

川黄柏的化学成分研究

廉莲^{1*}, 咸晓燕², 楚冬海¹, 贾伟利², 高慧媛²

(1. 辽宁科技学院生物医药与化学工程学院, 辽宁 本溪 117004;
2. 沈阳药科大学中药学院, 沈阳 110016)

[摘要] 目的:对中药材川黄柏的化学成分进行研究。方法:采用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20、ODS 柱色谱、制备型 HPLC 及重结晶等方法进行分离纯化,通过理化常数测定、光谱数据进行结构鉴定。结果:从川黄柏的 75% 乙醇提取物中分离得到了 11 个化合物,分别鉴定为:小檗碱(berberine, **1**)、黄柏内酯(obaculactone, **2**)、石虎柠檬素 A (shihulimonin A, **3**)、*N-p*-coumaroyltyramine (**4**)、1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-[4-(3-hydroxy-propyl)-2-methoxyphenoxy]-propane-1,3-diol (**5**)、黄柏碱(phellodendrine, **6**)、木兰花碱(magnoflorine, **7**)、巴马汀(palmatine, **8**)、药根碱(jatrorrhizine, **9**)、非洲防己碱(columbamine, **10**)、黄柏酮(obacunone, **11**)。结论:化合物 **3**、**5** 为从黄檗属植物中首次分离得到,化合物 **4** 为从该种植物中首次分离得到。

[关键词] 川黄柏; 化学成分; 结构鉴定; 首次分离

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)19-0149-04

[doi] 10.11653/syfyj2013190149

Study on Chemical Constituents from *Phellodendron chinense*

LIAN Lian^{1*}, XIAN Xiao-yan², CHU Dong-hai¹, JIA Wei-li², GAO Hui-yuan²

(1. Biological Pharmaceutical and Chemical Engineering School, Liaoning Institute of Science and Technology, Benxi 117004, China;

2. School of Traditional Chinese Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

[Abstract] **Objective:** To isolate and identify chemical constituents from *Phellodendron chinense*. **Method:** Compounds were isolated by silica gel and Sephadex LH-20 column chromatography, and their structures were determined by means of the spectral analysis and physicochemical properties. **Result:** Eleven compounds were isolated and identified as berberine (**1**), obaculactone (**2**), shihulimoninA (**3**), *N-p*-coumaroyltyramine (**4**), 1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-[4-(3-hydroxy-propyl)-2-methoxyphenoxy]-propane-1,3-diol (**5**), phellodendrine (**6**), magnoflorine (**7**), palmatine (**8**), jatrorrhizine (**9**), columbamine (**10**), obacunone (**11**). **Conclusion:** Compounds **3** and **5** were isolated from *P.* genus for the first time, and compound **4** was isolated from this plant for the first time.

[Key words] *Phellodendron chinense*; chemical constituents; structural identification; isolated for the first time

川黄柏为芸香科黄檗属植物黄皮树的干燥树皮^[1],为历史最早的黄柏地道药材,具有清热燥湿、

泻火解毒、退虚热的功效。对于川黄柏的研究已有很多,其化学成分主要有生物碱类、黄酮类、酚酸类、少量的柠檬苦素类化合物^[2]。为进一步明确该药材中所含的化学成分,本文采用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20、ODS 柱色谱、制备型 HPLC 及重结晶等分离纯化方法,从其 75% 乙醇提取物中分离得到了 11 个化合物,通过理化常数测定、光谱数据分析鉴定了它们的结构。其中柠檬苦素类化合物 **3** 和酚酸类化合物 **5** 为从黄檗属植物中首次分离得到,酰胺类化合物 **4** 为从该种植物中首次分离得到。

[收稿日期] 20130121(008)

[基金项目] 辽宁省博士科研启动基金项目(20101049);辽宁省高等学校杰出青年学者成长计划项目(LJQ2011129)

[通讯作者] * 廉莲, 博士, 副教授, 从事中药活性成分及中药炮制原理研究, Tel:0414-5861231, E-mail lotus0216@126.com

1 仪器与试药

1.1 仪器 Bruker ARX-300 型、AV-600 型核磁共振仪(TMS 内标, 瑞士 Bruker 公司)、XT4-100 型显微熔点测定仪(天津天光光学仪器有限公司)(温度计未校正)、Jasco P-1010 型旋光分析仪(美国艾尔特公司)、Bruker micro-TOFQ 型质谱仪(瑞士 Bruker 公司)。柱色谱硅胶(200~300 目, 青岛海洋化工有限公司), 薄层色谱硅胶 GF₂₅₄(10~40 μm, 青岛海洋化工有限公司), Sephadex LH-20 (Pharmacia Biotech, USA)。

1.2 药材与试剂 氘代试剂(中国科学院武汉波谱公司), 其他所用溶剂均为分析纯, 购于沈阳禹王公司。川黄柏药材由四川省大邑中药材有限公司提供, 由辽宁中医药大学炮制与研究室贾天柱教授鉴定为芸香科植物黄檗 *Phellodendron chinense* Schneid 剥去栓皮的树皮, 样品标本保存于本教研室。

2 提取与分离

取川黄柏药材 10 kg, 粉碎成粗粉。用 8 倍量体积分数 75% 的乙醇加热回流提取 3 次, 每次 1.5 h。滤过, 合并滤液, 减压回收乙醇, 得浸膏约 1.2 kg, 用蒸馏水将浸膏分散, 再依次用等体积的乙酸乙酯、正丁醇萃取 3 次, 萃取液减压浓缩, 得到乙酸乙酯萃取

组分(65 g)、正丁醇萃取组分(580 g)、水溶物(560 g)。乙酸乙酯部分 65 g 用硅胶进行柱色谱(CH₂Cl₂-CH₃OH 50:1, 10:1 梯度洗脱), 分别得 Fr. 1, Fr. 2。Fr. 1 再用硅胶进行柱色谱(D-M 100:1~30:1 梯度洗脱), 得到的馏分再分别进行硅胶柱色谱、凝胶色谱、制备 HPLC, 分别得化合物 **2**(1.5 g)、**11**(8 mg)、**5**(3 mg)。Fr. 2 进行硅胶柱色谱, 得化合物 **3**(5 mg)、**4**(3 mg)。正丁醇部分 580 g 用 ODS 进行柱色谱(甲醇-水 5%, 10%, 15%, 20% 洗脱), 15% 的洗脱液再反复用 PTLC, 分别得化合物 **1**(20 mg)、**8**(4 mg)、**9**(8 mg)、**10**(2 mg)、**6**(10 mg)、**7**(15 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1** 黄色针晶(甲醇), mp 145 °C, 碘化铋钾反应阳性。¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.79 (1H, s, H-1), 7.08 (1H, s, H-4), 3.20 (2H, m, H-5), 4.94 (2H, m, H-6), 9.90 (1H, s, H-8), 8.00 (1H, d, *J* = 9.1 Hz, H-11), 8.20 (1H, d, *J* = 9.1 Hz, H-12), 8.95 (1H, s, H-13), 6.17 (2H, s, O-CH₂-), 4.09 (3H, s, 9-OCH₃), 4.06 (3H, s, 10-OCH₃)。其¹³C-NMR 归属数据见表 1, 与文献报道的小檗碱^[4-6]数据相一致, 鉴定其为小檗碱(berberine)。

表 1 化合物 1, 8, 9, 10 的¹³C-NMR 数据

No.	1 ^a	8 ^b	9 ^b	10 ^b	No.	1 ^a	8 ^b	9 ^b	10 ^b
1	112.4	112.4	116.1	113.4	11	124.6	124.6	124.5	124.6
2	151.1	151.1	149.9	148.5	12	128.3	128.3	128.3	128.3
3	154.0	154.0	152.1	152.0	12a	123.5	123.5	123.4	121.8
4	110.2	110.2	110.2	110.4	13	121.5	121.5	121.5	121.5
4a	130.3	130.3	130.5	128.7	13a	140.0	140.0	140.0	137.4
5	28.0	28.0	27.8	28.0	13b	120.7	120.7	119.6	118.0
6	57.2	57.2	57.8	57.9	2-R ₁	102.8	56.8	57.1	56.8
7	-	-	-	-	3-R ₂	-	57.5	-	-
8	146.5	146.5	146.3	146.4	9-R ₃	57.8	57.8	62.7	-
8a	135.5	135.5	135.6	135.5	10-R ₄	62.7	62.7	57.6	57.7
9	152.1	152.1	151.9	152.0	11-R ₅	-	-	-	62.7
10	145.9	145.9	145.9	144.3					

注: a 表示测试溶剂为 DMSO-*d*₆; b 表示测试溶剂为 CD₃OD。

化合物 **2** 无色棱片状结晶(氯仿), mp 297 °C, [α]_D(20): -127.7° (c = 0.2, CHCl₃)。¹H-NMR(CDCl₃, 300 MHz) δ: 4.04 (1H, s, H-1), 2.85 (1H, m, H-2), 2.23 (1H, d, *J* = 15.8, 3.2 Hz, H-5), 2.68 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-9), 1.79 (2H, m, H-11), 1.79 (2H, m, H-12), 4.04 (1H, s, H-15), 5.47 (1H, s, H-17), 1.18 (3H, s, H-18), 4.76 (1H, d,

J = 13.1 Hz, H-19), 4.46 (1H, d, *J* = 13.1 Hz, H-19), 6.34 (1H, d, *J* = 1.0 Hz, H-20), 7.41 (1H, d, *J* = 1.0 Hz, H-21), 7.40 (1H, t, *J* = 1.0 Hz, H-23), 1.29 (3H, s, H-28), 1.18 (3H, s, H-29), 1.07 (3H, s, H-30)。将其¹H-NMR, ¹³C-NMR 波谱数据与文献报道的黄柏内酯^[7-8]相比较(¹³C-NMR 谱数据见表 2), 鉴定其为黄柏内酯(obaculactone)。

表2 化合物2,3,11的¹³C-NMR数据

No.	2 ^c	3 ^a	11 ^c	No.	2 ^c	3 ^a	11 ^c
1	79.4	78.5	156.9	14	66.9	66.9	65.3
2	35.9	36.4	123.2	15	53.8	53.8	53.5
3	169.3	171.0	166.8	16	166.8	166.9	167.1
4	80.5	79.1	84.1	17	78.0	78.5	78.2
5	60.8	58.9	57.6	18	20.9	20.5	17.2
6	36.9	36.9	40.1	19	65.6	65.6	32.2
7	206.3	208.6	207.6	20	120.2	164.6	120.3
8	51.5	51.4	53.2	21	141.3	98.9	141.2
9	47.1	47.1	49.4	22	109.9	122.8	110.0
10	46.2	46.0	43.4	23	143.4	169.8	143.4
11	19.1	18.4	33.0	28	30.4	30.4	27.0
12	30.4	29.4	19.7	29	21.6	22.2	21.3
13	38.6	38.6	37.7	30	17.8	17.2	16.6

注:a表示测试溶剂为DMSO-*d*₆;c表示测试溶剂为CDCl₃。

化合物3 无色针状结晶(甲醇),mp 285 °C。¹H-NMR(300 MHz, DMSO-*d*₆)δ:4.12(1H, d, *J*=2.4 Hz, H-1), 2.81(2H, d, *J*=16.1 Hz, H-2), 2.28(1H, d, *J*=14.6 Hz, H-5), 3.15(1H, t, *J*=15.1 Hz, H₁-6), 2.51(1H, t, *J*=15.1 Hz, H₂-6), 2.79(1H, br. s, H-9), 1.77(2H, m, H-11), 1.72(2H, m, H-12), 4.06(1H, s, H-15), 5.17(1H, s, H-17), 1.10(3H, s, H-18), 4.95(1H, d, *J*=13.0 Hz, H₁-19), 4.46(1H, d, *J*=13.1 Hz, H₂-19), 6.07(1H, d, *J*=7.9 Hz, H-21), 6.28(1H, s, H-22), 1.20(3H, s, H-28), 1.03(3H, s, H-29), 0.98(3H, s, H-30)。将其¹H-NMR和¹³C-NMR波谱数据与文献报道的石虎柠檬素A^[9]数据相比较(¹³C-NMR归属数据见表2),鉴定其为柠檬苦素类化合物石虎柠檬素A(shihulimonin A),为从黄檗属植物中首次分离得到。

化合物4 白色无定形粉末(甲醇),mp 256 °C。¹H-NMR(300 MHz, CD₃OD)δ:7.39(2H, d, *J*=8.7 Hz, H-2, H-6), 6.79(2H, d, *J*=8.6 Hz, H-3, H-5), 6.38(1H, d, *J*=15.7 Hz, H-7), 7.44(1H, d, *J*=15.7 Hz, H-8), 7.05(2H, d, *J*=8.5 Hz, H-2', H-6'), 6.72(2H, d, *J*=8.5 Hz, H-3', H-5'), 2.75(2H, t, *J*=7.4 Hz, H-7'), 3.46(2H, t, *J*=7.4 Hz, H-8')。¹³C-NMR(75 MHz, CD₃OD)δ:168.1(C-9), 159.4(C-4), 155.8(C-4'), 140.7(C-7), 130.2(C-1'), 129.6(C-2, C-6), 129.4(C-2', C-6'), 126.6(C-1), 117.3(C-8), 115.6(C-3, C-5), 115.1(C-3', C-5'), 41.4(C-8'), 34.7(C-7')。将其¹H-NMR和¹³C-NMR波谱数据与文献报道的*N-p*-coumaroyltyramine^[10]数据相比较,鉴定其为酰胺类化合物*N-p*-

coumaroyltyramine,为本种植物首次分离得到。

化合物5 白色无定形粉末(甲醇),三氯化铁反应阳性。¹H-NMR(300 MHz, CD₃OD)δ:7.02(1H, d, *J*=0.7 Hz, H-2, 6.75(1H, d, *J*=8.2 Hz, H-5), 6.85(1H, br. s, H-6), 4.20(1H, m, H-8), 3.45(1H, dd, *J*=11.9, 5.2 Hz, H-9a), 3.71(1H, dd, *J*=11.9, 5.2 Hz, H-9b), 6.87(1H, d, *J*=1.2 Hz, H-2'), 6.97(1H, d, *J*=8.2 Hz, H-5'), 6.71(1H, dd, *J*=8.1, 1.8 Hz, H-6'), 2.62(2H, m, H-7'), 1.81(1H, m, H-8'), 3.56(2H, t, *J*=6.5 Hz, H-9'), 3.82(3H, s, 3'-OCH₃), 3.85(3H, s, 3-OCH₃)。¹³C-NMR(300 MHz, CD₃OD)δ:151.9(C-3'), 149.0(C-3), 147.7(C-4), 147.3(C-4'), 138.4(C-1'), 133.9(C-1), 122.2(C-6'), 120.9(C-6), 119.8(C-5'), 116.0(C-5), 114.1(C-2'), 111.9(C-2), 87.9(C-8), 74.3(C-7), 62.3(C-9'), 62.0(C-9), 56.7(3-OCH₃), 56.5(3'-OCH₃), 35.7(C-8'), 32.9(C-7')。将其¹H,¹³C-NMR数据与报道文献[11]的数据相比较,鉴定其为酚酸类化合物1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-[4-(3-hydroxypropyl)-2-methoxyphenoxy]-propane-1,3-diol,为从黄檗属植物中首次分离得到。

化合物6 橙红色针晶(甲醇),mp 210~212 °C,碘化铋钾反应阳性。¹H-NMR(300 MHz, CD₃OD)δ:3.02(1H, m, H₁-5), 3.18(1H, m, H₂-5), 3.38(1H, m, H₁-6), 3.45(1H, m, H₂-6), 4.67(2H, m, H-8), 3.82(2H, m, H-13), 3.30(3H, s, N-CH₃), 6.62~6.83(4H)。¹³C-NMR(300 MHz, CD₃OD)δ:150.1(C-10), 149.2(C-3), 148.8(C-2), 147.6(C-11), 125.7(C-8a), 123.4(C-12a), 120.2(C-4a), 117.8(C-13b), 115.8(C-12), 114.5(C-4), 113.3(C-9), 110.6(C-1), 67.4(C-13a), 65.1(C-8), 56.7(2×OCH₃), 53.4(C-6), 50.7(N-CH₃), 35.2(C-13), 24.3(C-5)。其¹H,¹³C-NMR波谱数据与文献报道的黄柏碱^[9]数据相一致,鉴定其为黄柏碱(phellodendrine)。

化合物7 棕黄色粉末(甲醇),mp 208 °C,碘化铋钾反应阳性。¹H-NMR(300 MHz, CD₃OD)δ:6.36(1H, s, H-3), 3.02(1H, m, H-4_a), 2.43(1H, d, *J*=12.9 Hz, H-4_b), 3.31(1H, m, H-5_a), 3.31(1H, m, H-5_b), 3.61(1H, br. t, H-6), 2.25(1H, t, *J*=12.9 Hz, H-7_{ax}), 2.82(1H, br. d, H-7_{eq}), 6.36(1H, d, *J*=7.9 Hz, H-8), 6.59(1H, d, *J*=7.9 Hz, H-9), 3.68(3H, s, C₂-OCH₃),

3.77 (3H, s, C₁₀-OCH₃), 2.66 (3H, s, N-CH₃), 3.14 (3H, s, N-CH₃)。¹³C-NMR (75 MHz, CD₃OD) δ: 153.1 (C-2), 151.8 (C-10), 150.8 (C-1), 149.8 (C-11), 126.2 (C-7a), 123.6 (C-11a), 123.5 (C-11b), 121.2 (C-11c), 117.2 (C-8), 116.0 (C-3a), 110.8 (C-9), 109.6 (C-3), 71.1 (C-6), 62.4 (C-5), 56.5 (C₁₀-OCH₃), 56.1 (C₂-OCH₃), 54.0 (N-CH₃), 43.7 (N-CH₃), 31.7 (C-7), 24.8 (C-4)。其波谱数据与文献报道的木兰花碱^[13]数据相一致, 鉴定其为木兰花碱(magnoflorine)。

化合物 8 橙色针状结晶(甲醇), mp 235 °C, 碘化铯钾反应阳性。¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ: 7.67 (1H, s, H-1), 7.06 (1H, s, H-4), 3.34 (2H, t, J = 6.0 Hz, H-5), 4.94 (2H, t, J = 6.0 Hz, H-6), 9.76 (1H, s, H-8), 8.12 (1H, d, J = 9.1 Hz, H-11), 8.02 (1H, d, J = 9.2 Hz, H-12), 8.81 (1H, s, H-13), 4.00 (3H, s, C₂-OCH₃), 3.95 (3H, s, C₃-OCH₃), 4.21 (3H, s, C₉-OCH₃), 4.11 (3H, s, C₁₀-OCH₃)。其¹³C-NMR 数据见表 1, 将其与文献报道的巴马汀^[8,13]数据比较, 鉴定其为巴马汀(palmatine)。

化合物 9 红黄色针状结晶(甲醇), mp 185 °C, 碘化铯钾反应阳性。¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ: 7.66 (1H, s, H-1), 6.87 (1H, s, H-4), 3.21 (2H, m, H-5), 4.94 (2H, m, H-6), 9.73 (1H, s, H-8), 8.11 (1H, d, J = 9.1 Hz, H-11), 8.00 (1H, d, J = 9.1 Hz, H-12), 8.77 (1H, s, H-13), 4.03 (3H, s, C₂-OCH₃), 4.21 (3H, s, C₉-OCH₃), 4.11 (3H, s, C₁₀-OCH₃)。其¹³C-NMR 归属数据见表 1, 将其与文献报道的药根碱^[13-14]数据相比较, 鉴定其为药根碱(jatrorrhizine)。

化合物 10 黄色针状晶体(甲醇), mp 208 ~ 210 °C, 碘化铯钾反应阳性。¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ: 7.57 (1H, s, H-1), 7.03 (1H, s, H-4), 3.25 (2H, m, H-5), 4.93 (2H, m, H-6), 9.75 (1H, s, H-8), 8.11 (1H, d, J = 9.1 Hz, H-11), 8.00 (1H, d, J = 9.1 Hz, H-12), 8.65 (1H, s, H-13), 3.98 (3H, s, C₃-OCH₃), 4.21 (3H, s, C₉-OCH₃), 4.11 (3H, s, C₁₀-OCH₃)。其¹³C-NMR 归属数据见表 1, 其与文献报道的非洲防己碱^[13]数据相一致, 鉴定其为非洲防己碱(columbamine)。

化合物 11 无色柱状结晶(氯仿), mp 232.5

°C, [α]_D(20): -48.0° (c = 0.4, CHCl₃)。¹H-NMR (CDCl₃) 光谱给出 5 个甲基氢信号 δ_H: 1.10 (3H, s), 1.22 (3H, s), 1.43 (3H, s) 和 1.48 (6H, s)。5 个 SP² 杂化碳上的氢信 δ_H: 6.49 (1H, d, J = 11.7 Hz), 5.93 (1H, d, J = 11.7 Hz), 7.37, 6.34, 7.39。其¹³C-NMR 归属数据见表 2, 其谱学数据与文献报道的黄柏酮^[13]数据相一致, 鉴定其为黄柏酮(obacunone)。

[参考文献]

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 137, 286.
- [2] 王衡奇, 秦民坚, 余国奠, 等. 黄柏化学成分和药理学研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2001, 20(4): 6.
- [3] 卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 214.
- [4] 廉莲, 万国盛, 贾伟利, 等. HPLC 同时测定黄柏中 6 种化学成分含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(2): 94.
- [5] 刘丽梅, 王瑞海, 陈琳, 等. 黄柏总生物碱提取方法及工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(2): 3.
- [6] 吴海峰, 宋志军, 朱华结, 等. 藏药红花绿绒蒿的化学成分[J]. 天然产物研究与开发, 2011, 23(2): 202.
- [7] 梁龙, 李光玉. 秃叶黄皮树化学成分研究[J]. 中药材, 1995, 18(2): 85.
- [8] Kawaguchi H, Kim M, Ishida M. et al. Several antifeedants from *Phellodendron amurense* against *Reticulitermes speratus* [J]. Agric Biol Chem, 1989, 53(10): 2635.
- [9] 盖玲, 饶高雄, 宋纯清, 等. 石虎化学成份研究[J]. 药学学报, 2001, 36(10): 743.
- [10] 杨炳文, 夏永刚, 陈东, 等. 洋金花的化学成分(英文)[J]. 中国天然药物杂志, 2010, 8(6): 429.
- [11] 肖辉辉, 姚新生. 接骨木的化学成分研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2011.
- [12] 周明伟, 范明松, 季宇斌, 等. 黄柏中几种生物碱的分离、鉴定及促胰岛素分泌活性筛选[J]. 中国医药指南, 2011, 9(7): 54.
- [13] 程春梅, 戴云, 黄相中, 等. 云南青牛胆块根的化学成分研究[J]. 中草药, 2010, 41(5): 689.

[责任编辑 邹晓翠]