

小叶黄杨化学成分的研究

梁荣感¹, 毛庭枝¹, 梁成钦¹, 梁军², 苏小建³, 徐庆¹

(1. 桂林医学院, 广西 桂林 541004; 2. 广西师范大学 环境与资源学院, 广西 桂林 541004; 3. 广西师范大学 化学化工学院, 广西 桂林 541004)

摘要: 小叶黄杨氯仿组分通过硅胶柱色谱分离纯化, 从中分离得到9个化合物, 分别鉴定为: β -谷甾醇(β -Sitosterol, I)、豆甾醇(Stigmasterol, II)、胡萝卜甾(daucosterol, III)、水杨酸(salicylic acid, IV)、香草酸(vanillic acid, V)、5,4'-二羟基-3,3',7-三甲氧基-黄酮(5,4'-dihydroxy-3,3',7-trimethoxy-flavone, VI)、5,4'-二羟基-3,3',6,7-四甲氧基-黄酮(5,4'-dihydroxy-3,3',6,7-tetramethoxy-flavone, VII)、Cleomiscosin A(VIII)、3,5-二羟基-4',6,7-三甲氧基-黄酮-3'-O- β -D-葡萄糖甙(3,5-dihydroxy-4',6,7-trimethoxy-flavone-3'-O- β -D-glucopyranoside, IX), 其中化合物IV、V、VI、VII均首次从该属植物中分离得到。

关键词: 小叶黄杨; 化学成分; 分离; 鉴定

中图分类号: Q946.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2009)05-0703-04

Studies on the chemical constituents of *Buxus microphylla*

LIANG Rong-Gan¹, MAO Ting-Zhi¹, LIANG Cheng-Qin¹,
LIANG Jun², SU Xiao-Jian³, XU Qing¹

(1. Guilin Medical College, Guilin 541004, China; 2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China; 3. College of Environment and Resources, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China)

Abstract: Component extracted from *Buxus microphylla* with Chloroform was separated and purified through the silica gel column chromatography, from which nine compounds were isolated and identified as: β -sitosterol (I), stigmasterol (II), daucosterol (III), salicylic acid (IV), homovanillic acid (V), 5,4'-dihydroxy-3,3',7-trimethoxy-flavonoids (VI), 5,4'-dihydroxy-3,3',6,7-tetracarboxylic oxygen-flavonoids (VII), Cleomiscosin A (VIII), 3,5-dihydroxy-4',6,7-trimethoxy-flavone-3'-O- β -D-Glucoside (IX). Compounds IV, V, VI, VII were isolated from the plant for the first time.

Key words: *Buxus microphylla*; chemical constituent; isolation; structure identification

小叶黄杨(黄杨木, *Buxus microphylla*)又名千年矮, 是黄杨科黄杨属的一种灌木, 广西各地都有生长(闫双喜等, 2002), 民间用来治疗心血管病(海力西等, 2006)、疟疾、梅毒、风湿、皮炎和狂犬病等(邱明华等, 1992)。许立等(2007)对黄杨木(茎枝)的生物碱成分进行研究, 发现其对心绞痛、心律失常、心功能不全有较好的作用。洪苛教等(1989)和周宁等(1995)的研究表明本药治疗皮肤病如结节性红斑、

银屑病、荨麻疹, 还可治疗糖尿病足合并感染。基于小叶黄杨活性作用多, 而其相应的有效组分或有效化合物尚待进一步研究, 因此为了开发利用丰富的小叶黄杨资源, 从中寻找具有新颖结构和高度生物活性的化合物, 我们对该植物进行化学成分分离研究, 并从氯仿溶解部分分离并鉴定了9个化合物, 它们分别为: β -谷甾醇(I)、豆甾醇(II)、胡萝卜甾(III)、水杨酸(IV)、香草酸(V)、5,4'-二羟基-3,3',

收稿日期: 2008-05-29 修回日期: 2009-07-10

作者简介: 梁荣感(1966-), 男, 广西桂林市人, 高级实验师, 从事天然植物的抗肿瘤抗病毒科研工作, E-mail: liangRG9009@Tom.com

7-三甲氧基-黄酮(VI)、5,4'-二羟基-3,3',6,7-四甲氧基-黄酮(VII)、Cleomiscosin A(VIII)、3,5-二羟基-4',6,7-三甲氧基-黄酮-3'-O- β -D-葡萄糖甙(IX),其中化合物IV、V、VI、VII均首次从该属植物中分离得到。这4个化合物的结构式如图1所示。

1 实验部分

1.1 实验仪器、材料和样品

熔点用 YRT 230 数显微熔点测定仪测定,温度未校正。红外光谱用美国 Nicolet 公司 Avatar 360 FT-IR 红外光谱仪测定, KBr 压片。柱色谱及薄层

层析用硅胶为青岛海洋化工厂生产。 ^1H , ^{13}C -NMR 用瑞士 Bruker 公司 ADVANCE AV 500MHz 超导核磁共振仪测定。

小叶黄杨来自桂林花草苗木公司,由桂林医学院药学院陈旭教授鉴定。

1.2 提取和分离

将小叶黄杨阴干后打成粉末 13 kg,用 70% 的酒精浸没药材于超声波中超声提取,每次 1 h,提取液浓缩后用石油醚、氯仿分 3 次萃取,得氯仿部分浸膏 130.0 g。将氯仿部分浸膏进行反复硅胶柱层析,用石油醚、氯仿-甲醇梯度洗脱,每份 500.0 mL, TLC 检识,合并相同组分,共得 6 个部分,分别标记

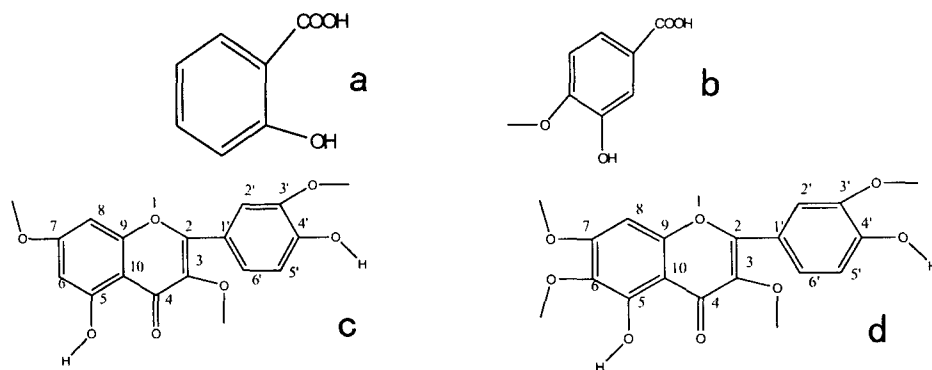


图1 四个化合物的结构式

Fig. 1 Structural formula of four compounds

a. 水杨酸; b. 香草酸; c. 3,5,4'-二羟基-3,7,3'-三甲氧基-黄酮; d. 5,4'-二羟基-3,3',6,7-四甲氧基-黄酮。

为 1、2、3、4、5、6。具体分离方法如下:

第 1 部分(1.8 g)用硅胶柱层析分离,石油醚:乙酸乙酯=100:2 洗脱, TLC 检识,合并相同组分,浓缩后放置有白色针状晶体析出,用甲醇清洗后石油醚重结晶得化合物 I、II,化合物 I 为 1.0 mg,化合物 II 为 10.0 mg。

第 2 部分(2.7 g)用硅胶柱层析分离,石油醚:乙酸乙酯=10:1 洗脱, TLC 检识,合并相同组分,浓缩后放置有白色针状晶体析出,用甲醇清洗后石油醚重结晶得化合物 III,称量为 1 200.0 mg。

第 3 部分(1.05 g)用硅胶柱层析分离,氯仿:甲醇=20:1 洗脱, TLC 检识,合并相同组分,浓缩后放置有白色针状晶体析出,用甲醇清洗得化合物 IV、V,称量分别为 400.0 mg、200.0 mg。

第 4 部分(2.1 g)用硅胶柱层析分离,氯仿洗脱, TLC 检识,合并相同组分,浓缩后放置有黄色针状晶体析出,氯仿重结晶,得化合物 VI、VII,称量分别

为 200.0 mg、8.0 mg。

第 5 部分(5.2 g)用硅胶柱层析分离,氯仿:甲醇=10:1 洗脱, TLC 检识,合并相同组分,浓缩后放置有黄色粉末析出,得化合物 VIII,称量为 600.0 mg。

第 6 部分(3.6 g)用硅胶柱层析分离,氯仿:甲醇=1:1 洗脱, TLC 检识,合并相同组分,浓缩后放置有黄色粉末析出,得化合物 IX,称量为 130.0 mg。

2 化合物的鉴定

化合物 I 与化合物 II: β -谷甾醇(β -Sitosterol, $\text{C}_{29}\text{H}_{49}\text{O}$)与豆甾醇(Stigmasterol, $\text{C}_{29}\text{H}_{47}\text{O}$)的混合物,白色晶体, Libermann-burchard 反应为阳性, IR (KBr 压片法) cm^{-1} : 3327.9, 3084.3, 2943.8, 2868.7, 1679.3, 1455.7, 1379.5, 1042.7, 此 β -谷甾醇与豆甾醇的碳谱数据分别与文献(郭澄等, 2005)

报道相符,所以鉴定化合物为 β -谷甾醇与豆甾醇。

化合物 III: 胡萝卜甙(daucosterol, $C_{35}H_{55}O_6$), 白色粉末, Libermann-burchard 反应为阳性, *m. p.* 290-292°, 1H -NMR (500Hz, DMSO-6) δ ppm: 5.33 (1H, d, $J=5$ Hz, H-6), 4.36 (1H, t, $J=5.5$ Hz, H-3), 4.23 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-1'), 0.66 (3H, s), 1.00 (3H, s), 0.97 (3H, d), 0.83 (9H, m), 此化合物的碳谱数据与文献(张正符等, 2004)报道相符, 所以鉴定化合物为胡萝卜甙。

化合物 IV: 水杨酸(salicylic acid, $C_7H_6O_3$), 无色针状结晶, IR(KBr 压片法) cm^{-1} : 3425.1, 3239.1, 3007.9, 1657.6, 1030.0, 759.2, 697.7, 695.5, 1H -NMR (500Hz, $CDCl_3$) δ ppm: 10.42 (1H, s, -OH), 7.95 (1H, d, $J=8$ Hz, H-6), 7.55 (1H, dd, $J=8.0$ & 8.0 Hz, H-4), 7.04 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-3), 6.96 (1H, dd, $J=8.0$ & 8.0 Hz, H-5), ^{13}C -NMR (125MHz, DMSO-6, ppm): 174.1 (C-7), 162.2 (C-2), 136.9 (C-4), 130.9 (C-6), 119.5 (C-5), 117.8 (C-3), 111.3 (C-1), 化合物的碳谱数据与文献(封士兰等, 2003)报道相符, 所以鉴定化合物为水杨酸, 结构如图 1:a。

化合物 V: 香草酸(vanillic acid, $C_8H_8O_4$), 无色针状结晶, IR(KBr 压片法) cm^{-1} : 3481.0, 3016.2, 1666.5, 1031.5, 765.9, 722.3, 1H -NMR (500Hz, DMSO-6) δ ppm: 12.48 (1H, s, -COOH), 9.83 (1H, s, -OH), 7.45 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-6), 7.44 (1H, s, H-2), 6.85 (1H, d, $J=8.4$, H-5), 3.81 (3H, s), ^{13}C -NMR (125MHz, DMSO-6, ppm): 168.6 (C-7), 151.6 (C-4), 147.3 (C-3), 124.0 (C-6), 121.7 (C-1), 114.5 (C-2), 112.5 (C-5), 55.1 (-OMe), 化合物的碳谱数据与文献(陈泉等, 2002)报道相符, 所以鉴定化合物为香草酸, 结构如图 1:b。

化合物 VI: 5,4'-二羟基-3,3',7-三甲氧基-黄酮 (5,4'-dihydroxy-3,3',7-trimethoxy-flavone, $C_{18}H_{16}O_7$), 黄色针状晶体, 与盐酸-镁粉反应, 呈阳性, 显红色, 说明化合物可能是黄酮类化合物, IR(KBr 压片法) cm^{-1} : 3440.4, 3066.2, 1631.4, 2927.0, 1099.8, 802.6, 585.1, 1H -NMR (500Hz, DMSO-6) δ ppm: 12.65 (1H, s, 5-OH), 9.96 (1H, s, 4'-OH), 7.69 (1H, d, $J=8.6$ Hz, H-2'), 7.63 (1H, dd, $J=8.6$ & 1.9 Hz, H-6'), 6.98 (1H, d, $J=8.6$ Hz, H-5'), 6.95 (1H, s, H-8), 3.88 (3H, s), 3.83 (3H, s), 3.73 (3H, s); ^{13}C -NMR (125MHz, DMSO-6, ppm):

178.5 (C-3), 165.7 (C-8), 161.4 (C-6), 156.8 (C-10), 156.3 (C-2), 150.5 (C-4'), 148.0 (C-3'), 138.5 (C-3), 122.9 (C-1'), 121.2 (C-6'), 116.2 (C-5'), 112.8 (C-2'), 105.7 (C-5), 98.3 (C-7), 92.3 (C-9), 60.2 (3-OMe), 56.6 (3'-OMe), 56.47-OMe), 化合物的碳谱数据与文献(Lai-King S. Y, Geoffrey D. B., 1998)报道相符, 所以鉴定化合物为 5,4'-二羟基-3,3',7-三甲氧基-黄酮, 结构如图 1:c。

化合物 VII: 5,4'-二羟基-3,3',6,7-四甲氧基-黄酮 (5,4'-dihydroxy-3,3',6,7-tetramethoxy-flavone, $C_{19}H_{18}O_7$), 黄色针状晶体, 与盐酸-镁粉反应, 呈阳性, 显红色, 这说明化合物可能是黄酮类化合物, IR(KBr 压片法) cm^{-1} : 3436.7, 3066.2, 1658.8, 2939.0, 1099.8, 804.2, 788.2; 1H -NMR (500Hz, DMSO-6) δ ppm: 12.65 (1H, s, -OH), 9.96 (1H, s, -OH), 7.69 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-2'), 7.65 (1H, dd, $J=8.2$ & 2.2 Hz, H-6'), 6.99 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-5'), 6.95 (1H, s, H-8), 3.94 (3H, s), 3.89 (3H, s), 3.83 (3H, s), 3.75 (3H, s), ^{13}C -NMR (125MHz, DMSO-6, ppm): 178.7 (C-4), 159.2 (C-7), 156.3 (C-1), 152.4 (C-5), 152.2 (C-10), 150.5 (C-4'), 148.0 (C-3'), 138.3 (C-3), 132.2 (C-6), 122.9 (C-1'), 121.2 (C-6'), 116.2 (C-5'), 112.7 (C-2'), 106.1 (C-9), 92.0 (C-8), 60.5 (6-OMe), 60.2 (3-OMe), 57.0 (7-OMe), 56.4 (3'-OMe), 化合物的碳谱数据与文献(Lai-King S. Y, Geoffrey D. B., 1998)报道相符, 所以鉴定化合物为 5,4'-二羟基-3,3',6,7-四甲氧基-黄酮, 结构如图 1:d。

化合物 VIII: Cleomiscosin A ($C_{20}H_{18}O_8$), 白色细状晶体, IR (KBr 压片法) cm^{-1} : 3451.8, 3081.0, 1702.0, 2939.3, 1444.6, 1377.7, 1058.0, 853.8, 820.6, 756.6; 1H -NMR (500MHz, DMSO-6, ppm): 9.26 (1H, s, -OH), 7.95 (1H, d, $J=10.0$ Hz, H-4), 6.34 (1H, d, $J=10.0$ Hz, H-3), 7.03 (1H, s, H-5), 6.92 (1H, s, H-2'), 6.82 (1H, d, $J=8.3$ Hz, H-6'), 6.82 (1H, d, $J=8.3$ Hz, H-5'), 3.79 (3H, s, -OMe), 3.78 (3H, s, -OMe); ^{13}C -NMR (125MHz, DMSO-6, ppm): 160.5 (C-2), 148.2 (C-3'), 147.8 (C-4'), 145.8 (C-6), 145.3 (C-4), 145.2 (C-9), 139.6 (C-7), 132.2 (C-8), 127.2 (C-1'), 121.3 (C-6'), 115.9 (C-5'), 113.7 (C-3), 112.6 (C-2'), 111.8 (C-10), 101.4 (C-5), 78.4 (C-7'), 76.7 (C-8'), 60.4 (C-9'), 56.3 (3-OMe), 56.4 (3'-OMe), 化合物的碳谱数据与文

献(Anil BR, *et al.*, 1980)报道相符,所以鉴定化合物为 Cleomiscosin A。

化合物Ⅸ: 3,5-二羟基-4',6,7-三甲氧基-黄酮-3'-O-β-D-葡萄糖甙(3,5-dihydroxy-4',6,7-trimethoxyflavone-3'-O-β-D-glucopyranoside, C₂₄H₂₆O₁₃), m. p. > 300°, IR (KBr 压片法) cm⁻¹: 3424.2, 1656.4, 2928.5, 1093.8, 808.0, 796.5, 603.4; ¹H-NMR (500MHz, DMSO-6, ppm): 12.56 (1H, s, -OH), 9.05 (1H, s, -OH), 7.62 (1H, d, J = 8.5 Hz), 7.58 (1H, dd, J = 8.1, 1.9 Hz), 7.29 (1H, d, J = 8.5 Hz), 6.94 (1H, s), 5.40 (1H, s), 5.10 (1H, d, J = 3.9 Hz), δH 5.06 (1H, d, J = 5.0 Hz), 4.90 (1H, d, J = 7.4 Hz), 4.61 (1H, t, J = 5.6 Hz), δH 3.89 (3H, s), 3.83 (3H, s); ¹³C-NMR (125MHz, DMSO-6, ppm): 178.8 (C-4), 159.3 (C-7), 155.8 (C-9), 152.1 (C-2), 148.3 (C-4'), 147.1 (C-3'), 138.8 (C-3), 132.2 (C-6), 124.5 (C-1'), 120.8 (C-6'), 116.4 (C-5'), 116.1 (C-2'), 106.2 (C-10), 101.8 (Glc-1'), 92.0 (C-8), 77.8 (Glc-5'), 76.5 (Glc-3'), 73.8 (Glc-2'), 70.4 (Glc-4'), 61.3 (Glc-6'), 60.6 (6-OMe), 60.37-OMe), 57.0 (4'-OMe), 化合物的碳谱数据与文献(林云良等, 2006)报道相符,所以鉴定化合物为 3,5-二羟基-4',6,7-三甲氧基-黄酮-3'-O-β-D-葡萄糖甙。

3 结论

从小叶黄杨氯仿组分中分离并鉴定了 9 个化合物,其中水杨酸、香草酸、5,4'-二羟基-3,3',7-三甲氧基-黄酮、5,4'-二羟基-3,3',6,7-四甲氧基-黄酮均首次从该属植物中分离得到。由于小叶黄杨资源丰富,并且具有多种治疗疾病作用,如民间用来治疗疟疾、梅毒、风湿、皮炎等,所以为了探明小叶黄杨的治疗作用机理和明确其活性部位或化学成分,还有待进一步对小叶黄杨进行化学成分分离和活性等研究。

参考文献:

Anil BR, Sunilk C, Chohachi K, *et al.* 1980. Structure of cleomis-

- cosin A, A coumarino-Lignoid of *Cleom viscosa* seeds[J]. *Tetrahedron Lett*, **21**(46): 4 477-4 480
- Chen Q(陈泉), Wu LJ(吴立军), Ruan LJ(阮立军). 2002. Chemical studies on the constituents of *Lophatherum gracile* Brongn. (中药淡竹叶的化学成分研究(II))[J]. *J Shenyang Pharm Univ*(沈阳药科大学学报), **19**(4): 257-259
- Chiu MH(邱明华), Nie RL(聂瑞麟). 1992. *Buxus* alkaloids and their plant resource(黄杨生物碱及其植物资源)[J]. *Nat Prod Res Develop*(天然产物研究与开发), **4**(4): 41-57
- Feng SL(封士兰), Shi MY(石民彦), Hu FD(胡芳弟), *et al.* 2003. Phenol derivatives of the *Salix oritrepha*(山生柳中的酚类衍生物)[J]. *J Lanzhou Univ(Nat Sci)*(兰州大学学报·自然科学版), **39**: 107-108
- Guo C(郭澄), Zheng QM(郑清明), Zheng HC(郑汉臣). 2005. Study of the chemical constituents of *Hypericum sampsonii*(元宝草的化学成分研究)[J]. *Pharm Care Res*(药学服务与研究), **5**(4): 341-345
- Hai LQ(海力茜·陶尔大洪), Xu JJ(徐建军), Kai SE(凯赛尔·阿不都克热木), *et al.* 2006. Chemical constituents of *Hedysarum austrosibiricum*(新疆红芪的化学成分)[J]. *W C J P S*(华西药学杂志), **21**(1): 416-417
- Hong KJ(洪苛教). 1989. Clinical observation on 50 cases of skin disease treated with three kinds of plants of *Buxus*(三种黄杨属植物治疗皮肤病 50 例疗效观察)[J]. *Fujian J Trad Chin Med*(福建中医药), (5): 25-26
- Lai-King SY, Geoffrey DB. 1998. Three sesquiterpenes from *Artemisia Annu* [J], *Phytochem*, **48**(7): 1 207-1 211
- Lin YL(林云良), Qiu MH(邱明华), Li ZR(李志荣), *et al.* 2006. Non-alkaloid constituents of *Buxus sinica*(Buxaceae)(黄杨中的非生物碱化学成分)[J]. *Acta Bot Yunnan*(云南植物研究), **28**(6): 429-432
- Xu L(许立), Liang T(梁涛), Xu L(徐立), *et al.* 2007. Observation on nephrotoxicity of cycloviobuxine D in Rats. (环维黄杨星 D 对大鼠肾脏毒性的初步观察)[J]. *Trad Chin Drug Res Clinical Pharm*(中药新药与临床药理), **18**(2): 91-93
- Yan SX(闫双喜), Zhao Y(赵勇), Zhao TB(赵天榜). 2002. A quantitative classification study on the plants of *Buxus* from China(中国黄杨属植物数量分类的研究)[J]. *J Biomath*(生物数学学报), **17**(3): 380-383
- Zhang ZF(张正付), Bian BL(边宝林), Yang J(杨键), *et al.* 2004. Studies on chemical constituents in roots of *Jasminum sambac*(茉莉根化学成分的研究)[J]. *China J Chin Mat Med*(中国中药杂志), **29**(3): 237-239
- Zhou N(周宁), Pan L(潘丽), Wu J(吴江). 1995. Two cases of treatment of diabetic foot amalgamative infection with boxwood(黄杨木治疗糖尿病足并感染二例)[J]. *Yunnan J Trad Chin Med Mat Med*(云南中医中药杂志), **16**(4): 60