

胆木木质部中一个新的酚酸苷

杨婷¹, 黄圣卓^{2,3}, 陈惠琴^{2,3},
蔡彩虹^{2,3}, 王婷^{2,3}, 盖翠娟^{2,3}, 梅文莉^{2,3}, 戴好富^{1,2,3*}

¹黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院, 大庆 163319;

²中国热带农业科学院热带生物技术研究所 海南省黎药资源天然产物研究与利用重点实验室;

³中国热带农业科学院海南热带农业资源研究院, 海口 571101

摘要:为了研究胆木(*Nauclea officinalis*)木质部正丁醇组分化合物及其生物活性,利用硅胶、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱等多种色谱学方法,对化合物进行了分离纯化,通过分析包括核磁共振和质谱等波谱数据结合理化性质鉴定了化合物的结构,分别采用 pNPG 法和 MTT 法测试了化合物的 α -葡萄糖苷酶抑制和肿瘤细胞毒活性。从中分离鉴定了 15 个化合物:胆木酚苷 A(1)、4-*O*- β -D-香草酸-6-*O*-香草酰基吡喃葡萄糖苷(2)、saccharumside B(3)、1-*O*-香草酸-6-(3'',5''-二甲氧基没食子酰)- β -D-吡喃葡萄糖苷(4)、獐牙菜苷(5)、phenoxiside A(6)、杜仲树脂酚(7)、*rel*-5-(1*R*,5*S*-dimethyl-3*R*,4*R*,8*S*-trihydroxy-oxa-6-oxobicyclo-[3,2,1]oct-8-yl)-3-methyl-2*Z*,4*E*-pentadienoic acid(8)、3,4-二甲氧基-肉桂酸(9)、反式肉桂酸(10)、3,4-二甲氧基苯基- β -D-吡喃葡萄糖苷(11)、3,4,5-三甲氧基苯酚- β -D-吡喃葡萄糖苷(12)、苯甲酸(13)、原儿茶酸(14)和 1,3,5-三甲氧苯(15)。其中胆木酚苷 A(1)为新化合物,化合物 2~4 和 6~8 均为首次从胆木中分离得到。活性筛选结果表明化合物 3,7,8,13 和 14 显示出弱的 α -葡萄糖苷酶抑制活性,且所有化合物在测试浓度下无细胞毒活性。

关键词:胆木;茜草科;酚酸;胆木酚苷 A; α -葡萄糖苷酶抑制活性

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2022)9-1499-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2022.9.006

A new phenolic acid glycoside isolated from the xylem of *Nauclea officinalis*

YANG Ting¹, HUANG Sheng-zhuo^{2,3}, CHEN Hui-qin^{2,3},
CAI Cai-hong^{2,3}, WANG Ting^{2,3}, GAI Cui-juan^{2,3}, MEI Wen-li^{2,3}, DAI Hao-fu^{1,2,3*}

¹Hei Longjiang Bayi Agricultural University, College of Life Science and Technology, Daqing 163319, China;

²Key Laboratory of Research and Development of Natural Product from Li Folk Medicine of Hainan Province, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences;

³Hainan Institute for Tropical Agricultural Resources, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China

Abstract: To study the chemical constituents from the *n*-BuOH extraction of *Nauclea officinalis* xylem and their biological activities. The *n*-BuOH extraction of *N. officinalis* were separated with silica gel, Sephadex LH-20 and other chromatographic materials. The isolates' structures were identified by the analysis of NMR, MS and other physicochemical properties. And then, the pNPG and MTT methods were employed to evaluate their α -glucosidase inhibitory and tumor cell cytotoxicity activities, respectively. Fifteen compounds were isolated and identified as naucleaphenol A (1), 4-*O*- β -D-(6-*O*-vanilloylglucopyranosyl)-vanillic acid (2), saccharumside B (3), 1-*O*-(vanillic acid)-6-(3'',5''-dimethoxygalloyl)- β -D-glucopyranoside (4), swerosid (5), phenoxiside A (6), medioresinol (7), *rel*-5-(1*R*,5*S*-dimethyl-3*R*,4*R*,8*S*-trihydroxy-7-oxa-6-oxobicyclo-[3,2,1]oct-8-yl)-3-methyl-2*Z*,4*E*-pentadienoic acid (8), 3,4-dimethoxycinnamic acid (9), *trans*-cinnamic acid (10), 3,4-dimethoxyphenyl- β -D-glucopyranoside (11), 3,4,5-trimethoxyphenyl- β -D-glucopyranoside (12), *p*-hydroxybenzaldehyde (13), protocatechuic acid (14) and 1,3,5-trimethoxybenzene (15). Naucleaphenol A (1) is a new compound, and compounds 2,4,6,8 and 11 were isolated from *N. officinalis* for the first time. The bioactivity result showed that compounds 3,7,8,

11 and **13** presented weak α -glucosidase inhibitory activities, while all the compounds showed no cytotoxicity at the test concentration.

Key words: *Nauclea officinalis*; Rubiaceae; phenolic acid; naucleaphenol A; α -glucosidase inhibitory activity

胆木 *Nauclea officinalis* (Pierre ex Pitard Merr. et Chun) 又名乌檀、山熊胆、熊胆木等,为茜草科(Rubiaceae)乌檀属(*Nauclea* L.)植物,主产海南,并零星分布于广东和广西等地,是我国仅有的一种原生乌檀属植物^[1]。胆木为海南特色黎药,是海南省重点研究传统黎族药用植物之一,其味苦性寒,具有清热解毒,消肿止痛等功效,黎族人民将其广泛用于感冒和外用抗菌消毒等方面。现在临床上常用于感冒发热,急性扁桃体炎、咽喉炎、支气管炎和肺炎等疾病的治疗^[2]。其主要成分为生物碱、酚酸类、五环三萜类和黄酮类化合物等^[3]。现代药理实验研究表明,胆木具有抗炎^[4]、抗细胞增殖^[5]和抑制胃酸分泌^[6]等作用。目前对胆木的研究主要集中在生物碱部分,而对其非生物碱部分,特别是临床应用的胆木制剂中含量较多的大极性化合物(正丁醇提取物)及其生物活性关注较少。本研究从胆木正丁醇提取物中分离鉴定化合物,以酚酸类化合物为主,前人报道该类成分对抗肿瘤与降血糖有较好的功效^[7-8]。因此,为了进一步探究胆木药用部位木质部中正丁醇提取物的化学成分及活性,对其进行了化学成分的分离与结构鉴定,并进行了 α -葡萄糖苷酶抑制活性与细胞毒活性的研究,旨在为该植物开发利用与发现新用途提供科学依据。

1 材料与amp;方法

1.1 仪器与amp;材料

Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);Bruker Amazon SL 质谱仪(德国 Bruker 公司);Bruker AV-500 超导核磁共振波谱仪(德国 Bruker 公司),TMS 为内标;Agilent Infinity 1260 II 半制备高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);旋转蒸发仪(德国 Heidolph Labo-rotary 公司);分析型色谱柱(C_{18} 和 Cholesterol, 250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m)和半制备色谱柱(C_{18} 和 Cholesterol, 250 mm \times 10.0 mm, 5 μ m)(日本 COSMOSIL 公司);ELX-800 酶标仪(美国 Bio-Tek 公司); α -葡萄糖苷酶、阿卡波糖、4-硝基苯基- β -D-吡喃葡萄糖苷(上海源叶生物科技公司);人肺癌细胞株 A549、宫颈癌细胞株 HeLa 和慢性髓原白血病细胞株 K562(中国科学院上海生命科学研究院细胞库);RP-18 填料(20 μ m ~ 45 μ m)(日本 Fuji

Silysia Chemical Ltd 公司);Sephadex LH-20(美国 GE 公司);柱层析硅胶 G(200 ~ 300 目和 60 ~ 80 目)及柱层析硅胶 H(青岛海洋化工厂);检测用 GF254 薄层色谱板(青岛海洋化工厂),展开剂展开后,254 nm 紫外光下观察后,10% 硫酸乙醇显色剂喷雾,烘烤显色。

胆木于 2018 年 10 月采自海南省澄迈县,经中国热带农业科学院热带生物技术研究所黄圣卓副研究员鉴定其为茜草科(Rubiaceae)乌檀属植物乌檀 *Nauclea officinalis* (Pierre ex Pitard Merr. et Chun),标本(HUANG0002018)保存于中国热带农业科学院热带生物技术研究所。

1.2 实验方法

1.2.1 提取分离

干燥的胆木木质部(290.0 kg)晾干粉碎后,用 70% 乙醇提取后得到粗浸膏 13.9 kg,提取物分散于水中成悬浊液,用 50% 盐酸调节 pH 至 2.0,用石油醚萃取,再用 1 mol/L NaOH 调节 pH 至 10.0 后用二氯甲烷萃取,接着用 50% 盐酸调节 pH 至 7.0,再分别用乙酸乙酯和正丁醇萃取,正丁醇萃取液浓缩回收正丁醇,得到正丁醇组分 268.0 g。正丁醇组分经硅胶柱色谱,以二氯甲烷:甲醇(50:1 \rightarrow 1:1, V/V)、丙酮梯度洗脱,得到 18 个流分(Fr. 1 ~ Fr. 18)。Fr. 3(1.3 g)经过重结晶得到化合物 **14**(6.6 mg)。

Fr. 4(9.0 g)经 ODS 柱色谱以甲醇:水(2:8 \rightarrow 1:0, V/V)梯度洗脱得到 19 个流分(Fr. 4.1 ~ Fr. 4.19)。Fr. 4.8 部分经过重结晶得到化合物 **9**(3.3 mg)。Fr. 4.12(223.6 mg)经硅胶减压柱色谱以二氯甲烷:甲醇(20:0.7 \rightarrow 1:1, V/V)梯度洗脱得到 4 个流分(Fr. 4.12.1 ~ Fr. 4.12.4)。Fr. 4.12.1(159.2 mg)使用半制备高效液相色谱(Cholesterol 柱,乙腈:水 = 24:76 恒梯度洗脱;流速:4 mL/min;检测波长:220/254 nm),得到化合物 **8**(8.1 mg, t_R = 15.0 min)。

Fr. 12(13.6 g)经 ODS 柱色谱以甲醇:水(2:8 \rightarrow 1:0, V/V)梯度洗脱得到 15 个流分(Fr. 12.1 ~ Fr. 12.15)。其中流分 Fr. 12.2(1.2 g)经减压柱色谱以二氯甲烷:甲醇(15:1 \rightarrow 1:1, V/V)梯度洗脱得到 3 个流分(Fr. 12.2.1 ~ Fr. 12.2.3)。Fr. 12.2.2

(255.5 mg)使用半制备高效液相色谱(C_{18} 柱,甲醇:水 = 25:75 恒梯度洗脱;流速:4 mL/min;检测波长:210 nm),得到化合物 **11** (11.7 mg, t_R = 16.0 min)和化合物 **12** (7.8 mg, t_R = 20.0 min)。Fr. 12. 2. 1(29.8 mg)使用半制备高效液相色谱(C_{18} 柱,甲醇:水 = 25:75 恒梯度洗脱;流速:4 mL/min;检测波长:220/260 nm),得到化合物 **13** (8.1 mg, t_R = 18.0 min)。Fr. 12. 3(623.7 mg)经硅胶减压柱色谱以二氯甲烷:甲醇(15:0.18 \rightarrow 1:1, V/V)梯度洗脱得到6个流分(Fr. 12. 3. 1 ~ Fr. 12. 3. 6)。Fr. 12. 3. 2 (104.3 mg)使用半制备高效液相色谱(Cholesterol柱,乙腈:水 = 10:90 恒梯度洗脱;流速:4 mL/min;检测波长:220/254 nm),得到两个流分(Fr. 12. 3. 2. 1-Fr. 12. 3. 2. 2)。Fr. 12. 3. 2. 1 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(甲醇)分离得到化合物 **15** (3.5 mg)。Fr. 12. 3. 2. 2 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(甲醇)分离得到化合物 **6** (42.9 mg)。Fr. 12. 3. 3 (623.7 mg)经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(甲醇)分离得到化合物 **7** (3.7 mg)。Fr. 12. 6(1.2 g)经硅胶减压柱色谱以二氯甲烷:甲醇(15:1 \rightarrow 1:1, V/V)梯度洗脱得到9个流分(Fr. 12. 6. 1 ~ Fr. 12. 6. 9)。Fr. 12. 6. 4(78.0 mg)使用半制备高效液相色谱(C_{18} 柱,甲醇:水 = 23:77 恒梯度洗脱;流速:4 mL/min;检测波长:220 nm),得到化合物 **4** (13.5 mg, t_R = 13.0

min)、化合物 **2** (12.3 mg, t_R = 17.0 min)和化合物 **3** (4.9 mg, t_R = 25.0 min)。Fr. 12. 6. 5(65.0 mg)使用半制备高效液相色谱(Cholesterol柱,乙腈:水 = 28:72 恒梯度洗脱;流速:4 mL/min;检测波长:220/254 nm),得到化合物 **1** (5.5 mg, t_R = 22.0 min)。Fr. 12. 13(2.4 g)经减压柱色谱以石油醚:二氯甲烷:甲醇(1:2:0.2 \rightarrow 0.5:1:1, V/V)梯度洗脱得到6个流分(Fr. 12. 13. 1 ~ Fr. 12. 13. 6), Fr. 12. 13. 3 结晶纯化得到化合物 **10** (50.0 mg)。Fr. 12. 13. 4(45.0 mg)使用半制备高效液相色谱(C_{18} 柱,甲醇:水 = 20:80 恒梯度洗脱;流速:4 mL/min;检测波长:220/260 nm),得到化合物 **5** (3.7 mg, t_R = 22.0 min)。

1.2.2 生物活性测试

采用 pNPG 法^[9]和 MTT 法^[10]分别测定化合物 **1** ~ **15** 的 α -葡萄糖苷酶抑制活性和细胞毒活性。

2 结果与分析

本实验从胆木中共分离得到15个化合物,其中化合物 **1** 为新化合物,并命名为胆木酚苷 A (naucleaphenol A)。其结构根据 HR-ESI-MS、1D 和 2D 核磁共振结合参考文献对照结构相似的已知化合物鉴定,确定新颖性在于一个少见的(2*E*,6*R*)-8-羟基-2,6-二甲基-2-辛酸(含2个异戊二酸单位)取代在葡萄糖 C-6 位上。其余已知化合物结构均通过核磁共振和质谱数据对照参考文献鉴定,化合物结构见图1。

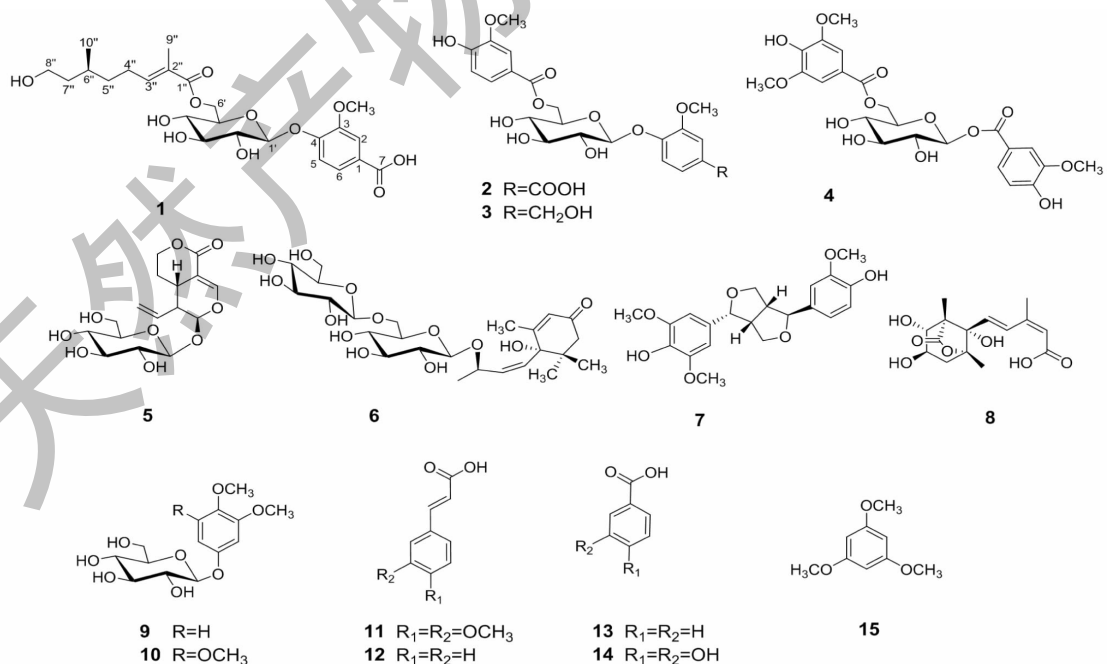


图1 化合物 **1** ~ **15** 结构

Fig. 1 Structures of compounds **1-15**

2.1 结构鉴定

化合物 1 白色不定型粉末,易溶于水、甲醇。 $[\alpha]_D^{25}$ -52.9 (c 0.25, MeOH); UV (MeOH) λ_{\max} ($\log \epsilon$): 225(3.40), 255(3.27), 293(2.88) nm; HR-ESI-MS: m/z 521.1988 [$M + Na$] $^+$ (calcd for $C_{24}H_{34}O_{11}$ Na $^+$, 521.1993), 确定化合物分子式为 $C_{24}H_{34}O_{11}$; 其红外光谱显示羟基信号 3 442 cm^{-1} 、羰基信号 1 734 cm^{-1} 和 1 626 cm^{-1} , 以及苯环的信号 1 558 cm^{-1} 和 1 458 cm^{-1} 。在 1H NMR (表 1) 中显示该化合物存在两个甲基信号: δ 0.94 (3H, d, $J = 6.4$ Hz) 和 1.83 (3H, s); 1 组 1,3,4-三取代苯环信号: δ 7.12 (1H, d, $J = 8.5$ Hz)、7.57 (1H, dd, $J = 8.5, 1.8$ Hz) 和 7.63 (1H, d, $J = 1.8$ Hz); 以及 1 个糖的 1 位端基氢信号: δ 5.02 (1H, d, $J = 7.5$ Hz)。并且在 ^{13}C NMR 谱中 (表 1) 和 DEPT 谱表明化合物 1 有 24 个

碳, 其中 3 个甲基 (CH_3), 5 个亚甲基 (CH_2), 13 个次甲基 (CH), 6 个季碳 (C)。可以看到 1 个 1,3,4-三取代苯环即对羟基间甲氧基苯甲酸碳信号: δ 151.6 s, 150.4 s, 116.3 d, 126.7 s, 124.5 d, 114.5 d; 1 个吡喃葡萄糖碳信号: δ 101.7 d, 74.7 d, 75.0 d, 72.0 d, 77.8 d, 61.5 t; 1 个羰基碳信号: δ 169.4 s; 1 组双键碳信号: δ 128.4 和 144.5; 1 个甲氧基碳信号: δ 56.7; 以及 (2*E*,6*R*)-8-hydroxy-2,6-dimethyl-2-octenoic acid^[11] 碳信号: δ 169.4 s, 128.4 s, 144.5 d, 27.3 t, 37.0 t, 30.6 d, 40.5 t, 61.0 d, 12.5 q, 19.8 q。对比化合物 1 的核磁共振谱数据与已知化合物 2 (4-*O*- β -*D*-香草酸-6-*O*-香草酰基吡喃葡萄糖苷) 的数据非常相似, 不同的地方在于在化合物 2 的 C-6' 连接的对羟基间甲氧基苯甲酰基消失, 而被不饱和的支链羧酸 [(2*E*,6*R*)-8-羟基-2,6-二甲基-2-辛酸]

表 1 化合物 1 的 1H (500 MHz) 和 ^{13}C NMR (125 MHz) 核磁数据 (CD_3OD)
Table 1 1H (500 MHz) and ^{13}C NMR (125 MHz) data of compound 1 (CD_3OD)

序号 Number	δ_C	δ_H (J in Hz)	序号 Number	δ_C	δ_H (J in Hz)
1	126.7(s)	-	6'	61.5(t)	4.53(1H, dd, 11.8, 2.2)
2	116.3(d)	7.12(1H, d, 8.5)			4.20(1H, dd, 11.8, 7.5)
3	150.4(s)	-	1''	169.4(s)	-
4	151.6(s)	-	2''	128.4(s)	-
5	114.5(d)	7.63(1H, d, 8.5)	3''	144.5(d)	6.78(1H, m)
6	124.5(d)	7.57(1H, dd, 8.5, 1.8)	4''	27.3(t)	2.24(2H, dt, 15.7, 8.0)
7	170.2(s)	-	5''	37.0(t)	1.45(1H, m) 1.28(1H, m)
3-OCH ₃	56.7(q)	3.90(3H, s)	6''	30.6(d)	1.60(1H, m)
1'	101.7(d)	5.02(1H, d, 7.5)	7''	40.5(t)	1.58(1H, m) 1.37(1H, m)
2'	74.7(d)	3.54(1H, d, 7.5)	8''	61.0(d)	3.57(1H, d, 6.4)
3'	75.7(d)	3.74(1H, ddd, 9.9, 7.5, 2.2)	9''	12.5(q)	1.83(3H, s)
4'	72.0(d)	3.37(1H, dd, 9.9, 8.5)	10''	19.8(q)	0.94(3H, d, 6.4)
5'	77.8(d)	3.51(1H, d, 8.5)			

取而代之, 该推断通过 HMBC 谱中关键信号: 4.53 (1H, dd, $J = 11.8, 2.2$ Hz, H-6' α), 4.20 (1H, dd, $J = 11.8, 7.5$ Hz, H-6' β) 与 169.4 s (C-1'') 的相关, 及高分辨质谱确定分子式 $C_{24}H_{34}O_{11}$ 验证了该酸连接于糖的 6' 位与之成酯。其余关键信号均通过 HMBC 谱相关信号 (见图 2) 验证, 从而确定了其结构, 最终鉴定化合物为胆木酚苷 A (naucleaphenol A)。化合物 1 的详细结构鉴定数据原始图谱可从本刊官网免费下载 (www.trcw.ac.cn)。

化合物 2 白色粉末 (甲醇); ESI-MS: m/z 481 [$M + H$] $^+$, 分子式为 $C_{22}H_{24}O_{12}$ 。 1H NMR (500

MHz, CD_3OD) δ : 7.60 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2),

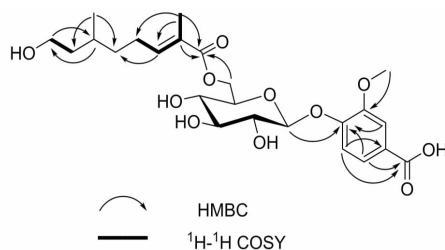


图 2 化合物 1 关键的 HMBC 及 1H - 1H COSY 信号
Fig. 2 Key HMBC and 1H - 1H COSY correlations of compound 1

7.58(1H, dd, $J = 8.3, 2.0$ Hz, H-6''), 7.53(1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2''), 7.43(1H, dd, $J = 8.5, 2.0$ Hz, H-6), 7.14(1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5), 6.88(1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5''), 5.07(1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-1'), 4.71(1H, dd, $J = 11.9, 2.2$ Hz, H-6' β), 4.37(1H, dd, $J = 11.9, 7.6$ Hz, H-6' α), 3.89(3H, s, 3-OCH₃), 3.86(3H, s, 3''-OCH₃), 3.82(1H, m, H-5'), 3.58(1H, dd, $J = 9.0, 7.4$ Hz, H-2'), 3.54(1H, dd, $J = 9.3, 9.0$ Hz, H-3'), 3.47(1H, d, $J = 9.3$ Hz, H-4'); ¹³C NMR(125 MHz, CD₃OD) δ : 126.0(s, C-1), 114.3(d, C-2), 150.4(s, C-3), 151.7(s, C-4), 116.4(d, C-5), 124.6(d, C-6), 169.4(s, C-7), 56.6(q, 3-OCH₃), 101.7(d, C-1'), 74.7(d, C-2'), 77.7(d, C-3'), 72.0(d, C-4'), 75.8(d, C-5'), 65.0(t, C-6'), 122.4(s, C-1''), 113.7(d, C-2''), 148.8(s, C-3''), 153.0(s, C-4''), 116.0(d, C-5''), 125.2(d, C-6''), 167.8(s, C-7''), 56.5(q, 3''-OCH₃)。以上数据与文献^[12]报道基本一致,故鉴定化合物**2**为4-*O*- β -*D*-香草酸-6-*O*-香草酰基吡喃葡萄糖苷。

化合物3 白色粉末(甲醇);ESI-MS: m/z 467 [M + H]⁺, 分子式为 C₂₂H₂₆O₁₁。¹H NMR(500 MHz, CD₃OD) δ : 7.56(1H, dd, $J = 8.3, 2.0$ Hz, H-6''), 7.52(1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2''), 7.03(1H, dd, $J = 8.1$ Hz, H-5), 6.99(1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2), 6.86(1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5''), 6.63(1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-6), 4.89(1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-1'), 4.66(1H, dd, $J = 11.8, 2.2$ Hz, H-6' α), 4.49(2H, s, H-7), 4.38(1H, dd, $J = 11.8, 7.4$ Hz, H-6' β), 3.85(3H, s, 3''-OCH₃), 3.84(3H, s, 3-OCH₃), 3.74(1H, ddd, $J = 9.7, 7.4, 2.2$ Hz, H-5'), 3.53(1H, dd, $J = 8.9, 8.5$ Hz, H-2'), 3.51(1H, dd, $J = 8.9, 8.5$ Hz, H-3'), 3.43(1H, dd, $J = 9.7, 8.5$ Hz, H-4'); ¹³C NMR(125 MHz, CD₃OD) δ : 136.3(s, C-1), 111.2(d, C-2), 149.4(s, C-3), 145.6(s, C-4), 116.5(d, C-5), 119.1(d, C-6), 63.6(t, C-7), 55.2(q, 3-OCH₃), 101.3(d, C-1'), 73.5(d, C-2'), 76.4(d, C-3'), 70.6(d, C-4'), 74.2(d, C-5'), 63.5(t, C-6'), 121.0(s, C-1''), 112.4(d, C-2''), 147.4(s, C-3''), 151.6(s, C-4''), 114.6(d, C-5''), 123.9(d, C-6''), 166.5(s, C-7''), 55.1(q, 3''-OCH₃)。以上数据与文献^[13]报道基本一致,故鉴定化合物**3**为 saccharumoside B。

化合物4 白色粉末(甲醇);ESI-MS: m/z 533 [M + Na]⁺, 分子式为 C₂₃H₂₆O₁₃。¹H NMR(500

MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.42(1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2'), 7.30(1H, dd, $J = 8.5, 1.9$ Hz, H-6'), 7.18(1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 7.16(2H, s, H-2'', 6''), 5.10(1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-1), 4.59(1H, dd, $J = 12.0, 2.0$ Hz, H-6 α), 4.12(1H, dd, $J = 12.0, 7.6$ Hz, H-6 β), 3.80(1H, m, H-5), 3.76(3H, s, 3'-OCH₃), 3.73(6H, s, 3'', 5''-OCH₃), 3.31(1H, m, H-2), 3.28(1H, m, H-3), 3.20(1H, dd, $J = 8.5, 8.3$ Hz, H-4); ¹³C NMR(125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 99.1(d, C-1), 73.0(d, C-2), 76.6(d, C-3), 70.1(d, C-4), 74.1(d, C-5), 64.0(t, C-6), 124.2(s, C-1'), 112.7(d, C-2'), 150.0(s, C-3'), 147.6(s, C-4'), 114.7(d, C-5'), 122.5(d, C-6'), 166.9(s, C-7'), 55.6(q, 3'-OCH₃), 119.2(s, C-1''), 107.1(d, C-2'', 6''), 148.4(s, C-3'', 5''), 141.0(s, C-4''), 165.4(s, C-7''), 56.2(q, 3'', 5''-OCH₃)。以上数据与文献^[14]报道基本一致,故鉴定化合物**4**为1-*O*-香草酸-6-(3'', 5''-二甲氧基没食子酰)- β -*D*-吡喃葡萄糖苷。

化合物5 黄色粉末(甲醇);ESI-MS: m/z 359 [M + H]⁺, 分子式为 C₁₆H₂₂O₉。¹H NMR(500 MHz, CD₃OD) δ : 7.62(1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-3), 5.57(1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-1), 5.55(1H, dd, $J = 17.0, 10.0$ Hz, H-8), 5.33(1H, dd, $J = 17.2, 1.8$ Hz, H-10 β), 5.29(1H, dd, $J = 10.0, 1.8$ Hz, H-10 α), 4.71(1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-1'), 4.47(1H, m, H-7 β), 4.40(1H, dd, $J = 11.9, 2.6$ Hz, H-7 α), 3.88(1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-6' β), 3.68(1H, dd, $J = 12.0, 6.0$ Hz, H-6' α), 3.40~3.29(3H, m, H-3', 4', 5'), 3.21(1H, dd, $J = 9.0, 7.9$ Hz, H-2'), 3.16(1H, m, H-5), 2.72(1H, ddd, $J = 9.6, 5.5, 1.8$ Hz, H-9), 1.77~1.70(2H, m, H-6); ¹³C NMR(125 MHz, CD₃OD) δ : 98.0(d, C-1), 154.0(d, C-3), 106.0(s, C-4), 28.4(d, C-5), 25.9(t, C-6), 69.7(t, C-7), 133.3(d, C-8), 43.8(d, C-9), 120.8(t, C-10), 168.5(s, C-11), 99.7(d, C-1'), 74.7(d, C-2'), 77.9(d, C-3'), 71.5(d, C-4'), 78.4(d, C-5'), 62.7(t, C-6')。以上数据与文献^[15,16]报道基本一致,故鉴定化合物**5**为獐牙菜苷。

化合物6 白色粉末(甲醇);ESI-MS: m/z 571 [M + Na]⁺, 分子式为 C₂₅H₄₀O₁₃。¹H NMR(500 MHz, CD₃OD) δ : 5.88(1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-4), 5.86(1H, s, H-7), 5.73(1H, dd, $J = 15.5, 6.5$ Hz, H-8), 4.42(1H, dq, $J = 6.5, 2.5$ Hz, H-9), 4.35

(1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1''), 4.28 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-1'), 3.85 (2H, d, $J = 11.7$ Hz, H-6'' α , 6'' β), 3.64 (2H, m, H-6' α , 6' β), 3.37 ~ 3.14 (8H, m, H-2', 2'', 3', 3'', 4', 4'', 5', 5''), 2.16 (2H, d, $J = 4.0$ Hz, H-2), 1.91 (3H, d, $J = 1.5$ Hz, H-13), 1.28 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-10), 1.03 (6H, s, H-11, 12); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 42.5 (s, C-1), 50.6 (t, C-2), 201.3 (s, C-3), 127.1 (d, C-4), 167.3 (s, C-5), 80.0 (s, C-6), 131.5 (d, C-7), 135.2 (d, C-8), 77.3 (d, C-9), 21.2 (q, C-10), 23.5 (q, C-11), 24.7 (q, C-12), 19.6 (q, C-13), 101.2 (d, C-1'), 75.2 (d, C-2'), 77.9 (d, C-3'), 71.6 (d, C-4'), 78.1 (d, C-5'), 62.7 (t, C-6'), 102.6 (d, C-1''), 77.3 (d, C-2''), 78.0 (d, C-3''), 74.9 (d, C-4''), 78.3 (d, C-5''), 62.7 (t, C-6''). 以上数据与文献^[17]报道基本一致,故鉴定化合物**6**为 phenixoside A。

化合物 7 白色针状结晶(甲醇);ESI-MS: m/z 389 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_7$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.00 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 6.86 (1H, dd, $J = 8.1, 2.0$ Hz, H-6), 6.79 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5), 6.68 (2H, s, H-2', 6'), 4.74 (2H, d, $J = 4.2$ Hz, H-7, 7'), 4.25 (2H, m, H-9 β , 9' β), 3.87 (2H, m, H-9 α , 9' α), 3.82 (3H, s, 3-OCH₃), 3.79 (6H, s, 3', 5'-OCH₃), 3.15 (2H, m, H-8, 8'); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 133.8 (s, C-1), 110.7 (d, C-2), 149.2 (s, C-3), 147.8 (s, C-4), 115.1 (d, C-5), 120.5 (d, C-6), 87.5 (d, C-7), 56.9 (d, C-8, 8'), 72.1 (t, C-9), 56.7 (3-OCH₃), 130.1 (s, C-1'), 104.6 (d, C-2', 6'), 149.5 (s, C-3', 5'), 133.9 (s, C-4'), 87.9 (d, C-7'), 72.9 (d, C-9'), 54.5 (q, 3'-OCH₃), 56.4 (q, 5'-OCH₃)。以上数据与文献^[18]报道基本一致,故鉴定化合物**7**为杜仲树脂酸。

化合物 8 白色粉末(甲醇);ESI-MS: m/z 313 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_7$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 8.00 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-4), 6.25 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-5), 5.82 (1H, s, H-2), 3.54 (1H, m, H-3'), 3.44 (1H, m, H-4'), 2.31 (1H, dd, $J = 14.5, 7.3$ Hz, H-2' β), 2.06 (3H, s, 3-CH₃), 1.83 (1H, dd, $J = 14.5, 10.1$ Hz, H-2' α), 1.34 (3H, s, 1'-CH₃), 1.18 (3H, s, 5'-CH₃); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 170.6 (s, C-1), 121.5 (d, C-2), 149.0 (s, C-3), 133.6 (d, C-4), 131.7 (d, C-5), 21.0 (q, 3-CH₃), 89.3 (s, C-1'), 40.7 (t, C-2'), 72.4 (d,

C-3'), 76.8 (d, C-4'), 59.0 (s, C-5'), 179.0 (s, C-6'), 82.9 (s, C-8'), 18.5 (q, 1'-CH₃), 10.4 (q, 5'-CH₃)。以上数据与文献^[19,20]报道基本一致,故鉴定化合物**8**为 *rel*-5-(1*R*,5*S*-dimethyl-3*R*,4*R*,8*S*-trihydroxy-7-oxa-6-oxobicyclo-[3,2,1]oct-8-yl)-3-methyl-2*Z*,4*E*-pentadienoic acid。

化合物 9 白色结晶(甲醇);ESI-MS: m/z 209 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_4$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.72 (1H, d, $J = 15.0$ Hz, H-7), 7.16 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6), 7.04 (1H, s, H-2), 6.82 (1H, s, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.30 (1H, d, $J = 15.0$ Hz, H-8), 3.85 (3H, s, 4-OCH₃), 3.83 (3H, s, 3-OCH₃); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 125.5 (s, C-1), 108.4 (d, C-2), 148.9 (s, C-3), 152.7 (s, C-4), 113.1 (d, C-5), 123.3 (d, C-6), 148.8 (d, C-7), 116.0 (d, C-8), 170.5 (s, C-9), 56.9 (q, 3-OCH₃), 56.6 (q, 4-OCH₃)。以上数据与文献^[21]报道基本一致,故鉴定化合物**9**为3,4-二甲氧基-肉桂酸。

化合物 10 白色针状结晶(甲醇);ESI-MS: m/z 149 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_2$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.67 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7), 7.60 (2H, m, H-2, 6), 7.40 (2H, m, H-3, 5), 7.38 (1H, m, H-4), 6.46 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 135.9 (s, C-1), 130.0 (d, C-2, 6), 129.2 (d, C-3, 5), 131.4 (d, C-4), 146.3 (d, C-7), 119.4 (d, C-8), 170.4 (s, C-9)。以上数据与文献^[22]报道基本一致,故鉴定化合物**10**为反式肉桂酸。

化合物 11 白色粉末(甲醇);ESI-MS: m/z 339 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_8$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.85 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6), 6.82 (1H, d, $J = 2.7$ Hz, H-2), 6.67 (1H, dd, $J = 8.0, 2.7$ Hz, H-5), 4.78 (1H, d, $J = 7.1$ Hz, H-1'), 3.90 (1H, dd, $J = 12.0, 2.0$ Hz, H-6' α), 3.81 (3H, s, 4-OCH₃), 3.78 (3H, s, 3-OCH₃), 3.69 (1H, dd, $J = 12.0, 6.0$ Hz, H-6' β), 3.47 ~ 3.33 (4H, m, H-2', H-3', H-4', H-5'); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 153.9 (s, C-1), 104.0 (d, C-2), 151.1 (s, C-3), 146.0 (s, C-4), 113.9 (d, C-5), 109.3 (d, C-6), 57.1 (q, 3-OCH₃), 56.4 (q, 4-OCH₃), 103.5 (d, C-1'), 75.0 (d, C-2'), 78.5 (d, C-3'), 71.5 (d, C-4'), 78.0 (d, C-5'), 62.6 (t, C-6')。以上数据与文献^[15]报道基本一致,故鉴定化合物**11**为3,4-二甲氧基苯基- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 12 白色粉末(甲醇);ESI-MS: m/z 369 $[M + Na]^+$,分子式为 $C_{15}H_{22}O_9$ 。 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.38 (2H, s, H-2, H-6), 4.77 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'), 3.72 (6H, s, 3, 5-OCH₃), 3.69 (1H, m, H-6' α), 3.57 (3H, s, 4-OCH₃), 3.40 (1H, m, H-6' β), 3.34 (1H, t, $J = 8.8$ Hz, H-5'), 3.30 (1H, m, H-3'), 3.19 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-2'), 3.08 (1H, t, $J = 9.2$ Hz, H-4'); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 154.0 (s, C-1), 94.3 (d, C-2, 6), 153.1 (s, C-3, 5), 132.4 (s, C-4), 55.7 (q, 3-OCH₃), 60.1 (q, 4-OCH₃), 55.7 (q, 5-OCH₃), 101.0 (d, C-1'), 73.3 (d, C-2'), 76.8 (d, C-3'), 70.1 (d, C-4'), 77.3 (d, C-5'), 60.9 (t, C-6')。以上数据与文献^[15,23]报道基本一致,故鉴定化合物 **12** 为 3,4,5-三甲氧基苯酚- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 13 白色粉末(甲醇);ESI-MS: m/z 123 $[M + H]^+$,分子式为 $C_7H_6O_2$ 。 1H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 8.03 (1H, m, H-2), 7.99 (1H, m, H-6), 7.58 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-4), 7.46 (2H, d, $J = 7.4$ Hz, H-3, H-5); ^{13}C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 130.5 (s, C-1), 129.3 (d, C-2, 6), 128.1 (d, C-3, 5), 132.6 (d, C-4), 168.5 (s, C-7)。以上数据与文献^[24]报道基本一致,故鉴定化合物 **13** 为苯甲酸。

化合物 14 白色针状结晶(甲醇);ESI-MS: m/z 155 $[M + H]^+$,分子式为 $C_7H_6O_4$ 。 1H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.43 (1H, m, H-2), 7.40 (1H, m, H-6), 6.80 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5); ^{13}C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 123.2 (s, C-1), 115.8 (d, C-2), 146.1 (s, C-3), 151.5 (s, C-4), 117.7 (d, C-5), 123.9 (d, C-6), 170.3 (s, C-7)。以上数据与文献^[25]报道基本一致,故鉴定化合物 **14** 为原儿茶酸。

化合物 15 白色结晶(甲醇);ESI-MS: m/z 191 $[M + Na]^+$, $C_9H_{12}O_3$ 。 1H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.33 (3H, s, H-2, 4, 6), 3.88 (9H, s, 1, 3, 5-OCH₃); ^{13}C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 148.9 (s, C-1, 3, 5), 108.4 (d, C-2, 4, 6), 56.4 (q, 1, 3, 5-OCH₃)。以上数据与文献^[25]报道基本一致,故鉴定化合物 **15** 为 1,3,5-三甲氧基苯。

2.2 活性测试结果

2.2.1 α -葡萄糖苷酶抑制活性筛选结果

本实验以阿卡波糖(acarbose, 100 μ mol/L)为阳性对照,对胆木中分离所得的 15 个化合物进行了 α -葡萄糖苷酶抑制活性筛选。结果如表 2 所示,当浓度为 0.05 mg/mL 时,化合物 **3**、**7**、**8**、**13** 和 **14** 显示出 α -葡萄糖苷酶抑制活性。

表 2 化合物 **3**、**7**、**8**、**13** 和 **14** 的 α -葡萄糖苷酶抑制活性($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 The α -glucosidase inhibitory activity of compounds **3**, **7**, **8**, **13** and **14** ($\bar{x} \pm s, n=3$)

化合物 Compound	抑制率 Inhibition rate (%)	化合物 Compound	抑制率 Inhibition rate (%)
3	6.09 \pm 1.5	13	11.55 \pm 2.3
7	3.33 \pm 2.2	14	18.33 \pm 1.4
8	9.20 \pm 1.3	阿卡波糖 Acarbose	85.76 \pm 2.1

2.2.2 细胞毒活性结果

通过化合物 **1** ~ **15** 对人肺癌细胞株 A549、宫颈癌细胞株 HeLa 和慢性髓原白血病细胞株 K562 的细胞毒活性实验,发现在浓度为 20 μ mol/L,对 3 种细胞株均未表现出细胞毒活性。

3 结果与讨论

胆木药用部位为木质部,在制药工艺上主要采用水提取制备胆木浸膏^[26]作为药用部位,前期研究表明,胆木中的主要成分为生物碱^[27],但对其他类型化合物研究相对较少,因此大极性非生物碱类成分也值得深入研究。本次研究中,通过胆木木质部粉碎分离得到 15 个化合物,其中化合物 **1** ~ **4**、**9** ~

14 为酚酸类化合物,化合物 **5**、**6** 为环烯醚萜类化合物,化合物 **7** 为木质素类化合物,化合物 **8** 为倍半萜类化合物,化合物 **15** 为苯丙素类化合物。化合物 **1** 为新化合物,化合物 **1** ~ **4**、**6** ~ **8** 均为首次从该属植物中分离得到。体外活性筛选结果表明,化合物 **3**、**7**、**8**、**13** 和 **14** 显示出弱的 α -葡萄糖苷酶抑制活性,且所有化合物均无细胞毒活性。本研究结果首次开展了胆木中大极性非生物碱部分化学成分的 α -葡萄糖苷酶抑制与细胞毒活性研究,丰富了胆木中化学成分多样性,发现其显示出弱的 α -葡萄糖苷酶抑制活性,为该海南特色黎药胆木开发利用,以及拓宽胆木的新应用提供参考。

参考文献

- Chinese Flora Editing Committee. Flora of China(中国植物志)[M]. Beijing: Science Press, 1999, 71(1): 260.
- "National Compilation of Chinese Herbal Medicine" Compilation Group. National Compilation of Chinese Herbal Medicine(全国中草药汇编)[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2017, 2: 745.
- Mai SY, Wang YR, Li YH, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological activity of *Nauclea officinalis* [J]. Guangzhou Chem Ind(广州化工), 2018, 46(16): 38-41.
- Song LL, Mu YL, Zhang HC, et al. A new indole alkaloid with anti-inflammatory from the branches of *Nauclea officinalis* [J]. Nat Prod Res, 2020, 34: 2283-2288.
- Wang HY, Lui K, Wang RX, et al. Two new triterpenoids from *Nauclea officinalis* [J]. Nat Prod Res, 2014, 29: 644-649.
- Balogun ME, Nwachukwu D, Onwe PE, et al. Gastric acid anti-secretory effects of aqueous leaf extract of *Nauclea latifolia* (Rubiaceae) in rats [J]. Phytomedicine, 2014, 3: 389-394.
- Lu HL, Zhao YY, Shen HT, et al. Simultaneous determination of 14 phenols from *Ribes meyeri* stem by UPLC-MS/MS and their antidiabetic activity [J]. J Pharm Anal(药物分析杂志), 2021, 41: 1697-1706.
- Zhou LW. Study on the phenolic acids and their glucosidase inhibitory activity in *Coix lachryma-jobi* L. Bran-Hull [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University(南京农业大学), 2019.
- Cao YG, Ren YJ, Hao ZY, et al. Chemical constituents from the ethyl acetate fraction of *Gardenia jasminoides* var. *radicans* [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2022, 34: 413-419.
- Ellman GL, Courtney KD, Andres V, et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity [J]. Biochem Pharmacol, 1961, 7(2): 88-95.
- Yamaguchi K, Shinohara C, Kojima S, et al. (2E,6R)-8-Hydroxy-2,6-dimethyl-2-octenoic acid, a novel anti-osteoporotic monoterpene, isolated from *Cistanche salsa* [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1999, 63: 731-735.
- Cui CB, Tezuka Y, Yamashita H, et al. Constituents of a fern, *Davallia mariesii* Moore. V. Isolation and structures of davalin, a new tetrameric proanthocyanidin, and two new phenolic glycosides [J]. Chem Pharm Bull, 1993, 41: 1491-1497.
- Yuan T, Wan CP, González-Sarrifas A, et al. Phenolic glycosides from sugar maple (*Acer saccharum*) bark [J]. J Nat Prod, 2011, 74: 2472-2476.
- Yuan XD, Gao HM, Chen LM, et al. A new lignan from stems of *Sargentodoxa cuneata* [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2013, 38: 2118-2124.
- Xuan WD, Chen HS, Bian J. A new indole alkaloid glycoside from stems of *Nauclea officinalis* [J]. Acta Pharm Sin(药学报), 2006, 41: 1064-1067.
- Chen YJ, Wang ZB, Yu Y, et al. Structural identification of iridoids from leaves of *Hydrangea macrophylla* [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2017, 48: 232-235.
- Azmat S, Zahoor A, Ifzal R, et al. A new megastigmane glycoside, phoenixoside A, from *Phoenix dactylifera* [J]. Nat Prod Commun, 2012, 7(1): 3-4.
- Li LY, Luo RH, Xu MJ, et al. Chemical constituents from leaves of *Cyclocarya paliurus* [J]. Mod Chin Med(中国现代中药), 2021, 23: 1705-1709.
- Qin BH, Yuan QY, Yuan WK, et al. Chemical constituents of *Caulophyllum robustum* [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2017, 40: 2081-2083.
- Kikuzaki H, Kayano S, Fukutsuka N, et al. Abscisic acid related compounds and lignans in prunes (*Prunus domestica* L.) and their oxygen radical absorbance capacity (ORAC) [J]. J Agr Food Chem, 2004, 52: 344-349.
- Fei YH, Chen C, Li XR, et al. Chemical constituents from seeds of *Helianthus annuus* [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2014, 45: 631-634.
- Wang YY, Zhang Z, Shi HN, et al. Chemical components of ethyl acetate extracts from *Loranthus tanakae* [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2022, 53: 965-972.
- Niu R, Qiu YT, Ni L, et al. Studies on the antifungal effects and chemical constituents of the extracts of *Bauhinia purpurea* L. Barks [D]. Agrochemicals(农药), 2018, 57(3): 184-188.
- Luo Y, Qiu L, Liu LM, et al. Study on isolation and antitumor activity *in vitro* of the compounds from *Desmos chinensis* Lour [J]. Strait Pharm J(海峡药学), 2021, 33(7): 40-43.
- Shi JY, Zhang ZG, Li M, et al. Phenolic constituents from the fruit of *Chaenomeles sinensis* [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2020, 55: 1666-1672.
- Han FH, Tang WM, Zhang P, et al. A kind of extraction method of *Nauclea officinalis* (一种胆木浸膏的提取方法) [P]: CN201911422229. 3. 2020-04-07.
- Song LL. Study on chemical constituents and biological activities of *Nauclea officinalis* [D]. Jinan: Jinan University(济南大学), 2019.