, **1**)、肌苷 (inosine, **2**)、4-甲氧基-8-(*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖)-2(1*H*)-喹啉酮 [4-methoxy-8-(*O*- β -*D*-glucopyranosyloxy)-2(1*H*)-quinolinone, **3**]、*threo*-guaiaacyl-glycerol-8-*O*-4'-sinapyl ether 7-*O*- β -*D*-glucopyranoside (**4**)、牡荆素 (vitexin, **5**)、乙基-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷 (ethyl-*O*- β -*D*-glucopyranoside, **6**)、2-异丙基-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷 (2-propyl-*O*- β -*D*-glucopyranoside, **7**)、苏式-愈创木基甘油 (*threo*-guaiaacyl glycerol, **8**)、赤式-愈创木基甘油 (*erythro*-guaiaacyl glycerol, **9**)。其中,化合物**1**为新化合物,命名为五叶山小橘甲素,化合物**2**~**4**、**6**~**9**为首次从山小橘属植物中分离得到。

1 材料与仪器

Perkin-Elmer 341 旋光仪 (珀金埃尔默公司); BrukerAM-400 或 Bruker DRX-500 型核磁共振波谱仪 (布鲁克公司); Finnigan MAT 95 或 Finnigan LCQ-Deca 型质谱仪 (美国菲尼根公司); Ultimate 3000 型高效液相色谱仪 (美国戴安公司); 半制备型色谱柱为 5C18-MS-II (250 mm $\times$ 10 mm, 5 μ m); 200~300 目硅胶和硅胶 H-TLC 薄层预制板 (青岛海洋化工厂); 50 μ m 反相材料 ODS (日本 YMC 公司); 色谱甲醇和乙腈由美国 Tedia 试剂公司生产,其余试剂均为分析纯,由天津博迪化工有限公司和国药集团化学试剂有限公司生产。

五叶山小橘茎采于云南西双版纳,经云南西双版纳州民族医药研究所赵应红主任药师鉴定为芸香科山小橘属植物五叶山小橘 *Glycosmis pentaphylla* (Retz.) Correa 的茎。

2 提取与分离

五叶山小橘茎 24.5 kg,粉碎,用 95%乙醇室温浸泡 3 次,每次 24 h。浓缩后得乙醇提取物 (586 g)。将乙醇提取物用 90%甲醇溶解,然后用石油醚萃取 3 次,合并上层萃取液并蒸干,得到石油醚提取物 (56 g)。减压回收下层的甲醇得到浸膏,将其用水溶解,再依次用醋酸乙酯和正丁醇萃取,得到醋酸乙酯提取物 (91 g) 和正丁醇提取物 (101 g)。取正丁醇萃取物 (101 g),经硅胶柱色谱分离,氯仿-甲

醇 (95:5 $\rightarrow$ 0:1) 梯度洗脱,共收集 10 个组分 (Fr. 1~10)。Fr. 4 (3.0 g) 经过反复正、反相硅胶柱色谱和半制备 HPLC 得到化合物 **6** (7.7 mg) 和 **7** (4.5 mg)。Fr. 5 (9.6 g) 经过反复正、反相硅胶柱色谱和半制备 HPLC 得到化合物 **2** (30 mg)、**3** (5.9 mg)、**4** (10 mg)、**8** (5 mg) 和 **9** (2 mg)。Fr. 6 (11.1 g) 经过反复正、反相硅胶柱色谱和半制备 HPLC 得到化合物 **1** (6 mg)、**5** (12 mg)。

3 化合物 1 的酸水解

取化合物 **1** (2 mg) 溶于 4 mL CF₃COOH (4 mol/L) 溶液中,在 95 $^{\circ}$ C 反应 3 h,冷却至室温,用等体积 (2 mL) 的 CH₂Cl₂ 萃取反应溶液 3 次,将萃取后的水层完全浓缩。取 *D*-葡萄糖 (中国食品药品检定研究院,批号 110833) 和 *D*-蔗糖 (Sigma-Aldrich,批号 41239) 的标准品各 2 mg,以及萃取后的水相分别装在 3 个 25 mL 的圆底烧瓶中,分别加入无水吡啶 (0.5 mL) 和 *L*-半胱氨酸甲酯盐酸盐 (1.0 mg),在 60 $^{\circ}$ C 时反应 1 h。冷却后,分别加入 5 μ L 邻甲苯异硫氰酸酯,60 $^{\circ}$ C 下反应 1 h。冷却至室温,将以上 3 组反应液用吡啶稀释 1 倍,分别取样品 (5 μ L) 经 HPLC (乙腈-水 25:75, 0.8 mL/min) 进行分析,检测波长为 250 nm,分析柱为 Waters 色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm)。化合物 **1** 的酸水解产物通过 HPLC 的分析在 t_R =18.8 min 和 t_R =31.1 min 有色谱峰;*D*-葡萄糖与 *D*-蔗糖衍生物在 t_R =18.8 min 和 t_R =31.1 min 有色谱峰。

4 结构鉴定

化合物 **1**: 无色油状物, $[\alpha]_D^{23.8}$ -141.68 (*c* 0.099, MeOH),由 HR-ESI-MS 得到准分子离子峰 m/z : 445.135 2 [$M-H$]⁻ (计算值 445.134 6),推断该化合物的分子式为 C₁₉H₂₆O₁₂。IR 光谱在 3 357、1 713 cm⁻¹ 显示有吸收峰,表明该化合物含有羟基和羰基。由酸水解结果可知,化合物 **1** 含有 1 分子 *D*-葡萄糖和 1 分子的 *D*-蔗糖。在 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) 中,葡萄糖的端基质子 δ_H 5.06 (1H, d, *J*=7.6 Hz) 及端基碳 δ_C 100.8 和蔗糖的端基碳 δ_C 111.5,说明糖的构型均为 β -构型^[14];除糖的 NMR 信号外,苷元还显示有 4 个芳香质子 δ 7.01 (1H, t, *J*=7.6 Hz), 7.19 (1H, d, *J*=8.0 Hz), 7.44 (1H, td, *J*=8.8, 1.6 Hz), 7.64 (1H, dd, *J*=8.0, 1.6 Hz),表明有 1,2-双取代苯环;¹³C-NMR 和 DEPT 数据证实了上述推断。NMR 数据显示该化合物还含有 1 个甲氧基 [δ_H 3.84 (3H, s); δ_C 52.9] 以及 1 个与苯环共轭的羰基碳信

(2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3', 5'), 6.27 (1H, s, H-3), 6.79 (1H, s, H-6), 13.18 (1H, s, 5-OH), 10.91 (1H, s, 7-OH), 10.41 (1H, s, 4'-OH), 5.06~4.67 (4H, m, Glc-OH), 4.64 (1H, d, $J = 7.1$ Hz, H-1''), 3.24~3.85 (6H, m, H-2''~6''); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 164.0 (C-2), 102.5 (C-3), 182.1 (C-4), 160.4 (C-5), 98.1 (C-6), 162.6 (C-7), 104.6 (C-8), 156.0 (C-9), 104.1 (C-10), 121.6 (C-1'), 129.0 (C-2', 6'), 115.8 (C-3', 5'), 161.2 (C-4'), 78.7 (C-1''), 73.4 (C-2''), 70.8 (C-3''), 70.6 (C-4''), 81.9 (C-5''), 61.3 (C-6''). 以上数据与文献报道基本一致^[19], 故鉴定化合物 5 为牡荆素。

化合物 6: 白色粉末。 ^1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 1.13 (3H, m, H-2), 3.47 (1H, overlapped, H-1a), 3.81 (1H, m, H-1b), 4.11 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 3.02~3.85 (6H, m, H-2'~6'); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 15.2 (- CH_3), 63.9 (- CH_2), 102.6 (C-1'), 73.5 (C-2'), 76.8 (C-3'), 70.1 (C-4'), 76.8 (C-5'), 61.1 (C-6')。以上数据与文献报道基本一致^[20], 故鉴定化合物 6 为乙基- O - β - D -吡喃葡萄糖苷。尽管有文献报道从荔枝^[20]和细叶鸢尾^[21]中分离得到该化合物, 但该化合物可能是提取分离过程中产生的人工产物。

化合物 7: 白色粉末。 ^1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 1.18 (3H, d, $J = 6.1$ Hz, H-2), 1.23 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, H-3), 4.03 (1H, m, H-1), 4.32 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 3.13 (1H, dd, $J = 9.0, 7.9$ Hz, H-2'), 3.34~3.25 (m, H-3'~5'), 3.67 (1H, dd, $J = 12.0, 5.2$ Hz, H-6'a), 3.83 (1H, dd, $J = 12.0, 2.0$ Hz, H-6'b); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 22.0 (CH_3), 23.8 (CH_3), 72.5 (CH), 102.5 (C-1'), 75.1 (C-2'), 78.1 (C-3'), 71.7 (C-4'), 77.8 (C-5'), 62.7 (C-6')。以上数据与文献报道基本一致^[22], 故鉴定化合物 7 为 2-异丙基- O - β - D -吡喃葡萄糖苷。尽管也有文献报道从青花椒^[23]中分离得到该化合物, 但该化合物可能是提取分离过程中产生的人工产物。

化合物 8: 褐色油状物。 ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.97 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-2), 6.74 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5), 6.77 (1H, dd, $J = 8.0, 1.4$ Hz, H-6), 4.50 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-7), 3.64 (1H, m, H-8), 3.46 (1H, dd, $J = 11.3, 3.9$ Hz, H-9a), 3.33 (1H, dd, $J = 11.2, 6.4$ Hz, H-9b), 3.84 (3H, s, 3- OCH_3); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 134.8 (C-1), 111.6 (C-2), 148.9 (C-3), 147.1 (C-4), 115.9 (C-5), 120.7 (C-6), 75.5

(C-7), 77.6 (C-8), 64.3 (C-9), 56.4 (- OCH_3)。以上数据与文献报道基本一致^[24], 故鉴定化合物 8 为苏式-愈创木基甘油。

化合物 9: 褐色油状物。 ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.98 (1H, d, $J = 1.0$ Hz, H-2), 6.74 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.80 (1H, dd, $J = 8.0, 1.5$ Hz, H-6), 4.50 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-7), 3.70 (1H, m, H-8), 3.63 (1H, m, H-9a), 3.50 (1H, dd, $J = 11.0, 6.0$ Hz, H-9b), 3.84 (3H, s, 3- OCH_3); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 135.1 (C-1), 112.1 (C-2), 148.9 (C-3), 147.2 (C-4), 115.9 (C-5), 121.2 (C-6), 76.3 (C-7), 76.8 (C-8), 64.7 (C-9), 56.4 (- OCH_3)。以上数据与文献报道基本一致^[24], 故鉴定化合物 9 为赤式-愈创木基甘油。

参考文献

- [1] 林艳芳, 衣 专, 赵应红. 中国傣医药彩色图谱 [M]. 昆明: 云南民族出版社, 2003.
- [2] Howlader M A, Rizwan F, Sultana S, *et al.* Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic effects of methanolic extracts of leaves and stems of *Glycosmis pentaphylla* (Retz.) Correa [J]. *J Appl Pharm Sci*, 2011, 1(8): 137-140.
- [3] Sreejith P S, Mascarenhas R R, Praseeja R J, *et al.* The apoptosis inducing effect of *Glycosmis pentaphylla* (Retz.) Correa and its influence on gene expression in hepatocellular carcinoma cell line, Hep3 B [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 139(2): 359-365.
- [4] Quader M A, Nutan M T H, Rashid M A, *et al.* Antitumor alkaloid from *Glycosmis pentaphylla* [J]. *Fitoterapia*, 1999, 70(3): 305-307.
- [5] Chakraborty A, Chowdhury B K, Jash S S, *et al.* Carbazole alkaloids from *Glycosmis pentaphylla* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(7): 2503-2505.
- [6] Bhattacharyya P, Chowdhury B K. Glycolone, a quinolone alkaloid from *Glycosmis pentaphylla* [J]. *Phytochemistry*, 1985, 24(3): 634-635.
- [7] Muthukrishnan J, Seifert K, Hoffmann K H, *et al.* Inhibition of juvenile hormone biosynthesis in *Gryllus bimaculatus* by *Glycosmis pentaphylla* leaf compounds [J]. *Phytochemistry*, 1999, 50(2): 249-254.
- [8] Sarkar M, Chakraborty D P. Glycophymoline, a new minor quinazoline alkaloid from *Glycosmis pentaphylla* [J]. *Phytochemistry*, 1979, 18(4): 694-695.
- [9] Wang J S, Yang X W, Di Y T, *et al.* Isoflavone diglycosides from *Glycosmis pentaphylla* [J]. *J Nat Prod*, 2006, 69(7): 778-782.
- [10] Wang J S, Di Y T, Yang X W, *et al.* Hydroquinone diglycoside acyl esters from the stems of *Glycosmis*

- pentaphylla* [J]. *Phytochemistry*, 2006, 67(5): 486-491.
- [11] Yang G Z, Wu Y, Chen Y. Alkaloids from the Stems of *Glycosmis pentaphylla* [J]. *Helv Chim Acta*, 2012, 95(8): 1449-1454.
- [12] Chen Y, Yang B, Yang G Z, *et al.* Photo-activated DNA binding and antimicrobial activities of alkaloids from *Glycosmis pentaphylla* [J]. *Acta Pharm Sin*, 2012, 47(12): 1646-1652.
- [13] Wu Y, Hu X, Yang G Z, *et al.* Two new flavanols from *Glycosmis pentaphylla* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2012, 14(8): 738-742.
- [14] Ramesh P, Yuvarajan C R. Coromandelin, a new isoflavone apioglucoside from the leaves of *Dalbergia coromandeliana* [J]. *J Nat Prod*, 1995, 58(8): 1240-1241.
- [15] Zhou Y H, Jiang Y, Wen J, *et al.* Chemical constituents from the roots of *Polygala sibirica* L [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2008, 17(2): 148-152.
- [16] 曹新伟. 川贝母的化学成分研究与贝母属药用植物质量评价 [D]. 北京: 中国协和医科大学, 2008.
- [17] Su Y F, Luo Y, Guo C Y, *et al.* Two new quinoline glycoalkaloids from *Echinops gmelinii* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2004, 6(3): 223-227.
- [18] Machida K, Sakamoto S, Kikuchi M. Two new neolignan glycosides from leaves of *Osmanthus heterophyllus* [J]. *J Nat Med*, 2009, 63(2): 227-231.
- [19] 郑建宇, 纳智, 胡华斌. 海南山小橘枝叶的化学成分研究 [J]. *中草药*, 2013, 44(6): 651-654.
- [20] 徐新亚, 谢海辉, 魏孝义. 荔枝核的五个苷类成分 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2012, 20(2): 206-208.
- [21] Choudharya M I, Hareem S, Siddiqui H, *et al.* A benzil and isoflavone from *Iris tenuifolia* [J]. *Phytochemistry*, 2008, 69(9): 1880-1885.
- [22] Li W, Koike K, Asada Y, *et al.* Biotransformation of low-molecular-weight alcohols by *Coleus forskohlii* hairy root cultures [J]. *Carbohydr Res*, 2003, 338(8): 729-731.
- [23] Fang Z, Do Y J, Kim Y H, *et al.* Cytotoxic Constituents from the Leaves of *Zanthoxylum schinifolium* [J]. *Bull Korean Chem Soc*, 2010, 31(4): 1081-1084.
- [24] 甘茂罗. 花藤和瑶山润楠的化学成分研究 [D]. 北京: 中国协和医科大学, 2008.