

益智仁的化学成分

邸磊, 王治元, 王志, 李宁, 王开金^①

(安徽大学生命科学学院 安徽省中药研究与开发重点实验室, 安徽 合肥 230039)

Chemical constituents in *Alpinia oxyphylla* seed DI Lei, WANG Zhi-yuan, WANG Zhi, LI Ning, WANG Kai-jin^①
(Anhui Province Key Laboratory of Research and Development of Traditional Chinese Medicine, School of Life Sciences, Anhui University, Hefei 230039, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2011, 20(2): 94-96

Abstract: Using column chromatography, MS and NMR techniques, compound I-VI were isolated and identified from the ethyl acetate fraction of 80% ethanol extract of *Alpinia oxyphylla* Miq. seed, and compound VII-IX from the petroleum ether fraction. Nine compounds are as follows: yakuchinone A (I), yakuchinone B (II), tectochrysin (III), 4-methoxy-1,2-dihydrocyclobutabenzene (IV), protocatechuic acid (V), β -daucosterol (VI), sitosteryl palmitate (VII), palmitic acid (VIII) and stigmaterol (IX). In which, compound IV is a new natural compound, and compound VII, VIII and IX are isolated from *A. oxyphylla* for the first time.

关键词: 益智仁; 乙酸乙酯部分; 石油醚部分; 化学成分; 结构鉴定

Key words: *Alpinia oxyphylla* Miq. seed; ethyl acetate fraction; petroleum ether fraction; chemical constituent; structural identification

中图分类号: Q946; R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2011)02-0094-03

益智仁为姜科(Zingiberaceae)山姜属(*Alpinia* Roxb.)植物益智(*A. oxyphylla* Miq.)的干燥成熟果实,为中国四大南药之一,主产于海南和广东等地,为常用中药材。益智仁具有温脾止泻摄唾和暖肾固精缩尿等功效,临床多用于脾肾虚寒不固所致诸症^[1]。从益智仁中已分离出二芳基庚烷类、倍半萜类、黄酮、甾体和有机酸等多种成分^[2-3]。药理研究表明:益智仁具有抗氧化与神经保护^[4]、强心^[5]、钙拮抗^[6]、抗肿瘤^[7]和抑制肿瘤血管形成^[8]等活性。为了深入开发利用这一传统中药材资源、挖掘新的有效成分,作者对益智仁的化学成分进行了较为系统的分离和鉴定。

1 材料和方法

1.1 材料和仪器

供试益智仁于2007年12月购于安徽省亳州中药材大市场,由安徽大学生命科学学院王开金教授鉴定。

主要仪器包括XRC-1显微熔点仪(温度未校正,四川大学科学仪器厂)、Bruker AM-400核磁共振仪(TMS为内标,德国Bruker公司)和VG AutoSpec-3000质谱仪(英国VG公司)。

层析柱为Sephadex LH-20(75~100 μ m,瑞典Pharmacia

Fine Chemical Co. Ltd.)和MCI GEL CHP20P(75~150 μ m,日本Mitsubishi Chemical Co.);硅胶(200~300目)和硅胶板H购自青岛海洋化工厂;所用试剂均为重蒸工业级或分析纯。采用10%硫酸-乙醇溶液加热显色。

1.2 提取与分离

取干燥益智仁4 kg,粉碎后过20目筛,用20 L体积分数80%乙醇回流提取3次,每次3 h,合并提取液,减压浓缩得浸膏约280 g;将浸膏悬浮于水中,经石油醚、乙酸乙酯、正丁醇依次萃取,每种溶剂分别萃取4次,分别合并、浓缩后,得石油醚部分浸膏60 g、乙酸乙酯部分浸膏100 g、正丁醇部分浸膏50 g及水相部分浸膏约65 g。

将乙酸乙酯部分上硅胶柱,用石油醚-丙酮混合液梯度洗脱(体积比20:1~0:1),得到A~G 7个流分。B流分经硅胶柱层析,用石油醚-乙酸乙酯混合液梯度洗脱(体积比20:1~5:1),得到B1~B4 4个组分;B1组分先经硅胶柱层析,以石油醚-乙酸乙酯混合液(体积比20:1)洗脱,再经Sephadex LH-20柱层析,用无水乙醇反复洗脱,得到化合物I(20 mg);B2组分先经Sephadex LH-20柱层析,无水乙醇洗脱,再经甲醇-石油醚混合液(体积比4:1)萃取,浓缩后得到化合物II(13 mg);B3部分先经硅胶柱层析,以石油醚-乙酸乙酯混合液(体积比10:1)洗脱,再经Sephadex LH-20柱层析,无水乙醇洗

收稿日期: 2010-10-19

基金项目: 安徽省优秀青年科技基金项目(08040106812); 安徽省自然科学基金资助项目(090113100)

作者简介: 邸磊(1988—),男,安徽蚌埠人,硕士,主要从事天然药物化学方面的研究。

^①通信作者 E-mail: wkjahla@sina.com

脱,得到化合物Ⅲ(25 mg)。C流分先经硅胶柱层析,石油醚-乙酸乙酯混合液(体积比3.5:1)洗脱,再通过MCI柱层析,用水-甲醇混合液梯度洗脱(体积比1:0~0:1),得到化合物Ⅳ(10 mg)。F流分先经硅胶柱层析,三氯甲烷-甲醇混合液梯度洗脱(体积比10:1~8:1),再经Sephadex LH-20柱层析,无水乙醇洗脱,得到化合物Ⅴ(20 mg)。G流分经硅胶柱层析,三氯甲烷-甲醇混合液(体积比8:3)洗脱,得到白色固体,用无水甲醇反复洗涤后,得到化合物Ⅵ(17 mg)。

石油醚部分上硅胶柱,用石油醚-丙酮混合液梯度洗脱(体积比40:1~10:1),得到A~E5个流分。A流分先经硅胶柱层析,用石油醚-乙酸乙酯混合液(体积比50:1)洗脱,得到白色粉末,再依次用无水甲醇和无水乙醇分别洗涤3次,得到化合物Ⅶ(14 mg)。D流分先经硅胶柱层析,石油醚-乙酸乙酯混合液(体积比30:1)洗脱,得到白色蜡状固体,用无水甲醇反复洗涤,得到化合物Ⅷ(13 mg)。E流分经Sephadex LH-20柱层析,用无水乙醇反复洗脱,得到白色片状晶体Ⅸ(25 mg)。

1.3 结构鉴定

根据化合物的理化性质,采用MS和NMR等技术,并结合已知文献数据,对分离得到的化合物Ⅰ~Ⅸ进行结构鉴定。

2 结 果

化合物Ⅰ:黄色油状物;EI-MS(m/z):312[M]⁺;结合NMR数据确定其分子式为C₂₀H₂₄O₃。¹H-NMR(400 MHz, CD₃OD) δ: 2.75~2.78(2H, m, H-1), 2.55(2H, m, H-2), 2.39(2H, m, H-4), 1.52~1.55(4H, m, H-5, 6), 2.66~2.70(2H, m, H-7), 6.75(1H, d, $J=1.8$ Hz, H-2'), 6.61(1H, dd, $J=1.8, 8.0$ Hz, H-5'), 6.73(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-6'), 7.12~7.26(5H, m, H-2''~H-6''), 3.78(3H, s, -OCH₃)。 ¹³C-NMR(100 MHz, CD₃OD) δ: 30.5(C-1), 45.3(C-2), 213.2(C-3), 43.5(C-4), 24.3(C-5), 32.0(C-6), 36.6(C-7), 134.0(C-1'), 113.1(C-2'), 148.8(C-3'), 145.7(C-4'), 116.1(C-5'), 121.7(C-6'), 143.5(C-1''), 129.4(C-2'', 6''), 129.3(C-3'', 5''), 126.7(d, C-4''), 56.4(-OCH₃)。以上波谱数据与文献[9-10]报道的益智酮甲的数据一致,故确定该化合物为益智酮甲(yakuchinone A)。

化合物Ⅱ:黄色油状物;EI-MS(m/z):310[M]⁺;结合NMR数据确定其分子式为C₂₀H₂₂O₃。¹H-NMR(400 MHz, CD₃OD) δ: 7.54(1H, d, $J=16.0$ Hz, H-1), 6.65(1H, d, $J=16.0$ Hz, H-2), 1.64~1.67(4H, m, H-5, H-6), 2.61~2.70(4H, m, H-4, 7), 7.11(1H, d, $J=1.6$ Hz, H-2'), 7.09(1H, dd, $J=1.6, 8.0$ Hz, H-5'), 6.81(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-6'), 7.16~7.24(5H, m, H-2''~H-6'')。 ¹³C-NMR(100 MHz, CD₃OD) δ: 143.5(C-1), 124.6(C-2), 203.4(C-3), 41.1(C-4), 25.3(C-5), 32.2(C-6), 36.6(C-7), 127.7(C-1'), 111.9(C-2'), 149.4(C-3'), 151.0(C-4'), 116.6(C-5'),

124.1(C-6'), 145.3(C-1''), 129.3(C-2'', 6''), 129.4(C-3'', 5''), 126.7(C-4''), 56.4(-OCH₃)。以上波谱数据与文献[9-10]报道的益智酮乙的数据一致,故确定该化合物为益智酮乙(yakuchinone B)。

化合物Ⅲ:黄色无定形粉末;EI-MS(m/z):268[M]⁺(100), 239(47), 225(24), 166(7), 138(15), 123(6), 120(10), 110(7), 108(5), 105(7), 102(6), 95(4), 77(7), 69(9);结合NMR数据确定其分子式为C₁₆H₁₂O₄。¹H-NMR(400 MHz, acetone-*d*₆) δ: 6.83(1H, s, H-3), 6.36(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 6.74(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 7.58~8.10(5H, m, H-2'~H-6'), 3.95(3H, s, -OCH₃)。 ¹³C-NMR(100 MHz, acetone-*d*₆) δ: 165.9(C-2), 107.3(C-3), 184.3(C-4), 164.1(C-5), 99.9(C-6), 167.8(C-7), 94.4(C-8), 159.8(C-9), 107.2(C-10), 133.2(C-1'), 128.3(C-2', 6'), 131.0(C-3', 5'), 133.8(C-4'), 57.5(7-OCH₃)。以上波谱数据与文献[11]报道的杨芽黄素的数据一致,故确定该化合物为杨芽黄素(tectochrysin)。

化合物Ⅳ:褐色油状物;ESI-MS(m/z):145[M+H]⁺;结合NMR数据确定其分子式为C₉H₁₀O。¹H-NMR(400 MHz, CD₃OD) δ: 6.63(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-3), 6.57(1H, dd, $J=8.0, 2.0$ Hz, H-5), 6.73(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-6), 2.48(2H, t, $J=7.6$ Hz, H-7), 2.76(2H, t, $J=7.6$ Hz, H-8), 3.76(1H, s, -OCH₃)。 ¹³C-NMR(100 MHz, CD₃OD) δ: 134.2(C-1), 146.0(C-2), 116.4(C-3), 149.1(C-4), 113.3(C-5), 121.9(C-6), 32.2(C-7), 38.0(C-8), 56.6(4-OCH₃)。此化合物被鉴定为4-methoxy-1,2-dihydrocyclobutabenzene,为1种新的天然产物,Tan等^[12]已报道了其化学合成方法。

化合物Ⅴ:褐色粉末;ESI-MS(m/z):155[M+H]⁺;结合NMR数据确定其分子式为C₇H₆O₄。¹H-NMR(400 MHz, CD₃OD) δ: 7.43(1H, dd, $J=7.9, 2.0$ Hz, H-6), 7.41(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2), 6.78(1H, d, $J=7.9$ Hz, H-5)。 ¹³C-NMR(100 MHz, CD₃OD) δ: 123.1(C-1), 117.7(C-2), 145.9(C-3), 151.4(C-4), 115.7(C-5), 123.9(C-6), 170.3(COO-)。以上波谱数据与文献[13]报道的原儿茶酸的数据一致,故确定该化合物为原儿茶酸(protocatechuic acid)。

化合物Ⅵ:白色粉末;Liebermann-Burchard反应呈阳性,Molish反应也呈阳性;与标准品β-胡萝卜素共同薄层层析,分别在石油醚-丙酮(体积比3:1)、石油醚-乙酸乙酯(体积比4:1)和三氯甲烷-甲醇(体积比10:1)3种溶剂系统下展开,Rf值相同,斑点不分离,混合熔点不下降。故确定该化合物为β-胡萝卜素(β-daucosterol)。

化合物Ⅶ:白色固体粉末;EI-MS(m/z):396[M⁺-CH₃(CH₂)₁₄COOH];结合NMR数据,确定该化合物分子式为C₄₅H₈₀O₂。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 4.60(1H, m, H-6), 5.26(1H, d, $J=4.8$ Hz, H-6), 0.68(3H, s, H-18), 1.02(3H, s, H-19), 0.93(3H, d, $J=6.8$ Hz, H-21), 0.86(3H, d,

$J=7.0$ Hz, H-26), 0.81 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H-27), 0.89 (3H, t, $J=7.2$ Hz, H-29), 2.30 (2H, t, $J=7.2$ Hz, H-2'), 1.25 [28H, m, (CH₂)₁₄], 1.61 (2H, m, H-15'), 0.88 (3H, t, $J=6.8$ Hz, H-16')。¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 37.0 (C-1), 27.2 (C-2), 73.7 (C-3), 38.2 (C-4), 139.7 (C-5), 122.6 (d, C-6), 31.9 (C-7), 29.7 (C-8), 50.0 (C-9), 36.6 (C-10), 21.0 (C-11), 38.1 (C-12), 42.3 (C-13), 56.7 (C-14), 24.3 (C-15), 28.2 (C-16), 56.0 (C-17), 11.8 (C-18), 19.3 (C-19), 36.2 (C-20), 18.8 (C-21), 33.9 (C-22), 26.1 (C-23), 45.8 (C-24), 29.1 (C-25), 19.8 (C-26), 23.1 (C-27), 19.0 (C-28), 12.0 (C-29), 174.3 (C-1'), 34.7 (C-2'), 25.0 (C-3'), 29.1 ~ 29.7 (C-4' ~ 13'), 31.9 (C-14'), 22.7 (C-15'), 14.1 (C-16')。以上波谱数据与文献[14]报道的谷甾醇棕榈酸脂的数据一致,故确定该化合物为谷甾醇棕榈酸脂 (sitosteryl palmitate)。

化合物VIII: 白色蜡状固体; mp: 63 °C ~ 64 °C; EI-MS (m/z): 256 [M]⁺; 结合 NMR 数据确定该化合物分子式为 C₁₆H₃₂O₂。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 2.35 (2H, t, $J=7.2$ Hz, H-2), 1.18 ~ 1.30 [28H, m, (CH₂)₁₄], 1.64 (2H, m, H-15), 0.88 (3H, t, $J=6.8$ Hz, H-16)。¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 178.9 (C-1), 33.9 (C-2), 27.4 (C-3), 29.1 ~ 29.7 (C-4 ~ 13), 31.9 (C-14), 22.7 (C-15), 14.1 (C-16)。以上数据与文献[15]报道的棕榈酸的数据一致,故确定该化合物为棕榈酸 (palmitic acid)。

化合物IX: 白色片状晶体 (三氯甲烷); mp: 165 °C ~ 166 °C; Liebermann-Burchard 反应呈阳性; 与豆甾醇标准品共同薄层层析, 分别在石油醚-丙酮 (体积比 4:1)、石油醚-乙酸乙酯 (体积比 5.5:1) 和三氯甲烷-甲醇 (体积比 15:1) 3 种溶剂系统下展开, R_f 值相同, 只显示 1 个斑点, 混合熔点不下降。故确定此化合物为豆甾醇 (stigmasterol)。

从益智仁的 80% 乙醇提取物中分离鉴定了 9 个单体成分, 其中, 从乙酸乙酯部分分离并鉴定出化合物 I ~ VI, 从石油醚部分分离并鉴定出化合物 VII ~ IX。9 个化合物主要包括了二芳基庚烷类、黄酮、甾体、有机酸等成分, 其中, 化合物 IV 为 1 种新的天然产物, 为罕见的苯并环丁烯类成分; 化合物 VII、VIII 和 IX 则首次从益智仁中分离得到。本研究结果为益智仁这一传统中药材资源的深度开发利用提供了基础资料。

参考文献:

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草: 第八册第二十四卷[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 605.
- [2] 罗秀珍, 余竞光, 徐丽珍, 等. 中药益智化学成分的研究[J]. 药学学报, 2000, 35(3): 204-207.
- [3] 刘楠, 于新宇, 赵红, 等. 益智仁化学成分研究[J]. 中草药, 2009, 40(1): 29-32.
- [4] Shi G F, An L J, Jiang B, et al. *Alpinia* protocatechuic acid protects against oxidative damage *in vitro* and reduces oxidative stress *in vivo* [J]. *Neuroscience Letters*, 2006, 403(3): 206-210.
- [5] Shoji N, Umeyama A, Takemoto T, et al. Isolation of a cardiogenic principle from *Alpinia oxyphylla* [J]. *Planta Medica*, 1984, 50(2): 186-187.
- [6] Shoji N, Umeyama A, Asakawa Y, et al. Structural determination of nootkatol, a new sesquiterpene isolated from *Alpinia oxyphylla* Miquel possessing calcium-antagonistic activity [J]. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1984, 73(6): 843-844.
- [7] 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): 1377-1381.
- [8] He Z H, Ge W, Yue G G, et al. Anti-angiogenic effects of the fruit of *Alpinia oxyphylla* [J]. *Journal of Ethnopharmacol*, 2010, 132(2): 443-449.
- [9] Itokawa H, Aiyama R, Ikuta A. A pungent diarylheptanoid from *Alpinia oxyphylla* [J]. *Phytochemistry*, 1981, 20(4): 769-771.
- [10] Itokawa H, Aiyama R, Ikuta A. A pungent principle from *Alpinia oxyphylla* [J]. *Phytochemistry*, 1982, 21(1): 241-243.
- [11] 徐俊驹, 谭宁华, 曾广智, 等. 益智仁化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(8): 990-992.
- [12] Tan L S, Venkatasubramanian N. Method for the preparation of 4-hydroxy- and 4-trimethylsiloxy-benzocyclobutene; US, 5616765 [P/OL]. 1997-04-01 [2010-03-16]. <http://www.freepatentsonline.com/5616765.pdf>.
- [13] 段磊, 黄建梅, 杨春澍, 等. 厚皮香八角果皮的化学成分研究[J]. 中国药学杂志, 2006, 41(6): 411-413.
- [14] 黄平, Gloria K, 韦善新, 等. 空桐树的化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(2): 271-274.
- [15] 刘悦, 刘静, 庾石山, 等. 大理白前化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(6): 500-503.

(责任编辑: 张明霞)