

益智仁化学成分的分离与鉴定

石绍淮¹, 张晨宁¹, 刘爱敬¹, 李欢¹, 毕开顺², 贾英^{1*}

(1. 沈阳药科大学中药学院, 沈阳 110016; 沈阳药科大学药学院, 沈阳 110016)

[摘要] 目的:对益智仁的化学成分进行研究。方法:采用硅胶、凝胶柱色谱和制备高效液相色谱等分离方法对益智仁 95% 乙醇溶液提取物进行成分分离,通过谱学分析方法结合理化性质进行结构鉴定。结果:共分离得到 9 个化合物,分别鉴定为 teuhenone A (1)、 α -羟甲基糠醛 (α -hydroxymethyl furfural, 2)、原儿茶酸 (protocatechuic acid, 3)、邻苯二甲酸二丁酯 (dibutyl phthalate, 4)、丁二酸-1-(5-甲酰基-2-呋喃)甲酯-4-正丁酯 [1-n-butyl-4-(5'-formyl-2'-furanlyl) methyl succinate, 5]、杨芽黄素 (tectochrysin, 6)、 β -谷甾醇 (β -sitosterolum, 7)、胡萝卜苷 (daucosterol, 8)、正壬烷基木糖醇 (1-O-nonyl-xylitol, 9)。结论:化合物 2, 4, 5, 9 为首次从益智仁中分离得到,化合物 9 是新的天然产物。

[关键词] 益智仁; 化学成分; 结构鉴定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0097-04

[doi] 10.11653/syfyj2013170097

Isolation and Identification of Chemical Constituents from *Alpinia oxyphylla*

SHI Shao-huai¹, ZHANG Chen-ning¹, LIU Ai-jing¹, LI Huan¹, BI Kai-shun², JIA Ying^{1*}

(1. Traditional Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China;

2. Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

[Abstract] **Objective:** To study the chemical constituents of *Alpinia oxyphylla*. **Method:** The chemical constituents of 95% ethanol extract of *A. oxyphylla* were isolated by silica gel column chromatography, sephadex LH-20 column chromatography, together with preparative liquid chromatography method, and the structures were identified by means of NMR spectral analysis and physico-chemical properties. **Result:** Nine compounds were obtained and elucidated as teuhenone A (1), α -hydroxymethyl furfural (2), protocatechuic acid (3), dibutyl phthalate (4), 1-n-butyl-4-(5'-formyl-2'-furanlyl) methyl succinate (5), tectochrysin (6), β -sitosterolum (7), daucosterol (8), 1-O-nonyl-xylitol (9). **Conclusion:** Compounds 2, 4, 5 and 9 were isolated from this plant for the first time, and compound 9 was a new natural product.

[Key words] *Alpinia oxyphylla*; chemical constituents; structural identification

益智系姜科多年生植物益智的干燥成熟果实,主产于海南,为四大南药之一。其性温,味辛,归脾、肾经,具有暖肾固精、缩小便、温脾止泻、摄唾涎等作用,用于肾气不足、不能固摄所致之腹痛吐泻、食少

多唾等^[1]。现代药理研究表明,益智仁有强心、抗癌、抗衰老、镇静、镇痛和益智健脑等多种药理作用^[2-5]。为了更好地开发和利用益智仁,加深系统性化学成分研究,作者对益智仁的化学成分进行了初步研究,采用多种色谱分离方法,从其 95% 乙醇提取物中共分离得到 9 个化合物,经理化常数测定,谱学数据分析,对其结构进行了鉴定。其中化合物 2, 4, 5, 9 为从该植物中首次分离得到。

1 材料

Bruker ARX-300, AV-600 型核磁共振仪 (TMS 为内标, 瑞士 Bruker 公司), Shimadzu LC-8A 型制备型高效液相色谱仪 (日本 Shimadzu 公司)。

[收稿日期] 20130308(011)

[基金项目] 辽宁省科学技术计划项目(2011412004-1); 辽宁省教育厅创新团队项目(2009T097)

[第一作者] 石绍淮, 硕士, 从事中药质量控制研究, E-mail: sjimmy890521@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 贾英, 副教授, 硕士生导师, 从事中药药效物质基础与质量控制研究, Tel: 024-23986933, E-mail: jiayingsyphu@yahoo.com.cn

薄层色谱用硅胶 GF254 和柱色谱用硅胶 200 ~ 300 目(青岛海洋化工有限公司),其他试剂均为分析纯(市售)。

益智仁为 2012 年 3 月购于同仁堂,经沈阳药科大学贾英副教授鉴定为益智仁 *Alpinia oxyphylla* Miq.。

2 提取与分离

益智仁药材 9 kg,用体积分数为 95% 的乙醇加热回流提取 3 次,每次 2 h,合并提取液,回收溶剂,干燥得到浸膏 1 100 g。加适量水使其溶解,依次用石油醚、氯仿、乙酸乙酯和正丁醇各萃取 3 次,萃取液减压浓缩,得 4 个组分。其中石油醚萃取物 205 g,氯仿萃取物 450 g,乙酸乙酯萃取物 131 g 及正丁醇萃取物 103 g。取氯仿层浸膏 200 g,经硅胶柱色谱分离,用石油醚-乙酸乙酯(100:0 ~ 1:1)梯度洗脱,得到 9 个组分(Fr. 1 ~ Fr. 9)。Fr. 1 经硅胶柱色谱分离、石油醚-丙酮(50:1)洗脱,Sephadex LH-20 柱色谱分离、石油醚-二氯甲烷-甲醇(2:1:1)洗脱,制备液相色谱分离、甲醇-水(95:5)分离得到化合物 1(15 mg);Fr. 4 经硅胶柱色谱分离、石油醚-丙酮(50:1)洗脱,Sephadex LH-20 柱色谱分离、石油醚-二氯甲烷-甲醇(2:1:1)洗脱,制备液相色谱分离、甲醇-水(95:5)分离得到化合物 9(31 mg);Fr. 4 经反复硅胶柱色谱分离,Sephadex LH-20 柱色谱分离、二氯甲烷-甲醇(1:1)洗脱,得到化合物 6(19 mg);Fr. 6 经反复硅胶柱色谱分离得到化合物 5(8 mg);Fr. 8 经反复重结晶得化合物 7(35 mg);Fr. 9 经 Sephadex LH-20 柱色谱分离和反复重结晶得化合物 8(26 mg)。取正丁醇层浸膏 103 g,经硅胶柱色谱分离,用二氯甲烷-甲醇(50:1 ~ 1:1)梯度洗脱,得到 8 个组分(Fr. 1 ~ Fr. 8)。Fr. 1 经硅胶柱色谱分离、二氯甲烷-甲醇(30:1)洗脱,制备液相色谱分离、甲醇-水(50:50)分离得到化合物 2(23 mg);Fr. 3 经 Sephadex LH-20 柱色谱分离、二氯甲烷-甲醇(1:1)洗脱得到化合物 3(37 mg);Fr. 5 经硅胶柱色谱分离、二氯甲烷-甲醇(25:1)洗脱,制备液相色谱分离、甲醇-水(40:60)分离得到化合物 4(25 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1 无色油状(CH_2Cl_2),在 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz)谱中, δ 1.31, 1.43 (each 3H, s)为两组甲基质子信号; δ 6.35 (1H, s, H-6)为 1 个烯碳质子信号; $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz)谱共给出 12 个碳信号 δ : 40.6 (C-1), 19.4 (C-2), 40.7 (C-3), 72.3 (C-4), 174.9 (C-5), 122.5 (C-6),

200.3 (C-7), 42.2 (C-8), 33.9 (C-9), 36.1 (C-10), 24.5 (C-11), 29.6 (C-12) 以上数据与文献[7-8]中 teuhetenone A 波谱学数据相一致,故鉴定化合物 1 为 teuhetenone A。

化合物 2 黄色油状物(CH_2Cl_2), EI-MS m/z : 165 [$\text{M} + \text{K}$] $^+$, 109 [$\text{M}-\text{H}_2\text{O} + \text{H}$] $^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz)谱中, δ 9.58 (1H, s)为醛基上质子信号, δ 7.23 (1H, d, $J = 3.5$ Hz), 6.51 (1H, d, $J = 3.5$ Hz)为两个烯氢信号, 4.69 (2H, s)为一组连氧亚甲基质子信号。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz)谱共给出 6 个碳信号 δ : 152.2 (C-2), 122.9 (C-3), 109.6 (C-4), 161.3 (C-5), 177.5 (-CHO), 57.4 ($\text{CH}_2\text{-OH}$) 以上数据与文献[9]中 α -羟甲基糠醛波谱学数据相一致,故鉴定化合物 2 为 α -羟甲基糠醛(α -hydroxymethyl furfural),为首次从该植物中分离得到。

化合物 3 黄色针状结晶(MeOH), ESI-MS m/z : 153 [$\text{M}-\text{H}$] $^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz)谱中 δ : 7.33 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 7.30 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, H-6), 6.69 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5)为苯环上一组 ABX 偶合系统质子信号。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 75 MHz)谱共给出 7 个碳信号,其中 δ : 124.0 (C-1), 117.8 (C-2), 146.2 (C-3), 151.6 (C-4), 115.8 (C-5), 124.0 (C-6), 171.2 (COOH)。以上数据与文献[10]中原儿茶酸波谱学数据相一致,故鉴定化合物 3 为原儿茶酸(proto catechuic acid)。

化合物 4 黄色油状物(CH_2Cl_2), ESI-MS m/z : 279 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz)谱中, δ 0.98 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, 4'- CH_3)为一组甲基质子信号, δ 1.44 (2H, m); δ 1.73 (2H, tt, $J = 6.6, 8.3$ Hz, 2'- CH_2), δ 4.32 (2H, t, $J = 6.6$ Hz, 1- CH_2)为 3 组亚甲基质子信号, δ 7.53 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-4), δ 7.72 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz)谱共给出 8 个碳信号,其中 δ 13.7 (C-4'), 19.2 (C-3'), 30.6 (C-2'), 65.5 (C-1'), 128.8 (C-3), 130.9 (C-4), 132.2 (C-2), 167.7 (C-1) 以上数据与文献[11]中邻苯二甲酸二丁酯波谱学数据相一致,故鉴定化合物 4 为邻苯二甲酸二丁酯(dibutyl phthalate),为首次从该植物中分离得到。

化合物 5 黄色油状物(CH_2Cl_2), ESI-MS m/z : 305 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz)谱中, δ 9.60 (1H, s, H'-6)为 1 个醛基质子信号,

δ 7.22, 6.51 (each 1H, d, $J = 3.3$ Hz, H-3' and H-4') 为 2 个芳香质子信号; δ 4.72 (2H, s, H-7'), δ 4.08 (2H, t, $J = 7.0$ Hz, H-1'') 为两组连氧亚甲基质子信号, δ 0.93 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, H-4'') 为 1 组甲基质子信号; δ 1.62, 1.37 (each 2H, H-2'' and H-3''), δ 2.65, 2.62 (each 2H, m, H-3 and H-2) 为 4 组亚甲基质子信号。¹³C-NMR (CDCl₃, 75 MHz) 谱共给出 14 个碳信号, 其中 δ 177.6 (C-4)、172.3 (C-1) 为 2 个羰基碳信号; δ 160.4 (C-2'), 152.5 (C-5') 为 1 组呋喃环碳信号; δ 177.5 (C-6') 为 1 个醛基碳信号; 其余碳谱数据归属如下: δ 110.0 (C-3'), 121.5 (C-4'), 57.7 (C-7'), 13.6 (C-4''), 30.6 (C-2''), 19.1 (C-3''), 64.8 (C-1''), 29.7 (C-2), 29.0 (C-3)。以上数据与文献[12]中丁二酸-1-(5-甲酰基-2-呋喃)甲酯-4-正丁酯波谱学数据相一致, 故鉴定化合物 **5** 为丁二酸-1-(5-甲酰基-2-呋喃)甲酯-4-正丁酯 (1-n-butyl-4-(5'-formyl-2'-furanlyl) methyl succinate), 为首次从该植物中分离得到。

化合物 **6** 黄色针状结晶 (MeOH), 易溶于氯仿、丙酮; 盐酸-镁粉反应阳性; Molish 反应阴性。在 ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) 谱中, δ 3.89 (3H, s) 为一组甲氧基质子信号, δ 6.39 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6), δ 6.52 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 为 A 环上间位耦合的 2 个质子信号。 δ 6.68 (1H, s) 为 C 环上质子信号。 δ 7.7 (5H, m) 为芳香质子信号, 12.73 (1H, s) 为一个活泼质子信号。¹³C-NMR (CDCl₃, 75 MHz) 谱共给出 14 个碳信号, 其中 δ 182.5 (C-4) 为羰基碳信号; 其余碳谱数据归属如下: δ 55.8 (-OCH₃), 164.0 (C-2), 105.9 (C-3), 162.3 (C-5), 98.2 (C-6), 165.6 (C-7), 92.7 (C-8), 157.8 (C-9), 105.9 (C-10), 131.3 (C-1'), 126.3 (C-2', 6'), 129.1 (C-3', 5'), 131.8 (C-4')。以上数据与文献[13]中杨芽黄素波谱学数据相一致, 故鉴定为化合物 **6** 为杨芽黄素 (tectochrysin)。

化合物 **7** 白色针状结晶 (丙酮), mp 136 ~ 137 °C。Liebermann-Burchard 反应阳性; Molish 反应呈阴性。与 β -谷甾醇对照品共薄层检测, 经 3 种不同的溶剂系统展开, 其薄层行为完全一致, 故鉴定化合物 **7** 为 β -谷甾醇 (β -sitosterolum)。

化合物 **8** 白色粉末 (MeOH), mp 296 ~ 298 °C。TLC 检识, 10% 硫酸-乙醇溶液显紫红色, Liebermann-Burchard 反应呈阳性, 与胡萝卜苷对照品共薄层, 经 3 种不同的溶剂系统展开, 其薄层行为完全一致, 故鉴定化合物 **8** 为胡萝卜苷

(daucosterol)。

化合物 **9** 棕色油状物 (CH₂Cl₂), ESI-MS m/z : 279 [M + H]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) 和 HMQC 中, δ 3.60 (2H, m, H-1), δ 3.53 (1H, m, H-2), δ 3.53 (1H, m, H-3), δ 3.38 (1H, m, H-4), δ 3.6 (2H, brs, H-5) 为木糖醇 C 上的氢信号; δ 0.87 (3H, t, $J = 6.3$ Hz) 为 C-9' 的氢信号; 积分为 16 个氢的信号是 8 个亚甲基上的氢信号。¹³C-NMR (CDCl₃, 75 MHz) 谱共给出 14 个碳信号: δ 70.7 (C-1'), 32.0 (C-2'), 29.7 (C-3'), 29.6 (C-4'), 29.6 (C-5'), 29.5 (C-6'), 26.2 (C-7'), 22.8 (C-8'), 14.2 (C-9'), 70.1 (C-1), 70.4 (C-2), 72.8 (C-3), 71.7 (C-4), 61.8 (C-5)。以上数据与文献[14]中正壬烷基木糖醇波谱学数据相一致, 故鉴定化合物 **9** 为正壬烷基木糖醇 (1-O-nonyl-xylitol), 是新的天然产物, 为首次从该植物中分离得到。

[参考文献]

- [1] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志. 第 6 卷. 第 2 分册 [M]. 北京: 科学出版社, 1981: 67.
- [2] 江黎明, 李志明, 韩宝铭. 神经生长因子受体活性中草药及其成分的筛选 [J]. 中草药, 1994, 25(2): 79.
- [3] Lee E, Park K K, Lee J M, et al. Suppression of mouse skin tumor promotion and induction of apoptosis in HL-60 cells by *Alpinia oxyphylla* Miquel (Zingiberaceae) [J]. Carcinogenesis, 1998, 19(8): 1377.
- [4] Shin T Y, Won J H, Kim H M, et al. Effect of *Alpinia oxyphylla* fruit extract on compound 48/80-induced anaphylactic reactions [J]. Am J Chin Med, 2001, 29(2): 293.
- [5] 钟恒亮, 王荔萍, 陈力. 益智仁口服液镇静催眠作用实验研究 [J]. 贵阳医学院学报, 2002, 27(2): 132.
- [6] 吴德玲, 金传山, 寇婉青, 等. 益智不同药用部位成分的比较研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(4): 1.
- [7] Junju Xu, Changjiu Ji, Yumei Zhang, et al. Inhibitory activity of eudesmane sesquiterpenes from *Alpinia oxyphylla* on production of nitric oxide [J]. Bio Med Chem Let, 2012, 22: 1660.
- [8] Braulio M Fraga, Melchor G Hernandez, Teresa Mestres, et al. Nor-sesquiterpenes from *teucrium heterophyllum* [J]. Phytochemistry, 1995, 39(3): 617.
- [9] 冯小路, 辛海量, 张磊, 等. 野西瓜化学成分的研究 [J]. 中草药, 2009, 40 (S1): 106.

鹰爪花挥发油 GC-MS 分析及抗肿瘤活性研究

王燕, 陈文豪, 陈光英*, 宋小平, 张大帅, 平媛媛

(海南师范大学省部共建-热带药用植物化学教育部重点实验室, 海口 571158)

[摘要] **目的:**分析鹰爪花新鲜叶挥发性成分,进行抗肿瘤活性测试,为进一步研究开发鹰爪花提供实验依据。**方法:**采用水蒸气蒸馏法制备鹰爪花叶挥发油,并结合 GC-MS 分析化学成分;用 MTT 比色法分别研究鹰爪花叶挥发油抗肿瘤活性。**结果:**水蒸气蒸馏法提取鹰爪花新鲜叶挥发油收率为 1.35%,得到 68 个化合物,鉴定出 53 个;鹰爪花叶挥发油浓度较高时对肝癌细胞(BEL-7402)具有较好抑制活性,IC₅₀ 12.07 mg·L⁻¹,对白血病细胞(K-562)、胃癌细胞(SGC-7901)、肺癌细胞(SPCA-1)的增殖抑制具有中等强度的抑制活性。**结论:**从鹰爪花叶中提取挥发油并鉴定化学成分主要为烯类、醇类、萜类、醛类和酯类化合物。

[关键词] 鹰爪花;挥发油;化学成分;活性研究

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0100-04

[doi] 10.11653/syjf2013170100

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20130625.0944.002.html>

[网络出版时间] 2013-06-25 9:44

GC-MS Analysis and Bioactivity of Essential Oil from *Artabotrys hexapetalus*

WANG Yan, CHEN Wen-hao, CHEN Guang-ying*, SONG Xiao-ping, ZHANG Da-shuai, PING Yuan-yuan
(Key Laboratory of Tropical Medicinal Plant Chemistry of Ministry of Education,
Hainan Normal University, Haikou 571158, China)

[Abstract] **Objective:** To study the chemical constituents and bioactivity of essential oil from *Artabotrys hexapetalus*. **Method:** The essential oil was extracted by hydrodistillation and separated by capillary GC. The chemical constituents were determined by normalization and were identified by MS. **Result:** Sixty-eight chromatographic peaks were detected and 53 compounds were identified, which were 89.32% of the total essential oil. The essential oil from *A. hexapetalus* showed inhibitory activity against staphylococcus aureus rosenbach, escherichia coli, bacillus subtilis and exhibited higher activity to restrain liver cancer cells (BEL-7402), with IC₅₀ values of 12.07 mg·L⁻¹. **Conclusion:** Volatile oil has been extracted from *A. hexapetalus*. and the

[收稿日期] 20121227(031)

[基金项目] 国际科技合作项目(S2013ZR0211)

[第一作者] 王燕, 硕士, 助教, 从事天然药物化学研究, Tel:13647570915, E-mail:yanw0123@163.com

[通讯作者] * 陈光英, 教授, 博士, 从事天然药物化学研究, Tel:0898-65889422, E-mail:chgying123@163.com

- [10] 陈旭冰, 刘晓宇, 陈光勇, 等. 大果大戟的二萜成分 [J]. 安徽农业科学, 2001, 39 (23):4025.
- [11] 兰鸣生, 罗超, 谭昌恒, 等. 山风乙酸乙酯部位的化学成分研究 [J]. 中药材, 2012, 35 (2):229.
- [12] Ikhlas A Khan, James W Rushing, Ilias Muhammad. New constituents from Noni (*Morinda citrifolia*) fruit juice [J]. J Agr Food Chemistry, 2006, 54:6398.
- [13] 罗秀珍, 冯锦东. 中药益智化学成分的研究 [J]. 药学学报, 2000, 35 (3):204.
- [14] Van Roekeghem P, Savelli-Boukhaled M P, Douillet O et al. Physicochemical properties of a novel series of amphiphilic sugar-based molecules: 1-O-n-alkyl-D, L-xylitol [J]. S T P Pharma Sciences, 1997, 7(5):354.

[责任编辑 邹晓翠]