

小叶黄杨非生物碱类成分

张越浩¹, 关焕玉^{1,2}, 王永林^{1,2}, 刘俊宏^{1,2}, 李勇军^{1,2}, 刘香¹, 廖尚高^{1,2*}

(1. 贵阳医学院药学院, 民族药与中药开发应用教育部工程研究中心, 贵阳 550004;
2. 贵州省药物制剂重点实验室, 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 研究小叶黄杨的非生物碱类化学成分。方法: 应用 MCI、正相硅胶、RP-18 反相硅胶以及葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 等各种柱色谱技术对小叶黄杨乙酸乙酯与正丁醇萃取物进行分离纯化, 并根据理化常数及波谱数据对分离得到的化合物进行鉴定。结果: 共分离得到 10 个化合物, 分别鉴定为 4',5-二羟基-3, 3',6,7-四甲氧基黄酮(1), 4',5-二羟基-3,6,7-三甲氧基黄酮(2), 3',4',5-三羟基-3,6,7-三甲氧基黄酮(3), 松脂素(4), 3'-O-去甲基表松脂素(5), 阿魏酸甲酯(6), 对羟基肉桂酸甲酯(7), 黄花菜木脂素 A(8), 紫丁香苷(9), 异落叶松脂素-4-O-β-D-葡萄糖苷(10)。结论: 化合物 1,4~7,9~10 均系首次从该种植物中分离得到。

[关键词] 小叶黄杨; 非生物碱; 黄酮; 木脂素

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)20-0114-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014200114

Non-alkaloid Constituents from *Buxus sinica*

ZHANG Yue-hao¹, GUAN Huan-yu^{1,2}, WANG Yong-lin^{1,2}, LIU Jun-hong^{1,2},
LI Yong-jun^{1,2}, LIU Xiang¹, LIAO Shang-gao^{1,2*}

(1. School of Pharmacy, Guiyang Medical College, Engineering Research Center for the Development and Application of Ethnic Medicines and Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Guiyang 550004, China;
2. Provincial Key Laboratory of Pharmaceutics in Guizhou Province, Guiyang 550004, China)

[Abstract] Objective: To study the non-alkaloid constituents of *Buxus sinica*. Method: The compounds from ethyl acetate and *n*-butanol fractions of *B. sinica* were isolated by various chromatographic techniques including MCI gel, normal phase silica gel, RP-18 Silica gel and Sephadex LH-20. The structures were identified by their physical-chemical properties and spectroscopic analysis. Result: Ten compounds were isolated and identified as 4', 5-dihydroxy-3, 3', 6, 7-tetramethoxyflavone (1), 4', 5-dihydroxy-3, 6, 7-trimethoxyflavone (2), 3', 4', 5-trihydroxy-3, 6, 7-trimethoxyflavone (3), pinoselin (4), 3'-O-demethylpinoselin (5), 4-hydroxy-3-methoxycinnamic acid methyl ester (6), methyl-4-hydroxycinnamate (7), cleomiscosin A (8), syringin (9) and isolaricresinol-4-O-β-D-glucopyranoside (10). Conclusion: Compounds 1, 4-7, and 9-10 were isolated from this plant for the first time.

[Key words] *Buxus sinica*; non-alkaloid constituents; flavones; lignans

小叶黄杨是大戟目黄杨科植物, 常绿灌木或小乔木, 又名青明矮、千年矮、黄头艾、万年青、黄木、锦

[收稿日期] 20131118(007)

[基金项目] 贵阳市现代药业计划项目(2011204); 贵州省中药现代化科技产业研究开发专项([2011]5081, [2013]4001); 贵州省卫生厅科学技术基金项目(gzkwj2012-1-104); 贵阳医学院基金(2012019)

[第一作者] 张越浩, 在读硕士, 从事天然药物化学研究, Tel: 18285101656, E-mail: 873419717@qq.com

[通讯作者] *廖尚高, 教授, 硕士生导师, 从事天然药物化学、中草药药效物质基础研究, Tel: 0851-6908468-8712, E-mail: lshangg@163.com

熟黄杨,主要分布于我国贵州等南部各省,多生长于溪流的石罅中或岸边,具有祛风除湿、行气止痛、活血通络之功效^[1]。以小叶黄杨为主药的“心脑宁胶囊”系贵州安泰药业有限公司的中药产品,临床上主要用于气滞血瘀的胸痹、头痛、眩晕以及冠心病、脑动脉硬化等病证的治疗^[2]。前期研究表明,小叶黄杨中含有木脂素、黄酮等多种成分^[3-4]。为进一步研究小叶黄杨的物质基础,为小叶黄杨的药用开发奠定基础,笔者进一步探究其化学成分,对产于贵州龙里的小叶黄杨进行了物质基础研究,从中提取分离出10个化合物,通过理化性质常数及波谱特征数据,鉴定为4',5-二羟基-3,3',6,7-四甲氧基黄酮(1),4',5-二羟基-3,6,7-三甲氧基黄酮(2),3',4',5-三羟基-3,6,7-三甲氧基黄酮(3),松脂素(4),3'-*O*-去甲基表松脂素(5),阿魏酸甲酯(6),对羟基肉桂酸甲酯(7),黄花菜木脂素A(8),紫丁香苷(9),异落叶松脂素-4-*O*- β -*D*-葡萄糖苷(10);其中化合物1,4~7,10均系首次从该种植物中分离得到。

1 材料

Acquity UPLC-TQD 超高压液相色谱-质谱联用仪(美国 Waters 公司),BRUKER-Q-TOF 质谱仪(德国 Bruker 公司),JEOL ECX 500 MHz 核磁共振波谱仪(日本 JEOL 电子株式会社),EYELA N-1100 型旋转蒸发仪(东京理化器械株式会社),正相色谱用硅胶(200~300目)和高效薄层色谱板 GF₂₅₄(青岛海洋化工),RP-18 型反相硅胶(德国 Merck 公司),MCI CHP20P 型树脂(日本三菱化学公司),凝胶 Sephadex LH-20(瑞士 Pharmacia Biotech 公司),所用试剂均为分析纯或色谱纯。

实验样品采自贵州省龙里县,由贵阳医学院药学院生药学教研室龙庆德副教授鉴定为黄杨科黄杨属植物小叶黄杨 *Buxus sinica*(Rehd. et Wils.) Cheng 的全草。

2 提取与分离

小叶黄杨 30.0 kg 干燥全草,经粉碎后用 75% 的乙醇冷浸提取 3 次,时间依次为 5,3,3 d。合并提取液,回收乙醇得浓稠浸膏。浸膏用适量水溶散,1% 稀硫酸调 pH 3,再用乙酸乙酯萃取,回收溶剂得乙酸乙酯萃取物 250 g;将萃取后水部分用 1% NaOH 调 pH 9,后用三氯甲烷、正丁醇依次萃取,分别得到三氯甲烷萃取物 220 g 和正丁醇萃取物 200 g。将上述乙酸乙酯萃取物,采用 MCI 柱色谱进行粗分段,甲醇和水混合溶剂梯度洗脱(甲醇-水 30:70~90:10),将乙酸乙酯萃取物分为 7 部分(Fr. 1-Fr. 7);

Fr. 5 经反复正相硅胶柱色谱、凝胶 Sephadex LH-20 柱色谱以及重结晶分离纯化得到化合物 3(1100 mg),4(60 mg),5(65 mg),6(51 mg),7(5 mg),8(55 mg)。Fr. 6 经反复凝胶 Sephadex LH-20、正相硅胶柱色谱柱色谱分离纯化得到化合物 1(500 mg),2(1500 mg)。将正丁醇萃取物同样经 MCI 柱层析,以甲醇和水混合溶剂梯度洗脱(甲醇-水 10:90~60:40),分为 6 部分(Fr. 8-Fr. 13)。Fr. 9 经反复正相硅胶柱色谱、RP-18 反相柱色谱以及凝胶 Sephadex LH-20 柱色谱分离得到化合物 9(130 mg),10(50 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1 黄色粉末(甲醇),C₁₉H₁₈O₈,ESI-MS m/z 372.8 [M-H]⁻,747.0 [2M-H]⁻,374.8 [M+H]⁺。HREIMS m/z 373.0931 [M-H]⁻。¹H-NMR(500 MHz, DMSO-*d*₆) δ :12.63(1H, s, -OH),9.97(1H, s, -OH),7.67(1H, d, J =2.5 Hz, H-2'),7.63(1H, dd, J =8.5, 2.5 Hz, H-6'),6.96(1H, d, J =8.5 Hz, H-5'),6.91(1H, s, H-8),3.92(3H, s, 3'-OMe),3.87(3H, s, 7-OMe),3.81(3H, s, 6-OMe),3.73(3H, s, 3-OMe)。¹³C-NMR(125 MHz, DMSO-*d*₆) δ :178.8(C-4),159.2(C-7),156.4(C-1),152.4(C-5),152.3(C-10),150.6(C-4'),148.1(C-3'),138.3(C-3),132.2(C-6),123.0(C-1'),121.3(C-6'),116.2(C-5'),112.7(C-2'),106.0(C-9),92.1(C-8),60.7(6-OMe),60.3(3-OMe),57.1(7-OMe),56.4(3'-OMe)。以上波谱数据与文献[5]报道数据对照基本一致,故鉴定该化合物为4',5-二羟基-3,3',6,7-四甲氧基黄酮。

化合物 2 黄色晶体(甲醇),mp 216~217 °C,C₁₈H₁₆O₇,ESI-MS m/z 342.8 [M-H]⁻,687.0 [2M-H]⁻,344.7 [M+H]⁺。HREIMS m/z 345.0953 [M+H]⁺。¹H-NMR(500 MHz, DMSO-*d*₆) δ :7.98(2H, dd, J =9.0, 2.0 Hz, H-2', H-6'),6.95(2H, dd, J =9.0, 2.0 Hz, H-3', H-5'),6.89(1H, s, H-8),3.91(3H, s, 3-OMe),3.79(3H, s, 6-OMe),3.73(3H, s, 7-OMe)。¹³C-NMR(125 MHz, DMSO-*d*₆) δ :178.3(C-4),160.3(C-7),158.6(C-4'),155.9(C-9),151.8(C-5),151.7(C-2),137.6(C-3),131.6(C-6),130.2(C-2'),130.2(C-6'),120.5(C-1'),115.7(C-3'),115.7(C-5'),105.6(C-10),91.4(C-8),60.1(3-OMe),59.7(6-OMe),56.5(7-OMe)。以上波谱数据与文献[4,6]报道数据对照基本一致,故鉴定该化合物为4',5-二羟基-

3,6,7-三甲氧基黄酮。

化合物3 黄色粉末(甲醇), $C_{18}H_{16}O_8$, ESI-MS m/z 358.8 [M - H]⁻, 719.0 [2M - H]⁻, 360.7 [M + H]⁺。HREIMS m/z 361.0885 [M + H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.22 (1H, s, 5-OH), 7.59 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 7.47 (1H, dd, $J = 8.5, 2.1$ Hz, H-6'), 6.83 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 6.53 (1H, s, H-8), 3.91 (3H, s, 7-OMe), 3.79 (3H, s, 3-OMe), 3.73 (3H, s, 6-OMe)。¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 178.2 (C-4), 158.6 (C-7), 156.0 (C-9), 151.7 (C-5), 151.7 (C-2), 148.9 (C-4'), 145.3 (C-3'), 137.7 (C-3), 131.6 (C-6), 120.7 (C-1'), 120.7 (C-6'), 115.7 (C-2'), 115.6 (C-5'), 105.5 (C-10), 91.3 (C-8), 59.9 (6-OMe), 59.5 (3-OMe), 56.4 (7-OMe)。以上波谱数据与文献[7]报道数据对照基本一致,故鉴定该化合物为3',4',5-三羟基-3,6,7-三甲氧基黄酮。

化合物4 无色晶体(甲醇), mp 118 ~ 120 °C, $C_{20}H_{22}O_6$, ESI-MS m/z 356.8 [M - H]⁻, 715.2 [2M - H]⁻, 358.8 [M + H]⁺, 717.0 [2M + H]⁺。HREIMS m/z 359.1436 [M + H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OH) δ : 6.92 (2H, d, $J = 1.7$, H-2, 2'), 6.78 (2H, dd, $J = 8.1, 1.7$ Hz, H-6, 6'), 6.75 (2H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5, 5'), 4.67 (2H, d, $J = 3.5$ Hz, H-7, 7'), 4.20 (2H, m, H-9a, 9'a), 3.83 (6H, s, 3, 3'-OMe), 3.81 (2H, m, H-9b, 9'b), 3.10 (2H, m, H-8, 8')。¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OH) δ : 149.2 (C-3, 3'), 147.4 (C-4, 4'), 133.9 (C-1, 1'), 120.2 (C-6, 6'), 116.2 (C-5, 5'), 111.1 (C-2, 2'), 87.6 (C-7, 7'), 56.5 (3, 3'-OMe), 55.5 (C-8, 8')。以上波谱数据与文献[8-9]报道数据对照基本一致,故鉴定该化合物为松脂素。

化合物5 白色粉末(甲醇), $C_{20}H_{22}O_6$, ESI-MS m/z 356.9 [M - H]⁻, 715.1 [2M - H]⁻, 358.7 [M + H]⁺, 717.1 [2M + H]⁺。HREIMS m/z 359.1453 [M + H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OH) δ : 6.97 (1H, s, H-2), 6.95 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2'), 6.79 (2H, m, H-5, 6), 6.75 (2H, m, H-5', 6'), 4.84 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-7), 4.38 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-7'), 4.09 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-9'b), 3.83 (3H, s, 3-OMe), 3.82 (1H, m, H-9'a), 3.77 (2H, m, H-9), 3.38 (1H, m, H-8'), 2.90 (1H, m, H-8)。¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OH) δ : 149.2 (C-4'), 149.0 (C-4), 147.5 (C-3'), 146.7 (C-3), 134.0 (C-1'), 131.5 (C-

1), 120.3 (C-6'), 119.5 (C-6), 116.2 (C-5'), 116.1 (C-5), 111.6 (C-2'), 110.6 (C-2), 89.6 (C-7'), 83.6 (C-5), 72.1 (C-9'), 70.8 (C-9), 56.5 (3-OMe), 55.8 (C-8'), 51.4 (C-8)。以上波谱数据与文献[10]报道数据对照基本一致,故鉴定该化合物为3'-O-去甲基表松脂素。

化合物6 白色晶体(甲醇), mp 62 ~ 65 °C, $C_{11}H_{12}O_4$, ESI-MS m/z 207 [M - H]⁻, 209 [M + H]⁺。HREIMS m/z 207.0663 [M + H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.60 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7), 7.05 (1H, dd, $J = 8.3, 1.8$ Hz, H-6), 7.00 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2), 6.89 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5), 6.27 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8), 3.89 (3H, s, -OMe), 3.77 (3H, s, -OMe); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 127.1 (C-1), 123.2 (C-2), 148.2 (C-3), 147.0 (C-4), 115.3 (C-5), 115.0 (C-6), 145.2 (C-7), 109.6 (C-8), 168.0 (C-9), 51.8 (-OMe), 56.1 (-OMe)。以上波谱数据与文献[11]报道数据对照基本一致,故鉴定该化合物为阿魏酸甲酯。

化合物7 白色针晶(甲醇), mp 136 ~ 138 °C, $C_{10}H_{10}O_3$, ESI-MS m/z : 177 [M - H]⁻, 179 [M + H]⁺。HREIMS m/z 177.0559 [M + H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OH) δ : 7.61 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7), 7.43 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2, 6), 6.78 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3, 5), 6.31 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8), 3.71 (3H, s, 9-OMe)。¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OH) δ : 169.9 (C-9), 161.1 (C-4), 146.8 (C-7), 131.4 (C-2, 6), 127.3 (C-1), 117.0 (C-3, 5), 115.0 (C-8), 52.2 (9-OMe)。以上波谱数据与文献[12]报道数据对照基本一致,故鉴定该化合物为对羟基肉桂酸甲酯。

化合物8 白色粉末(甲醇), $C_{20}H_{18}O_8$, ESI-MS m/z 385 [M - 1]⁻, 387 [M + 1]⁺。HREIMS m/z 387.1036 [M + H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, C₅D₅N) δ : 11.42 (1H, s, -OH), 7.77 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, 4-H), 7.35 (3H, m, 2', 5', 6'-H), 6.74 (1H, s, 5-H), 6.45 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, 3-H), 5.57 (1H, d, $J = 8.5, 7$ -H), 4.50 ~ 3.90 (3H, m, 8'-H, 9'-H), 3.80 (3H, s, -OMe), 3.71 (3H, s, -OMe)。¹³C-NMR (125 MHz, C₅D₅N) δ : 161.2 (C-2), 149.5 (C-3'), 149.2 (C-4'), 146.8 (C-6) 144.9 (C-4), 139.7 (C-9), 138.8 (C-7), 133.4 (C-8), 128.0 (C-1'), 122.1 (C-6'), 117.0 (C-3), 114.2 (C-5'), 112.6 (C-2'), 112.3 (C-10), 101.4 (C-5), 80.3 (C-7'), 77.9 (C-

8'), 61.1 (C-9'), 56.5 (6-OMe), 56.2 (3'-OMe)。以上波谱数据与文献[4]报道数据对照基本一致,故鉴定该化合物为黄花菜木脂素 A。

化合物 9 无色固体(甲醇), $C_{17}H_{24}O_9$, ESI-MS m/z 416.8 [M + HCOO]⁻, 788.9 [2M + HCOO]⁻。¹H-NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.73 (2H, s, H-3, 5), 6.46 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-7), 6.33 (1H, dd, J = 16.0, 5.2 Hz, H-8), 4.91 (1H, d, J = 7.7 Hz, H-1'), 4.09 (2H, d, J = 5.2 Hz, -CH₂O⁻), 3.77 (6H, s, 2-OMe), 3.58 (2H, m, H-6')。¹³C-NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 133.8 (C-1), 152.7 (C-2, 6), 104.4 (C-3, 5), 132.6 (C-4), 128.5 (C-7), 130.2 (C-8), 61.5 (C-9), 102.6 (C-1'), 74.2 (C-2'), 77.3 (C-3'), 69.9 (C-4'), 76.6 (C-5'), 60.9 (C-6'), 56.4 (2 × OMe)。以上波谱数据与文献[13-14]报道数据对照基本一致,故鉴定该化合物为紫丁香苷。

化合物 10 无色固体(甲醇), 分子式 $C_{26}H_{34}O_{11}$, ESI-MS m/z 520.8 [M - H]⁻, 523.0 [M + H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OH) δ : 6.74 (1H, s, H-2), 6.72 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 6.68 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2'), 6.60 (1H, dd, J = 1.8, 8.0 Hz, H-6'), 6.50 (1H, s, H-5), 4.37 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-1''), 3.84 (1H, m, H-8'), 3.80 (3H, s, -OMe), 3.77 (3H, s, -OMe), 3.36 (2H, m, H-9), 3.33 (2H, m, H-9'), 2.80 (2H, d, J = 7.6 Hz, H-7), 2.04 (1H, m, H-8), 1.75 (1H, m, H-7')。¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OH) δ : 149.2 (C-3), 148.7 (C-3'), 146.4 (C-4), 146.2 (C-4'), 138.3 (C-1'), 134.9 (C-6), 132.3 (C-1), 123.4 (C-6'), 119.0 (C-5), 116.2 (C-5'), 113.9 (C-2), 113.3 (C-2'), 103.5 (C-1''), 78.1 (C-5''), 78.0 (C-3''), 74.8 (C-2''), 70.8 (C-4''), 65.9 (C-9), 62.3 (C-9'), 62.0 (C-6''), 56.9 (-OMe), 56.5 (-OMe), 48.3 (C-8'), 47.6 (C-7'), 39.9 (C-8), 33.5 (C-7)。以上波谱数据与文献[15]报道数据对照基本一致,故鉴定该化合物为异落叶松脂素 4-O- β -D-葡萄糖苷数据基本一致。

4 讨论

从小叶黄杨乙酸乙酯和正丁醇萃取物中分离鉴定了 10 个化合物,其中 4',5-二羟基-3,3',6,7-四甲氧基黄酮,松脂素,3'-O-去甲基表松脂素,阿魏酸甲酯,对羟基肉桂酸甲酯,紫丁香苷,异落叶松脂素-4-O- β -D-葡萄糖苷 7 个化合物均为首次从该植物中分离得到。当然,这些化学成分是否与小叶黄杨的临床应用有关,尚需开展深入的活性研究。

[参考文献]

- [1] 吴征镒,周太炎,肖培根,等. 新华本草纲要. 第 1 卷 [M]. 上海:上海人民出版社,1988:316.
- [2] 贵州省药品监督局. 贵州省中药民族药材质量标准 [S]. 贵阳:贵州科技出版社,2003:53.
- [3] 梁荣感,毛庭枝,梁成钦,等. 小叶黄杨化学成分的研究 [J]. 广西植物,2009,29(5):703.
- [4] 林云良,邱明华,李忠荣,等. 黄杨中的非生物碱化学成分 [J]. 云南植物研究,2006,28(4):429.
- [6] Ying Wang, Matthias Hamburger, Joseph Gueho. Antimicrobial flavonoids from *Psiadia trinervia* and their methylated and acetylated derivatives [J]. *Phytochemistry*,1989,28(9):2323.
- [8] 周大铮,易杨华,毛士龙,等. 香榧假种皮中的木脂素成分 [J]. 药学学报,2004,39(4):269.
- [9] 冷光,王海鸥,明东升. 连翘中松脂素的分离鉴定和含量测定 [J]. 山西医科大学学报,2003,3(3):227.
- [10] 晏永明,陶明,罗茜,等. 红棕杜鹃(原变种)叶的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志,2013,38(6):839.
- [11] Sean D Cox, K Chamila Jayasinghe, Julie L Markham, et al. Antioxidant activity in australian native sarsaparilla (*Smilax glycyphylla*) [J]. *J Ethnopharm*, 2005,101(1/3):162.
- [12] 王定勇,卢江红. 扛板归根化学成分研究 [J]. 亚热带植物科学,2004,33(2):10.
- [13] 王晓玲,李启发,丁立生. 天山雪莲的化学成分研究 [J]. 中草药,2007,38(12):1795.
- [14] 李燕,郭顺星,王春兰. 新疆雪莲化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志,2007,32(2):162.
- [15] 冯卫生,李珂珂,郑晓珂. 连翘化学成分的研究 [J]. 中国药学杂志,2009,44(7):490.

[责任编辑 邹晓翠]