

草果果实中的酚性成分

王^{1,2}, 杨崇仁¹, 张颖君¹

(1 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 650204; 2 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 从草果 (*Amomum tsao-ko*) 果实的甲醇提取物中分离得到了 9 个酚性化合物, 其中一个为新的糖基被酰化的酚性配糖体。用 1D, 2D NMR 和 MS 等现代波谱学方法鉴定为 2-甲氧基-1, 4-二苯酚-1-*O*-[6-*O*-(3-甲氧基-4-羟基苯甲酰基)]-*D*-吡喃葡萄糖苷 (1)。8 个已知化合物分别为 3, 5-二-*C*-*D*-吡喃葡萄糖基根皮素 (2)、芦丁 (3)、槲皮素-3-*O*-*D*-吡喃葡萄糖苷 (4)、邻苯三酚 (5)、邻苯二酚 (6)、对羟基苯甲酸 (7)、原儿茶酸 (8) 和香草酸 (9)。化合物 2, 3, 5, 7~9 均为首次从草果果实中分离得到。

关键词: 草果; 酚性成分

中图分类号: Q 946

文献标识码: A

文章编号: 0253-2700 (2009) 03-284-05

Phenolic Constituents from the Fruits of *Amomum tsao-ko* (Zingiberaceae)

WANG Wei^{1,2}, YANG Chong-Ren¹, ZHANG Ying-Jun^{1**}

(1 State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China; 2 Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: A new phenolic acylglucoside, 2-methoxy-1, 4-biphenol-1-*O*-[6-*O*-(3-methoxy-4-hydroxybenzoyl)]-*D*-glucopyranoside (1), together with 8 known compounds, 3, 5-di-*C*-*D*-glucopyranosylphloretin (2), rutin (3), quercetin-3-*O*-*D*-glucopyranoside (4), pyrogalllic acid (5), catechol (6), *p*-hydroxybenzoic acid (7), protocatechuic acid (8) and vanillic acid (9), was isolated from the methanol extract of the fruits of *Amomum tsao-ko*. Their structures were determined by detailed spectroscopic analysis, including 1D, 2D NMR and MS techniques. The known compounds 2, 3, 5 and 7-9 were isolated from the titled plant for the first time.

Key words: *Amomum tsao-ko*; Phenolic constituents

草果 (*Amomum tsao-ko* Crevost et Lemaire) 为姜科豆蔻属多年生常青丛生草本植物, 主产于我国云南、贵州和广西, 越南亦有分布。草果是常用的中药, 味辛气温, 归脾、胃经, 具有燥湿温中、除痰截疟、消食化积、健胃、顺气、驱风等功能, 主治脘腹胀痛、恶心呕吐、咳嗽痰多、疟疾等 (国家药典委员会, 2005)。同时, 草果亦

是重要的烹调佐料, 广泛应用于饮食行业。对草果的研究, 主要以挥发性成分居多。已报道草果的果实中含 2% ~ 3% 挥发油, 其中主要成分为 1, 8-桉油素 (李祖强等, 1998)。此外, 从草果中亦分离得到黄酮类、萜类、二苯庚烷类、酚类、甾醇类、双环壬烷类等化学成分 (吴芳真和苏正德, 1996; Song 等, 2001; Moon 等, 2004,

基金项目: 国家基金项目 (NSFC U0632010), 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室自主课题 (O807E21211), 中国科学院“西部之光”人才培养计划项目

通讯作者: Author for correspondence; E-mail: zhangyj@mail.kib.ac.cn

收稿日期: 2009-02-20, 2009-04-08 接受发表

作者简介: 王 (1972-) 男, 在读博士研究生, 主要从事天然产物化学研究。

2005)。本文对草果果实的化学成分进行深入研究, 并报道 9 个酚性成分的分离提取和结构鉴定。

1 实验部分

1.1 仪器与材料

1D 和 2D NMR 谱在氘代甲醇 (CD_3OD), 氘代氯仿 (CDCl_3) 或氘代丙酮 - 重水中用 Bruker AV-400 或 DRX-500 兆超导核磁共振波谱仪测定。EI-MS, negative FABMS 在 VG Auto Spec-3000 质谱仪上测定 (FAB 以甘油作底物)。红外光谱用 Bio-Rad FTS-135 红外光谱仪测定。紫外光谱用日本岛津 UV-210A 测定。旋光用 JASCO-20 测定。柱层析用硅胶 H, 以及薄层色谱层析用预制硅胶板 (0.2~0.25 mm) 均为山东青岛海洋化工厂或山东青岛美晶化工厂产品, 柱层析用 Sephadex LH-20 (25 - 100 μm , Pharmacia Fine Chemical Co., Ltd.), MCIgel CHP20P (75 - 150 μm , Mitsubishi Chemical Co., Ltd.), Diaion HP20SS (Mitsubishi Chemical Co., Ltd.), Chromatorex ODS (100 - 200 mesh, Fuji Silysia Chemical Co., Ltd)。薄层展开剂为氯仿 - 甲醇 - 水系统。薄层层析 (TLC) 用 5% 硫酸 - 乙醇溶液显色。

1.2 实验材料

草果果实 2004 年 4 月采购于昆明市菊花村鸿翔药业有限公司, 经中国科学院昆明植物所杨崇仁研究员鉴定为草果 (*Amomum tsao-ko*), 凭证编号 (KIB AK-1) 样品保存于本实验室内。

1.3 提取分离

草果干果 (10.0 kg) 粉碎后用甲醇热回流提取 4 次。提取液合并、减压浓缩除去有机溶剂后, 混悬于水, 依次用石油醚、乙酸乙酯萃取, 得到石油醚萃取物 (74 g)、乙酸乙酯萃取物 (122 g) 以及水层部分 (150 g)。水层部分经过 Diaion HP20SS 柱层析, 甲醇 - 水 (0.1~1.0) 梯度洗脱, 得到 8 个馏分 (Fr.1~Fr.8)。利用 Sephadex LH-20 柱层析, 从 Fr.5 和 Fr.6 分别分离得到化合物 2 (29 mg) 和 3 (129 mg)。

乙酸乙酯萃取物部分经 Sephadex LH-20 柱层析, 以甲醇 - 水 (0.1~1.0) 梯度洗脱, 得到 5 个馏分 (Fr.1~Fr.5)。Fr.3 经过反复的硅胶和 Chromatorex ODS 柱层析, 从中分离得化合物 1 (9 mg), 5 (7 mg), 6 (11 mg), 7 (21 mg) 和 8 (33 mg)。Fr.4 经过 Sephadex LH-20 和 MCI gel CHP20P 反复柱层析, 从中分离得化合物 9 (3 mg)。Fr.5 经过 Sephadex LH-20 反复柱层析, 从中分离得化合物 4 (240 mg)。

2-Methoxy-1, 4-biphenol-1-*O*-[6-*O*-(3-methoxy-4-hydroxybenzoyl)]-*D*-glucopyranoside (1) $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_{11}$, 黄

色无定形粉末。IR (KBr) cm^{-1} : 3424, 1608, 1514, 1287, 1217. UV (MeOH) λ_{max} nm: 203. $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ - 28.5 (c 1.17, MeOH). Negative FABMS m/z : 451 $[\text{M}-\text{H}]^-$. Negative HR-FABMS m/z : 451.1235 ($[\text{M}-\text{H}]^-$, calcd. 451.1240). ^1H NMR (CD_3OD , 400 MHz): 7.52 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-5), 7.50 (1H, br s, H-2), 6.89 (1H, d, $J=8.6$ Hz, H-6), 6.83 (1H, br d, $J=8.0$ Hz, H-6), 6.40 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-3), 6.09 (1H, dd, $J=8.6, 2.3$ Hz, H-5), 4.72 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-1), 3.83 (3H, s, 3-OMe), 3.74 (3H, s, 2-OMe), 3.42 (2H, m, H-2, 3), 3.30 (1H, m, H-4), 3.62 (1H, t, $J=7.4$ Hz, H-5), 4.66 (1H, br d, $J=11.6$ Hz, Ha-6), 4.33 (1H, dd, $J=11.6, 7.2$ Hz, Hb-6). ^{13}C NMR (CD_3OD , 100 MHz): 167.9 (C-7), 154.9 (C-4), 152.9 (C-4), 152.2 (C-2), 148.8 (C-3), 140.9 (C-1), 125.2 (C-6), 122.5 (C-1), 120.8 (C-6), 116.0 (C-5), 113.8 (C-2), 107.6 (C-5), 104.3 (C-1), 102.0 (C-3), 77.8 (C-3), 75.6 (C-5), 75.1 (C-2), 72.0 (C-4), 65.1 (C-6), 56.5 (2-OMe), 56.5 (3-OMe)。

3, 5-Di-*C*-*D*-glucopyranosylphloretin (2) $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{O}_{15}$, 黄色无定形粉末。Negative FABMS m/z : 597 $[\text{M}-\text{H}]^-$. ^1H NMR (500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO} + \text{D}_2\text{O}$): phloretin moiety 7.01 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-2, 6), 6.88 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-3, 5), 3.24 (2H, m, H), 2.78 (2H, t, $J=7.2$ Hz, H), glucose moiety 4.89 (1H, d, $J=9.3$ Hz, H-1)* 2, 3.48-3.82 (6H, m, H2-H6)* 2. ^{13}C NMR (125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO} + \text{D}_2\text{O}$): phloretin moiety 206.4 (C=O), 162.3 (C-2, 6), 161.6 (C-4), 155.8 (C-4), 133.0 (C-1), 130.0 (C-2, 6), 115.8 (C-3, 5), 105.4 (C-1), 103.7 (C-3, 5), 47.0 (C), 29.8 (C), glucose moiety [81.6 (C-5), 78.0 (C-3), 75.7 (C-1), 73.1 (C-2), 70.0 (C-4), 61.0 (C-6)]* 2。

Rutin (3) $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$, 红棕色无定形粉末。Negative FABMS m/z : 609 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (100), 463 (11), 301 (26). ^1H NMR (500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO} + \text{D}_2\text{O}$): 7.74 (1H, $J=2.1$ Hz, H-2), 7.66 (1H, dd, $J=8.4, 2.1$ Hz, H-6), 6.95 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5), 6.50 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 6.25 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 5.13 (1H, d, $J=7.5$ Hz, glc H-1), 4.52 (1H, d, $J=3.6$ Hz, rha H-1), 1.08 (3H, d, $J=4.0$ Hz, rha- CH_3). ^{13}C NMR (125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO} + \text{D}_2\text{O}$): 178.5 (C-4), 165.1 (C-7), 161.8 (C-5), 158.4 (C-9), 157.5 (C-2), 149.2 (C-4), 145.2 (C-3), 134.9 (C-3), 123.0 (C-6), 122.1 (C-1), 117.5 (C-5), 115.8 (C-2), 104.8 (C-10), 99.5 (C-6), 94.6 (C-8), glucose moiety 104.0 (C-1), 77.2 (C-

3), 76.1 (C-5), 74.8 (C-2), 70.2 (C-4), 67.6 (C-6), rhamnose moiety 101.5 (C-1), 72.9 (C-4), 71.5 (C-3), 71.0 (C-2), 68.9 (C-5), 17.6 (rha-CH₃).

Quercetin-3-*O*-*D*-glucopyranoside (4) C₂₁H₂₀O₁₂, 黄色无定形粉末。Negative FABMS *m/z*: 463 [M-H]⁻ (100), 301 (38). ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz): 7.71 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2), 7.56 (1H, dd, *J* = 8.5, 2.0 Hz, H-6), 6.85 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-5), 6.35 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.17 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6), 5.23 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, glc H-1). ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz): 179.4 (C-4), 165.9 (C-7), 162.9 (C-5), 158.5 (C-9), 158.3 (C-2), 149.8 (C-4), 145.8 (C-3), 135.6 (C-3), 123.1 (C-6), 122.8 (C-1), 117.6 (C-5), 116.1 (C-2), 105.6 (C-10), 99.8 (C-6), 94.6 (C-8), glucose moiety: 104.1 (C-1), 78.4 (C-3), 78.0 (C-5), 75.6 (C-2), 71.1 (C-4), 62.5 (C-6).

Pyrogalllic acid (5) C₆H₆O₃, 无色针晶。EIMS *m/z*: 126 [M]⁺ (100), 108 (18), 80 (24). ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz): 6.48 (1H, t, *J* = 8.0 Hz, H-5), 6.30 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-4, 6). ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz): 147.1 (C-1, 3), 134.3 (C-2), 120.1 (C-5), 108.3 (C-4, 6).

Catechol (6) C₆H₆O₂, 无色针晶。EIMS *m/z*: 110 [M]⁺ (4), 92 (4). ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz): 6.75 (2H, m, H-4, 5), 6.65 (2H, m, H-3, 6). ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz): 146.3 (C-1, 2), 120.1 (C-4, 5), 116.4 (C-3, 6).

***p*-Hydroxybenzoic acid** (7) C₇H₆O₃, 无色针晶。EIMS *m/z*: 138 [M]⁺ (91), 121 (100). ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz): 7.87 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-2, 6), 6.81 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-3, 5). ¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz): 170.2 (C=O), 163.3 (C-4), 133.0 (C-2, 6), 122.8 (C-1), 116.0 (C-3, 5).

Protocatechuic acid (8) C₇H₆O₄, 无色针晶。EIMS *m/z*: 154 [M]⁺ (90), 137 (100). ¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz): 7.43 (1H, br s, H-2), 7.42 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, H-6), 6.78 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, H-5). ¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz): 170.2 (C=O), 151.5 (C-4), 146.1 (C-3), 123.9 (C-6), 123.2 (C-1), 117.7 (C-5), 115.8 (C-2).

Vanillic acid (9) C₈H₈O₄, 无色针晶。EIMS *m/z*: 168 [M]⁺ (100), 153 (65). ¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz): 7.56 (1H, br s, H-2), 7.54 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-6), 6.82 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-5), 3.86 (3H, s, OCH₃). ¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz): 170.0 (C=O), 152.6 (C-3),

148.6 (C-4), 125.3 (C-6), 123.0 (C-1), 115.8 (C-5), 113.8 (C-2), 56.4 (OCH₃).

2 结果与讨论

草果果实的甲醇提取物经石油醚和乙酸乙酯依次萃取, 以及 Diaion HP20SS, Sephadex LH-20, MCIgel CHP20P 和 Chromatorex ODS 等反复柱层析分离纯化, 得到 9 个酚性化合物, 包括 3 个黄酮类 (2~4) 和 6 个简单酚性 (1, 5~9) 化合物。其中化合物 1 为一个新的糖基被酰化的酚性配糖体。已知化合物经详细的波谱分析以及与文献报道的数据对照, 分别鉴定为 3, 5-二-*C*-*D*-葡萄糖吡喃糖基根皮素 (2) (Kazunori 等, 2001)、芦丁 (3) (Wenkert and Gottlieb, 1977)、槲皮素-3-*O*-*D*-葡萄糖吡喃糖苷 (4) (Markham 等, 1978)、邻苯三酚 (5) (王永刚等, 2005)、邻苯二酚 (6) (王雪松等, 1999)、对羟基苯甲酸 (7) (廖小建等, 2005)、原儿茶酸 (8) (李勇军等, 2005) 和香草酸 (9) (潘晓辉等, 2005) (图 1)。化合物 2, 3, 5, 7~9 为首次从草果果实中分离得到。

化合物 1, [M]⁺ -28.5 (c 1.17, MeOH), 为黄色无定形粉末。红外光谱在 3424, 1608, 1514, 1287, 1217 cm⁻¹ 有较强吸收, 显示分子中有 OH, C=O, 以及苯环的存在。紫外光谱最大吸收为 203 nm。HRFABMS 显示准分子离子峰为 *m/z* 451.1235 ([M-H]⁻, calcd .451.1240), 提示其分子式为 C₂₁H₂₄O₁₁。该化合物的不饱和度为 10。¹H-和¹³C-NMR 显示分子中有一个吡喃葡萄糖基, 端基氢和碳的化学位移分别为 [H 4.72 (1H, d, *J* = 7.8 Hz), 和 (c 104.3)], 2 个 1, 3, 4-三取代苯环 [H 7.52 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5), 7.50 (1H, br s, H-2), 6.83 (1H, brd, *J* = 8.0 Hz, H-6) 和 6.89 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-6), 6.40 (1H, d, *J* = 2.3 Hz, H-3), 6.09 (1H, dd, *J* = 8.6, 2.3 Hz, H-5)], 2 个甲氧基 [H 3.83, 3.74 (each 3H, s) 和 c 56.5, 56.5], 以及 1 个酯羰基 (c 167.9) 的存在。由葡萄糖端基 H 的较大的耦合常数 (*J* = 7.8 Hz) 可以推定葡萄糖的端基为 α 构型。同时, 在¹³C-NMR 谱中, 葡萄糖的 C-6 向低场位移至 65 ppm 左右, 提示该 C-6 位有酯基取代。进一步通过二维核磁共振相

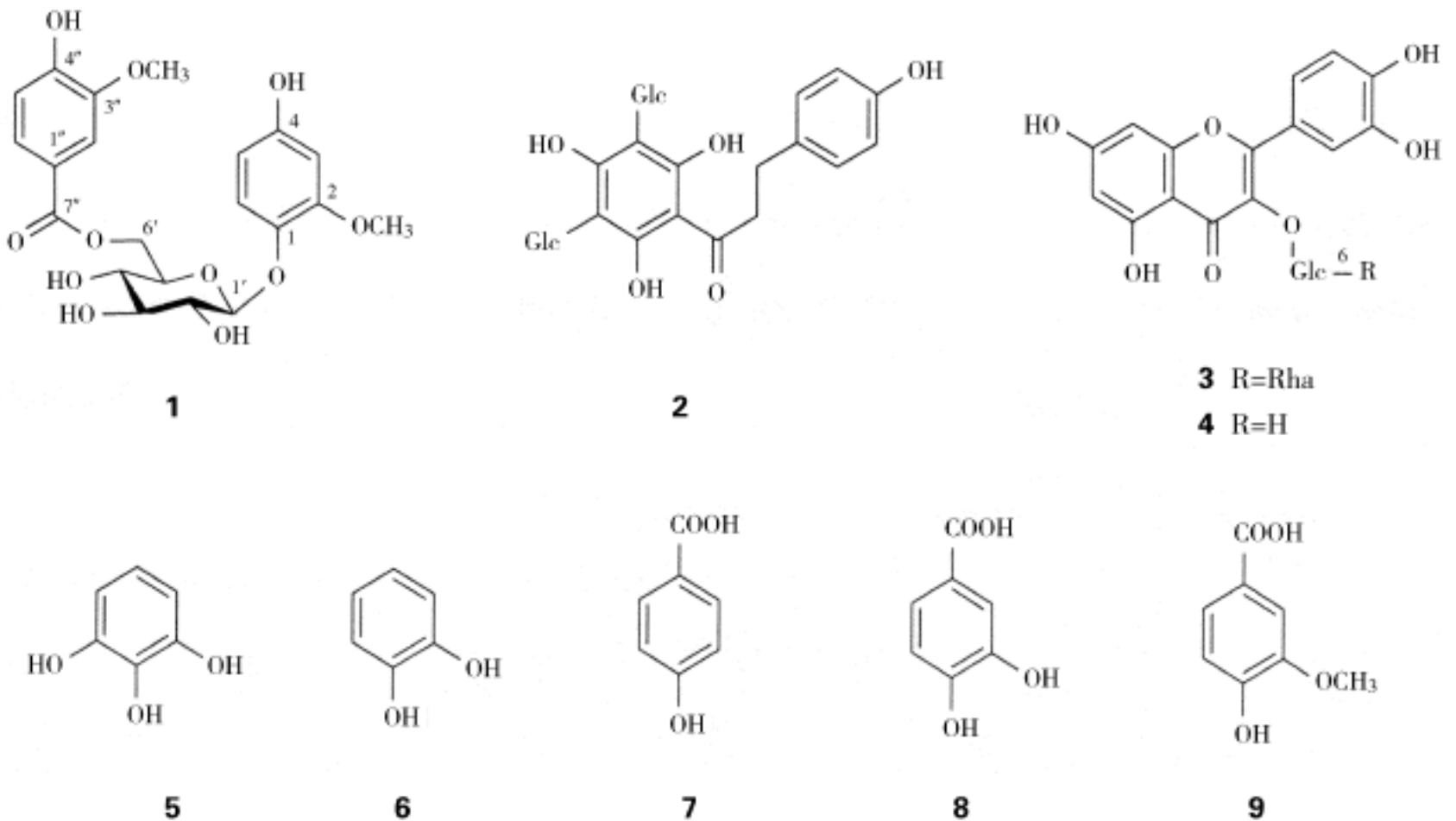


图 1 化合物 1~9 的化学结构

Fig. 1 The chemical structures of 1-9

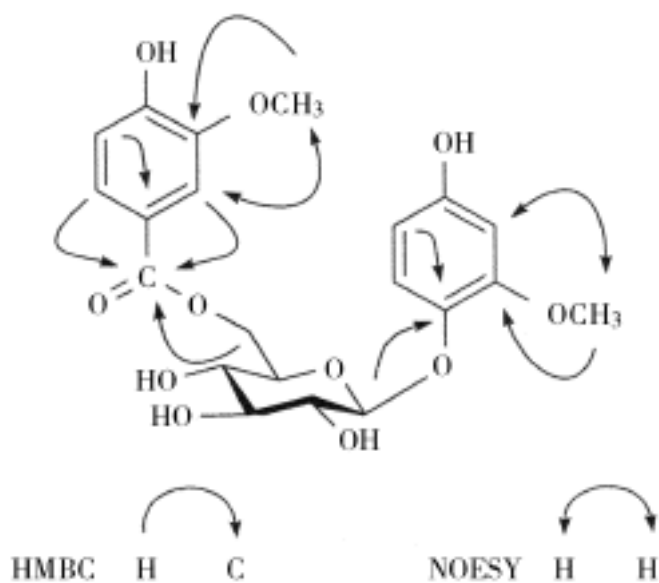


图 2 化合物 1 的关键 HMBC 相关

Fig. 2 Key HMBC correlations for 1

关谱, 将化合物 1 中所有的质子和碳的化学位移进行了归属。在 $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY 中, 观测到 ^1H 6.83 (H-6) 的质子信号与 ^1H 7.52 (H-5) 和 ^1H 7.50 (H-2) 的质子信号, 以及 ^1H 6.09 (H-5) 的质子信号与 ^1H 6.89 (H-6) 和 ^1H 6.40 (H-3) 的质子信号分别相关, 进一步证实了分子中含有 2 套苯环的 AMX 自旋系统。在 HMBC 谱中 (图 2), 葡萄糖的端基氢 (^1H 4.72) 信号与一个芳香碳信号 (^13C 140.9, C-1) 相关, 证实了葡萄糖与

一个苯环的 1 位相连, 而葡萄糖 C-6 位上的两个质子信号 (^1H 3.63, 3.80) 同时与酯羰基碳信号 (^13C 167.9, C-7) 相关, 证明了葡萄糖 C-6 位连接有苯甲酰基团。在 NOESY 谱中, ^1H 3.74 的甲氧基质子信号与苯环的 H-3 质子信号 (^1H 6.40) 相关, 同时, ^1H 3.83 的甲氧基质子信号与另一个苯环的质子信号 H-2 (^1H 7.50) 相关。在 HMBC 谱中, ^1H 3.74 和 ^1H 3.83 的甲氧基质子信号分别与碳信号 ^13C 152.2 (C-2) 和 ^13C 148.7 (C-3) 相关, 证明了 2 个甲氧基分别在 2 个苯环上的连接位置。根据以上数据, 化合物 1 的结构鉴定为 2-甲氧基-1, 4-二苯酚-1-*O*-[6-*O*-(3-甲氧基-4-羟基苯甲酰)]-*D*-吡喃葡萄糖苷, 为一个新的酚性配糖体。

致谢 波谱数据由中国科学院昆明植物所仪器组测定。

〔参 考 文 献〕

- 王雪松, 车庆明, 李艳梅等, 1999. 山楂核化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 12 (1): 739—740
- 王永刚, 淡墨, 李咏华等, 2005. 猴耳环化学成分的研究 [J]. 中药材, 28 (9): 774—775

- 国家药典委员会编, 2005. 中华人民共和国药典一部 [M]. 北京: 化学工业出版社, 165—166
- Kazunori O, Akemi K, Mitsuo O *et al.*, 2001. 3, 5-Di-C-⁶-glucopyranosylphloretin, a flavonoid characteristic of the genus *Fortunella* [J]. *Phytochemistry*, 57 (5): 737—740
- Li YJ (李勇军), He X (何迅), Liu LN (刘丽娜) *et al.*, 2005. Studies on chemical constituents in herb of *Polygonum orientale* [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica* (中国中药杂志), 30 (6): 444—446
- Li ZQ (李祖强), Luo L (罗蕾), Dai WH (代万华) *et al.*, 1998. Chemical constituents of the essential oil on *Amomum tsao-ko* from Yunnan Province [J]. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), 20 (1): 119—122
- Liao XJ (廖小建), Xu SH (徐石海), Huang QC (黄启昌) *et al.*, 2005. Studies on chemical constituents from *Callyspongia fibrosa* [J]. *Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory* (光谱实验室), 22 (2): 281—283
- Markham KR, Ternai B, Stanley R *et al.*, 1978. Carbon-13 NMR studies of flavonoids-III. Naturally occurring flavonoid glycosides and their acylated derivatives [J]. *Tetrahedron*, 34 (9): 1389—1397
- Moon SS, Lee JY, Cho SC, 2004. Isotsaokoin, an antifungal agent from *Amomum tsao-ko* [J]. *Journal of Natural Product*, 67 (5): 889—891
- Moon SS, Cho SC, Lee JY, 2005. Tsaokoarylone, a cytotoxic diarylheptanoid from *Amomum tsao-ko* fruits [J]. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 26 (3): 447—450
- Pan XH (潘晓辉), Li S (李硕), Li Y (李瑜), 2005. Studies on the chemical constituents of *Ceratoides lateus* [J]. *Natural Product Research and Development* (天然产物研究与开发), 17 (3): 290—293
- Song QS, Teng RW, Liu XK *et al.*, 2001. Tsaokoin, a new bicyclic nonane from *Amomum tsao-ko* [J]. *Chinese Chemical Letters*, 12 (3): 227—230
- Wenkert E, Gottlieb HE, 1977. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy of flavonoid and isoflavonoid compounds [J]. *Phytochemistry*, 16 (11): 1811—1816
- Wu FZ (吴芳真), Su ZD (苏正德), 1996. Isolation, purification and identification of antioxidative components from fruits of *Amomum tsao-ko* L [J]. *Journal of the Chinese Agriculture Chemical Society* (中国农业化学会志), 34 (4): 438—451