

野生白木香叶乙酸乙酯提取物化学成分的分离鉴定

杨懋勋^{1,2}, 梁耀光³, 陈河如^{1,4}, 黄永芳⁵, 龚海光⁵

(1. 暨南大学药学院中药及天然药物研究所, 广东广州 510632) (2. 中山火炬职业技术学院, 广东中山 528436) (3. 中山优诺生物科技发展有限公司, 广东中山 528400) (4. 广东省中药药效物质基础及创新药物研究重点实验室, 广东广州 510632) (5. 华南农业大学林学院, 广东广州 510642)

摘要: 为探究沉香茶系列保健食品的主要原料白木香 (*Aquilaria sinensis*) 叶片药理活性的物质基础, 本研究通过含 70% 丙酮的水溶液渗漉提取、石油醚和乙酸乙酯多次萃取后, 运用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱和制备高效液相色谱等技术从野生白木香叶片乙酸乙酯萃取部位中分离纯化得到 7 个化合物, 根据 MS、NMR 等波谱数据分别鉴定其中 6 个化合物为麦角甾醇 (1)、槲皮素-3-O- β -D-吡喃半乳糖苷 (2)、豆甾醇 (3)、5,4'-二羟基-7-甲氧基二氢黄酮 (4)、谷甾醇 (5)、槲皮素-3-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 (6)。6 个化合物按照结构可分为甾醇及其衍生物类 (3 个), 黄酮苷类 (2 个) 和二氢黄酮类 (1 个)。其中化合物 1-2 为首次在瑞香科植物中分离得到, 化合物 4 是在瑞香科沉香属植物中首次分离得到的二氢黄酮类化合物, 并首次报道了该化合物的 2D NMR 数据及归属。

关键词: 野生白木香; 化学成分; 甾醇; 黄酮苷; 二氢黄酮

文章编号: 1673-9078(2015)2-128-132

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.2.022

Isolation and Identification of the Chemical Constituents in Ethyl Acetate

Extracts of Wild *Aquilaria sinensis* Leaves

YANG Mao-xun^{1,2}, LIANG Yao-guang³, CHEN He-ru^{1,4}, HUANG Yong-fang⁵, GONG Hai-guang⁵

(1. Institute of Traditional Chinese Medicine and Natural Products, College of Pharmacy, Jinan University, Guangzhou 510632, China) (2. Zhongshan Torch Polytechnic, Zhongshan 528436, China) (3. UNO Scientific Co., Ltd, Zhongshan 528400, China) (4. Guangdong Province Key Laboratory of Pharmacodynamic Constituents of TCM and New Drugs Research, Guangzhou 510632, China) (5. College of Forestry, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: The aim of this study was to explore the material basis for the pharmacological activities of *Aquilaria sinensis* leaves, which are the main components of the 'Aquilaria Tea' health food product series. Dried leaf powder was percolated with an aqueous solution containing 70% acetone and extracted several times using petroleum ether and ethyl acetate. Subsequently, seven compounds were isolated from the ethyl acetate extracts of wild *Aquilaria sinensis* leaves by multiple techniques including silica gel column chromatography, gel filtration chromatography (Sephadex LH-20), and preparative high performance liquid chromatography (PHPLC). Data from mass spectrometry (MS) and nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy revealed the presence of six compounds: ergosterol (1), quercetin-3-O- β -D-galactopyranoside (2), stigmasterol (3), 5,4-dihydroxy-7-methoxyflavanone (4), β -sitosterol (5), and quercetin-3-O- β -D-glucopyranoside (6). Based on their structures, the compounds could be classified as three sterols and their derivatives, two flavonoid glycosides, and one flavanone. Among them, compounds 1-2 were first isolated from the family Thymelaeaceae, and compound 4 was the first flavanone isolated from the genus *Aquilaria* (family Thymelaeaceae). The 2D NMR data and chemical shift assignments of compound 5 were reported here for the first time.

Key words: wild *Aquilaria sinensis*; chemical constituents; sterol; flavonoid glycoside; flavanone

收稿日期: 2014-08-19

基金项目: 国家自然科学基金(81172982); 广东省科技计划项目(2010A030100006); 中山市科技计划项目(20101H006; 20123A276)

作者简介: 杨懋勋(1981-), 男, 博士研究生, 从事生物医药工程研究

通讯作者: 陈河如(1967-), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 从事新药设计、合成、作用机理研究

国产沉香为瑞香科沉香属植物白木香 (*Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg (Thymelaeaceae)) 含有树脂的木材, 具有行气止痛, 温中止呕, 纳气平喘之功效, 主治胸腹胀闷疼痛, 胃寒呕吐呃逆, 肾虚气逆喘急等症, 有较好的效果, 是中医临床常用名贵药材, 为广东著名的地产药材。白木香是原产我国的药用植物, 又称土沉香, 其叶片虽然不是该植物的药用部位, 但作为传统中草药广泛用于治疗炎症及过敏症等已有较长的应用历史。近年来的研究表明, 白木香叶提取物具有抗氧化、降血脂、镇痛、抗癌等生理活性, 并以其为原料开发了沉香茶、沉香肾茶、复合保健食品等食品类产品^[1-2]。可见白木香叶是药食两用材料。

据文献报道, 白木香叶中含有多糖、氨基酸、黄酮及其苷类、酚类、咕吨酮等化学成分^[2-3]。本课题组的前期研究中发现, 野生植物与其相应的栽培植物常表现出不同程度的功效或活性, 野生白木香叶提取物的体外抑制癌细胞增值等活性显著优于栽培的白木香叶提取物^[4]。为了揭示野生白木香叶的药效物质基础, 本课题组曾对野生白木香叶化学成分进行了初步的系统研究, 从白木香叶提取物的中低极性部位中分离并鉴定了 13 个化合物, 化合物类别主要是黄酮、脂肪酸等成分^[5]。本研究进一步对白木香叶提取物乙酸乙酯部位中含量较低或分离鉴定难度较大的化学成分进行研究, 通过各种色谱分离手段, 从中分离得到 7 个化合物, 利用 MS、NMR 等波谱数据, 确定了其中 6 个化合物分别为麦角甾醇 (1)、槲皮素-3-*o*- β -D-吡喃半乳糖苷 (2)、豆甾醇 (3)、5,4'-二羟基-7-甲氧基二氢黄酮 (4)、 β -谷甾醇 (5)、槲皮素-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 (6); 另外一个化合物初步鉴定为麦角甾烷-5,7,22-三烯-3-酮 (X), 但有待进一步确认。其中, 化合物 1-2 为首次在瑞香科植物中分离得到, 化合物 4 是在沉香属植物中首次分离得到二氢黄酮类化合物, 并首次报道了该化合物的 2D NMR 数据及归属。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Bruker Advance-300&400&500 MHz 型核磁共振仪, 德国 Bruker 公司; Finnigan LCQ Advantage MAX 质谱仪, 美国 Finnigan 公司; LC-10Avp 分析型高效液相色谱仪, 日本岛津公司; Varian prostar 制备型高效液相色谱仪, 美国 Varian 公司; Cosmosil ODS (250 mm \times 10 mm, 粒径 5 μ m) 制备柱, 日本 Cosmosil 公司; EYELAN-1000 VW 旋转蒸发器, 日本 EYELA 公司。

薄层硅胶、柱色谱硅胶 (100-200, 200-300 目) 为烟台化学工业研究所产品; Sephadex LH-20 (25-100 μ m) 为 GE Healthcare 公司产品; 所用试剂为色谱纯甲醇、色谱纯乙腈, 其他均为分析纯试剂。

野生白木香叶 (*Aquilaria sinensis*) 于 2011 年采自广东省中山市三乡镇树龄约 80 年的野生白木香树, 经华南农业大学冯志坚教授鉴定为白木香 (土沉香)。

1.2 提取与分离

野生白木香叶 3.12 kg, 将其研磨成粉末, 用含 70% 丙酮的水溶液渗漉提取 5 h, 滤过, 将提取液合并, 蒸除溶剂, 然后在 60 $^{\circ}$ C 真空箱干燥, 得干浸膏 601.90 g。将浸膏研碎, 溶于水中, 以等体积的石油醚、醋酸乙酯、正丁醇多次萃取, 得到 3 个萃取部位, 即石油醚部位 42.70 g、乙酸乙酯部位 139.02 g、正丁醇部位 165.21 g。取乙酸乙酯部位采用硅胶柱色谱进行分离, 依次用石油醚-乙酸乙酯 (5:1~0:1) 而后乙酸乙酯-甲醇 (20:1~1:1) 梯度洗脱, 得到馏分 Fre 1~34。Fre 7 (0.32 g) 进一步用 LH-20 凝胶柱及硅胶柱色谱分离得到化合物 X (2.37 mg), Fre 8 (1.27 g) 进一步用硅胶柱色谱、LH-20 凝胶柱分离得到化合物 1 (10.30 mg), Fre 9 (1.02 g) 进一步用 LH-20 凝胶柱及制备液相色谱分离得到化合物 2 (7.80 mg) 和 3 (8.6 mg), Fre 13 (0.49 g) 进一步用硅胶柱色谱及制备液相色谱分离得到化合物 4 (4.58 mg), Fre 33 (0.83 g) 进一步用 LH-20 凝胶柱、硅胶柱色谱及制备液相色谱分离得到化合物 5 (6.81 mg) 和 6 (7.30 mg)。

2 结果与讨论

根据 MS、NMR 等波谱分析, 从野生白木香叶片 70% 丙酮提取物中分离获得的 7 个化合物结构鉴定如下:

化合物 1: 白色针晶。¹H NMR 显示有四个烯氢信号: δ_{H} 5.53 (1H, d, $J=3.0$ Hz), 5.37 (1H, d, $J=3.0$ Hz), 5.28 (1H, dd, $J=15.5, 7.0$ Hz), 5.23 (1H, dd, $J=15.5, 8.0$ Hz)。 δ_{H} 5.28 与 5.23 之间的偶合常数为 15.3 Hz, 提示该化合物含有一个反式双键。 δ_{H} 3.50 (1H, m) 为甾醇的 3 位 α 氢的特征信号。 δ_{H} 1.06 (3H, d, $J=6.5$ Hz), 0.95 (3H, s), 0.93 (3H, d, $J=6.0$ Hz), 0.86 (3H, d, $J=7.0$ Hz), 0.84 (3H, d, $J=7.0$ Hz), 0.67 (3H, s) 提示分子中有 6 个甲基。¹³C NMR 波谱给出了 28 个碳原子信号, 其中 δ_{C} 141.7, 141.5, 136.7, 132.9, 120.1, 117.5 提示分子中有三个双键。 δ_{C} 70.4 为甾醇的 3 位连氧次甲基的特征信号。具体核磁数据如下: ¹H NMR (500 MHz,

Acetone- d_6) δ : 5.53 (1H, d, $J=3.0$ Hz, H-6), 5.37 (1H, d, $J=3.0$ Hz, H-7), 5.28 (1H, dd, $J=15.5, 7.0$ Hz, H-22), 5.23 (1H, dd, $J=15.5, 8.0$ Hz, H-23), 3.50 (1H, m, H-3), 1.06 (3H, d, $J=6.5$ Hz, H-21), 0.95 (3H, s, H-19), 0.93 (3H, d, $J=6.0$ Hz, H-28), 0.86 (3H, d, $J=7.0$ Hz, H-27), 0.84 (3H, d, $J=7.0$ Hz, H-26), 0.67 (3H, s, H-18)。 ^{13}C NMR (125 MHz, Acetone- d_6) δ : 141.7 (C-8), 141.5 (C-5), 136.7 (C-22), 132.9 (C-23), 120.1 (C-6), 117.5 (C-7), 70.4 (C-3), 56.7 (C-17), 55.4 (C-14), 47.3 (C-9), 43.9 (C-24), 43.7 (C-13), 41.9 (C-20), 41.4 (C-12), 40.0 (C-1), 39.4 (C-10), 38.0 (C-4), 33.0 (C-2, C-25), 29.2 (C-16), 23.8 (C-15), 21.9 (C-21), 21.7 (C-11), 20.4 (C-27), 20.1 (C-26), 18.2 (C-28), 16.8 (C-19), 12.5 (C-18)。与文献^[6]对照, 鉴定该化合物为麦角甾醇 (ergosterol)。

化合物 2: 黄色粉末。在 ^1H NMR 波谱中, 三个质子信号 δ_{H} 7.66 (1H, dd, $J=8.5, 2.1$ Hz), 7.53 (1H, d, $J=2.2$ Hz), 6.82 (1H, d, $J=8.5$ Hz), 分别为 B 环 6', 2', 5' 质子信号, 提示 B 环为 3', 4' 二羟基取代模式; 另外 δ : 6.20 (1H, d, $J=2.0$ Hz), 6.41 (1H, d, $J=2.0$ Hz) 为 A 环 6, 8 位质子信号, 提示 A 环为 5, 7 二羟基取代模式; δ : 5.37 (1H, d, $J=7.7$ Hz) 为糖端基质子信号, 根据耦合常数可以确定该糖为 β 型。在 ^{13}C NMR 波谱中 δ_{C} 177.1 为羰基碳信号; 101.4 为糖端基碳信号, 75.4, 72.7, 70.8, 67.5, 57.9 为糖上其它碳信号, 结合数据推测该糖为半乳糖; 余下 14 个碳为黄酮母核其它碳信号; ^{13}C NMR 中, C-2 信号向低场移至 155.9, 根据黄酮苷的邻位效应原则及 ^1H NMR 数据, 提示该糖为 3 位取代。具体核磁数据如下: ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.66 (1H, dd, $J=8.5, 2.1$ Hz, H-6'), 7.53 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-2'), 6.82 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-5'), 6.41 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 6.20 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 5.37 (1H, d, $J=7.7$ Hz, H-1''); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 177.1 (C-4), 163.7 (C-7), 160.8 (C-5), 155.9 (C-2), 155.8 (C-9), 148.0 (C-4'), 144.4 (C-3'), 133.1 (C-3), 121.5 (C-1'), 120.7 (C-6'), 115.6 (C-5'), 114.8 (C-2'), 103.5 (C-10), 101.4 (C-1''), 98.3 (C-6), 93.1 (C-8), 75.4 (C-5''), 72.7 (C-3''), 70.8 (C-2''), 67.5 (C-4''), 59.7 (C-6'')。与文献^[7]对照, 鉴定该化合物为槲皮素-3-O- β -D-吡喃半乳糖苷 (quercetin-3-O- β -D-galactopyranoside)。

化合物 3: 白色粉末。 ^1H NMR 显示三个烯氢信号: δ_{H} 5.34 (1H, brs), 5.14 (1H, dd, $J=15.3, 8.4$ Hz), 5.01 (1H, dd, $J=15.3, 8.4$ Hz)。 δ_{H} 5.14 与 5.01 之间的偶合常数为 15.3 Hz, 提示该化合物含有一个反式双键。 δ_{H} 3.52 (1H, m) 为甾醇的 3 位 α 氢的特征信号。高场区 δ_{H}

1.01 (3H, d), 0.92 (3H, s), 0.85 (3H, d), 0.83 (3H, d), 0.79 (3H, d), 0.68 (3H, s) 提示分子中有 6 个甲基。 ^{13}C NMR 显示 4 个烯碳信号, δ_{C} 140.9, 121.9, 138.5, 129.4 提示分子中有两个双键。 δ_{C} 72.0 为甾醇的 3 位连氧次甲基的特征信号。具体核磁数据如下: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 5.34 (1H, brs, H-6), 5.14 (1H, dd, $J=15.3, 8.4$ Hz, H-22), 5.01 (1H, dd, $J=15.3, 8.4$ Hz, H-23), 3.52 (1H, m, H-3), 1.01 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H-21), 0.85 (3H, t, $J=6.0$ Hz, H-29), 0.83 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H-26), 0.79 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H-27), 0.68 (3H, s, H-18); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 140.9 (C-5), 138.5 (C-22), 129.4 (C-23), 121.9 (C-6), 72.0 (C-3), 56.9 (C-14), 56.2 (C-17), 50.3 (C-9), 50.3 (C-24), 42.4 (C-4), 42.4 (C-13), 40.7 (C-20), 39.9 (C-12), 37.4 (C-1, C-10), 32.0 (C-2, C-7, C-25), 31.8 (C-8), 29.3 (C-16), 26.2 (C-28), 25.6 (C-15), 21.2 (C-11, C-21), 20.0 (C-26), 19.5 (C-19, C-27), 12.1 (C-29), 12.0 (C-18)。与文献^[8-9]对照, 鉴定该化合物为豆甾醇 (stigmasterol)。

化合物 4: 白色雪花状粉末。ESI-MS m/z : 285 [M-H] $^-$ 。 ^1H NMR 低场区 δ_{H} 12.02 (1H, s) 为黄酮类化合物 5 位活泼羟基特征信号。芳香区 δ_{H} 7.33 (2H, d, $J=8.1$ Hz), 6.88 (2H, d, $J=8.1$ Hz) 为一组 AA'BB' 耦合的苯环质子信号, 说明 B 环为 1,4 对位取代, δ_{H} 6.07 (1H, d, $J=1.8$ Hz), 6.05 (1H, d, $J=1.8$ Hz) 为 A 环 6, 8 位间位耦合的氢质子信号, 高场区 δ_{H} 5.35 (1H, dd, $J=12.6, 2.1$ Hz) 二氢黄酮类化合物 H-2 的特征信号, δ_{H} 3.18 (1H, dd, $J=16.8, 12.6$ Hz), 2.78 (1H, dd, $J=16.8, 2.1$ Hz) 为二氢黄酮类化合物 H-3 的特征信号, δ_{H} 3.81 (3H, s) 为一个甲氧基质子信号。 ^{13}C NMR 显示 16 个碳信号, δ_{C} 55.7 为甲氧基信号, 剩余的 15 个碳信号为黄酮骨架碳信号, 其中 δ_{C} 196.1 为二氢黄酮类化合物 4 位羰基的特征信号峰。 δ_{C} 79.0, 43.2 分别为二氢黄酮类化合物 2, 3 位的特征碳信号。具体一维核磁数据如下: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.33 (1H, d, $J=8.1$ Hz, H-2', H-6'), 6.88 (1H, d, $J=8.1$ Hz, H-3', H-5'), 6.07 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H-6), 6.05 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H-8), 5.35 (1H, dd, $J=12.6, 2.1$ Hz, H-2), 3.81 (3H, s, H-7-OCH $_3$), 3.18 (1H, dd, $J=16.8, 12.6$ Hz, H-3), 2.78 (1H, dd, $J=16.8, 2.1$ Hz, H-3); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 196.1 (C-4), 168.0 (C-7), 164.1 (C-5), 162.9 (C-9), 156.2 (C-4'), 130.6 (C-1'), 128.0 (C-2', C-6'), 115.7 (C-3', C-5'), 103.2 (C-10), 95.1 (C-6), 94.3 (C-8), 79.0 (C-2), 55.7 (C-7-OCH $_3$), 43.2 (C-3)。在 HMBC 谱中, δ_{H} 3.81 和 C-7 相关, 提示甲氧基连在该化合物的 7 位; 另外, δ_{H} 3.81 分别与 δ_{H} 6.07 和 6.05 存在 NOE 效应, 进一步证实该甲氧基连在 7

位上。图 1 揭示了主要的 ^1H - ^1H COSY()和 HMBC()相关信号。与文献^[10]对照, 鉴定该化合物为 5,4'-二羟基-7-甲氧基二氢黄酮(5,4'-dihydroxy-7-methoxyflavanone, sakuranetin)。

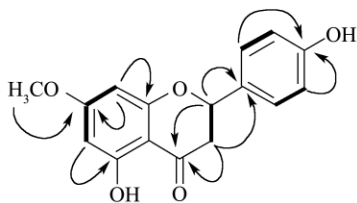


图 1 化合物 5 主要的 ^1H - ^1H COSY()和 HMBC()相关
Fig.1 ^1H - ^1H COSY() and HMBC() correlations in compound 5

化合物 5: 白色片状结晶。 ^1H NMR 谱显示有一个烯氢信号: δ_{H} 5.32 (1H, br s)。 δ_{H} 3.50 (1H, m) 为甾醇的 3 位 α 氢的特征信号。高场区 δ_{H} 0.95 (3H, s), 0.89 (3H, d, $J=6.0$ Hz), 0.82 (3H, t, $J=6.5$ Hz), 0.78 (3H, d, $J=6.0$ Hz), 0.76 (3H, d, $J=6.0$ Hz), 0.65 (3H, s) 提示分子中有 6 个甲基。 ^{13}C NMR 谱显示两个烯碳信号 δ_{C} 140.5, 121.3, 提示分子中含有有一个双键。 δ_{C} 70.1 为甾醇的 3 位连氧次甲基的特征信号。具体核磁数据如下: ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 5.32 (1H, brs, H-6), 3.50 (1H, m, H-3), 0.95 (3H, s, H-19), 0.89 (3H, d, $J=6.0$ Hz, H-21), 0.82 (3H, t, $J=6.5$ Hz, H-29), 0.78 (3H, d, $J=6.0$ Hz, H-27), 0.76 (3H, d, $J=6.0$ Hz, H-26), 0.65 (3H, s, H-18); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 140.5 (C-5), 121.3 (C-6), 70.1 (C-3), 56.2 (C-14), 55.4 (C-17), 49.6 (C-9), 45.1 (C-24), 41.9 (C-4, C-13), 38.3 (C-12), 36.9 (C-1), 36.2 (C-10), 35.5 (C-20), 33.4 (C-22), 31.4 (C-2, C-7, C-8), 29.3 (C-25), 28.7 (C-16), 25.4 (C-23), 23.9 (C-15), 22.6 (C-28), 20.6 (C-11), 19.8 (C-26), 19.1 (C-19), 18.9 (C-27), 18.6 (C-21), 11.8 (C-29), 11.7 (C-18)。与文献^[11-12]对照, 鉴定该化合物为 β -谷甾醇 (β -sitosterol)。

化合物 6: 黄色粉末。ESI-MS m/z : 463 [M-H] $^-$ 。 ^1H NMR 低场区 δ_{H} 12.57 (1H, s) 为黄酮类化合物 5 位活泼羟基特征信号。芳香区 δ_{H} 7.55 (2H, d, $J=2.0, 8.5$ Hz, H-2', 6'), 6.78 (1H, d, $J=8.5$ Hz) 为一组 ABX 耦合的苯环质子信号, 说明 B 环为 3 取代, δ_{H} 6.37 (1H, d, $J=1.5$ Hz), 6.17 (1H, d, $J=1.5$ Hz) 为 A 环 6, 8 位间位耦合的氢质子信号。 δ_{H} 5.34 (1H, d, $J=7.0$ Hz) 为糖的端基信号, 从耦合常数判断, 该苷键的构型为 β 构型, 4.34~5.13 为糖质子信号。 ^{13}C NMR 显示 21 个碳信号, 其中 15 个碳信号为黄酮骨架碳信号, 其中 δ_{C} 177.5 为黄酮醇类化合物 4 位羰基的特征信号峰。101.7, 75.9, 75.9, 73.2, 69.0, 60.2 为葡萄糖的特征信号。具体核

磁数据如下: ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.57 (1H, s, 5-OH), 7.55 (2H, d, $J=2.0, 8.5$ Hz, H-2', 6'), 6.78 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-5'), 6.37 (1H, d, $J=1.5$ Hz, H-8), 6.17 (1H, d, $J=1.5$ Hz, H-6), 5.34 (1H, d, $J=7.0$ Hz, glc-1'); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 177.5 (C-4), 164.2 (C-7), 161.3 (C-5), 156.3 (C-9), 156.3 (C-2), 148.5 (C-4'), 144.9 (C-3'), 133.5 (C-3), 122.1 (C-6), 121.1 (C-1'), 116.0 (C-5'), 115.2 (C-2'), 104.0 (C-10), 101.7 (C-1''), 98.6 (C-6), 93.5 (C-8), 75.9 (C-3'', C-5''), 73.2 (C-2''), 69.0 (C-4''), 60.2 (C-6'')。与文献^[13-14]对照, 鉴定该化合物为槲皮素-3-O- β -D-吡喃葡萄糖苷(queretin-3-O- β -D-glucopyranoside)。

化合物 X: 紫色粉末。 ^1H NMR 显示有四个烯氢信号: δ_{H} 5.47 (1H, d, $J=3.0$ Hz), 5.33 (1H, d, $J=3.0$ Hz), 5.22 (1H, dd, $J=15.5, 7.0$ Hz), 5.19 (1H, dd, $J=15.5, 8.0$ Hz)。 δ_{H} 5.22 与 5.19 之间的耦合常数为 15.5 Hz, 提示该化合物含有一个反式双键。 δ_{H} 1.00 (3H, d, $J=6.0$ Hz), 0.89 (3H, d, $J=6.5$ Hz), 0.86 (3H, s), 0.81 (3H, d, $J=6.5$ Hz), 0.80 (3H, d, $J=6.5$ Hz), 0.59 (3H, s) 提示分子中有 6 个甲基。具体核磁数据如下: ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 5.47 (1H, d, $J=3.0$ Hz, H-6), 5.33 (1H, d, $J=3.0$ Hz, H-7), 5.22 (1H, dd, $J=15.5, 7.0$ Hz, H-22), 5.19 (1H, dd, $J=15.5, 8.0$ Hz, H-23), 1.00 (3H, d, $J=6.0$ Hz, H-21), 0.89 (3H, d, $J=6.5$ Hz, H-28), 0.86 (3H, s, H-19), 0.81 (3H, d, $J=6.5$ Hz, H-27), 0.80 (3H, d, $J=6.5$ Hz, H-26), 0.59 (3H, s, H-18)。该化合物和麦角甾醇氢谱数据尤其是耦合方式非常相似, 仅 3 位 α 氢的特征信号缺失, 参考相关文献^[15-17], 初步认定该化合物为麦角甾烷-5,7,22-三烯-3-酮(ergosta-5,7,22-trien-3-one)。麦角甾烷-5,7,22-三烯-3-酮至今无核磁等结构数据报道, 加上本研究化合物 X 分离得到的量非常少, 仅能得到 H 谱数据, 其结构有待进一步确认。

据文献报道, 甾醇及其衍生物具有降胆固醇、抗炎退热、抗肿瘤等生理活性^[18], 槲皮素苷具有抗氧化、抗致癌、抗炎等生理活性^[19], 二氢黄酮有抗肿瘤、抗菌、抗炎、抗氧化、心血管系统保护、神经保护等生理活性^[14]。这些单体化合物很可能是沉香茶保健功能的药效物质基础。本课题组下一步将对已分离到的单体化合物的抗癌、防癌及其它活性做进一步研究, 以期能够筛选出药理活性强的单体, 为药物和保健食品的开发寻找先导化合物。本研究也将对白木香资源尤其是白木香叶片的综深开发利用奠定理论基础。

3 结论

本研究通过硅胶柱层析、凝胶柱层析和制备高效液相色谱等方法,从野生白木香叶片中分离到7种化合物,确证了其中6个化合物,包括3个甾醇及其衍生物类化合物,2个黄酮苷类化合物和一个二氢黄酮类化合物;另外1个化合物初步认定为麦角甾烷-5,7,22-三烯-3-酮,还有待进一步确证。其中,化合物1-2为首次在瑞香科植物中分离得到,化合物3为首次在沉香属植物中分离得到。二氢黄酮类(flavanone)化合物在天然产物中的含量较少,分离提取相对困难,且经文献检索,化合物4是在沉香属植物中首次分离得到二氢黄酮类化合物,该化合物的2D NMR数据及归属为首次报道。

参考文献

- [1] 陈地灵,吴祎,林励,等.沉香茶提取物的体外抗氧化和体内降血脂作用评价[J].现代食品科技,2013,29(6):1198-1201,1242
CHEN Di-ling, WU Yi, LIN Li, et al. Evaluation of the in vitro antioxidant activity and in vivo blood lipid-lowering capability of chenxiang tea extracts [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(6): 1198-1201, 1242
- [2] 林焕泽,李红念,梅全喜,等.沉香叶的研究进展[J].今日药学,2011,21(9):547-549
LIN Huan-ze, LI Hong-nian, MEI Quan-xi, et al. Study progress of *Aquilaria sinensis* leaves [J]. Pharmacy Today, 2011, 21(9): 547-549
- [3] Feng J, Yang X W, Wang R F. Bio-assay guided isolation and identification of α -glucosidase inhibitors from the leaves of *Aquilaria sinensis* [J]. Phytochemistry, 2011, 72: 242-247
- [4] 杨懋勋,陈河如.土沉香(白木香)叶片抗肿瘤活性成分的研究[C].2011年全国药物化学学术会议.广东广州:中国药学会,2011:230
YANG Mao-xun, CHEN He-ru. Antitumor constituents from the leaves of *Aquilaria sinensis*. [C]. 2011 Chinese Medicinal Chemistry Symposium. Guangzhou Guangdong: Chinese Pharmaceutical Association, 2011: 230
- [5] 杨懋勋,梁耀光,陈河如,等.野生白木香叶化学成分研究[J].中草药,2014,45(14):1989-1992
YANG Mao-xun, LIANG Yao-guang, CHEN He-ru, et al. Chemical constituents from leaves of wild *Aquilaria sinensis* [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2014, 45(14): 1989-1992
- [6] 陈明艳.几株高等真菌发酵产物抑菌活性研究[D].陕西:西北农林科技大学,2007
CHEN Ming-yan. Fungicidal activity of fermentation products of several higher fungus [D]. Shanxi: North West Agriculture and Forestry University, 2007
- [7] 李路军,杜鹏,张鹏,等.榕叶冬青叶的化学成分研究[J].中草药,2013,44(5):519-523
LI Lu-jun, DU Peng, ZHANG Peng, et al. Chemical constituents in leaves of *Ilex ficoidea* [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2013, 44(5): 519-523
- [8] 王伟,陈伟,陈虎彪,等.红花岩黄芪化学成分研究[J].北京大学学报(医学版),2011,33(3):205-208
WANG Wei, CHEN Wei, CHEN Hu-biao, et al. Studies on chemical constituents of *Hedysarum multijugum* [J]. Journal of Peking University (Health sciences), 2011, 33(3): 205-208
- [9] Liu Y, Xu T H, Zhang M Q, et al. Chemical constituents from the stems of *Gynemna sylvestre* [J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2014, 12(4): 300-304
- [10] Ogawa Y, Oku H, Iwaoka E, et al. Allergy-preventive flavonoids from *xanthorrhoea hastilis* [J]. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 2007, 55(4): 675-678
- [11] 刘婵娟,陈四平.忍冬叶的化学成分[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(17):90-92
LIU Chan-juan, CHEN Si-ping. Studies on chemical constituents of leaves of *Lonicera japonica* [J]. Chinese journal of experimental traditional medical formulae, 2010, 16(17): 90-92
- [12] Prasenjit R, Niranjana D, Utpal C D, et al. New 19a-hydroxyursane-type triterpenes from the leaves of *Meyna spinosa* (=Vangueria spinosa), Rubiaceae [J]. Phytochemistry Letters, 2014, 9: 7-10
- [13] 赵海誉,范妙璇,石晋丽,等.北葶苈子化学成分研究[J].中草药,2010,41(1):14-18
ZHAO Hai-yu, FAN Miao-xuan, SHI Jin-li, et al. Isolation and structure identification of chemical constituents from seeds of *Lepidium apetalum* [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2010, 41(1): 14-18
- [14] Shokoohinia Y, Rashidi M, Hosseinzadeh L, et al. Quercetin-3-O- β -d-glucopyranoside, a dietary flavonoid, protects PC12 cells from H₂O₂ induced cytotoxicity through inhibition of reactive oxygen species original [J]. Food Chemistry, 2015, 167: 162-167 (doi: 10.1016/j.foodchem.2014.06.079)
- [15] Liu D Z, Liu Q, Yang P, et al. A new ergostane triterpenoid from cultures of the basidiomycete *Inocybe lilacina* [J]. Natural product communications, 2014, 9(3): 369-70
- [16] Lakornwong W, Kanokmedhakul K, Kanokmedhakul S, et al. Triterpene lactones from cultures of *ganoderma* sp. KM 01 [J]. Journal of Natural Products, 2014, 77: 1545-1553

- [17] Emke A, Midgley J M, Whalley W B. Unsaturated steroids. Part 10. The mechanism of the anthrasteroid rearrangement: the conformation of anthrasteroids [J]. Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1: Organic and Bio-Organic Chemistry, 1980, 8: 1779-81
- [18] 谢心美,郝海鑫,何剑斌.植物甾醇的生理功能及其应用[J].草业科学,2013,30(12):2105-2109
XIE Xin-mei, HAO Hai-xin, HE Jian-bin. Physiological function and application of phytosterol [J]. Pratacultural Science, 2013, 30(12): 2105-2109
- [19] Zhang Y, Zha X M, Shang J, et al. Recent progress in natural occurring flavanones [J]. Asia-Pacific Traditional Medicine, 2013, 9(8): 65-70

现代食品科技