

草果化学成分的研究

柳 航¹, 王 敏¹, 许 耶², 张海霞¹, 葛卫红^{1*}

(1. 南京大学医学院附属鼓楼医院药学部, 江苏 南京 210008; 2. 南京鼓楼大药店有限公司, 江苏 南京 210008)

摘要: 目的 研究草果 *Amomum tsao-ko* Crevost et Lemarie 的化学成分。方法 草果 95% 乙醇提取物经硅胶、聚酰胺柱、中压液相、高压制备液相等进行分离纯化, 根据理化性质及波谱数据鉴定所得化合物的结构。结果 从中分离得到 10 个化合物, 分别鉴定为邻苯二酚 (1)、对羟基苯丙酸 (2)、咖啡酸 (3)、1-*O*- β -D-吡喃葡萄糖-2-羟基-4-烯丙基苯 (4)、2', 3'-dihydroxyl-osthole (5)、(+)-lololide (6)、1 β , 4 β , 7 α -trihydroxyeudesmane (7)、*R*-5-(1*R*, 5*S*-dimethyl-3*R*, 4*R*, 8*S*-trihydroxy-7-oxabicyclo [3, 2, 1] -oct-8-yl) -3-methyl-2*Z*, 4*E*-pentadienoic acid (8)、tsaokoarylone (9)、7-bis-(4-hydroxyphenyl) -4*E*, 6*E*-heptadien-3-one (10)。结论 化合物 2、4~8 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 草果; 化学成分; 分离鉴定

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2020)10-2648-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.10.021

Chemical constituents from *Amomum tsao-ko*

LIU Hang¹, WANG Min¹, XU Ye², ZHANG Hai-xia¹, GE Wei-hong^{1*}

(1. Department of Pharmacy, The Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, China; 2. Nanjing Drum Tower Pharmacy Co., Ltd., Nanjing 210008, China)

ABSTRACT: AIM To study the chemical constituents from the fruits of *Amomum tsao-ko* Crevost et Lemaire. **METHODS** The 95% ethanol extract from the fruits of *A. tsao-ko* was isolated and purified by silica, polyamide, medium pressure HPLC, preparative high pressure HPLC, then the structures of obtained compounds were identified by physicochemical properties and spectral data. **RESULTS** Ten compounds were isolated and identified as pyrocatechol (1), *p*-hydroxybenzene propanoic acid (2), caffeic acid (3), 1-*O*- β -D-glucopyranosyl-2-hydroxy-4-allylbenzene (4), 2', 3'-dihydroxyl-osthole (5), (+)-lololide (6), 1 β , 4 β , 7 α -trihydroxy-eudesmane (7), *R*-5-(1*R*, 5*S*-dimethyl-3*R*, 4*R*, 8*S*-trihydroxy-7-oxabicyclo [3, 2, 1] -oct-8-yl) -3-methyl-2*Z*, 4*E*-pentadienoic acid (8), tsaokoarylone (9), 7-bis-(4-hydroxyphenyl) -4*E*, 6*E*-heptadien-3-one (10). **CONCLUSION** Compounds 2, 4~8 are isolated from this plant for the first time.

KEY WORDS: *Amomum tsao-ko* Crevost et Lemarie; chemical constituents; isolation and identification

草果为姜科豆蔻属植物草果 *Amomum tsao-ko* Crevost et Lemarie 的干燥成熟果实, 别名草果仁、草果子, 主产于广西、云南、贵州等省, 其功效燥湿温中、截疟除痰, 用于寒湿中阻、脘腹胀痛、痞满呕吐、疟疾寒热、瘟疫发热。前期研究表明, 草果主要含有萜类(二萜、单萜)、黄酮类、酚类、

二芳基庚烷类成分^[1-4], 其提取物具有显著的抗炎、抗氧化作用^[5-6]。本实验对草果 95% 乙醇提取物进行初步研究, 从中分离得到 10 个化合物, 化合物 2、4~8 为首次从该植物中发现。

1 材料

Waters ACQUITY UPLC I-Class /XEVO TQD 超

收稿日期: 2019-08-21

基金项目: 国家青年自然科学基金项目(21602102); 江苏省自然科学基金项目(BK20180129); 十三五南京市卫生青年人才培养第三层次项目(QRX17132)

作者简介: 柳 航(1983—), 男, 博士, 主管中药师, 研究方向为中药活性成分及医院制剂。E-mail: liuhang831123@163.com

* 通信作者: 葛卫红(1962—), 女, 硕士, 主任药师, 研究方向为医院药学。E-mail: 6221230@sina.com

高效液相质谱联用仪 (美国 Waters 公司); Varian Mercury-400 核磁共振仪 (美国 Varian 公司); INOVA-600 核磁共振仪 (美国 Inova 公司); 薄层色谱用硅胶 GF₂₅₄、柱色谱硅胶 (100~200、200~300 目) (青岛海洋化工厂); 安捷伦 1200 高效液相色谱仪带二极管阵列检测器 (美国安捷伦公司); QuikSep 50 I 型中压液相、QuikSep-50 II 型高压制备液相色谱仪 (北京慧德易科技有限公司)。YMC-Pack ODS-A C₁₈ (4.6 mm×150 mm, 5 μm)、YMC-Pack Ph (20 mm×250 mm, 5 μm) 分析柱, YMC-Pack Ph (4.6 mm×150 mm, 5 μm)、YMC-Pack ODS-A C₁₈ (20 mm×250 mm, 5 μm) 制备柱 (日本 YMC 公司)。聚酰胺填料 (河北沧州宝恩吸附材料科技有限公司); C₁₈反相 ODS 填料 (日本 YMC 公司)。所用试剂均为分析纯或色谱纯 (国药集团化学试剂有限公司)。

草果 2017 年 6 月购自安徽亳州 (产地云南曲靖), 经南京鼓楼医院张海霞副主任中药师鉴定为姜科豆蔻属植物草果 *Amomum tsao-ko* Crevost et Lemarie 的干燥成熟果实, 样本保存于南京鼓楼医院临床药学研究室 (GL20170001)。

2 提取与分离

20 kg 药材用 95% 乙醇煎煮提取 3 次, 每次 2 h, 合并提取液, 60 °C 减压回收溶剂得到 10 L 浓缩液, 等体积石油醚、乙酸乙酯、正丁醇分别萃取 3 次, 萃取液减压浓缩, 得到石油醚萃取物 102.4 g、乙酸乙酯萃取物 280.6 g、正丁醇萃取物 117.3 g。乙酸乙酯萃取物 (280.6 g) 经聚酰胺经柱色谱, 乙醇-水 (0 : 100、30 : 70、60 : 40、95 : 5) 洗脱, 得到 4 个流分 A~D, 流分 B 经硅胶柱, 石油醚-乙酸乙酯 (100 : 0~1 : 2) 梯度洗脱, 得到 15 个流分 B₁~B₁₅, B₄ 经高压制备 HPLC 分离纯化, 得化合物 **5** (11 mg)、**6** (16 mg)、**8** (9 mg); B₁₃ 经高压制备 HPLC 分离纯化, 得化合物 **9** (16 mg)、**10** (26 mg)。流分 C 经硅胶柱, 石油醚-乙酸乙酯 (100 : 8~1 : 2) 梯度洗脱, 得 21 个流分 C₁~C₂₁, C₁₇ 经高压制备 HPLC 分离纯化, 得化合物 **4** (15 mg)、**7** (13 mg)。流分 D 通过中压制备 HPLC, 甲醇-水 (20 : 80~45 : 55) 梯度洗脱 3 h, 每约 350 mL 收集 1 份, 得到 24 个流分 D₁~D₂₄, D₃ 通过高压制备 HPLC 得化合物 **1** (7 mg), D₅ 得化合物 **2** (8 mg), D₁₂ 得化合物 **3** (24 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z :

111 [M+H]⁺, 结合¹H-NMR 和¹³C-NMR 谱, 推测其分子式为 C₆H₆O₂。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8.85 (2H, s, 1, 6-OH), 6.61 (2H, m, H-2, 5), 6.76 (2H, m, H-3, 4); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 145.6 (C-1, 6), 116.1 (C-2, 5), 119.8 (C-3, 4)。以上数据与文献 [7] 基本一致, 故鉴定为邻苯二酚。

化合物 **2**: 白色针晶 (甲醇)。ESI-MS m/z : 189 [M + Na]⁺, 结合¹H-NMR 和¹³C-NMR 谱, 推测其分子式为 C₉H₁₀O₃。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ: 7.08 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-2, 6), 6.74 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-3, 5), 2.82 (1H, t, *J* = 7.2 Hz, H-1'), 2.61 (1H, t, *J* = 7.2 Hz, H-2'); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ: 132.9 (C-1), 131.5 (C-2, 6), 115.9 (C-3, 5), 159.3 (C-4), 36.9 (C-1'), 30.7 (C-2'), 178.5 (C-3')。以上数据与文献 [8] 基本一致, 故鉴定为对羟基苯丙酸。

化合物 **3**: 白色固体 (甲醇)。ESI-MS m/z : 181 [M + H]⁺, 结合¹H-NMR 和¹³C-NMR 谱, 推测其分子式为 C₉H₈O₄。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ: 7.11 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-2), 6.82 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5), 6.99 (1H, dd, *J* = 8.4, 1.8 Hz, H-6), 7.45 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, H-7), 6.33 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, H-8); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ: 128.5 (C-1), 114.9 (C-2), 147.1 (C-3), 149.2 (C-4), 115.3 (C-5), 121.6 (C-6), 146.7 (C-7), 115.3 (C-8), 172.6 (C-9)。以上数据与文献 [9] 基本一致, 故鉴定为咖啡酸。

化合物 **4**: 棕色无定形粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 335 [M+Na]⁺, 结合¹H-NMR 和¹³C-NMR 谱, 推测其分子式为 C₁₅H₂₀O₇。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ: 7.06 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-3), 6.76 (1H, dd, *J* = 7.8, 1.8 Hz, H-5), 6.78 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-6), 3.29 (2H, d, *J* = 6.0 Hz, H-7), 5.95 (1H, ddt, *J* = 16.8, 10.2, 6.0 Hz, H-8), 5.02 (1H, m, H-9a), 5.06 (1H, m, H-9b), 4.74 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, H-1'); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ: 140.1 (C-1), 147.5 (C-2), 120.1 (C-3), 131.7 (C-4), 125.6 (C-5), 117.8 (C-6), 41.4 (C-7), 134.0 (C-8), 116.5 (C-9), 103.5 (C-1'), 75.0 (C-2'), 78.0 (C-3'), 71.5 (C-4'), 78.5 (C-5'), 62.6 (C-6')。以上数据与文献 [10] 基本一致, 故鉴定为 1-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖-2-羟基-

4-烯丙基苯。

化合物 **5**: 淡黄色粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 279 $[M+H]^+$, 结合¹H-NMR 和¹³C-NMR 谱, 推测其分子式为 $C_{15}H_{18}O_5$ 。¹H-NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.24 (1H, d, $J=9.2$ Hz, H-2), 7.96 (1H, d, $J=9.2$ Hz, H-3), 7.53 (1H, d, $J=8.8$ Hz, H-5), 7.03 (1H, d, $J=8.8$ Hz, H-6), 3.86 (3H, s, 7-OCH₃), 2.87 (1H, m, H-1'a), 2.80 (1H, m, H-1'b), 3.52 (1H, m, H-2'), 1.13 (3H, s, H-4'), 1.13 (3H, s, H-5'); ¹³C-NMR (100 M Hz, DMSO- d_6) δ : 160.6 (C-2), 112.6 (C-3), 144.8 (C-4), 116.1 (C-4a), 126.9 (C-5), 107.9 (C-6), 160.5 (C-7), 56.2 (7-OCH₃), 112.1 (C-8), 153.1 (C-8a), 25.0 (C-1'), 72.0 (C-2'), 76.2 (C-3'), 25.6 (C-4'), 25.5 (C-5')。以上数据与文献 [11] 基本一致, 故鉴定为 2', 3'-dihydroxyl-osthole。

化合物 **6**: 无色针状结晶 (甲醇)。ESI-MS m/z : 197 $[M+H]^+$, 结合¹H-NMR 和¹³C-NMR 谱, 推测其分子式为 $C_{11}H_{16}O_3$ 。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 5.79 (1H, s, H-3), 2.02 (1H, m, H-5a), 1.56 (1H, dd, $J=14.4, 3.6$ Hz, H-5b), 4.24 (1H, m, H-6), 2.45 (1H, dt, $J=13.8, 3.6$ Hz, H-7a), 1.77 (1H, overlapped, H-7b), 1.79 (3H, s, H-8), 1.31 (3H, s, H-9), 1.50 (3H, s, H-10); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 175.3 (C-2), 114.2 (C-3), 186.5 (C-3a), 38.0 (C-4), 48.8 (C-5), 68.1 (C-6), 47.3 (C-7), 89.8 (C-7a), 28.3 (C-8), 31.9 (C-9), 27.8 (C-10)。以上数据与文献 [12] 基本一致, 故鉴定为 (+) - loliolide。

化合物 **7**: 白色无定形粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 257 $[M+H]^+$, 结合¹H-NMR 和¹³C-NMR 谱, 推测其分子式为 $C_{15}H_{28}O_3$ 。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 3.20 (1H, dd, $J=11.4, 4.2$ Hz, H-1), 1.92 (1H, m, H-2a), 1.54 (1H, m, H-2b), 1.67 (1H, m, H-3a), 1.50 (1H, m, H-3b), 1.55 (1H, m, H-5), 1.63 (1H, m, H-6a), 1.51 (1H, m, H-6b), 1.51 (1H, m, H-8a), 1.35 (1H, m, H-8b), 1.66 (1H, m, H-9a), 1.38 (1H, m, H-9b), 1.64 (1H, m, H-11), 0.93 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H-12), 0.91 (3H, s, $J=6.6$ Hz, H-13), 0.99 (3H, s, H-14), 1.06 (3H, s, H-15); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 78.2 (C-1), 27.2 (C-2), 39.4 (C-3), 70.0 (C-4), 44.5 (C-5), 28.4 (C-

6), 72.0 (C-7), 30.0 (C-8), 34.6 (C-9), 38.8 (C-10), 39.0 (C-11), 17.2 (C-12), 17.4 (C-13), 11.8 (C-14), 29.5 (C-15)。以上数据与文献 [13] 基本一致, 故鉴定为 1 β , 4 β , 7 α -trihydroxy-eudesmane。

化合物 **8**: 白色粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 297 $[M+H]^+$, 结合¹H-NMR 和¹³C-NMR 谱, 推测其分子式为 $C_{15}H_{20}O_6$ 。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 6.13 (1H, s, H-2), 7.86 (1H, d, $J=15.6$ Hz, H-4), 6.45 (1H, d, $J=15.6$ Hz, H-5), 2.14 (3H, brs, H-6), 2.29 (1H, dd, $J=13.8, 7.2$ Hz, H-3'a), 1.91 (1H, dd, $J=13.8, 10.2$ Hz, H-3'b), 3.87 (1H, m, H-4'), 1.88 (1H, dd, $J=13.2, 11.4$ Hz, H-5'a), 1.75 (1H, dd, $J=13.2, 7.2$ Hz, H-5'b), 1.35 (3H, s, H-7'), 1.11 (3H, s, H-9'); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 166.4 (C-1), 118.8 (C-2), 149.9 (C-3), 132.1 (C-4), 131.5 (C-5), 20.4 (C-6), 81.9 (C-1'), 87.6 (C-2'), 42.0 (C-3'), 64.2 (C-4'), 40.6 (C-5'), 52.2 (C-6'), 17.9 (C-7'), 177.9 (C-8'), 14.0 (C-9')。以上数据与文献 [14] 基本一致, 故鉴定为 R-5- (1R, 5S-dimethyl-3R, 4R, 8S-trihydroxy-7-oxabicyclo [3, 2, 1] -oct-8-yl) -3-methyl-2Z, 4E-pentadienoic acid。

化合物 **9**: 黄色粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 347 $[M+Na]^+$, 结合¹H-NMR 和¹³C-NMR 谱, 推测其分子式为 $C_{20}H_{20}O_4$ 。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 2.92 (2H, t, $J=7.2$ Hz, H-1), 2.86 (2H, t, $J=7.2$ Hz, H-2), 6.29 (1H, d, $J=15.6$ Hz, H-4), 7.42 (1H, dd, $J=15.6, 10.8$ Hz, H-5), 6.89 (1H, dd, $J=15.6, 10.8$ Hz, H-6), 6.99 (1H, d, $J=15.6$ Hz, H-7), 7.06 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-2', 6'), 6.72 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-3', 5'), 7.16 (1H, brs, H-2''), 6.81 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5''), 7.03 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-6''), 3.91 (3H, s, 3''-OCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 31.1 (C-1), 43.4 (C-2), 202.7 (C-3), 128.9 (C-4), 146.0 (C-5), 125.2 (C-6), 143.8 (C-7), 133.2 (C-1'), 130.3 (C-2', 6'), 116.2 (C-3', 5'), 156.6 (C-4'), 129.7 (C-1''), 111.1 (C-2''), 149.2 (C-3''), 149.4 (C-4''), 116.5 (C-5''), 122.9 (C-6''), 56.5 (3''-OCH₃)。以上数据与文献 [15] 基本一致, 故鉴定为 tsaokoarylone。

化合物 **10**: 黄色粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z :

317 [M+Na]⁺, 结合¹H-NMR 和¹³C-NMR 谱, 推测其分子式为 C₁₉H₁₈O₃。 ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ: 2.93 (2H, t, J=7.2 Hz, H-1), 2.86 (2H, t, J=7.2 Hz, H-2), 6.28 (1H, d, J=15.6 Hz, H-4), 7.40 (1H, dd, J=15.6, 10.8 Hz, H-5), 6.86 (1H, dd, J=15.6, 10.8 Hz, H-6), 7.00 (1H, d, J=15.6 Hz, H-7), 7.06 (2H, d, J=8.4 Hz, H-2', 6'), 6.72 (2H, d, J=8.4 Hz, H-3', 5'), 7.38 (2H, d, J=8.4 Hz, H-2'', 6''), 6.80 (2H, d, J=8.4 Hz, H-3'', 5''); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ: 30.9 (C-1), 43.2 (C-2), 202.9 (C-3), 128.8 (C-4), 146.2 (C-5), 124.9 (C-6), 143.7 (C-7), 133.3 (C-1'), 130.3 (C-2', 6'), 116.1 (C-3', 5'), 156.1 (C-4'), 129.2 (C-1''), 130.2 (C-2'', 6''), 116.7 (C-3'', 5''), 160.2 (C-4'')。以上数据与文献 [16] 基本一致, 故鉴定为 7-bis-(4-hydroxyphenyl)-4E, 6E-heptadien-3-one。

参考文献:

[1] Hong S S, Lee J H, Choi Y H, et al. Amotsaokonal A-C, benzaldehyde and cycloterpenal from *Amomum tsao-ko* [J]. *Tetrahedron Lett*, 2015, 56(48): 6681-6684.

[2] Lee K Y, Kim S H, Sung S H, et al. Inhibitory constituents of lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in BV2 microglia isolated from *Amomum tsao-ko* [J]. *Planta Med*, 2008, 74(8): 867-869.

[3] Kim J G, Jang H, Le T P L, et al. Pyranoflavanones and pyranochalcones from the fruits of *Amomum tsao-ko* [J]. *J Nat Prod*, 2019, 82(7): 1886-1892.

[4] Zhang T T, Lu C L, Jiang J G. Neuroprotective and anti-inflammatory effects of diphenylheptanes from the fruits of *Amomum tsao-ko*, a Chinese spice [J]. *Plant Foods Hum Nutr*,

2016, 71(4): 450-453.

[5] Zhang T T, Lu C L, Jiang J G. Bioactivity evaluation of ingredients identified from the fruits of *Amomum tsao-ko* Crevost et Lemaire, a Chinese spice [J]. *Food Funct*, 2014, 5(8): 1747-1754.

[6] 闫倩, 俞龙泉, 陈野, 等. 草果甲醇溶出物对D-半乳糖致衰老小鼠的抗氧化作用机理研究 [J]. *食品工业科技*, 2014, 35(6): 351-356.

[7] 黄赞兴, 舒任庚. 山蜡梅叶化学成分研究 [J]. *中药材*, 2017, 40(12): 2856-2858.

[8] 黄洋, 邵慧凯, 李康, 等. 小叶榕叶抗炎成分分析及活性评价 [J]. *中成药*, 2014, 36(6): 1227-1233.

[9] 霍立娜, 王威, 刘洋, 等. 紫苏叶化学成分研究 [J]. *中草药*, 2016, 47(1): 26-31.

[10] Ly T N, Yamauchi R, Shimoyamada M, et al. Isolation and structural elucidation of some glycosides from the rhizomes of smaller galanga (*Alpinia officinarum* Hance) [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50(17): 4919-4924.

[11] Lv X, Wang C Y, Hou J, et al. Isolation and identification of metabolites of osthole in rats [J]. *Xenobiotica*, 2012, 42(11): 1120-1127.

[12] 李筱玲, 徐石海, 曾向潮, 等. 网膜藻 *Hydroclathrus clathratus* 的化学成分研究 [J]. *有机化学*, 2004, 24(9): 1060-1063.

[13] Jung K Y, Kim D S, Oh S R, et al. Sesquiterpene components from the flower buds of *Magnolia fargesii* [J]. *Arch Pharmacol Res*, 1997, 20(4): 363-367.

[14] Kikuzaki H, Kayano S I, Fukutsuka N, et al. Abscisic acid related compounds and lignans in prunes (*Prunus domestica* L.) and their oxygen radical absorbance capacity (ORAC) [J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52(2): 344-349.

[15] Moon S S, Cho S C, Lee J Y. Tsaokoarylone, a cytotoxic diarylheptanoid from *Amomum tsao-ko* fruits [J]. *Bull Korean Chem Soc*, 2005, 26(3): 447-450.

[16] 王刚, 林彬彬, 刘劲松, 等. 黄药子化学成分研究 [J]. *中国中药杂志*, 2009, 34(13): 1679-1682.