doi: 10.3969/j.issn.0253-2417.2016.01.018

小叶臭黄皮的化学成分研究

PENG Wen-wen

彭文文[1]，刘欣媛[2]，曾广智[3]，谭宁华[3]

(1. 江西农业大学 江西省天然产物与功能食品重点实验室，江西 南昌 330045; 2. 江西农业大学学校医院，江西 南昌 330045; 3. 中国科学院 昆明植物研究所; 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室，云南 昆明 650201)

摘 要: 从小叶臭黄皮(*Clausena excavata* Burm F.)的茎和叶中分离得到 10 个单萜基香豆素，分别鉴定为 7-((*E*)-3′-甲基-4′-(8′-羰基-7′,9′-烯-呋喃)-2′-烯)-香豆素(**1**)、7-((*E*)-3′-甲基-4′-(7′-甲基-8′-羰基-6′-烯-呋喃)-2′-烯)-香豆素(**2**)、7-((*E*)-3′-甲基-4′-(7′-甲基-6′-亚甲基-8′-羰基-呋喃)-2′-烯)-香豆素(**3**)、7-((*E*)-3′-甲基-4′-(9′-羟基-8′-羰基-6′-烯-呋喃)-2′-烯)-香豆素(**4**)、7-(3′-甲基-4′-(7′-甲基-8′-羰基-6′-烯-呋喃)-2′,3′-环氧丁烷)-香豆素(**5**)、7-(3′-甲基-4′-(9′-羟基-8′-羰基-6′-烯-呋喃)-2′,3′-环氧丁烷)-香豆素(**6**)、7-(3′-甲基-4′-(7′-甲基-7′-羟基-8′-羰基-6′-烯-呋喃)-2′,3′-环氧丁烷)-香豆素(**7**)、7-(3′-甲基-4′-(7′-甲基-8′-羰基-呋喃)-2′,3′-环氧丁烷)-香豆素(**8**)、5′-羟基葡萄内酯(**9**)和 7-((*E*)-7′-羟基-3′,7′-二甲基-2′,5′-二烯)-香豆素(**10**)，2 个四降三萜，鉴定为 11β-羟基-1α-乙酰基黄柏酮(**11**)、11β-羟基黄柏酮(**12**)和 1 个木脂素，鉴定为(-)-丁香脂素(**13**)。其中化合物 **11** 和 **13** 为首次从该植物中分离得到。测定了化合物 **1**、**2**、**3**、**11** 和 **12** 对癌细胞株 A549、Hela 和 BGC-823 的细胞毒活性，及其对白色念珠菌(*Candida albicans*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)的抑菌活性。结果显示，化合物 **1** 对 Hela 和 A549 均有细胞毒活性，其半数抑制质量浓度(IC_{50})值分别为 11.26 和 13.55 mg/L，化合物 **3** 对 BGC-823 有细胞毒活性，其 IC_{50} 值为 16.65 mg/L，5 个化合物对白色念珠菌和金黄色葡萄球菌均没有抗菌活性。

关键词: 小叶臭黄皮; 单萜基香豆素; 四降三萜; 木脂素

中图分类号: TQ35 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2417(2016)01-0127-08

引文格式: 彭文文，刘欣媛，曾广智，等. 小叶臭黄皮的化学成分研究 [J]. 林产化学与工业，2016，36(1): 127-134.

Chemical Constituents from *Clausena excavata* Burm. F.

PENG Wen-wen[1], LIU Xin-yuan[2], ZENG Guang-zhi[3], TAN Ning-hua[3]

(1. Jiangxi Key Laboratory of Natural Products and Functional Food, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 2. Hospital, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 3. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China)

Abstract: Ten O-terpenoidal coumarins excavarin (**1**), excavatin D (**2**), excavatin G (**3**), excavatin E (**4**), excavatin K (**5**), excavatin L (**6**), excavacoumarin B (**7**), excavacoumarin A (**8**), anisocoumarin H (**9**) and 7-((*E*)-7′-hydroxy-3′,7′-dimethylocta-2′,5′-dienyloxy)-coumarin (**10**), two tetranortriterpenoids claemargine E (**11**), zapoterin (**12**), one lignanoid (-)-syringaresinol (**13**) were isolated from the leaves and barks of *Clausena excavata* Burm. F. (Rutaceae). Compounds **11** and **13** are isolated from this plant for the first time. Compounds **1**, **2**, **3**, **11** and **12** were tested for their cytotoxicities against A549, Hela and BGC-823 cancer cell lines, and antimicrobial activities against *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus*. The results showed that compound **1** exhibited cytotoxicity against Hela and A549 with the IC_{50} values of 11.26 and 13.55 mg/L, and compound **3** against BGC-823 with the IC_{50} value of 16.65 mg/L. Compounds **1**, **2**, **3**, **11**, **12** didn't exhibit antimicrobial activities against *Candida albicans* and *Staphylococcus aureaus*.

Key words: *Clausena excavata* Burm. F.; O-terpenoidal coumarins; tetranortriterpenoids; lignanoid

---

收稿日期: 2015-01-13

基金项目: 江西省博士后科研基金(06292023); 江西农业大学博士科研启动基金项目(09004507)

作者简介: 彭文文(1977—)，男，陕西西安人，讲师，博士，主要从事植物化学及生物活性研究; **E-mail:** pengwenwen123@sina.com。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

小叶臭黄皮(*Clausena excavata* Burm. F.)又名假黄皮、过山香(台湾)、山黄皮、鸡母黄、大棵(海南)、臭皮树及野黄皮(云南),是芸香科(Rutaceae)黄皮属植物,主要产于台湾、福建、广东、海南、广西、云南南部。小叶臭黄皮的根皮、叶入药,可用于治疗痢疾、肠炎和尿道炎等[1-2],叶入药还具有行气、止痛、驱风和去湿等功效,果实可鲜吃,但不宜多吃。该植物所含化学成分较为丰富,其主要成分香豆素有着广泛的药理药效作用,是小叶臭黄皮化学成分及其生物活性研究中重要的有效成分。Ito 等[3]报道了香豆素具有抗肿瘤活性,这可能是小叶臭黄皮中发挥抗癌作用的物质基础。有关小叶臭黄皮的其它化学成分,本课题组之前已经报道了简单香豆素[4]、生物碱[5]、倍半萜[6]及苯环衍生物[7]。本研究对小叶臭黄皮茎和叶的化学成分进行提取分离,旨在为小叶臭黄皮的药用开发提供数据基础。

1 实 验

1.1 材料

小叶臭黄皮风干的茎和叶于2010年8月采自云南西双版纳,植物标本由中国科学院昆明植物研究所税玉民研究员鉴定为芸香科黄皮属植物小叶臭黄皮(*Clausena excavata* Burm. F.)。

1.2 仪器与试剂

Bruker AM-400 型核磁共振波谱仪,德国布鲁克; VG Autospec-3000 质谱仪,英国 VG; Horiba SEPA-300 数字式旋光仪,日本堀场; Bio-Rad FTS-135 红外光谱仪,美国 Bio-Rad; Shimadzu UV-2401A 紫外光谱仪,日本岛津; Agilent 1100 高效液相色谱仪,美国安捷伦; Zorbax Eclipse XDB-C18(9.4 mm×250 mm, 5 μm)色谱柱,流速 2 mL/min; 柱色谱硅胶(75~150,48~75 μm)、薄层色谱硅胶板,青岛裕民源硅胶试剂厂; 反相材料 Lichroprep RP-18(40~63 μm),Merk 公司; 所用吡啶、四氢呋喃、硫酸、盐酸及醋酸为分析纯,其余试剂为化学纯。

1.3 提取与分离

风干的小叶臭黄皮茎和叶(32 kg),粉碎后用95%工业甲醇回流提取3次,每次35 L提取3 h,减压浓缩得到甲醇提取物。将其用水悬浮后,依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇进行萃取,回收溶剂得到乙酸乙酯部分(1.1 kg)。将乙酸乙酯部分经硅胶(75~150 μm)色谱柱分离,以石油醚/丙酮(10∶1~0∶1,体积比,下同)梯度洗脱,得到5个部分(Fr.1~Fr.5)。Fr.2(33 g)经硅胶(48~75 μm)色谱柱分离,以石油醚/丙酮(5∶1)等梯度洗脱,得到4个部分(Fr.2.1~Fr.2.4)。Fr.2.2(0.9 g)进一步经反相 RP-18 色谱柱,以甲醇/水(30%~90%)梯度洗脱得到5个部分(Fr.2.2.1~Fr.2.2.5)。Fr.2.2.1(145 mg)经 HPLC(65%甲醇/水)得到化合物**1**(24 mg),**2**(26 mg)和**3**(42 mg)。Fr.2.2.2(91 mg)经 HPLC(65%甲醇/水)得到化合物**4**(9 mg)和**5**(38 mg)。Fr.2.2.3(75 mg)经 HPLC(63%甲醇/水)得到化合物**6**(18 mg)和**7**(23 mg)。Fr.2.2.4(53 mg)经 HPLC(63%甲醇/水)得到化合物**8**(12 mg)。Fr.3(52 g)经硅胶(48~75μm)色谱柱,以石油醚/丙酮(4∶1)等梯度洗脱,得到5个部分(Fr.3.1~Fr.3.5)。Fr.3.1(0.8 g)经反相 RP-18 色谱柱,以甲醇/水(30%~90%)梯度洗脱得到4个部分(Fr.3.1.1~Fr.3.1.4)。Fr.3.1.1(33 mg)经 HPLC(60%甲醇/水)得到化合物**9**(6 mg)和**10**(7 mg)。进一步将 Fr.3.1.2(120 mg)经 HPLC(70%甲醇/水)得到化合物**11**(37 mg)和**12**(17mg)。最后,将 Fr.3.1.4(35 mg)经 HPLC(70%甲醇/水)得到化合物**13**(8 mg)。

1.4 化合物1~13结构鉴定

运用^{1}H NMR、^{13}C NMR、IR 和 MS 等方法对13个化合物进行结构鉴定。核磁共振分析使用^{1}H /^{13}C 探头,所有实验均采用标准脉冲程序,谱线以 $CDCl_3$ 为内标和参考物,并校正到 TMS δ 为0.00,测定温度为303K。$CDCl_3$ 为溶剂,^{1}H 谱参考标准 $\delta_{CDCl_3}=7.24$(单峰),^{13}C 谱参考标准 $\delta_{CDCl_3}=77.0$(三重峰); Acetone-d_6 为溶剂,^{1}H 谱参考标准 $\delta_{Acetone-d_6}=2.04$(多重峰)和3.10(宽峰为水峰),^{13}C 谱参考标准 $\delta_{Acetone-d_6}=205.7$(单峰)和29.8(多重峰); C_5D_5N 为溶剂,^{1}H 谱参考标准 $\delta_{C_5D_5N}=8.71$(单峰)、7.55(单峰)和7.19(单峰),^{13}C 谱参考标准 $\delta_{Acetone-d_6}=149.9$(单峰)、135.3(单峰)和123.4(单峰); 红外光谱分

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

析采用 KBr 压片法，波数范围为 400 ~4000 cm^{-1}; 质谱分析电离方式为 ESI 和 FAB，扫描范围 50 ~ 1 300 u，扫描速度 5 000 u/s。

1.5　细胞毒活性与抗菌活性测试

为了探索单萜基香豆素 6′位双键对其活性的影响和四降三萜的活性，选择化合物 1、2、3、11、12 来测试它们对癌细胞株 A549、Hela 和 BGC-823 的细胞毒活性及其对白色念珠菌(*Candida albicans*) 、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) 的抑菌活性。实验方法参考文献 [6] 采用 SRB 法和微生物比浊法。

磺酰罗丹明 B(SRB) 比色法: 用含 10% 胎牛血清的培养液将细胞配成单个细胞悬浮液，以每孔 5×10^3 个细胞接种到 96 孔板上; 细胞贴壁后，加入待测化合物溶液，继续培养 48 或 72 h; 加入预冷的三氯乙酸溶液固定细胞，之后用 SRB 溶液染色活细胞，最后加入 Tris 溶液溶解 SRB，560 nm 检测吸光值; 以浓度为横坐标，细胞存活率为纵坐标绘制曲线，应用 Reed-Muench 法计算化合物的半数抑制质量浓度(IC_{50}) 值。

比浊法: 调整微生物浓度为 1.0×10^6 CFU/mL，之后按每孔 1.0×10^5 CFU 加入到 96 孔板中，再分别加入待测样品后于 37 ℃下培养 24 h，之后在 625 nm 下测定吸光值，计算样品对微生物生长的 IC_{50}。

2　结果与分析

2.1　结构鉴定

化合物 1 ~13 的结构式如图 1 所示。

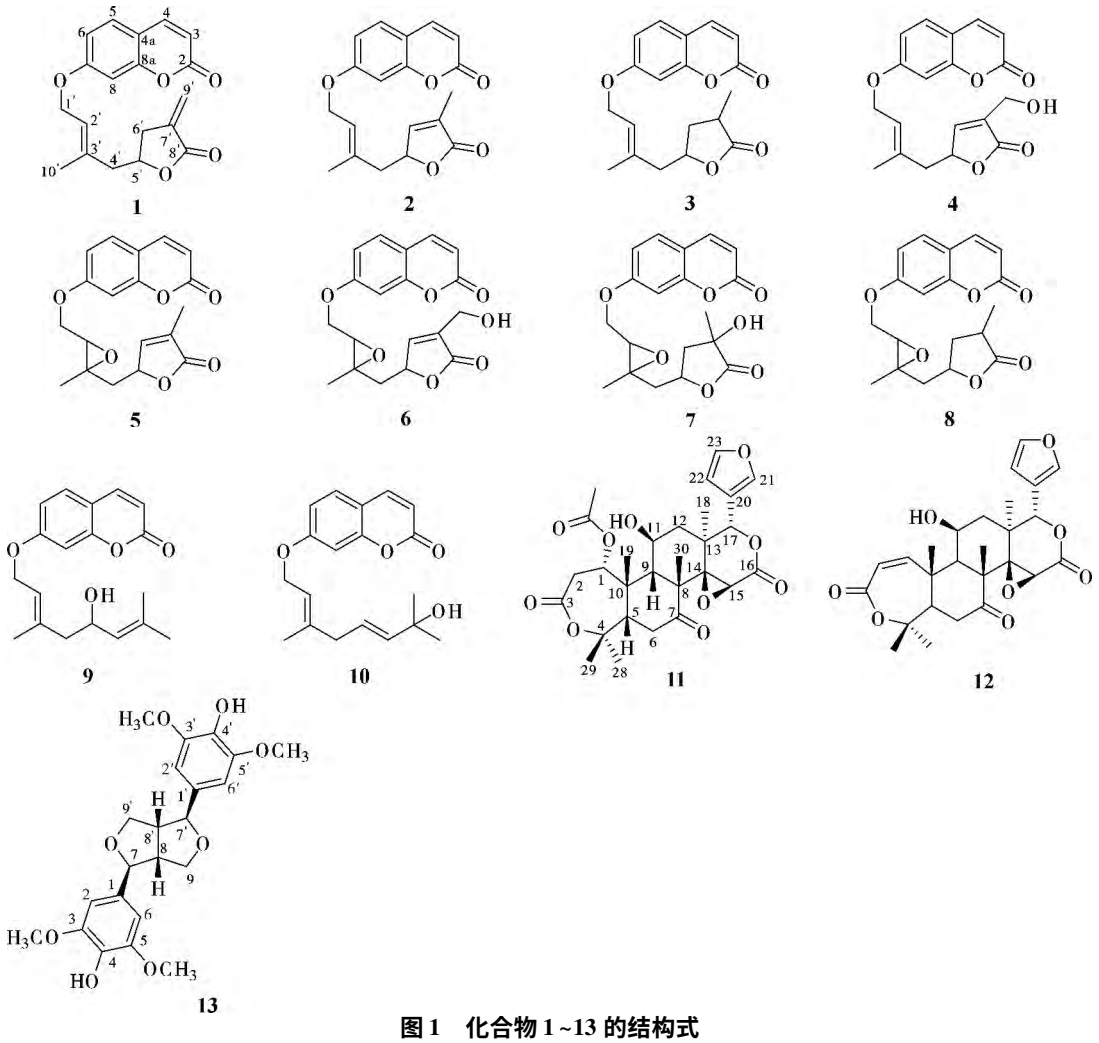

图 1　化合物 1 ~13 的结构式

Fig. 1　The structures of compounds 1 – 13

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

化合物1: 淡黄色油状物,分子式为 $C_{19}H_{18}O_5$, $[\alpha]_D^{25.3}$ +16.9°(**样品在甲醇中质量浓度** 3.2 g/L)。UV (MeOH) λ_{max}(**摩尔吸光系数的对数**(lg ε)): 204 (4.76), 323 (4.29) nm。FT-IR (KBr, cm^{-1}) υ: 3433, 1761, 1731, 1555, 1507, 1431, 1402, 1351, 1278, 1231, 1199, 1158, 1126, 1046, 1002, 836, 616。^{1}H NMR (400 MHz, Acetone-d_6) δ: 6.20 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-3), 7.88 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-4), 7.55 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5), 6.91 (1H, dd, J = 8.5, 2.4 Hz, H-6), 6.87 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-8), 4.73 (2H, d, J = 6.3 Hz, H-1′), 5.62 (1H, m, H-2′), 2.52 (1H, dd, J = 14.2, 7.5 Hz, H-4′a), 2.42 (1H, dd, J = 14.2, 6.0 Hz, H-4′b), 4.78 (1H, m, H-5′), 3.11 (1H, ddt, J = 17.3, 7.5, 2.7 Hz, H-6′a), 2.66 (1H, ddt, J = 17.3, 6.0, 2.7 Hz, H-6′b), 6.04 (1H, t, J = 2.7 Hz, H-9′a), 5.64 (1H, t, J = 2.7 Hz, H-9′b), 1.85 (3H, s, H-10′)。^{13}C NMR (100 MHz, Acetone-d_6) δ: 170.2 (C-8′), 162.9 (C-7), 160.9 (C-2), 156.8 (C-8a), 144.5 (d, C-4), 137.4 (C-3′), 136.4 (C-7′), 130.1 (d, C-5), 123.6 (d, C-2′), 121.4 (t, C-9′), 113.7 (d, C-3), 113.5 (d, C-6), 113.4 (C-4a), 102.2 (d, C-8), 76.2 (d, C-5′), 66.0 (t, C-1′), 46.1 (t, C-4′), 33.6 (t, C-6′), 17.1 (q, C-10′)。ESI-MS m/z 349 $[M+Na]^+$, HR-EI-MS m/z 326.114 7 ($[M]^+$, $C_{19}H_{18}O_5$, **计算值**: 326.115 4)。**以上数据与文献**[9]**报道的数据基本吻合,故鉴定该化合物为** 7-((*E*)-3′-**甲基**-4′-(8′-**羰基**-7′,9′-**烯**-**呋喃**)-2′-**烯**)-**香豆素**(excavarin)。

化合物2: 淡黄色油状物,分子式为 $C_{19}H_{18}O_5$。^{1}H NMR (400 MHz, Acetone-d_6) δ: 7.65 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-4), 7.38 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-5), 7.05 (1H, m, H-6′), 6.84 (1H, dd, J = 8.6, 2.4 Hz, H-6), 6.80 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-8), 6.25 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-3), 5.62 (1H, m, H-2′), 5.30 (1H, m, H-5′), 4.63 (2H, d J = 6.4 Hz, H-1′), 2.43 (2H, d, J = 6.7 Hz, H-4′), 1.92 (3H, s, H-9′), 1.85 (3H, s, H-10′)。^{13}C NMR (100 MHz, Acetone-d_6) δ: 173.6 (C-8′), 162.9 (C-7), 160.9 (C-2), 156.8 (C-8a), 149.9 (d, C-6′), 144.5 (d, C-4), 137.1 (C-3′), 130.1 (C-7′), 128.8 (d, C-5), 123.7 (d, C-2′), 113.6 (d, C-3), 113.5 (d, C-6), 113.4 (C-4a), 102.1 (d, C-8), 80.1 (d, C-5′), 65.9 (t, C-1′), 43.7 (t, C-4′), 17.3 (q, C-10′), 10.5 (q, C-9′)。ESI-MS m/z 349 $[M+Na]^+$。**以上数据与文献**[10~11]**报道的数据基本吻合,故鉴定该化合物为** 7-((*E*)-3′-**甲基**-4′-(7′-**甲基**-8′-**羰基**-6′-**烯**-**呋喃**)-2′-**烯**)-**香豆素**(excavatin D)。

化合物3: 淡黄色油状物,分子式为 $C_{19}H_{20}O_5$。^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.65 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-4), 7.38 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-5), 6.85 (1H, dd, J = 8.6, 2.3 Hz, H-6), 6.81 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-8), 6.26 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-3), 5.58 (1H, m, H-2′), 4.70 (1H, m, H-5′), 4.62 (2H, d, J = 6.2 Hz, H-1′), 2.71 (1H, m, H-7′), 2.50 (1H, dd, J = 14.5, 7.6 Hz, H-4′a), 2.34 (1H, dd, J = 14.5, 6.3 Hz, H-4′b), 2.17 (1H, m, H-6′a), 2.02 (1H, m, H-6′b), 1.83 (3H, s, H-10′), 1.29 (3H, d, J = 7.4 Hz, H-9′)。^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ: 179.3 (C-8′), 161.8 (C-7), 161.2 (C-2), 155.7 (C-8a), 143.5 (d, C-4), 136.9 (C-3′), 128.8 (d, C-5), 122.2 (d, C-2′), 113.0 (d, C-3), 112.9 (d, C-6), 112.5 (C-4a), 101.5 (d, C-8), 76.7 (d, C-5′), 65.0 (t, C-1′), 45.1 (t, C-4′), 37.2 (t, C-6′), 35.7 (d, C-7′), 17.2 (q, C-10′), 15.0 (q, C-9′)。ESI-MS m/z 351 $[M+Na]^+$。**以上数据与文献**[10, 12]**报道的数据基本吻合,故鉴定该化合物为** 7-((*E*)-3′-**甲基**-4′-(7′-**甲基**-6′-**亚甲基**-8′-**羰基**-**呋喃**)-2′-**烯**)-**香豆素**(excavatin G)。

化合物4: 淡黄色油状物,分子式为 $C_{19}H_{18}O_6$。^{1}H NMR (400 MHz, C_5D_5N) δ: 7.96 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-4), 7.60 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-5), 7.42 (1H, m, H-6′), 6.98 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-8), 6.94 (1H, dd, J = 8.6, 2.4 Hz, H-6), 6.26 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-3), 5.56 (1H, tq, J = 6.5, 1.3 Hz, H-2′), 5.23 (1H, m, H-5′), 5.11 (2H, m, H-9′), 4.68 (2H, d, J = 6.5 Hz, H-1′), 2.53 (1H, dd, J = 14.3, 4.8 Hz, H-4′a), 2.27 (1H, dd, J = 14.3, 8.4 Hz, H-4′b), 1.79 (3H, s, H-10′)。^{13}C NMR (100 MHz, C_5D_5N) δ: 172.5 (C-8′), 162.4 (C-7), 160.9 (C-2), 156.4 (C-8a), 149.3 (d, C-6′), 143.9 (d, C-4), 136.6 (C-3′), 135.9 (C-7′), 129.5 (d, C-5), 122.4 (d, C-2′), 113.3 (d, C-3), 113.2 (d, C-6), 113.0 (C-4a), 101.9 (d, C-8), 80.5 (d, C-5′), 65.6 (t, C-1′), 56.9 (t, C-9′), 43.2 (t, C-4′), 17.1 (q,

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

C-10′)。ESI-MS *m/z* 365 [M + Na]$^+$。以上数据与文献[10,12]报道的数据基本吻合,故鉴定该化合物为 7-((*E*)-3′-甲基-4′-(9′-羟基-8′-羰基-6′-烯-呋喃)-2′-烯)-香豆素(excavatin E)。

化合物 5: 淡黄色油状物,分子式为 $C_{19}H_{18}O_6$。^{1}H NMR (400 MHz, Acetone-d_6) δ: 7.60 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-4), 7.34 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-5), 7.07 (1H, t, J = 1.6 Hz, H-6′), 6.83 (1H, dd, J = 8.6, 2.4 Hz, H-6), 6.76 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-8), 6.18 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-3), 5.06 (1H, m, H-5′), 4.29 (1H, dd, J = 11.2, 3.6 Hz, H-1′a), 4.02 (1H, dd, J = 11.2, 6.6 Hz, H-1′b), 3.15 (1H, dd, J = 6.6, 3.6 Hz, H-2′), 1.85 (3H, s, H-9′), 1.82 (2H, m, H-4′), 1.44 (3H, s, H-10′)。^{13}C NMR (100 MHz, Acetone-d_6) δ: 174.0 (C-8′), 162.7 (C-7), 160.8 (C-2), 156.8 (C-8a), 150.3 (d, C-6′), 144.5 (d, C-4), 130.1 (d, C-7′), 129.8 (C-5), 113.8 (d, C-3), 113.7 (C-6), 113.5 (d, C-4a), 102.3 (d, C-8), 78.9 (d, C-5′), 68.8 (t, C-1′), 61.6 (d, C-2′), 58.6 (C-3′), 43.0 (t, C-4′), 17.3 (q, C-10′), 10.6 (q, C-9′)。ESI-MS *m/z* 365 [M + Na]$^+$。以上数据与文献[10,13]报道的数据基本吻合,故鉴定该化合物为 7-(3′-甲基-4′-(7′-甲基-8′-羰基-6′-烯-呋喃)-2′,3′-环氧丁烷)-香豆素(excavatin K)。

化合物 6: 淡黄色油状物,分子式为 $C_{19}H_{18}O_7$。^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.66 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-4), 7.40 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-5), 7.38 (1H, m, H-6′), 6.90 (1H, dd, J = 8.6, 2.4 Hz, H-6), 6.86 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-8), 6.27 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-3), 5.22 (1H, m, H-5′), 4.66 (2H, m, H-9′), 4.34 (1H, dd, J = 11.1, 3.8 Hz, H-1′a), 4.09 (1H, dd, J = 11.1, 6.4 Hz, H-1′b), 3.21 (1H, dd, J = 6.4, 3.8 Hz, H-2′), 1.97 (1H, dd, J = 14.3, 5.0 Hz, H-4′a), 1.91 (1H, dd, J = 14.3, 8.7 Hz, H-4′b), 1.52 (3H, s, H-10′)。^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ: 172.1 (C-8′), 161.4 (C-7), 161.1 (C-2), 155.7 (C-8a), 148.9 (d, C-6′), 143.4 (d, C-4), 133.7 (C-7′), 128.9 (d, C-5), 113.5 (d, C-3), 113.4 (C-6), 112.8 (d, C-4a), 101.7 (C-8), 78.9 (d, C-5′), 67.1 (t, C-1′), 61.2 (d, C-2′), 58.2 (C-3′), 57.0 (t, C-9′), 42.4 (t, C-4′), 17.0 (q, C-10′)。ESI-MS *m/z* 381 [M + Na]$^+$。以上数据与文献[10]报道的数据基本吻合,故鉴定该化合物为 7-(3′-甲基-4′-(9′-羟基-8′-羰基-6′-烯-呋喃)-2′,3′-环氧丁烷)-香豆素(excavatin L)。

化合物 7: 淡黄色油状物,分子式为 $C_{19}H_{20}O_7$。^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.68 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-4), 7.42 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-5), 7.06 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-8), 6.99 (1H, dd, J = 8.6, 2.4 Hz, H-6), 6.33 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-3), 5.15 (1H, m, H-5′), 4.34 (1H, dd, J = 11.1, 4.5 Hz, H-1′a), 4.23 (1H, dd, J = 11.1, 2.6 Hz, H-1′b), 3.41 (1H, dd, J = 4.5, 2.6 Hz, H-2′), 2.64 (1H, m, H-6′a), 2.01 (2H, m, H-4′), 1.95 (1H, m, H-6′b), 1.66 (1H, s, H-9′), 1.45 (3H, s, H-10′)。^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ: 177.4 (C-8′), 161.5 (C-7), 161.2 (C-2), 155.7 (C-8a), 143.4 (d, C-4), 128.9 (d, C-5), 113.4 (d, C-3), 113.3 (C-6), 112.9 (d, C-4a), 101.8 (d, C-8), 74.9 (d, C-5′), 73.4 (C-7′), 67.2 (t, C-1′), 60.9 (d, C-2′), 58.2 (C-3′), 44.3 (t, C-6′), 44.2 (t, C-4′), 23.9 (q, C-9′), 16.9 (q, C-10′)。ESI-MS *m/z* 383 [M + Na]$^+$。以上数据与文献[10,13]报道的数据基本吻合,故鉴定该化合物为 7-(3′-甲基-4′-(7′-甲基-7′-羟基-8′-羰基-6′-烯-呋喃)-2′,3′-环氧丁烷)-香豆素(excavacoumarin B)。

化合物 8: 淡黄色油状物,分子式为 $C_{19}H_{20}O_6$。^{1}H NMR (400 MHz, Acetone-d_6) δ: 7.67 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-4), 7.42 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-5), 7.04 (1H, d, J = 2.5 Hz, H-8), 6.99 (1H, dd, J = 8.6, 2.5 Hz, H-6), 6.33 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-3), 5.00 (1H, m, H-5′), 4.48 (1H, dd, J = 11.2, 3.1 Hz, H-1′a), 4.27 (1H, dd, J = 11.2, 6.7 Hz, H-1′b), 3.37 (1H, dd, J = 6.7, 3.1 Hz, H-2′), 2.38 (1H, dd, J = 7.9, 4.7 Hz, H-7′), 1.92 (1H, m, H-6′a), 1.82 (2H, m, H-4′), 1.60 (1H, m, H-6′b), 1.44 (3H, s, H-10′), 1.18 (3H, d, J = 7.1 Hz, H-9′)。^{13}C NMR (100 MHz, Acetone-d_6) δ: 179.3 (C-8′), 162.7 (C-7), 160.9 (C-2), 156.7 (C-8a), 144.5 (d, C-4), 130.2 (d, C-5), 113.8 (d, C-3), 113.7 (C-6), 113.1 (d, C-4a), 102.2 (d, C-8), 75.4 (d, C-5′), 68.8 (t, C-1′), 61.6 (d, C-2′), 58.2 (C-3′), 44.8 (t, C-4′), 38.2 (t, C-6′), 36.1 (d, C-7′), 17.3 (q, C-10′), 15.1 (q, C-9′)。ESI-MS *m/z* 367 [M + Na]$^+$。以上数据与文献[13]报道的数据基本吻合,故鉴定该化合物为 7-(3′-甲基-4′-(7′-甲基-8′-羰基-呋喃)-2′,3′-环氧丁烷)-香豆素(excavacoumarin A)。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

化合物9: 淡黄色油状物,分子式为 $C_{19}H_{22}O_4$。^{1}H NMR (400 MHz,$CDCl_3$) δ: 7.62 (1H,d,J = 9.5 Hz,H-4),7.34 (1H,d,J = 8.3 Hz,H-5),6.81 (1H,dd,J = 8.3,2.4 Hz,H-6),6.79 (1H,d J = 2.4 Hz,H-8),6.22 (1H,d,J = 9.5 Hz,H-3),5.55 (1H,tq,J = 6.5,1.2 Hz,H-2′),5.15 (1H,d,J = 5.9 Hz,H-6′),4.59 (2H,brd,J = 6.5 Hz,H-1′),4.51 (1H,ddd,J = 7.3,6.1,5.9 Hz,H-5′),2.25 (1H,dd,J = 13.8,7.3 Hz,H-4′a),2.20 (1H,dd,J = 13.8,6.1 Hz,H-4′b),1.80 (3H,s,H-10′),1.69 (3H,s,H-8′),1.67 (3H,s,H-9′)。^{13}C NMR (100 MHz,$CDCl_3$) δ: 161.9 (C-7),161.3 (C-2),155.8 (C-8a),143.4 (d,C-4),138.9 (C-3′),135.5 (C-7′),128.7 (d,C-2′),127.2 (d,C-5),121.7 (d,C-6′),113.2 (d,C-4a),113.0 (d,C-3),112.5 (C-6),101.5 (d,C-8),66.3 (d,C-5′),65.2 (t,C-1′),47.7 (t,C-4′),25.7 (q,C-8′),18.2 (q,C-9′),17.0 (q,C-10′)。ESI-MS m/z 337 [M + Na]$^+$。**以上数据与文献[10,14~15]报道的数据基本吻合,故鉴定该化合物为** 5′-羟基葡萄内酯(anisocoumarin H)。

化合物10: 淡黄色油状物,分子式为 $C_{19}H_{22}O_4$。^{1}H NMR (400 MHz,$CDCl_3$) δ: 7.64 (1H,d,J = 9.6 Hz,H-4),7.37 (1H,d,J = 8.4 Hz,H-5),6.86 (1H,dd,J = 8.4,2.4 Hz,H-6),6.82 (1H,d,J = 2.4 Hz,H-8),6.25 (1H,d,J = 9.6 Hz,H-3),5.65 (1H,m,H-5′),5.61 (1H,m,H-6′),5.49 (1H,t,J = 6.4 Hz,H-2′),4.16 (2H,d,J = 6.4 Hz,H-1′),2.79 (2H,d,J = 6.4 Hz,H-4′),1.67 (3H,s,H-10′),1.32 (6H,s,H-8′,9′)。^{13}C NMR (100 MHz,$CDCl_3$) δ: 162.0 (C-7),161.5 (C-2),156.1 (C-8a),143.7 (d,C-4),141.3 (C-3′),140.7 (d,C-6′),128.9 (d,C-5),124.0 (d,C-5′),119.5 (d,C-2′),113.4(C-3),113.2 (d,C-4a),112.7 (d,C-6),101.7 (d,C-8),70.9 (C-7′),65.6 (t,C-1′),42.3 (t,C-4′),30.0 (q,C-8′),30.0 (q,C-9′),17.0 (q,C-10′)。ESI-MS m/z 337 [M + Na]$^+$。**以上数据与文献[15~17]报道的数据基本吻合,故鉴定该化合物为** 7-((*E*)-7′-羟基-3′,7′-二甲基-2′,5′-二烯)-香豆素。

化合物11: 白色粉末,分子式为 $C_{28}H_{34}O_{10}$, $[\alpha]_D^{25.0}$ −89.8°(**样品在甲醇中的质量浓度** 1.5 g/L)。UV (MeOH) λ_{max}(lg ε): 205 (3.80),386 (1.98) nm。FT-IR (KBr,cm^{-1}) υ: 3444,2992,2945,1736,1633,1462,1429,1396,1377,1297,1279,1230,1188,1167,1140,1117,1087,1027,980,876。^{1}H NMR (400 MHz,Acetone-d_6,TMS) δ: 7.58 (1H,s,H-21),7.55 (1H,d,J = 1.3 Hz,H-23),6.46 (1H,d,J = 1.3 Hz,H-22),5.53 (1H,s,H-17),5.09 (1H,d,J = 7.4 Hz,H-1),4.34 (1H,brs,H-11),3.75 (1H,s,C-15),3.58 (1H,m,H-2a),3.16 (1H,t,J = 14.3 Hz,H-6a),3.04 (1H,dd,J = 15.9,7.4 Hz,H-2b),2.59 (1H,d,J = 4.8 Hz,H-9),2.52 (1H,dd, J = 14.3,3.9 Hz,H-6b),2.33 (1H,s,H-5),1.92 (3H,s,H-29),1.87 (1H,d,J = 15.0 Hz,H-12a),1.77 (3H,s,H-19),1.64 (3H,s,H-28),1.53 (3H,s,H-30),1.46 (1H,dd,J = 15.0,6.4 Hz,H-12b),1.38 (3H,s,H-$OOCCH_3$),1.07 (3H,s,H-18)。^{13}C NMR (100 MHz,Acetone-d_6) δ: 206.6 (C-7),169.4 (C-16),169.2 (C-3),143.1 (d,C-23),141.0 (d,C-21),120.0 (C-20),109.7 (d,C-22),84.6 (C-4),78.1 (d,C-17),71.4 (d,C-1),65.1 (d,C-11),64.2 (C-14),53.5 (d,C-15),51.6 (C-8),51.0 (d,C-9),46.4 (d,C-5),44.6 (t,C-12),44.3 (C-10),38.8 (t,C-6),36.0 (C-13),35.0 (t,C-2),33.4 (q,C-$OOC\underline{C}H_3$),23.0 (q,C-28),20.6 (q,C-18),20.1 (q,C-29),19.4 (q,C-30),17.6 (q,C-19)。ESI-MS m/z 553 [M + Na]$^+$; HR-ESI-MS m/z 553.204 6 ([M + Na]$^+$,$C_{28}H_{34}O_{10}Na^+$,**计算值** 553.204 9)。**以上数据与文献[18]报道的数据基本吻合,故鉴定该化合物为** 11β-羟基-1α-乙酰基黄柏酮(claemargine E)。

化合物12: 白色粉末,分子式为 $C_{26}H_{30}O_8$。^{1}H NMR (500 MHz,C_5D_5N) δ: 7.61 (1H,br s,H-21),7.59 (1H,br s,H-23),6.96 (1H,d,J = 12.0 Hz,H-1),6.47 (1H,br s,H-22),6.21 (1H,d,J = 12.0 Hz,H-2),5.89 (1H,s,H-17),4.98 (1H,d,J = 5.6 Hz,H-11),4.30 (1H,s,H-15),3.21 (1H,t,J = 14.0 Hz,H-6a),2.93 (1H,dd,J = 14.0,4.8 Hz,H-6b),2.53 (1H,dd,J = 14.0,4.8 Hz,H-5),2.27 (1H,s,H-9),2.14 (1H,d,J = 14.8 Hz,H-12a),2.02 (s,3H,H-19),1.87 (3H,s,H-29),1.69 (1H,dd,J = 14.8,6.2 Hz,H-12b),1.51 (3H,s,H-28),1.32 (3H,s,H-30),1.25 (3H,s,H-18)。^{13}C NMR (125 MHz,C_5D_5N) δ: 208.2 (C-7),168.0 (C-16),167.1 (C-3),156.8 (d,C-1),143.7 (d,C-23),141.8 (d,C-21),121.9 (d,C-2),121.2 (C-20),110.7 (d,C-22),84.0 (C-4),78.8 (d,C-17),66.6

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

(d,C-11),65.4 (C-14),56.6 (d,C-5),54.5 (d,C-15),52.4 (C-8),51.1 (d,C-9),44.5 (t,C-12),44.4 (C-10),40.5 (t,C-6),36.9 (C-13),31.7 (q,C-28),26.6 (q,C-29),20.5 (q,C-18),20.1 (q,C-30),18.6 (q,C-19)。FAB-MS *m/z* 469 $[M]^-$。以上数据与文献[2,19]报道的数据基本吻合,故鉴定该化合物为 11β-羟基黄柏酮(zapoterin)。

化合物 13: 淡黄色油状物,分子式为 $C_{22}H_{26}O_8$。^{1}H NMR (400 MHz,CD_3OD,TMS) δ: 6.56 (4H,s,H-2,-6,-2′,-6′),4.70 (2H,d,*J* = 4.3 Hz,H-7,-7′),4.26 (2H,m,H-9,-9′),3.89 (2H,m,H-9,-9′),3.87 (12H,s,CH_3O-3,-5,-3′,-5′),3.07 (2H,m,H-8,-8′)。^{13}C NMR (100 MHz,CD_3OD) δ: 149.3 (s,4C-3,5,3′,5′),134.6 (s,2C-4,4′),133.1 (s,2C-1,1′),104.4 (d,4C-2,6,2′,6′),87.6 (d,2C-7,7′),72.7 (t,2C-9,9′),56.8 (q,4C-OCH_3),55.5 (d,2C-8,8′)。ESI-MS *m/z* 441 $[M+Na]^+$。以上数据与文献[20]报道的数据基本吻合,故鉴定该化合物为(-)-丁香脂素((-)-syringaresinol)。

由图 1 结合以上结构表征数据可知,化合物1~10为单萜基香豆素,化合物11~12为四降三萜,化合物 13为木脂素,其中化合物 11 和 13 为首次从该植物中分离得到。

2.2　细胞毒活性与抗菌活性

化合物 1、2、3、11 和 12 对癌细胞株 A549、Hela 和 BGC-823 的细胞毒活性,以及对 *C. albicans* 和 *S. aureus* 的抗菌活性结果见表 1。由表 1 可知,化合物 1 对 Hela 和 A549 细胞株均有细胞毒活性,其 IC_{50} 值分别为 11.26 和 13.55 mg/L; 化合物 3 对细胞株 BGC-823 具有细胞毒活性,IC_{50}值为 16.65 mg/L。化合物 1、2、3、11 和 12 对白色念珠菌和金黄色葡萄球菌均没有抗菌活性。

表 1　化合物的细胞毒活性和抗菌活性(IC_{50})

Table 1　Antimicrobial and cytotoxic activities of compounds(IC_{50})　　mg/L

化合物 compounds	A549	Hela	BGC-823	白色念珠菌 *Candida albicans*	金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*
1	13.55	11.26	>20	>20	>20
2	>20	>20	>20	>20	>20
3	>20	>20	16.65	>20	>20
11	>20	>20	>20	>20	>20
12	>20	>20	>20	>20	
紫杉醇 taxol	0.02	0.02	0.01		0.03
咪康唑 Miconazole				0.16	

3　结 论

从小叶臭黄皮的茎和叶中分离得到 10 个单萜基香豆素,分别为 7-((*E*)-3′-甲基-4′-(8′-羰基-7′,9′-烯-呋喃)-2′-烯)-香豆素(1)、7-((*E*)-3′-甲基-4′-(7′-甲基-8′-羰基-6′-烯-呋喃)-2′-烯)-香豆素(2)、7-((*E*)-3′-甲基-4′-(7′-甲基-6′-亚甲基-8′-羰基-呋喃)-2′-烯)-香豆素(3)、7-((*E*)-3′-甲基-4′-(9′-羟基-8′-羰基-6′-烯-呋喃)-2′-烯)-香豆素(4)、7-(3′-甲基-4′-(7′-甲基-8′-羰基-6′-烯-呋喃)-2′,3′-环氧丁烷)-香豆素(5)、7-(3′-甲基-4′-(9′-羟基-8′-羰基-6′-烯-呋喃)-2′,3′-环氧丁烷)-香豆素(6)、7-(3′-甲基-4′-(7′-甲基-7′-羟基-8′-羰基-6′-烯-呋喃)-2′,3′-环氧丁烷)-香豆素(7)、7-(3′-甲基-4′-(7′-甲基-8′-羰基-呋喃)-2′,3′-环氧丁烷)-香豆素(8)、5′-羟基葡萄内酯(9)和 7-((*E*)-7′-羟基-3′,7′-二甲基-2′,5′-二烯)-香豆素(10); 2 个四降三萜,分别为 11β-羟基-1α-乙酰基黄柏酮(11)、11β-羟基黄柏酮(12)和 1 个木脂素(-)-丁香脂素)(13)。其中化合物 11 和 13 为首次从该植物中分离得到。化合物 1 对癌细胞株 Hela 和 A549 均有细胞毒活性,其半数抑制质量浓度(IC_{50})值分别为 11.26 和 13.55 mg/L,化合物 3 对癌细胞株 BGC-823 有细胞毒活性,其 IC_{50}值为 16.65 mg/L。化合物 1、2、3、11 和 12 对白色念珠菌和金黄色葡萄球菌均没有抗菌活性。

参考文献:

[1] 中国科学院昆明植物研究所. 云南植物志(第六卷): 种子植物[M]. 北京: 科学出版社,1995: 759.

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

Kunming Plant Research Institute,Chinese Academy of sciences. Yunnan Plant Annals (Sixth Volume): Seed Plant [M]. Beijing: Science and Technology Publishing,1995: 759.

[2] HE Hong-ping,ZHANG Jian-xin,SHEN Yue-mao,et al. Tetranortriterpenoids from *Clausena excavata* [J]. Helvetica Chimica Acta,2002,85(2): 671-677.

[3] ITO C,ITOIGAWA M,KATSUNO S,et al. Chemical constituents of *Clausena excavata*: Isolation and structure elucidation of novel furanone-coumarins with inhibitory effects for tumor-promotion [J]. Journal of Natural Products,2000,63(9): 1218-1224.

[4] PENG Wen-wen,ZHENG Yu-qing,CHEN Yi-shan,et al. Coumarins from roots of *Clausena excavata* [J]. Journal of Asian Natural Products Research,2013,15(3): 215-220.

[5] PENG Wen-wen,ZENG Guang-zhi,SONG Wei-wu,et al. A new cytotoxic carbazole alkaloid and two new other alkaloids from *Clausena excavata* [J]. Chemistry & Biodiversity,2013,10(7): 1317-1321.

[6] 彭文文,宋卫武,黄茂波,等. 小叶臭黄皮中单萜和倍半萜类成分研究 [J]. 中国中药杂志,2014,39(9): 1620-1624.
PENG Wen-wen,SONG Wei-wu,HUANG Mao-bo,et al. Monoterpenes and sesquiterpenes from *Clausena excavata* [J]. China Journal of Chinese Materia Medica,2014,39(9): 1620-1624.

[7] 彭文文,宋卫武,黄茂波,等. 小叶臭黄皮中12个苯环衍生物(英文) [J]. 药学学报,2014,49(12): 1689-1693.
PENG Wen-wen,SONG Wei-wu,HUANG Mao-bo,et al. Twelve benzene derivatives from *Clausena excavata* [J]. Acta Pharmaceutica Sinica,2014,49(12): 1689-1693.

[8] HE Wen-jun,CHU Hong-biao,ZHANG Yu-mei,et al. Antimicrobial,cytotoxic lignans and terpenoids from the twigs of *Pseudolarix kaempferi* [J]. Planta Medica,2011,77(17): 1924-1931.

[9] KUMAR R,SAHA A,SAHA D. A new antifungal coumarin from *Clausena excavata* [J]. Fitoterapia,2012,83(1): 230-233.

[10] THUY T T,RIPPERGER H,PORZEL A,et al. Coumarins,limonoids and an alkaloid from *Clausena excavata* [J]. Phytochemistry,1999,52(3): 511-516.

[11] WANG Yun-song,HUANG Rong,LI Ning-zhong,et al. Coumarins from *Clausena anisum-olens* Merr [J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry,2010,74(7): 1483-1484.

[12] TAKEMURA Y,NAKAMURA K,HIRUSAWA T,et al. Four new furanone-coumarins from *Clausena excavata* [J]. Chemical & Pharmaceutical Bulletin,2000,48(4): 582-584.

[13] HE Hong-ping,SHEN Yue-mao,ZUO Guo-ying,et al. Two new O-terpenoidal coumarins,excavacoumarin A and B from *Clausena excavata* [J]. Chinese Chemical Letters,2000,11(6): 539-542.

[14] NGADJUI B T,AYAFOR J F,SONDENGAM B L,et al. Prenylated coumarins from the leaves of *Clausena anisata* [J]. Journal of Natural Products,1989,52(2): 243-247.

[15] CHANG C T,DOONG S L,TSAI I L,et al. Coumarins and anti-HBV constituents from *Zanthoxylum schinifolium* [J]. Phytochemistry,1997,45(7): 1419-1422.

[16] MIN B K,HYUN D G,JEONG S Y,et al. A new cytotoxic coumarin,7-[(E)-3′,7′-dimethyl-6′-oxo-2′,7′-octadienyl] oxy coumarin,from the leaves of *Zanthoxylum schinifolium* [J]. Archives of Pharmacal Research,2011,34(5): 723-726.

[17] RASHID M A,GRAY A I,WATERMAN P G,et al. Coumarins from *Phebalium tuberculosum* ssp. *megaphyllum* and *Phebalium filifolium* [J]. Journal of Natural Products,1992,55(7): 851-858.

[18] XIA Hong-min,LI Chuang-jun,YANG Jing-zhi,et al. A,D-seco-limonoids from the stems of *Clausena emarginata* [J]. Journal of Natural Products,2014,77(4): 784-791.

[19] NGADJUI B T,AYAFOR J F,SONDENGAM B L,et al. Prenylated coumarins from the leaves of Clauaena anisata [J]. Journal of Natural Products,1989,52(2): 243-247.

[20] OUYANG M A,WEIN Y S,ZHANG Z K,et al. Inhibitory activity against tobacco mosaic virus (TMV) replication of pinoresinol and syringaresinol lignans and their glycosides from the root of *Rhus javanica* var. *roxburghian* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2007,55(16): 6460-6465.

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net