

• 化学成分 •

黑老虎的化学成分研究

舒永志¹, 成 亮^{1*}, 曹濬喆², 廉明勳², 杨培明¹

1. 上海医药工业研究院 创新药物与制药工艺国家重点实验室, 上海 200040

2. (株) 爱茉莉太平洋技术研究院, 京畿道, 韩国 446-729

摘 要: 目的 研究冷饭团 *Kadsura coccinea* 根茎(黑老虎)的化学成分。方法 运用硅胶柱色谱、制备薄层、RP-HPLC 等方法分离纯化, 根据理化性质以及光谱数据, 对得到的化合物进行结构鉴定。结果 共分离得到 9 个化合物, 分别鉴定为南五味子素 O (1)、kadsuracoccinic acid A (2)、kadsuralignan F (3)、新南五味子木脂宁 (4)、南五味子素 N (5)、kadsurene A methyl ester (6)、原儿茶酸 (7)、丁香酸 (8)、胡萝卜苷 (9)。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为南五味子素 O; 化合物 8 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 黑老虎; 南五味子素 O; 新南五味子木脂宁; 南五味子素 N; 丁香酸

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)03-0428-04

Chemical constituents in roots and vine stems of *Kadsura coccinea*SHU Yong-zhi¹, CHENG Liang¹, CHO Jun-cheol², YEOM Myeong-hun², YANG Pei-ming¹

1. State Key Laboratory of New Drug and Pharmaceutical Process, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200040, China

2. Amorepacific R&D Center, Gyeonggi-do 446-729, Republic of Korea

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents from the roots and vine stems of *Kadsura coccinea*. **Methods** The compounds were isolated and purified by column chromatography, preparative TLC, and RP-HPLC. The structures were elucidated by means of physicochemical properties and spectroscopic analyses. **Results** Nine compounds were separated and identified as kadsulignan O (1), kadsuracoccinic acid A (2), kadsuralignan F (3), neokadsuranin (4), kadsulignan N (5), kadsurene A methyl ester (6), protocatechuic acid (7), syringic acid (8), and daucosterol (9). **Conclusion** Compound 1 is a new compound named kadsulignan O. Compound 8 is firstly isolated from roots and vine stems of *K. coccinea*.

Key words: roots and vine stems of *Kadsura coccinea* (Lem.) A. C. Smith; kadsulignan O; neokadsuranin; kadsulignan N; syringic acid

黑老虎为五味子科南五味子属植物冷饭团 *Kadsura coccinea* (Lem.) A. C. Smith 的根和蔓茎, 别名过山龙、钻地风等, 主要分布于我国江西、湖南、福建、广西、四川、云南等地。味辛、微苦, 性温, 具有行气止痛、散瘀通络的功效, 主治风湿痹痛、跌打损伤、胃病及妇科病等。现代医学研究表明黑老虎具有抗氧化、抗肿瘤、抗病毒、抗肝纤维化等作用。1985 年以前鲜有关于黑老虎化学成分方面的报道, 之后国内外学者对黑老虎的化学成分进行了一系列研究, 已发现的化学成分主要包括木脂素类和三萜类, 其次还有单萜类、倍半萜类、甾体类、

氨基酸等成分, 其中黑老虎中的木脂素类和三萜类化合物是近年来的研究热点^[1]。为了进一步明确黑老虎的化学成分, 本课题组对黑老虎二氯甲烷部位进行化学成分研究, 从中分离得到 9 个化合物, 分别鉴定为南五味子素 O (kadsulignan O, 1)、kadsuracoccinic acid A (2)、kadsuralignan F (3)、新南五味子木脂宁 (neokadsuranin, 4)、南五味子素 N (kadsulignan N, 5)、kadsurene A methyl ester (6)、原儿茶酸 (protocatechuic acid, 7)、丁香酸 (syringic acid, 8)、胡萝卜苷 (daucoesterol, 9)。化合物 1 为新化合物, 化合物 8 为首次从黑老虎中分离得到。

收稿日期: 2011-11-30

作者简介: 舒永志 (1986—), 男, 硕士, 主要从事天然药物化学研究。Tel: (021)62790148 E-mail: shuyongzhi1986@163.com

*通讯作者 成 亮 Tel: (021)62790148 E-mail: solocheng@163.com

网络出版时间: 2012-01-18 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20120118.1658.001.html>

1 仪器与材料

Reichert 熔点测定仪, Avance 600MR 核磁共振波谱仪 (瑞士 Bruker 公司), Inova-400 型核磁共振仪 (Varian 公司), Q-TOFmicro 四级杆飞行质谱仪 (英国 Micromass 公司), 制备型液相色谱仪 (LC-20AP 型泵和 SPD-M20A 型检测器, 日本岛津公司), 硅胶 GF₂₅₄ 薄层预制板 (烟台江友硅胶开发有限公司产品), 300~400 目柱色谱用硅胶 (上海上邦实业有限公司产品), HPLC 制备柱 (YMC-Pack ODS-A, 250 mm×10 mm, 5 μm, 日本 YMC 公司), 所用试剂均为分析纯。

黑老虎饮片购自广西, 由第二军医大学药学院生药教研室郑汉臣教授鉴定为五味子科南五味子属植物冷饭团 *Kadsura coccinea* (Lem.) A. C. Smith 的根茎。

2 提取与分离

干燥的黑老虎饮片 30 kg, 以 95%乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h, 提取液合并、减压浓缩, 得到总浸膏 2.6 kg。将浸膏悬浮于水中, 依次用石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯、正丁醇反复萃取, 得到各自的萃取部位。二氯甲烷部位 (240 g) 经硅胶柱色谱分离, 用石油醚-醋酸乙酯 (100:0→0:100) 梯度洗脱, 得到 12 个流分。流分 3 浓缩后静置 1 d, 析出化合物 **2** (3.1 g), 其母液经硅胶色谱柱以及制备 HPLC 分离得到化合物 **3** (30.4 mg)、**4** (120 mg)、**5** (33.8 mg)、**1** (15.7 mg)、**6** (40 mg)。流分 10 经硅胶色谱柱和制备薄层得到化合物 **7** (30 mg)、**8** (18 mg)、**9** (41 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末, 高分辨质谱 HR-ESI-MS 给出 m/z : 659.246 5 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{35}H_{40}O_{11}$, 不饱和度为 16。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) 和 ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) 上显示有 12 个芳香碳信号 δ_C : 151.4, 141.2, 152.0, 110.2, 129.5, 132.9, 101.8, 148.8, 135.4, 140.4, 120.4, 121.8, 两个芳香氢信号 δ_H : 6.84 (1H, s), 6.53 (1H, s), 4 个甲氧基信号 δ_H : 3.66 (3H, s), 3.87 (3H, s), 3.96 (3H, s), 3.31 (3H, s), 1 个二氧亚甲基信号 δ_H : 5.77 (1H, d, $J = 1.4$ Hz), 5.63 (1H, d, $J = 1.4$ Hz), 提示化合物 **1** 结构中存在联苯基团^[2-3]。HMBC 谱 (图 1) 显示 H-11 同 C-9, 12, 13, 15 相关, H-4 同 C-2, 3, 5, 6, 16 相关, H-17 同 C-6, 7, 8 相关, H-18 同 C-7, 8, 9 相关。以上数据表明化合物 **1** 为一个联苯环辛烯类木脂素。

1H -NMR 谱中还显示存在两个甲基信号 δ_H :

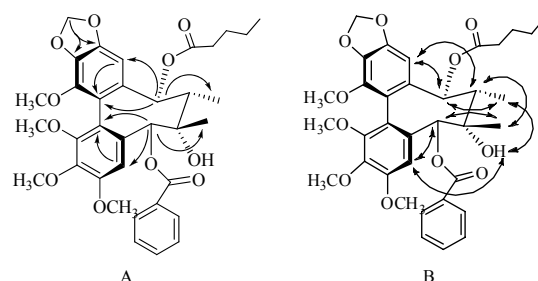


图1 化合物 **1** 的 HMBC (A) 和 NOESY (B) 主要相关
Fig. 1 Key HMBC (A) and NOESY (B) correlations of compound **1**

1.40 (3H, s, H-17) 和 1.32 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-18); ^{13}C -NMR 谱中还显示存在 1 组苯酰氧基信号 δ_C : 164.7, 129.3, 129.5, 127.9, 132.9, 127.9, 129.3; 1 组正戊酯基信号 δ_C : 174.8, 40.1, 26.8, 15.0, 11.1; 以及 1 个羟基信号 δ_H 2.21 (1H, s), 此羟基信号加重水后消失。

HMBC 谱显示上述 4 个甲氧基分别同 C-1, 2, 3, 14 相关, 由此确定甲氧基的位置。二氧亚甲基上的氢信号同 C-12 和 C-13 相关表明该基团连在 C-12 和 C-13 位上。且 5.89 (1H, s, H-6) 与 164.7 (C-1') 有相关峰, 说明苯酰氧基连在 6 位; 5.82 (1H, s, H-9) 与 174.8 (C-1'') 有相关峰, 说明正戊酯基连在 9 位。而羟基和 C-7, 17 相关表明该羟基连在 C-7 上。CD 谱在 243 nm 附近存在负的 Cotton 效应, 在 227 nm 附近存在正的 Cotton 效应, 显示化合物 **1** 结构中联苯的构型为 S 型^[4]。NOESY 谱 (图 1) 显示 H-11 同 H-8, 9 相关; H-4 同 H-6, OH-7 相关; 17-CH₃ 同 H-6, 8 相关; 18-CH₃ 同 H-9, OH-7 相关, 表明化合物 **1** 结构中环辛二烯结构为扭曲船椅式^[5], 其绝对构型为: C-6 (S), C-7 (S), C-8 (S), C-9 (R)。确定化合物 **1** 为新化合物, 命名为南五味子素 O (kadsulignan O)。化合物 **1** 的 1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据见表 1。

化合物 **2**: 无色方晶 (丙酮), mp 150~151 °C。ESI-MS m/z : 491.13 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 2.55 (1H, m, H-1a), 2.43 (1H, m, H-1b), 2.16 (1H, m, H-2a), 1.76 (1H, m, H-2b), 2.06 (1H, m, H-5), 1.58 (1H, m, H-6a), 1.79 (1H, H-6b), 1.26 (1H, m, H-7a), 1.64 (1H, m, H-7b), 2.10 (1H, m, H-8), 5.38 (1H, d, $J = 5.6$ Hz, H-11), 2.16 (1H, m, H-12a), 2.42 (1H, m, H-12b), 1.46 (2H, m, H-15), 2.25 (2H, m, H-16), 0.82 (3H, s, H-18), 1.07 (3H, s, H-19), 1.58 (3H, s, H-21), 1.92 (1H, m, H-22a), 2.44 (1H, m, H-22b), 2.25 (1H, m, H-23a), 2.65 (1H, m, H-23b),

表 1 化合物 1 的 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据 (CDCl_3)
Table 1 ^1H -NMR and ^{13}C -NMR data of compound 1 (CDCl_3)

碳位	δ_{H}	δ_{C}	碳位	δ_{H}	δ_{C}
1		151.4	1'		164.7
2		141.2	2'		129.3
3		152.0	3'	7.49 (1H, m)	129.5
4	6.84 (1H, s)	110.2	4'	7.32 (1H, m)	127.9
5		129.5	5'	7.51 (1H, m)	132.9
6	5.89 (1H, s)	85.3	6'	7.32 (1H, m)	127.9
7		74.0	7'	7.47 (1H, m)	129.3
8	2.33 (1H, m)	43.3	1''		174.8
9	5.82 (1H, s)	83.2	2''	1.70 (2H, m)	40.1
10		132.9	3''	1.36 (2H, m)	26.8
11	6.53 (1H, s)	101.8	4''	1.31 (2H, m)	15.0
12		148.8	5''	0.78 (3H, t, $J = 7.0$ Hz)	11.1
13		135.4	1-OCH ₃	3.66 (3H, s)	60.7
14		140.4	2-OCH ₃	3.87 (3H, s)	60.5
15		120.4	3-OCH ₃	3.96 (3H, s)	56.0
16		121.8	14-OCH ₃	3.31 (3H, s)	58.6
17	1.40 (3H, s)	28.7	12, 13-OCH ₂ O	5.77 (1H, d, $J = 1.4$ Hz)	100.8
18	1.32 (3H, d, $J = 6.6$ Hz)	17.1		5.63 (1H, d, $J = 1.4$ Hz)	

6.07 (1H, t, H-24), 1.92 (3H, s, H-27), 4.71 (1H, brs, H-28), 4.87 (1H, brs, H-28), 1.77 (3H, s, H-29), 0.71 (3H, s, H-30); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 29.1 (C-1), 32.1 (C-2), 181.3 (C-3), 147.6 (C-4), 49.5 (C-5), 27.8 (C-6), 26.7 (C-7), 41.6 (C-8), 142.1 (C-9), 42.7 (C-10), 118.9 (C-11), 36.2 (C-12), 47.3 (C-13), 46.3 (C-14), 33.0 (C-15), 28.8 (C-16), 143.1 (C-17), 21.2 (C-18), 26.7 (C-19), 124.6 (C-20), 19.8 (C-21), 33.6 (C-22), 29.6 (C-23), 145.8 (C-24), 126.4 (C-25), 173.8 (C-26), 20.4 (C-27), 113.8 (C-28), 23.1 (C-29), 19.1 (C-30)。以上数据与文献报道基本一致^[6], 故鉴定化合物 2 为 kadsuracoccinic acid A。

化合物 3: 白色粉末。ESI-MS m/z : 421.16 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 6.42 (1H, s, H-4), 4.30 (1H, d, $J = 6.9$ Hz, H-6), 2.65 (1H, m, H-7), 2.05 (1H, m, H-8), 4.89 (1H, s, H-9), 6.30 (1H, s, H-11), 1.05 (6H, d, $J = 7.0$ Hz, H-17, 18), 5.90 (1H, s, H-19), 5.96 (1H, s, H-20), 3.76 (3H, s, 1-OCH₃), 3.84 (3H, s, 14-OCH₃); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 144.6 (C-1), 137.1 (C-2), 147.4 (C-3), 103.5 (C-4), 140.0 (C-5), 90.4 (C-6), 37.4 (C-7), 52.9 (C-8), 90.1 (C-9), 136.7 (C-10), 100.1 (C-11), 148.3 (C-12), 135.8 (C-13), 142.6 (C-14), 119.0 (C-15), 118.2 (C-16), 14.1

(C-17), 13.6 (C-18), 101.0 (C-19), 100.9 (C-20), 60.2 (1-OCH₃), 60.1 (14-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[7], 故鉴定化合物 3 为 kadsuralignan F。

化合物 4: 无色方晶 (丙酮), mp 113~115 $^{\circ}\text{C}$ 。API-MS m/z : 415.07 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 6.49 (1H, s, H-4), 4.34 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-6), 2.69 (1H, m, H-7), 2.08 (1H, m, H-8), 4.90 (1H, s, H-9), 6.31 (1H, s, H-11), 1.05 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-17), 1.06 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-18), 5.96 (1H, s, H-19a), 5.90 (1H, s, H-19b), 3.47 (3H, s, 1-OCH₃), 3.87 (3H, s, 2-OCH₃), 3.91 (3H, s, 3-OCH₃), 3.91 (3H, s, 14-OCH₃); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 155.0 (C-1), 151.2 (C-2), 141.4 (C-3), 107.2 (C-4), 140.9 (C-5), 90.8 (C-6), 37.5 (C-7), 52.6 (C-8), 90.6 (C-9), 136.6 (C-10), 99.9 (C-11), 135.8 (C-12), 148.4 (C-13), 142.5 (C-14), 118.9 (C-15), 118.7 (C-16), 14.2 (C-17), 13.6 (C-18), 100.9 (C-19), 60.3 (1-OCH₃), 55.9 (2-OCH₃), 60.1 (3-OCH₃), 59.9 (14-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[8], 故鉴定化合物 4 为新南五味子木脂宁。

化合物 5: 白色粉末。ESI-MS m/z : 453.29 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 6.49 (1H, s, H-1a), 4.36 (1H, d, $J = 6.6$ Hz, H-1b), 2.67 (1H, m,

H-7), 2.09 (1H, m, H-8), 4.97 (1H, s, H-9), 6.36 (1H, s, H-11), 1.08 (3H, s, H-17), 1.10 (3H, s, H-18), 3.52 (3H, s, 1-OCH₃), 3.87 (3H, s, 2-OCH₃), 3.89 (3H, s, 3-OCH₃), 3.90 (3H, s, 12-OCH₃), 3.88 (3H, s, 13-OCH₃), 3.52 (3H, s, 14-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 154.8 (C-1), 140.7 (C-2), 152.3 (C-3), 106.8 (C-4), 141.4 (C-5), 90.5 (C-6), 37.7 (C-7), 52.4 (C-8), 90.3 (C-9), 137.2 (C-10), 103.8 (C-11), 151.4 (C-12), 140.5 (C-13), 153.2 (C-14), 119.8 (C-15), 118.2 (C-16), 14.1 (C-17), 13.6 (C-18), 61.2 (1-OCH₃), 56.0 (2-OCH₃), 61.2 (3-OCH₃), 61.0 (12-OCH₃), 55.9 (13-OCH₃), 61.0 (14-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[7], 故鉴定化合物 **5** 为南五味子木脂素 N。

化合物 **6**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 505.30 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.80 (1H, m, H-1a), 1.98 (1H, m, H-1b), 2.26 (1H, m, H-2a), 2.48 (1H, m, H-2b), 2.05 (1H, m, H-5), 1.53 (1H, m, H-6a), 1.80 (1H, m, H-6b), 2.25 (1H, m, H-7a), 2.42 (1H, m, H-7b), 2.12 (1H, m, H-8), 5.39 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-11), 2.24 (1H, m, H-12a), 2.39 (1H, m, H-12b), 1.23 (2H, m, H-15a), 1.63 (2H, m, H-15b), 1.42 (1H, m, H-16a), 2.08 (1H, m, H-16b), 0.82 (3H, s, H-18), 1.06 (1H, m, H-19), 1.57 (1H, s, H-21), 2.08 (1H, m, H-22a), 2.28 (1H, m, H-22b), 2.50 (1H, m, H-23a), 2.70 (1H, m, H-23b), 6.08 (1H, t, $J = 6.0$ Hz, H-24), 1.92 (3H, s, H-27), 4.72 (1H, s, H-28a), 4.86 (1H, s, H-28b), 1.76 (3H, s, H-29), 0.70 (3H, s, H-30), 3.66 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 32.3 (C-1), 28.8 (C-2), 174.9 (C-3), 147.4 (C-4), 49.3 (C-5), 27.8 (C-6), 28.8 (C-7), 41.5 (C-8), 142.2 (C-9), 42.4 (C-10), 118.5 (C-11), 36.6 (C-12), 47.2 (C-13), 46.1 (C-14), 26.7 (C-15), 33.0 (C-16), 142.8 (C-17), 21.2 (C-18), 26.7 (C-19), 124.8 (C-20), 19.5 (C-21), 33.0 (C-22), 29.2 (C-23), 146.6 (C-24), 126.0 (C-25), 172.9 (C-26), 20.3 (C-27), 113.6 (C-28), 23.1 (C-29), 19.0 (C-30), 51.3 (-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[7], 故鉴定化合物 **6** 为 kadsurene A methyl ester。

化合物 **7**: 白色无定型粉末。ESI-MS m/z : 152.96 [M+H]⁺。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.35 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 7.30 (1H, dd, $J = 2.0, 8.0$ Hz), 6.79 (1H, d, $J = 8.0$ Hz) 表明结构中存在 ABX 自旋系统, 分别为苯环 2, 6, 5 位芳香质子信号。与原儿茶酸对照品共薄层, 3 种溶剂系统展开 R_f 值及显色

行为均一致。且其氢谱数据与文献报道的原儿茶酸数据基本一致^[9], 故鉴定化合物 **7** 为原儿茶酸。

化合物 **8**: 无色针晶 (丙酮), mp 212~213 °C。三氯化铁反应呈阳性, 表明化合物含有酚羟基。ESI-MS m/z : 221.05 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.62 (1H, s, -COOH), 9.10 (1H, s, -OH), 7.21 (2H, s, H-2, 6), 3.81 (6H, s, 2×-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **8** 为丁香酸。

化合物 **9**: 白色无定形粉末。ESI-MS m/z : 599.45 [M+Na]⁺。10%H₂SO₄ 显色呈紫红色, Libermann-Burchard 反应及 Molish 反应均为阳性。与胡萝卜苷对照品共薄层, 3 种溶剂系统展开 R_f 值及显色行为均一致, 混合后测定熔点不下降, 故鉴定化合物 **9** 为 β-胡萝卜苷。

致谢: 韩国爱茉莉太平洋株式会社对本实验提供的资助。

参考文献

- [1] 舒永志, 成亮, 杨培明, 等. 黑老虎的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2011, 42(4): 805-813.
- [2] 陈业高, 秦国伟, 谢毓元, 等. 五味子科植物木脂素成分的氢谱特征 [J]. 波谱学杂志, 2000, 17(5): 427-432.
- [3] 陈业高, 秦国伟, 谢毓元, 等. 五味子科植物中联苯环辛二烯木脂素的碳谱特征 [J]. 化学研究, 2001, 12(1): 55-58.
- [4] 吴红华, 李志峰, 张起辉, 等. CD 在木脂素类化合物绝对构型测定中的应用 [J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(7): 516-594.
- [5] Li X N, Pu J X, Du X, et al. Lignans with Anti-HIV activity from *Schisandra propinqua* var. *sinensis* [J]. *J Nat Prod*, 2009, 72(6): 1133-1141.
- [6] Li H R, Wang L Y, Syohei M, et al. Kadsuracoccinic acids A-C, ring-A seco-lanostane triterpenes from *Kadsura coccinea* and their effects on embryonic cell division of *Xenopus laevis* [J]. *J Nat Prod*, 2008, 71(4): 739-741.
- [7] 李贺然. 黑老虎及胡桃枝皮的化学成分研究 [D]. 北京: 协和医科大学, 2006.
- [8] Liu J S, Li L. Kadsulignans L—N, three dibenzocyclooctadiene lignans from *Kadsura coccinea* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 38(1): 241-245.
- [9] 李春梅, 安雅婷, 王涛, 等. 中药黄蜀葵花化学成分的分离与鉴定 (III) [J]. 沈阳药科大学学报, 2011, 28(7): 520-528.
- [10] 李微, 陈发奎, 尹相武, 等. 大青叶的化学成分 [J]. 沈阳药科大学学报, 2005, 22(1): 15-16.