

• 化学成分 •

傣药三桠苦叶的化学成分研究

杨树娟¹, 袁玲玲¹, 余玲¹, 杨增明^{1,2*}

1. 云南良方傣药研发技术中心, 云南 昆明 650217

2. 昆明贝叶傣医药研究所, 云南 昆明 650217

摘要: 目的 对云南西双版纳产傣药三桠苦 *Evodia lepta* 叶的化学成分进行研究。方法 采用各种色谱技术进行分离纯化, 通过 NMR、MS 等波谱学方法结合化学水解鉴定化合物。结果 从三桠苦叶 95%乙醇提取物中分离得到 4 个化合物, 分别鉴定为 2, 4, 6-三羟基苯乙酮-3, 5-二-C-β-D-葡萄糖苷 (1)、2, 4, 6-三羟基苯乙酮-3, 5-二-C-β (6'-O-E-对香豆酰基)-D-葡萄糖苷 (2)、2, 4, 6-三羟基苯乙酮-3, 5-二-C-β (6'-O-Z-对香豆酰基)-D-葡萄糖苷 (3)、2, 4, 6-三羟基苯乙酮-3, 5-二-C-β (6'-O-E-肉桂酰基)-D-葡萄糖苷 (4)。结论 其中化合物 2~4 为新化合物, 分别命名为三桠苦双碳苷 A、三桠苦双碳苷 B、三桠苦双碳苷 C, 化合物 1 为首次从三桠苦叶中分离得到。

关键词: 傣药; 三桠苦; 2, 4, 6-三羟基苯乙酮; 2, 4, 6-三羟基苯乙酮-3, 5-二-C-β-D-葡萄糖苷; 三桠苦双碳苷 A; 三桠苦双碳苷 B; 三桠苦双碳苷 C

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)14-1971-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.14.001

Chemical constituents of *Evodia lepta* in Pattra medicineYANG Shu-juan¹, YUAN Ling-ling¹, YU Ling¹, YANG Zeng-ming^{1,2}

1. Liangfang Research and Development Center of Pattra Medicine of Yunnan, Kunming 650217, China

2. Kunming Institute of Pattra Medicine, Kunming 650217, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents of Pattra medicine *Evodia lepta* from Xishuangbanna of Yunnan province, China. **Methods** The chemical constituents were isolated and purified by chromatographic techniques, and identified by NMR, MS, and other spectral methods with chemical hydrolysis. **Results** In 95% ethanol extract from the leaves of *E. lepta*, four compounds were isolated and their structures were identified as 2, 4, 6-trihydroxyacetophenone-3, 5-di-C-β-D-glucoside (1), 2, 4, 6-trihydroxyacetophenone-3, 5-di-C-β (6'-O-E-p-coumaroyl)-D-glucoside (2), 2, 4, 6-trihydroxyacetophenone-3, 5-di-C-β (6'-O-Z-p-coumaroyl)-D-glucoside (3), and 2, 4, 6-trihydroxyacetophenone-3, 5-di-C-β (6'-O-E-cinnamoyl)-D-glucoside (4), respectively. **Conclusion** Compounds 2—4 are new compounds named leptabside A, B, and C, respectively. Compound 1 is obtained from domestic *E. lepta* for the first time.

Key words: Pattra medicine; *Evodia lepta* (Spreng.) Merr.; 2, 4, 6-trihydroxyacetophenone; 2, 4, 6-trihydroxyacetophenone-3, 5-di-C-β-D-glucoside; leptabside A; leptabside B; leptabside C

三桠苦为芸香科吴茱萸属 *Evodia* J. R. et G. Forst. 植物 *Evodia lepta* (Spreng.) Merr., 又名三叉苦、三丫苦、三叉虎、小黄散等, 傣药称为“郎晚”, 产于我国云南、广东、广西、海南、福建、台湾、江西、浙江等省以及柬埔寨、老挝、越南、缅甸、泰国等地, 在这些地区为常用的药食两用植物, 并

已经在三九胃泰、三九感冒灵、消结安胶囊等 30 多种成方制剂中得到广泛应用^[1-2]。目前, 三桠苦化学成分的研究报道较多^[3-6], 但主要是对海南和广东产三桠苦的研究, 对云南产傣药三桠苦化学成分的研究报道较少, 而不同产地的三桠苦化学成分差别较大^[6-7]。为明确傣药三桠苦的化学成分及其与其他地

收稿日期: 2014-04-28

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划 (2012BAI27B06-1); 云南省科技计划 (2013AE001)

作者简介: 杨树娟 (1983—), 女, 工程师, 研究方向为中药及民族药研究与开发。

*通信作者 杨增明 E-mail: bydy@188.com

区产三桠苦的差异,寻找专属性强、与治疗乳腺增生症傣药消结安胶囊的功能主治紧密相关的成分,用于药材和成品质量控制,在前期从云南西双版纳产三桠苦中分离鉴定芝麻素等8个化合物^[6]的基础上,本实验进一步对西双版纳产三桠苦的主要化学成分进行研究,从中分离得到4个化合物,分别鉴定为2,4,6-三羟基苯乙酮-3,5-二-C- β -D-葡萄糖苷(2,4,6-trihydroxyacetophenone-3,5-di-C- β -D-glucoside, **1**)、2,4,6-三羟基苯乙酮-3,5-二-C- β (6'-O-E-对香豆酰基)-D-葡萄糖苷 [2,4,6-trihydroxyacetophenone-3,5-di-C- β (6'-O-E-*p*-coumaroyl)-D-glucoside, **2**]、2,4,6-三羟基苯乙酮-3,5-二-C- β (6'-O-Z-对香豆酰基)-D-葡萄糖苷 [2,4,6-trihydroxyacetophenone-3,5-di-C- β (6'-O-Z-*p*-coumaroyl)-D-glucoside, **3**]、2,4,6-三羟基苯乙酮-3,5-二-C- β (6'-O-E-肉桂酰基)-D-葡萄糖苷 [2,4,6-trihydroxyacetophenone-3,5-di-C- β (6'-O-E-cinnamoyl)-D-glucoside, **4**]。其中化合物**2**~**4**为新化合物,分别命名为三桠苦双碳苷A、三桠苦双碳苷B、三桠苦双碳苷C。化合物**1**为少见天然产物,系首次从三桠苦的叶中分离得到。

1 仪器与材料

Bruker AVANCE 600、500、400 MHz 型核磁共振仪和 Bruker Autospec—3000 型质谱仪(瑞士布鲁克公司),Agilent G6230 TOF MS 型质谱仪和 Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),Waters Acquity-UPLC(H-Class)高效液相色谱仪(美国沃特世公司),Bio-Tek EON 分光光度计(美国伯腾仪器有限公司);D-101 大孔树脂(沧州宝恩化工有限公司),160~200 目柱色谱硅胶和薄层硅胶 G 板(青岛海洋化工厂),ODS-A (50 μ m, YMC 产品),葡聚糖凝胶 LH-20 (100~200 目,台州市路桥四甲生化塑料厂);E-对香豆酸对照品(南京森贝伽生物科技有限公司,批号 131025,质量分数 98.2%),E-肉桂酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110786-200503);所用试剂均为分析纯或色谱纯。

三桠苦样品于 2010 年 11 月采自云南西双版纳景洪南连山,经昆明植物研究所雷立功研究员鉴定为芸香科植物三桠苦 *Evodia lepta* (Spreng.) Merr., 凭证标本(1201)存放于昆明贝叶傣医药研究所。将采集的三桠苦样品各部位分开,叶阴干,粉碎,备用。

2 提取与分离

取三桠苦干燥叶粉末 1 kg,加入 95%乙醇约 8

倍量回流提取 2 次,每次 1 h,提取液浓缩至近干,加水 500 mL 混悬,依次用正己烷、水饱和正丁醇萃取,得正丁醇部位(86.2 g)。正丁醇部位经 1.5 L D-101 大孔树脂粗分离,用水 9 L 洗涤,继依次用 20%、60%乙醇洗脱,分别得洗脱物 10、21 g,经硅胶、ODS-A 和 LH-20 反复分离、纯化,最后经 ZORBAX SB-C₁₈ (250 mm $\times$ 9.4 mm, 5 μ m) 半制备柱,以甲醇-水为流动相,285 nm 波长检测,从 20%乙醇洗脱物中得到化合物**1**(27.6 mg),从 60%乙醇洗脱物中得化合物**2**(28.3 mg)、**3**(16.7 mg)、**4**(14.2 mg)。

3 结构鉴定

化合物**1**:白色粉末。 $[\alpha]_D^{25} + 102.1^\circ$ (*c* 0.99, MeOH); ESI-MS *m/z* 491 [M-H]⁻, 515 [M+Na]⁺, 531 [M+K]⁺; UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 231, 286, 325。¹H-NMR 谱显示, δ 4.94 (2H, d, *J* = 9.7 Hz) 为 β 型取代的糖端基质子信号, δ 3.88~3.40 有 12 个糖基质子信号;以及 1 个乙酰基信号 δ 2.65 (3H, s);无芳香区质子信号;¹³C-NMR 谱显示,乙酰基信号 (δ 205.4, 33.4);季碳信号 (δ 106.3, 162.5, 104.3, 163.3) 为全取代苯环碳原子;糖碳信号 (δ 76.7, 74.1, 79.1, 71.1, 82.7, 61.8) 为 C-葡萄糖。结合 HSQC、COSY、HMBC 谱可推定出各碳的相关位置和糖基与苯环的连接位置,核磁数据归属见表 1。化合物**1**在 2 mol/L HCl 溶液中 90 $^\circ$ C 水解 30 min, UPLC 法检测,以甲醇-0.1%磷酸溶液为流动相,梯度洗脱:0~1.0 min, 20%甲醇,1.0~2.5 min, 20%~45%甲醇,2.5~4.5 min, 45%甲醇,4.5~5.0 min, 45%~65%甲醇,检测波长 285 nm,结果化合物**1**没有糖基断裂,也没有其他破坏,其保留时间、UV 光谱、质量分数均未发生变化。综合以上信息,参考文献报道^[8-10],鉴定化合物**1**为 2,4,6-三羟基苯乙酮-3,5-二-C- β -D-葡萄糖苷。

化合物**2**:白色粉末。 $[\alpha]_D^{25} - 19.2^\circ$ (*c* 1.06, MeOH); HR-ESI-MS *m/z*: 637.177 5 [M-H]⁻ (计算值 637.176 9),确定其相对分子质量为 638,分子式为 C₂₉H₃₄O₁₆; UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 229, 290, 310 (肩峰)。¹H-NMR 谱和 ¹³C-NMR 谱同样显示间苯三酚苯乙酮双碳糖苷骨架的所有信号(表 1),由于取代基的影响,其化学位移有小的变化,特别是 H-5'/C-5'和 H-6'/C-6', δ_H 分别向低场移动了约 0.28 和 0.66, δ_C 分别向高场移动了约 2.6 (C-5') 和向低场移动约 2.3 (C-6')。¹H-NMR 显示有一苯环 AABB 耦合系统存

表 1 化合物 1~4 的 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据^{*}
Table 1 ^1H -NMR and ^{13}C -NMR data for compounds 1—4^{*}

碳位	1		2		3		4	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1		106.3		106.4		106.5		106.4
2		162.5		163.2		162.6		163.0
3		104.3		104.4		104.4		104.5
4		163.3		163.8		163.5		163.7
5		104.3		104.2		104.1		104.2
6		162.5		163.2		162.6		163.0
7		205.4		205.3		205.6		205.4
8	2.65 (3H, s)	33.4	2.61 (3H, s)	33.5	2.61 (3H, s)	33.6	2.60 (3H, s)	33.5
1'	4.94 (1H, d, $J=9.7$ Hz)	76.7	5.00 (1H, d, $J=9.8$ Hz)	77.0	4.96 (1H, d, $J=9.8$ Hz)	77.0	5.00 (1H, d, $J=9.8$ Hz)	77.0
2'	3.60 (1H, t, $J=9.5$ Hz)	74.1	3.65 (1H, m)	74.3	3.59 (1H, m)	74.3	3.47~3.68 (1H, m)	74.3
3'	3.54 (1H, t, $J=9.2$ Hz)	79.1	3.47~3.59 (1H, m)	79.4	3.46~3.56 (1H, m)	79.2	3.47~3.68 (1H, m)	79.3
4'	3.50 (1H, t, $J=8.8$ Hz)	71.1	3.47~3.59 (1H, m)	71.4	3.46~3.56 (1H, m)	71.6	3.47~3.68 (1H, m)	71.4
5'	3.43 (1H, m)	82.7	3.71 (1H, m)	80.1	3.66 (1H, m)	80.2	3.73 (1H, m)	80.0
6'a	3.81 (1H, dd, $J=2.3$, 12.3 Hz)	61.8	4.49 (1H, m)	64.1	4.46 (1H, m)	63.9	4.52 (1H, m)	64.4
6'b	3.86 (1H, dd, $J=4.3$, 12.3 Hz)	61.8	4.49 (1H, m)	64.1	4.46 (1H, m)	63.9	4.52 (1H, m)	64.4
1''	4.94 (1H, d, $J=9.7$ Hz)	76.7	5.00 (1H, d, $J=9.8$ Hz)	76.9	4.96 (1H, d, $J=9.8$ Hz)	76.8	5.00 (1H, d, $J=9.8$ Hz)	76.9
2''	3.60 (1H, t, $J=9.5$ Hz)	74.1	3.65 (1H, m)	74.2	3.59 (1H, m)	74.2	3.47~3.68 (1H, m)	74.2
3''	3.54 (1H, t, $J=9.2$ Hz)	79.1	3.47~3.59 (1H, m)	79.0	3.46~3.56 (1H, m)	78.9	3.47~3.68 (1H, m)	79.0
4''	3.50 (1H, t, $J=8.8$ Hz)	71.1	3.47~3.59 (1H, m)	71.2	3.46~3.56 (1H, m)	71.1	3.47~3.68 (1H, m)	71.2
5''	3.43 (1H, m)	82.7	3.40 (1H, m)	82.8	3.41 (1H, m)	82.8	3.40 (1H, m)	82.8
6''a	3.81 (1H, dd, $J=2.3$, 12.3 Hz)	61.8	3.80 (1H, dd, $J=4.2$, 12.2 Hz)	62.0	3.81 (1H, dd, $J=4.3$, 12.2 Hz)	61.9	3.79 (1H, dd, $J=4.2$, 12.2 Hz)	62.0
6''b	3.86 (1H, dd, $J=4.3$, 12.3 Hz)	61.8	3.84 (1H, dd, $J=1.9$, 12.0 Hz)	62.0	3.86 (1H, dd, $J=2.1$, 12.1 Hz)	61.9	3.84 (1H, m)	62.0
1'''				127.2		127.6		135.8
2''', 6'''		7.48 (2H, d, $J=8.6$ Hz)	131.5	7.64 (2H, d, $J=8.7$ Hz)	134.0	7.63 (2H, m)		129.5
3''', 5'''		6.81 (2H, d, $J=8.6$ Hz)	117.0	6.73 (2H, d, $J=8.7$ Hz)	115.9	7.42 (2H, m)		130.2
4'''			161.6		160.3	7.42 (1H, m)		131.8
7'''		7.66 (1H, d, $J=16.0$ Hz)	147.2	6.89 (1H, d, $J=12.8$ Hz)	146.0	7.73 (1H, d, $J=16.0$ Hz)		146.9
8'''		6.37 (1H, d, $J=16.0$ Hz)	114.8	5.81 (1H, d, $J=12.8$ Hz)	116.0	6.58 (1H, d, $J=16.0$ Hz)		118.5
9'''			169.0		168.1			168.4

^{*} $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -NMR 谱数据在 600/150 MHz 下以 CD_3OD 为溶剂测定 (除化合物 1 的 ^{13}C -NMR 在 100 MHz 下测定)

^{*} $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -NMR measured in CD_3OD at 600/150 MHz (except ^{13}C -NMR of compound 1 was measured at 100 MHz)

在, δ 7.48 (2H, d, $J=8.6$ Hz, H-2''', 6'''), 6.81 (2H, d, $J=8.6$ Hz, H-3''', 5''') 为对羟基苯基的质子信号; δ 7.66 (1H, d, $J=16.0$ Hz, H-7'''), 6.37 (1H, d, $J=16.0$ Hz, H-8''') 提示有 1 对反式双键; ^{13}C -NMR 谱中还有

7 个碳信号与 *E*-对香豆酸数据基本一致^[12]; HMBC 谱显示, H-6'/C-9''', H-7'''/C-9''', H-7'''/C-2'''(6''') 远程相关 (图 1), 推定葡萄糖基的 C-6' 位被 *E*-对香豆酰基取代。化合物 2 在 2 mol/L HCl 溶液中 90 °C

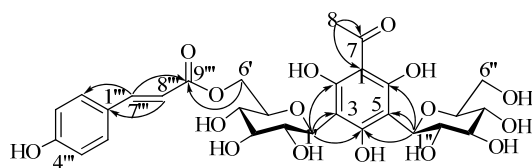


图1 化合物2的结构和主要HMBC相关

Fig. 1 Structure and key HMBC correlations of compound 2

水解30 min, 照上述UPLC色谱条件检测, 结果化合物2被水解为化合物1和对香豆酸, 进一步证实了上述推断。综合以上信息及参考文献报道^[11-13], 鉴定化合物2为2, 4, 6-三羟基苯乙酮-3, 5-二-C-β (6'-O-E-对香豆酰基)-D-葡萄糖苷。

化合物3: 白色粉末。 $[\alpha]_D^{22} + 71.6^\circ$ (c 1.10, MeOH); HR-ESI-MS m/z : 637.177 3 $[M-H]^-$ (计算值 637.176 9), 确定其相对分子质量为 638, 分子式为 $C_{29}H_{34}O_{16}$; UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 229, 287, 317 (肩峰)。 1H -NMR 谱和 ^{13}C -NMR 谱与化合物2非常相似(表1), 1H -NMR 显示 δ 6.89 (1H, d, $J = 12.8$ Hz, H-7'''), 5.81 (1H, d, $J = 12.8$ Hz, H-8''') 顺式双键存在; ^{13}C -NMR 谱中除间苯三酚苯乙酮双碳糖苷骨架信号外的7个碳信号与Z-对香豆酸数据基本一致^[12]; 主要的HMBC相关同化合物2。化合物3在2 mol/L HCl 溶液中90 °C水解30 min, 照上述UPLC色谱条件检测, 结果化合物3被水解为化合物1和对香豆酸, 进一步证实了上述推断。综合以上信息及参考文献报道^[10-12], 鉴定化合物3为2, 4, 6-三羟基苯乙酮-3, 5-二-C-β (6'-O-Z-对香豆酰基)-D-葡萄糖苷。

化合物4: 白色粉末。 $[\alpha]_D^{22} + 2.0^\circ$ (c 0.88, MeOH); HR-ESI-MS m/z : 621.181 8 $[M-H]^-$ (计算值 621.181 9), 确定其相对分子质量为 622, 分子式为 $C_{29}H_{34}O_{15}$; UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 227 (肩峰), 287, 325 (肩峰)。 1H -NMR 谱和 ^{13}C -NMR 谱与化合物2的非常相似(表1), 1H -NMR 同样显示 δ 7.73 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7'''), 6.58 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8''') 反式双键存在, 以及单取代苯环质子信号 δ 7.63 (2H, m, H-2'', 6''), 7.42 (3H, m, H-3'', 4'', 5'')^[11]; ^{13}C -NMR 谱中除间苯三酚苯乙酮双碳糖苷骨架信号外的7个碳信号与E-肉桂酸数据基本一致^[12]; 主要的HMBC相关同化合物2。化合物4在2 mol/L HCl 溶液中90 °C水解30 min, 照上述UPLC色谱条件检测, 结果化合物4被水解为化合物1和E-肉桂酸, 进一步证实了上述推断。综合以上信息及参考文献报道^[11-13],

鉴定化合物4为2, 4, 6-三羟基苯乙酮-3, 5-二-C-β (6'-O-E-肉桂酰基)-D-葡萄糖苷。

4 讨论

化合物1目前仅从三桠苦种子^[8]、鳞腺杜鹃^[9]、苔藓植物黄白复叉苔^[14]等3种没有直接亲缘关系的植物中得到, 化合物1已经实现人工合成^[10], 化合物2~4为新化合物。与它们结构类似的化合物3', 5'-二-C-β-D-吡喃葡萄糖基根皮素已从芸香科金桔属植物^[15]和姜科植物草果^[16]中分离得到, 2, 4, 6-三羟基苯乙酮-3-C-β-D-吡喃葡萄糖苷及其2'-O-E-对香豆酰基衍生物、2'-O-E-肉桂酰基衍生物和没食子酰基衍生物已从龙脑香科植物婆罗香^[11]和桃金娘科植物丁香^[13]中分离得到。推测这些化合物的分类学、生态学、生理学、药理学意义均值得深入研究。

志谢: 核磁和质谱由中国科学院昆明植物研究所李波正高级工程师等协助测定, 李波和云南民族大学胡琳教授还对结构解析给予了极大帮助。

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 (第43卷2分册) [M]. 北京: 科学出版社, 1997.
- [2] 杨增明, 马志伟, 袁玲玲. 傣医药研究 [M]. 昆明: 云南科学技术出版社, 2012.
- [3] Wei H L, Zhou S X, Jiang Y, et al. Chemical constituents from leaves of *Evodia lepta* [J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2013, 38(8): 1193-1197.
- [4] 张军锋, 窦志峰, 白洋, 等. 三丫苦的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2011, 23(6): 1061-1063.
- [5] Yang L J, Jiang K, Tan J J, et al. Prenylated benzene metabolites from *Melicope pteleifolia* [J]. *Helv Chim Acta*, 2013, 96(1): 119-123.
- [6] 康国娇, 杨树娟, 周海瑜, 等. 傣药三桠苦化学成分研究 [J]. 中药材, 2014, 37(1): 74-76.
- [7] 杨树娟, 余玲, 康国娇, 等. 三丫苦中6种成分比较研究 [J]. 中成药, 2014, 36(3): 580-585.
- [8] 林丽纯. 台湾产吴茱萸属植物果实之成分研究 [D]. 台北: 国立中国医药研究所, 1997.
- [9] Zhou X L, Zhang Y, Liang H, et al. Chemical constituents of *Rhododendron lepidotum* [J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2012, 37(4): 483-489.
- [10] Sato S, Akiya T, Suzuki T, et al. Environmentally friendly C-glycosylation of phloracetophenone with unprotected D-glucose using scandium (III) trifluoromethanesulfonate in aqueous media: key compounds for the syntheses of mono- and di-C-glucosylflavonoids [J]. *Carbohydr Res*,

- 2004, 339(15): 2611-2614.
- [11] Ali Z, Ito T, Tanaka T, *et al.* Acetophenone C-glucosides and stilbene O-glucosides in *Upuna borneensis* [J]. *Phytochemistry*, 2004, 65(14): 2141-2146.
- [12] 杨丽娟, 羊晓东, 李 良. 藏药云南兔耳草的化学成分研究 [J]. 中药材, 2005, 28(9): 767-769.
- [13] Tanaka T, Orii Y, Nonaka G, *et al.* Tannins and related compounds, CXXIII. Chromone, acetophenone and phenylpropanoid glycosides and their galloyl and/or hexahydroxydiphenoyl esters from the leaves of *Syzygium aromaticum* Merr. et Perry [J]. *Chem Pharm Bull*, 41(7): 1232-1237.
- [14] Frank C, Becker H. Lignans from the liverwort *Lepicolea ochroleuca* [J]. *Phytochemistry*, 1999, 52(8): 1651-1656.
- [15] Ogawa K, Kawasaki A, Omura M, *et al.* 3', 5'-di-C- β -glucopyranosylphloretin, a flavonoid characteristic of the genus *Fortunella* [J]. *Phytochemistry*, 2001, 57(5): 737-742.
- [16] 王 暉, 杨崇仁, 张颖君. 草果果实中的酚性成分 [J]. 云南植物研究, 2009, 31(3): 284-288.