

小叶米仔兰枝条中的抗菌活性成分研究

刘帅^{1,2}, 梅文莉^{2,3}, 左文健^{2,3}, 王辉^{2,3}, 王健^{1*}, 戴好富^{2,3*}

(1. 海南大学热带作物种质资源保护与开发利用教育部重点实验室 / 海南大学园艺园林学院, 海口 570228; 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, 海口 571101; 3. 海口市热带天然产物研究与利用重点实验室, 海口 571101)

摘要: 为探讨小叶米仔兰(*Aglaia odorata* var. *microphyllina*)中的抗菌活性成分,从其枝条的乙醇提取物中分离得到6个化合物,通过波谱分析,分别鉴定为:4(15)-桉叶烯-1 β ,7,11-三醇 (**1**)、4 α ,10 β ,11-三羟基-1,5-反-愈创木烷-6-烯 (**2**)、6,15 α -环氧-1 β ,4 β -二羟基桉烷 (**3**)、2-羟基-丁二酸-1-甲酯 (**4**)、巴西红厚壳素 (**5**)和胡萝卜苷 (**6**)。以上化合物均为首次从该植物中分离得到,其中化合物**1**、**2**、**4**和**5**为首次从米仔兰属植物中分离得到。用滤纸片琼脂扩散法测定了化合物**1**~**5**的抗菌活性,结果显示化合物**4**和**5**对金黄色葡萄球菌有抑制作用。

关键词: 小叶米仔兰; 化学成分; 抗菌活性

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2013.01.010

Antibacterial Components from the Twigs of *Aglaia odorata* var. *microphyllina*

LIU Shuai^{1,2}, MEI Wen-li^{2,3}, ZUO Wen-jian^{2,3}, WANG Hui^{2,3}, WANG Jian^{1*}, DAI Hao-fu^{2,3*}

(1. Key Laboratory of Protection and Development Utilization of Tropical Crop Germplasm Resources, Ministry of Education/ Horticultural and Garden College, Hainan University, Haikou 570228, China; 2. Hainan Key Laboratory for Research and Development of Natural Products from Li Folk Medicine, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China; 3. Haikou Key Laboratory for Research and Development of Tropical Natural Products, Haikou 571101, China)

Abstract: With the purpose of exploring antibacterial constituents of *Aglaia odorata* var. *microphyllina*, six compounds were isolated from the EtOH extract of the twigs. Their structures were identified as 4(15)-eudesmen-1 β ,7,11-triol (**1**), 4 α ,10 β ,11-trihydroxy-1,5-trans-guai-6-ene (**2**), 6,15 α -epoxy-1 β ,4 β -dihydroxyeudesmane (**3**), 2-hydroxy-butandioic acid 1-methylester (**4**), jacararubin (**5**) and daucosterol (**6**) on the basis of spectroscopic evidence. All the compounds above were isolated from this plant for the first time, and compounds **1**, **2**, **4**, **5** were isolated from the plants of the genus *Aglaia* for the first time. Compounds **1** – **5** were tested antibacterial activity by the filter paper disc diffusion method, the result showed compounds **4** and **5** possessed inhibitory effects on *Staphylococcus aureus*.

Key words: *Aglaia odorata* var. *microphyllina*; Chemical constituent; Antibacterial activity

小叶米仔兰(*Aglaia odorata* var. *microphyllina*)为楝科(Meliaceae)米仔兰属灌木或小乔木,原产于海南低海拔山地的疏林或灌木林中,我国南方各省区有栽培^[1]。米仔兰属一些植物的化学成分已有

大量报道,主要有楝酰胺^[2]、双酰胺^[3]、二萜^[4]、三萜^[5]、甾体^[6]等结构类型,其中楝酰胺为米仔兰属植物的特征性成分,且具有显著的抗肿瘤和昆虫拒食活性^[7]。然而,小叶米仔兰的化学成分尚未见报

收稿日期: 2012-05-04 接受日期: 2012-06-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(30860345)资助

作者简介: 刘帅(1988~),男,硕士研究生,研究方向为南药学(南药药用活性成分研究)。E-mail: liushuai-007@163.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: daihaofu@itbb.org.cn; wjhnau@yahoo.com.cn

道,为寻找其中的生物活性成分,我们对小叶米仔兰枝条进行了研究,从其乙醇提取物的乙酸乙酯萃取部分分离鉴定了6个化合物。本文报道这些化合物的分离、结构鉴定及其对金黄色葡萄球菌的抑制活性。

1 材料和方法

1.1 材料

小叶米仔兰(*Aglaia odorata* var. *microphyllina*)于2011年5月采自海南万宁兴隆农场,经中国热带农业科学院热带生物技术研究所代正福副研究员鉴定,凭证标本(20110505)现存于中国热带农业科学院热带生物技术研究所。

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) ATCC51650由海南省药品检验所提供。

1.2 仪器

柱色谱硅胶(200~300目)和薄层色谱硅胶板为青岛海洋化工厂产品, Sephadex LH-20为Merk公司产品。熔点用X-5显微熔点仪测定(温度未校正);IR用Bio-Rad FTS-135红外光谱仪测定, KBr压片;MS谱用Autospec-3000质谱仪测定;NMR用Bruker AV III-500型超导核磁共振波谱仪测定, TMS为内标;比旋光度用Autopol III旋光仪测定。

1.3 提取和分离

小叶米仔兰枝条(18.0 kg)晒干后加工成粗粉。用重蒸95%工业乙醇浸提3次,每次50 L,减压回收乙醇至无醇味。将乙醇提取物分散于水中成悬浊液,依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇各萃取3次。将乙酸乙酯萃取液减压浓缩得浸膏(163.8 g),而后进行硅胶柱层析,以氯仿-甲醇梯度洗脱得到10个部分(Fr.1~Fr.10)。Fr.3(12.4 g)再进行硅胶柱层析,以石油醚-丙酮梯度洗脱得到11个部分(Fr.3.1~Fr.3.11)。Fr.3.6(1.3 g)经Sephadex LH-20柱层析(95%乙醇洗脱)分成3个部分, Fr.3.6.3(100.0 mg)再经硅胶柱层析,以氯仿-甲醇=80:1洗脱得到5个部分, Fr.3.6.3.2(17.0 mg)经硅胶柱层析,以氯仿-乙酸乙酯=5:1洗脱,得到化合物**5**(7.4 mg)。Fr.3.9(855.7 mg)经Sephadex LH-20柱层析,以95%乙醇洗脱得到4个部分, Fr.3.9.1(72.0 mg)经两次硅胶柱层析,以石油醚-丙酮=11:2洗脱得到化合

物**3**(16.2 mg)。Fr.3.9.4(154.0 mg)经两次硅胶柱层析,以氯仿-甲醇=15:1洗脱得到化合物**1**(7.8 mg)和化合物**2**(8.0 mg)。Fr.3.11(98.0 mg)经两次硅胶柱层析,以石油醚-丙酮=3:1洗脱得到化合物**4**(28.4 mg)。Fr.5(12.0 g)析出白色粉末,经甲醇重结晶后,得到化合物**6**(5.6 g)。

1.4 抗菌活性测试方法

以金黄色葡萄球菌为指示菌,采用滤纸片法^[8]测定化合物的抗菌活性。金黄色葡萄球菌采用NA培养基。将金黄色葡萄球菌制成一定浓度的菌悬液($10^5 \sim 10^7$ cfu mL⁻¹),用棉签将其均匀涂布于供试无菌平板,制成含菌平板,选用直径为6 mm的灭菌滤纸片,将化合物配成浓度为20 mg mL⁻¹的样品溶液,并取25 μ L于滤纸片上,待溶剂挥干后放置于含菌平板上,以硫酸卡那霉素为阳性对照,37℃恒温培养。24 h后观察结果,测量并记录抑菌圈直径。

1.5 结构鉴定

4(15)-桉叶烯-1 β ,7,11-三醇 [4(15)-eudesmen-1 β ,7,11-triol, 1] 无色油状物(甲醇); $[\alpha]_D^{22} + 27.4^\circ$ (*c* 0.1, 甲醇); ESI-MS *m/z*: 277 [M + Na]⁺; ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz): δ 4.74 (1H, d, *J* = 1.2 Hz, H-15a), 4.50 (1H, d, *J* = 1.2 Hz, H-15b), 3.40 (1H, dd, *J* = 4.5, 11.7 Hz, H-1), 2.30 (1H, m, H-3a), 2.18 (1H, m, H-5), 2.15 (1H, m, H-3b), 1.76 (1H, m, H-2a), 1.73 (1H, m, H-9a), 1.61 (1H, m, H-8a), 1.58 (3H, m, H-2b, 6a, 8b), 1.55 (2H, m, H-6b, 9b), 1.21 (6H, s, H-12, 13), 0.65 (3H, s, H-14); ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz): δ 150.8 (s, C-4), 106.7 (t, C-15), 79.8 (d, C-1), 76.8 (s, C-7), 76.2 (s, C-11), 43.1 (d, C-5), 41.0 (s, C-10), 35.6 (t, C-3), 33.4 (t, C-9), 32.4 (t, C-2), 29.6 (t, C-6), 26.7 (t, C-8), 24.6 (q, C-12), 24.6 (q, C-13), 9.7 (q, C-14)。上述光谱数据和文献[9]报道基本一致。

4 α ,10 β ,11-三羟基-1,5-反-愈创木烷-6-烯(4 α ,10 β ,11-trihydroxy-1,5-trans-guai-6-ene, 2) 无色油状物(甲醇); $[\alpha]_D^{22} - 3.5^\circ$ (*c* 0.2, 甲醇); ESI-MS *m/z*: 277 [M + Na]⁺; ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz): δ 5.92 (1H, d, *J* = 2.9 Hz, H-6), 2.36 (1H, m, H-8a), 2.23 (1H, dd, *J* = 2.9, 10.0 Hz, H-5), 2.05 (1H, m, H-8b), 1.80 (1H, m, H-1), 1.77 (2H, m, H-2a, 9a), 1.62 (3H, m, H-2b, 3), 1.47 (1H, m, H-9b), 1.30 (3H, s, H-12),

1.28 (3H, s, H-13), 1.25 (3H, s, H-14), 1.18 (3H, s, H-15); ^{13}C NMR (CD_3OD , 125 MHz): δ 150.7 (s, C-7), 123.5 (d, C-6), 80.7 (s, C-4), 75.9 (s, C-10), 74.3 (s, C-11), 51.3 (d, C-1), 50.9 (d, C-5), 43.5 (t, C-9), 41.2 (t, C-3), 28.8 (q, C-12), 28.6 (q, C-13), 24.3 (t, C-8), 22.6 (t, C-2), 22.4 (q, C-15), 21.1 (q, C-14)。上述光谱数据和文献[10]报道基本一致。

6,15 α -环氧-1 β ,4 β -二羟基桉烷 (6,15 α -epoxy-1 β ,4 β -dihydroxyeudesmane, 3) 白色针状结晶(甲醇); mp 126 $^{\circ}\text{C}$ ~ 128 $^{\circ}\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{22}$ -28 $^{\circ}$ (c 0.2, 甲醇); ESI-MS m/z : 277 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; ^1H NMR (CD_3OD , 500 MHz): δ 3.84 (1H, dd, $J = 6.7, 11.6$ Hz, H-6), 3.68 (1H, d, $J = 9.1$ Hz, H-15a), 3.57 (1H, d, $J = 9.1$ Hz, H-15b), 3.33 (1H, dd, $J = 4.1, 11.0$ Hz, H-1), 1.99 (1H, m, H-2a), 1.88 (2H, m, H-9a, 11), 1.78 (1H, H-3a), 1.57 (3H, m, H-2b, 8a, 9b), 1.25 (2H, m, H-7, H-8b), 1.05 (2H, m, H-3b, 5), 1.01 (3H, s, H-14), 0.97 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-13), 0.97 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-12); ^{13}C NMR (CD_3OD , 125 MHz): δ 81.3 (d, C-6), 81.3 (t, C-15), 77.2 (d, C-1), 76.8 (s, C-4), 58.8 (d, C-5), 52.4 (d, C-7), 41.0 (t, C-3), 40.4 (s, C-10), 34.2 (t, C-9), 30.6 (d, C-11), 28.7 (t, C-2), 23.1 (t, C-8), 21.1 (q, C-13), 18.8 (q, C-12), 13.4 (q, C-14)。上述光谱数据和文献[11]和[12]报道基本一致。

2-羟基-丁二酸-1-甲酯 (2-hydroxy-butandioic acid 1-methylester, 4) 淡黄色油状物(甲醇); $[\alpha]_{\text{D}}^{22}$ -4.0 $^{\circ}$ (c 0.5, 甲醇); ESI-MS m/z : 171 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; ^1H NMR (CD_3OD , 500 MHz): δ 4.41 (1H, dd, $J = 4.7, 7.3$ Hz, H-2), 3.65 (3H, s, OMe), 2.68 (1H, dd, $J = 4.7, 16.2$ Hz, H-3a), 2.57 (1H, dd, $J = 7.3, 16.2$ Hz, H-3b); ^{13}C NMR (CD_3OD , 125 MHz): δ 175.2 (s, C-1), 173.9 (s, C-4), 68.5 (d, C-2), 52.7 (q, OMe), 39.8 (t, C-3)。上述光谱数据和文献[13]报道基本一致。

巴西红厚壳素 (jacarreubin, 5) 黄色针状结晶(甲醇); mp 256 $^{\circ}\text{C}$ ~ 257 $^{\circ}\text{C}$, ESI-MS m/z : 349 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; ^1H NMR (acetone- d_6 , 500 MHz): δ 7.62 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-8), 6.99 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-7), 6.67 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-13), 6.34 (1H, s, H-4), 5.73 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-14), 1.47 (6H, s, H-15,16); ^{13}C NMR (acetone- d_6 , 125 MHz): δ 182.3 (s, C-9), 162.1 (s, C-1), 159.7 (s, C-3), 158.9 (s, C-4a), 153.3 (s, C-6), 147.9 (s, C-10a), 134.3 (d, C-5), 129.7 (d, C-14), 118.5 (d, C-8), 116.8 (d, C-13), 115.8 (d, C-7), 114.8 (s, C-8a), 106.2 (s, C-2), 104.6 (s, C-9a), 96.5 (d, C-4), 80.0 (s, C-12), 29.5 (q, C-15), 29.5 (C-16)。上述光谱数据和文献[14]报道基本一致。

胡萝卜苷 (daucosterol, 6) 白色粉末(氯仿)

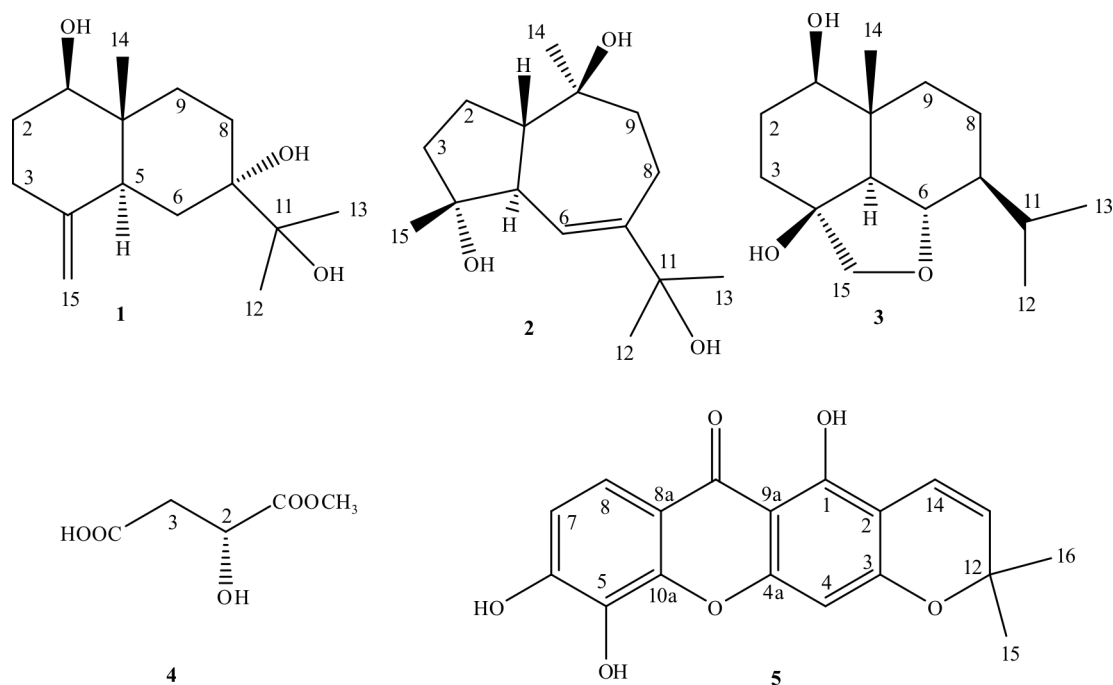


图1 化合物1~5的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1-5

甲醇), mp 292°C ~ 294°C, Liebermann-Burchard 反应阳性, Molish 反应阳性。与对照品进行 TLC 对照, 在 3 种溶剂系统下 Rf 值均一致, 且混合熔点不下降, 确定为胡萝卜苷。

2 结果和讨论

经硅胶和 Sephadex LH-20 柱层析, 从小叶米仔兰枝条乙醇提取物的乙酸乙酯萃取部分分离得到了 6 个化合物, 通过对其光谱(MS、NMR 等)数据的分析以及与文献数据对照, 分别鉴定为: 4(15)-桉叶烯-1 β ,7,11-三醇 (**1**)、4 α ,10 β ,11-三羟基-1,5-反-愈创木烷-6,7-烯 (**2**)、6,15 α -环氧-1 β ,4 β -二羟基桉烷 (**3**)、2-羟基-丁二酸-1-甲酯 (**4**)、巴西红厚壳素 (**5**) 和胡萝卜苷 (**6**), 化合物 **1** ~ **3** 为倍半萜类, 化合物 **5** 为 xanthone 类。以上化合物均为首次从该植物中分离得到, 其中化合物 **1**, **2**, **4**, **5** 为首次从米仔兰属植物中分离得到。

采用滤纸片琼脂扩散法测定了化合物 **1** ~ **5** 的抗菌活性。结果表明, 化合物 **4** 和 **5** 对金黄色葡萄球菌有抑制活性, 抑菌圈直径分别为 7.5 和 9.0 mm, 硫酸卡那霉素的为 32.5 mm; 其余化合物对金黄色葡萄球菌没有表现出抑制活性。化合物 **5** 的抑菌活性与张兴等^[15]的研究结果一致。另外, 据报道^[16], 化合物 **5** 对人肝癌细胞(SMMC-7721)和人胃癌细胞(SGC-7901)的增殖具有较强的抑制活性, 其 IC₅₀ 值分别为 5.1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 和 9.3 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 。

参考文献

- [1] Chen S K, Li H, Chen B Y. Flora Reipublicae Popularis Sinicae, Tomus 43(3) [M]. Beijing: Science Press, 1997: 69–74.
陈书坤, 李恒, 陈邦余. 中国植物志 第43卷第3分册 [M]. 北京: 科学出版社, 1997: 69–74.
- [2] Greger H, Pacher T, Brem B, et al. Insecticidal flavaglines and other compounds from Fijian *Aglaia* species [J]. Phytochemistry, 2001, 57(1): 57–64.
- [3] Chin Y W, Chae H S, Lee J, et al. Bisamides from the twigs of *Aglaia perviridis* collected in Vietnam [J]. Bull Korean Chem Soc, 2010, 31(9): 2665–2667.
- [4] Cai X H, Wang Y Y, Zhao P J, et al. Dolabellane diterpenoids from *Aglaia odorata* [J]. Phytochemistry, 2010, 71(8/9):1020–1024.
- [5] Cai X H, Luo X D, Zhou J, et al. Compound representatives of a new type of triterpenoid from *Aglaia odorata* [J]. Org Lett, 2005, 7(14): 2877–2879.
- [6] Qiu S X, Hung N, Xuan L T, et al. A pregnane steroid from *Aglaia lawii* and structure confirmation of cabraleadiol monoacetate by X-ray crystallography [J]. Phytochemistry, 2001, 56(7): 775–780.
- [7] Ebada S S, Lajkiewicz N, Porco J A, et al. Chemistry and biology of rocaglamides (= flavaglines) and related derivatives from *Aglaia* species (Meliaceae) [J]. Prog Chem Org Nat Prod, 2011, 94(1): 1–58.
- [8] Xu S Y, Bian R L, Chen X. Methods of Pharmacology Experiment [M]. Beijing: People's Sanitation Press, 2003: 1651–1653.
徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 1651–1653.
- [9] Okasaka M, Takaishi Y, Kashiwada Y, et al. Terpenoids from *Juniperus polycarpus* var. *seravschanica* [J]. Phytochemistry, 2006, 67(24): 2635–2640.
- [10] Jiang Z Y, Zhang X M, Zhou J, et al. Two new sesquiterpenes from *Alisma orientalis* [J]. Chem Pharm Bull, 2007, 55(6): 905–907.
- [11] Fang N, Yu S, J. Mabry T, et al. Terpenoids from *Ageratina saltillensis* [J]. Phytochemistry, 1988, 27(10): 3187–3196.
- [12] Inada A, Akiba T, Murata H, et al. A new eudesmane sesquiterpene from the twigs of *Aglaia grandis* [J]. Nat Med, 2002, 56(4): 147–149.
- [13] Tinto W F, Simmons B J L, Mclean S, et al. Constituents of *Agave americana* and *Agave barbadensis* [J]. Fitoterapia, 2005, 76(6): 594–597.
- [14] Westerman P W, Gunasekera S P, Uvais M, et al. Carbon-13 NMR study of naturally occurring xanthone [J]. Org Magn Reson, 1977, 9(11): 631–636.
- [15] Zhang X, Mei W L, Zeng Y B, et al. Phenolic constituents from the fruits of *Areca catechu* and their anti-bacterial activities [J]. J Trop Subtrop Bot, 2009, 17(1): 74–76.
张兴, 梅文莉, 曾艳波, 等. 槟榔果实的酚类化学成分与抗菌活性的初步研究 [J]. 热带亚热带植物学报, 2009, 17(1): 74–76.
- [16] Wu J, Wang H, Li X N, et al. Study on cytotoxic compounds of *Areca* nut (*Areca catechu*) [J]. J Henan Univ (Nat Sci), 2011, 41(5): 511–514.
吴娇, 王辉, 李小娜, 等. 槟榔果实中的细胞毒性成分研究 [J]. 河南大学学报: 自然科学版, 2011, 41(5): 511–514.