

## 黄柏非生物碱化学成分研究

李艳萍<sup>1,2,3</sup>, 李丹丹<sup>1,2,3</sup>, 丁丽琴<sup>2,3</sup>, 邱峰<sup>1,3\*</sup>

1. 天津中医药大学中药学院, 天津 300193

2. 天津中医药大学中医药研究院, 天津 300193

3. 天津市现代中药重点实验室, 天津 300193

**摘要:** 目的 对黄柏 *Phellodendri Cortex* (黄皮树 *Phellodendron chinense* 的干燥树皮) 的非生物碱部分进行化学成分研究。方法 采用 732 型阳离子交换树脂柱色谱、D101 大孔吸附树脂柱色谱、正相硅胶柱色谱、ODS 柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱等方法进行分离纯化, 并根据化合物的理化性质、波谱及光谱数据鉴定化合物的结构。结果 从黄柏 70%乙醇提取物的非生物碱部分分离得到 14 个化合物, 分别鉴定为 (-)-3-*O*-阿魏酰奎宁酸甲酯 (1)、(-)-4-*O*-阿魏酰奎宁酸甲酯 (2)、(-)-绿原酸甲酯 (3)、(-)-5-*O*-阿魏酰奎宁酸甲酯 (4)、毛柳苷 (5)、阿魏酸甲酯 (6)、咖啡酸甲酯 (7)、4-羟基苯乙醇 (8)、3,4,5-三甲基苯酚-*O*- $\beta$ -*D*-葡萄糖苷 (9)、2-methoxy-4-(2-propenyl) phenyl- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (10)、tachinoside (11)、丁香酸甲酯 (12)、(6*S*)-去氢催吐萝芙木醇 (13)、(6*R*,7*aR*)-地艾普内酯 (14)。结论 化合物 9~14 均为首次从该属植物中分离得到。

**关键词:** 黄柏; 非生物碱; 3,4,5-三甲基苯酚-*O*- $\beta$ -*D*-葡萄糖苷; 丁香酸甲酯; (6*S*)-去氢催吐萝芙木醇; (6*R*,7*aR*)-地艾普内酯  
中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)15-2621-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.15.007

## Non-alkaloids components from *Phellodendri Cortex*

LI Yan-ping<sup>1,2,3</sup>, LI Dan-dan<sup>1,2,3</sup>, DING Li-qin<sup>2,3</sup>, QIU Feng<sup>1,3</sup>

1. School of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. Institute of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

3. Tianjin State Key Laboratory of Modern Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

**Abstract: Objective** To study the non-alkaloids from the 70% ethanolic extracts of *Phellodendri Cortex*. **Methods** A variety of 732 cation exchange resin chromatography, D101 macroporous adsorbent resin chromatography, silica gel chromatography, ODS column chromatography, Sephadex LH-20 chromatography, and preparative HPLC methods were used for the separation and purification of chemical composition. Their structures were established on the basis of physicochemical properties and spectral analysis. **Results** Fourteen compounds were identified as (-)-3-*O*-feruloylquinic acid methyl ester (1), (-)-4-*O*-feruloylquinic acid methyl ester (2), (-)-chlorogenic acid methyl ester (3), (-)-5-*O*-feruloylquinic acid methyl ester (4), salidroside (5), methyl ferulate (6), caffeic acid methyl ester (7), p-hydroxybenzyl ethanol (8), 3,4,5-trimethoxyphenol-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (9), 2-methoxy-4-(2-propenyl) phenyl  $\beta$ -*D*-glucopyranoside (10), tachinoside (11), methyl syringate (12), (6*S*)-dehydrovomifoliol (13), and (6*R*,7*aR*)-epiloliolide (14). **Conclusion** Compounds 9—14 are isolated from the plants in this genus for the first time.

**Key words:** *Phellodendri Cortex*; non-alkaloids; 3,4,5-trimethoxyphenol-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside; methyl syringate; (6*S*)-dehydrovomifoliol; (6*R*,7*aR*)-epiloliolide

黄柏 *Phellodendri Cortex* 为芸香科 (Rutaceae) 植物黄皮树 *Phellodendron chinense* Schneid. 的干燥树皮, 习称“川黄柏”, 是临床常用中药。黄柏味苦, 性寒, 归肾、膀胱经, 具有清热燥湿、泻火除

蒸、解毒疗疮的功效, 用于治疗湿热泻痢、黄疸尿赤、带下阴痒、热淋涩痛、脚气痿躄、骨蒸劳热、盗汗、遗精、疮疡肿毒、湿疹湿疮<sup>[1]</sup>。黄柏的化学成分报道最早见于日本学者村山义温等对日本产黄

收稿日期: 2016-04-17

基金项目: 国家自然科学基金重点项目 (81430095)

作者简介: 李艳萍 (1989—), 女, 在读硕士, 研究方向为天然药物活性成分。E-mail: anney575@163.com

\*通信作者 邱峰 (1967—), 男, 博士生导师, 教授, 研究方向为中药及天然药物药效物质。E-mail: fengqiu20070118@163.com

槲 *Phellodendron amurense* Rupr. 的研究, 从中分离得到小檗碱 (berberine) 及少量巴马汀 (palmatine), 此后各国学者陆续报道了其他的化学成分<sup>[2]</sup>。至今, 对黄柏的化学成分和药理作用的研究大部分集中在生物碱部分, 对非生物碱部分的研究相对较少, 因此, 为了深入研究黄柏药理活性的物质基础, 本课题对黄柏 70%乙醇提取物经阳离子交换树脂处理后得到的非生物碱部分进行较深入的化学成分研究, 从中分离得到 14 个化合物, 分别鉴定为 (-)-3-*O*-阿魏酰奎宁酸甲酯 [(-)-3-*O*-feruloylquinic acid methyl ester, **1**]、(-)-4-*O*-阿魏酰奎宁酸甲酯 [(-)-4-*O*-feruloylquinic acid methyl ester, **2**]、(-)-绿原酸甲酯 [(-)-chlorogenic acid methyl ester, **3**]、(-)-5-*O*-阿魏酰奎宁酸甲酯 [(-)-5-*O*-feruloylquinic acid methyl ester, **4**]、毛柳苷 (salidroside, **5**)、阿魏酸甲酯 (methyl ferulate, **6**)、咖啡酸甲酯 (caffeic acid methyl ester, **7**)、4-羟基苯乙醇 (*p*-hydroxybenzyl ethanol, **8**)、3,4,5-三甲氧基苯酚-*O*- $\beta$ -*D*-葡萄糖苷 (3,4,5-trimethoxy phenol-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside, **9**)、2-methoxy-4-(2-propenyl) phenyl- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (**10**)、tachinoside (**11**)、丁香酸甲酯 (methyl syringate, **12**)、(6*S*)-去氢催吐萝芙木 [(6*S*)-dehydrovomifoliol, **13**]、(6*R*,7*aR*)-地芝普内酯 [(6*R*,7*aR*)-epiloliolide, **14**]。其中化合物 **9**~**14** 均为首次从该属植物中分离得到。

### 1 仪器与材料

Waters-e2695 高效液相色谱仪; Waters-2535 制备液相色谱仪; 岛津 LC-6AD 型制备液相色谱仪; Bruker PLUS 400 MHz 核磁共振波谱仪; Waters Xevo G2 Q-TOF MS 质谱仪; AUTOPOL V 旋光仪; 柱层层析硅胶 100~200、200~300 目 (青岛鼎康硅胶有限公司); ODS-A-HG 12 nm S-50  $\mu$ m (日本 YMC 公司); Sephadex LH-20 (Pharmacia, 瑞典); D101 大孔吸附树脂 (天津波鸿树脂科技有限公司); 732 型强酸性阳离子交换树脂 (天津市申泰化学试剂有限公司); 所用试剂均为分析纯或者色谱纯 (天津康科德试剂公司)。

黄柏药材经天津中医药大学张丽娟教授鉴定为黄皮树 *Phellodendron chinense* Schneid. 的干燥树皮, 现保存于天津中医药大学中药学院。

### 2 提取与分离

黄柏干燥树皮 9.0 kg, 70%乙醇-水 10 倍量回流提取 3 次, 每次 2 h, 合并提取液, 48  $^{\circ}$ C 条件下减

压回收溶剂, 浓缩后得到总浸膏, 用水 (5 L) 分散, 4%稀硫酸调 pH 值为 4~5 后, 经 732 型阳离子交换树脂富集生物碱, 得到非生物碱 435 g (经 TLC 检测, 碘化铋钾反应呈阴性)。

非生物碱经 D101 大孔吸附树脂以乙醇-水 (0:100 $\rightarrow$ 95:5) 梯度初步洗脱, 得到 5 个粗流分 (Fr. 1~5)。因各流分间存在部分交叉, 故将 Fr. 2 (100 g) 再次经 D101 大孔吸附树脂以乙醇-水 (10:90 $\rightarrow$ 95:5) 梯度洗脱, 得到 3 个流分 (Fr. 2-1~2-3); 将 Fr. 3 (50 g) 再次经 D101 大孔吸附树脂以乙醇-水 (10:90 $\rightarrow$ 95:5) 梯度洗脱, 得到 8 个流分 (Fr. 3-1~3-8)。

Fr. 2-1 (28 g) 经 ODS 柱色谱洗脱, Sephadex LH-20 凝胶柱色谱洗脱以及制备 HPLC (甲醇-水 30:70) 得到化合物 **1** (12 mg) 和 **5** (33.6 mg)。Fr. 2-2 (4 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱洗脱以及制备 HPLC (甲醇-水 35:65) 纯化得到化合物 **2** (20 mg)、**3** (154 mg)、**4** (135 mg)。

Fr. 3-1 经 ODS 柱色谱洗脱, Sephadex LH-20 凝胶柱色谱洗脱, 得到化合物 **7** (13.4 mg)。Fr. 3-2 经 Sephadex LH-20 柱色谱洗脱以及制备 HPLC (甲醇-水 45:55) 纯化得到化合物 **8** (21.7 mg) 和 **9** (9.5 mg)。Fr. 3-4 (145 mg) 经 Sephadex LH-20 柱色谱洗脱以及制备 HPLC (甲醇-水 35:65) 纯化得到化合物 **10** (38.4 mg) 和 **11** (23.4 mg)。Fr. 3-5 (130 mg) 经 Sephadex LH-20 柱色谱洗脱以及制备 HPLC (甲醇-水 35:65) 得到化合物 **12** (41.4 mg)。Fr. 3-6 (180 mg) 经硅胶柱色谱和 Sephadex LH-20 柱色谱反复纯化得到化合物 **13** (11.2 mg) 和 **14** (14.9 mg)。Fr. 3-7 (2 g) 经硅胶柱色谱, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH (100:0 $\rightarrow$ 0:100) 梯度洗脱和 Sephadex LH-20 柱色谱洗脱得到化合物 **6** (22.7 mg)。

### 3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末 (CH<sub>3</sub>OH);  $[\alpha]_D^{25}$  -28.16 $^{\circ}$  (MeOH, *c* 0.12); HR-ESI-MS *m/z*: 381.121 4 [M-H]<sup>-</sup> (计算值 382.126 4), 结合 <sup>1</sup>H-NMR 和 <sup>13</sup>C-NMR 数据确定分子式为 C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>O<sub>9</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 7.56 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, H-7), 7.29 (1H, d, *J* = 1.6 Hz, H-2), 7.10 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz, H-6), 6.78 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5), 6.45 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, H-8), 5.17 (1H, m, H-3'), 4.00 (1H, m, H-4'), 3.82 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>), 3.61 (1H, m, H-5'), 3.59 (3H, s, -COOCH<sub>3</sub>), 2.05 (2H, m, H-6'),

1.90 (2H, m, H-2');  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 174.2 (C=O), 166.1 (C-9), 149.1 (C-4), 148.0 (C-3), 144.5 (C-7), 125.7 (C-1), 123.0 (C-6), 115.5 (C-5, 8), 111.0 (C-2), 72.6 (C-1'), 70.3 (C-3'), 69.7 (C-4'), 67.8 (C-5'), 55.7 (3-OCH<sub>3</sub>), 51.5 (COOCH<sub>3</sub>), 38.1 (C-6'), 35.0 (C-2')。以上数据与文献报道基本一致<sup>[3]</sup>, 故鉴定化合物 **1** 为 (-)-3-*O*-阿魏酰奎宁酸甲酯。

化合物 **2**: 黄色油状物 (CH<sub>3</sub>OH);  $[\alpha]_D^{25}$  -49.4° (MeOH, *c* 0.10); HR-ESI-MS *m/z*: 381.122 1 [M-H]<sup>-</sup> (计算值 382.126 4), 结合  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  数据确定分子式为 C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>O<sub>9</sub>。 $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.63 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-7), 7.13 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-2), 7.02 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.9 Hz, H-6), 6.75 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5), 6.38 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-8), 4.75 (1H, dd, *J* = 3.0, 2.5 Hz, H-4'), 4.22 (1H, m, H-5'), 4.16 (1H, m, H-3'), 3.83 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>), 3.68 (3H, s, -COOCH<sub>3</sub>), 2.16 (2H, m, H-2'), 1.93 (2H, m, H-6');  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 175.8 (C=O), 169.0 (C-9), 150.8 (C-4), 149.5 (C-3), 147.1 (C-7), 128.0 (C-1), 124.2 (C-6), 116.6 (C-5), 115.9 (C-8), 111.9 (C-2), 78.7 (C-1'), 76.5 (C-4'), 69.1 (C-5'), 65.9 (C-3'), 56.6 (3-OCH<sub>3</sub>), 53.1 (COOCH<sub>3</sub>), 42.3 (C-6'), 38.6 (C-2')。以上数据与文献报道基本一致<sup>[4]</sup>, 故鉴定化合物 **2** 为 (-)-4-*O*-阿魏酰奎宁酸甲酯。

化合物 **3**: 绿色油状物 (CH<sub>3</sub>OH);  $[\alpha]_D^{25}$  -108.1° (MeOH, *c* 0.08); HR-ESI-MS *m/z*: 367.105 7 [M-H]<sup>-</sup> (计算值 368.110 7), 结合  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  数据确定分子式为 C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>O<sub>9</sub>。 $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.52 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-7), 7.03 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-2), 6.94 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.9 Hz, H-6), 6.78 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5), 6.21 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-8), 5.27 (1H, m, H-5'), 4.13 (1H, m, H-3'), 3.73 (1H, m, H-4'), 3.69 (3H, s, -COOCH<sub>3</sub>), 2.18 (2H, m, H-6'), 1.99~2.19 (2H, m, H-2');  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 175.6 (C=O), 168.4 (C-9), 149.8 (C-4), 147.3 (C-7), 147.0 (C-3), 127.8 (C-1), 123.1 (C-6), 116.7 (C-5), 115.2 (C-2, 8), 76.0 (C-1'), 72.7 (C-4'), 72.2 (C-5'), 70.5 (C-3'), 53.1 (COOCH<sub>3</sub>), 38.2 (C-2'), 37.9 (C-6')。以上数据与文献报道基本一致<sup>[5]</sup>, 故鉴定化合物 **3** 为 (-)-绿原酸甲酯。

化合物 **4**: 黄色油状物 (CH<sub>3</sub>OH);  $[\alpha]_D^{25}$  -30.6° (MeOH, *c* 0.10); HR-ESI-MS *m/z*: 381.121 8 [M-H]<sup>-</sup> (计算值 382.126 4), 结合  $^1\text{H-NMR}$  和

$^{13}\text{C-NMR}$  数据确定分子式为 C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>O<sub>9</sub>。 $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.51 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-7), 7.10 (1H, d, *J* = 1.6 Hz, H-2), 7.00 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz, H-6), 6.74 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5), 6.24 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-8), 5.21 (1H, m, H-5'), 4.01 (1H, m, H-3'), 3.82 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>), 3.66 (1H, m, H-4'), 3.62 (3H, s, -COOCH<sub>3</sub>), 2.13 (2H, m, H-2'), 2.02 (2H, m, H-6');  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 175.6 (C=O), 168.4 (C-9), 151.0 (C-4), 149.6 (C-3), 147.2 (C-7), 127.8 (C-1), 124.3 (C-6), 116.7 (C-5), 115.6 (C-8), 111.8 (C-2), 76.0 (C-1'), 72.8 (C-4'), 72.3 (C-3'), 70.5 (C-5'), 56.6 (3-OCH<sub>3</sub>), 53.1 (COOCH<sub>3</sub>), 38.2 (C-2', 6')。以上数据与文献报道基本一致<sup>[6]</sup>, 故鉴定化合物 **4** 为 (-)-5-*O*-阿魏酰奎宁酸甲酯。

化合物 **5**: 黄色油状物 (MeOH); HR-ESI-MS *m/z*: 345.118 8 [M+COOH]<sup>-</sup> (计算值 300.120 9), 结合  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  数据确定分子式为 C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>O<sub>7</sub>。 $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 9.17 (1H, s, -OH), 7.03 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-10, 14), 6.65 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-11, 13), 4.96 (1H, d, *J* = 5.1 Hz, -OH), 4.92 (1H, d, *J* = 5.1 Hz, -OH), 4.88 (1H, d, *J* = 5.1 Hz, -OH), 4.48 (1H, t, *J* = 5.8 Hz, -OH), 4.15 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, H-1), 3.86 (1H, dt, *J* = 9.0, 7.0 Hz, H-7a), 3.65 (1H, ddd, *J* = 11.7, 6.1, 1.8 Hz, H-6a), 3.55 (1H, dt, *J* = 9.1, 6.7 Hz, H-7b), 3.42 (1H, dt, *J* = 11.7, 5.9 Hz, H-6b), 3.10 (1H, m, H-3), 3.06 (1H, m, H-5), 3.03 (1H, m, H-4), 2.94 (1H, m, H-2), 2.73 (2H, m, H-8);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 155.6 (C-12), 129.7 (C-10, 14), 128.6 (C-9), 115.0 (C-11, 13), 102.8 (C-1), 76.9 (C-5), 76.8 (C-3), 73.4 (C-2), 70.1 (C-4), 69.9 (C-7), 61.1 (C-6), 34.8 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[7]</sup>, 故鉴定化合物 **5** 为毛柳苷。

化合物 **6**: 白色粉末 (MeOH); HR-ESI-MS *m/z*: 207.065 7 [M-H]<sup>-</sup> (计算值 208.073 6), 结合  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  数据确定分子式为 C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>。 $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.61 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-1'), 7.18 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2), 7.06 (1H, dd, *J* = 8.1, 2.0 Hz, H-6), 6.80 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-5), 6.35 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-2'), 3.89 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>), 3.76 (3H, s, 3'-OCH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 169.9 (C-3'), 150.8 (C-4), 149.5 (C-3), 147.0 (C-1'), 127.8 (C-1), 124.2 (C-6), 116.6 (C-5), 115.3 (C-2'), 111.8 (C-2), 56.6 (3-OCH<sub>3</sub>), 52.1 (3'-OCH<sub>3</sub>)。以上数

据与文献报道基本一致<sup>[8]</sup>, 故鉴定化合物 **6** 为阿魏酸甲酯。

化合物 **7**: 黄色粉末 (MeOH); HR-ESI-MS  $m/z$ : 193.053 3  $[M-H]^-$  (计算值 194.057 9), 结合  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  数据确定分子式为  $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$ 。  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.53 (1H, d,  $J = 15.9$  Hz, H-7), 7.02 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-2), 6.93 (1H, dd,  $J = 8.1, 2.0$  Hz, H-6), 6.77 (1H, d,  $J = 8.1$  Hz, H-5), 6.24 (1H, d,  $J = 16.0$  Hz, H-8), 3.75 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 169.9 (C-9), 149.7 (C-4), 147.1 (C-3), 146.9 (C-7), 127.9 (C-1), 123.0 (C-6), 116.6 (C-5), 115.3 (C-8), 115.0 (C-2), 52.1 (3-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[9]</sup>, 故鉴定化合物 **7** 为咖啡酸甲酯。

化合物 **8**: 黄色固体 (MeOH); HR-ESI-MS  $m/z$ : 137.023 5  $[M-H]^-$  (计算值 138.068 1), 结合  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  数据确定分子式为  $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_2$ 。  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.03 (2H, d,  $J = 8.2$  Hz, H-2, 6), 6.70 (2H, d,  $J = 8.2$  Hz, H-3, 5), 3.68 (2H, t,  $J = 7.2$  Hz, H-8), 2.71 (2H, t,  $J = 7.2$  Hz, H-7);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 156.9 (C-4), 131.2 (C-1), 131.1 (C-2, 6), 116.3 (C-3, 5), 64.7 (C-8), 39.6 (C-7)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[10]</sup>, 故鉴定化合物 **8** 为 4-羟基苯乙醇。

化合物 **9**: 白色粉末 (MeOH); HR-ESI-MS  $m/z$ : 391.124 7  $[M+\text{COOH}]^-$  (计算值 346.126 4), 结合  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  数据确定分子式为  $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_9$ 。  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 6.38 (2H, s, H-2, 6), 4.77 (1H, d,  $J = 5.0$  Hz, H-1'), 4.09 (2H, q,  $J = 5.3$  Hz, H-6'), 3.73 (6H, s, 3, 5-OCH<sub>3</sub>), 3.58 (3H, s, 4-OCH<sub>3</sub>), 3.42 (1H, m, H-2'), 3.26 (1H, m, H-5'), 3.20 (1H, m, H-4'), 3.10 (1H, m, H-3');  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 154.0 (C-1), 153.1 (C-3, 5), 132.4 (C-4), 101.0 (C-1'), 94.3 (C-2, 6), 77.3 (C-5'), 76.8 (C-3'), 73.2 (C-2'), 70.1 (C-4'), 60.9 (C-6'), 60.1 (4-OCH<sub>3</sub>), 55.7 (3, 5-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[11]</sup>, 故鉴定化合物 **9** 为 3,4,5-三甲氧基苯酚-*O*- $\beta$ -*D*-葡萄糖苷。

化合物 **10**: 黄色油状物 (MeOH); HR-ESI-MS  $m/z$ : 371.133 9  $[M+\text{COOH}]^-$  (计算值 326.136 6), 结合  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  数据确定分子式为  $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_7$ 。  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.08 (1H, d,  $J = 8.3$  Hz, H-6), 6.83 (1H, s, H-3), 6.72 (1H, d,  $J =$

8.3 Hz, H-5), 5.94 (1H, m, H-8), 5.05 (1H, d,  $J = 16.4$  Hz, H-9'), 5.02 (1H, d,  $J = 16.4$  Hz, H-9'), 4.84 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz, H-1'), 3.86 (2H, q,  $J = 12.4, 2.0$  Hz, H-6'), 3.85 (3H, s, H-10), 3.42 (1H, m, H-2'), 3.26 (1H, m, H-5'), 3.20 (1H, m, H-4'), 3.10 (1H, m, H-3');  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 150.9 (C-2), 146.5 (C-1), 139.1 (C-8), 136.6 (C-4), 122.2 (C-5), 118.4 (C-6), 116.0 (2-OCH<sub>3</sub>), 114.3 (C-3), 103.2 (C-1'), 78.3 (C-3'), 78.0 (C-5'), 75.1 (C-2'), 71.5 (C-4'), 62.6 (C-6'), 56.8 (C-10), 40.9 (C-7)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[12]</sup>, 故鉴定化合物 **10** 为 2-methoxy-4-(2-propenyl) phenyl- $\beta$ -*D*-glucopyranoside。

化合物 **11**: 无色油状物 (MeOH); HR-ESI-MS  $m/z$ : 347.097 5  $[M+\text{COOH}]^-$  (计算值 302.100 2), 结合  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  数据确定分子式为  $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_8$ 。  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 6.80 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-3), 6.69 (1H, d,  $J = 8.6$  Hz, H-5), 6.58 (1H, dd,  $J = 8.6, 2.2$  Hz, H-6), 4.74 (1H, d,  $J = 7.2$  Hz, H-1'), 3.90 (1H, d,  $J = 12.0$  Hz, H-6'a), 3.85 (3H, s, 2-OCH<sub>3</sub>), 3.69 (1H, d,  $J = 5.1$  Hz, H-6'b), 3.66 (1H, m, H-3'), 3.43 (1H, m, H-5'), 3.38 (1H, m, H-2'), 3.35 (1H, m, H-4');  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 153.0 (C-4), 149.4 (C-2), 143.1 (C-1), 116.1 (C-6), 110.2 (C-5), 104.0 (C-3), 103.9 (C-1'), 78.3 (C-3'), 78.2 (C-5'), 75.1 (C-2'), 71.7 (C-4'), 62.8 (C-6'), 56.5 (2-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[13]</sup>, 故鉴定化合物 **11** 为 tachinoside。

化合物 **12**: 黄色粉末 (MeOH); HR-ESI-MS  $m/z$ : 211.061 1  $[M-H]^-$  (计算值 212.068 5), 结合  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  数据确定分子式为  $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_5$ 。  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.31 (2H, s), 4.84 (6H, s), 3.87 (3H, s);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 168.8 (C-7), 149.1 (C-3, 5), 142.0 (C-4), 121.5 (C-1), 108.3 (C-2, 6), 56.9 (3, 5-OCH<sub>3</sub>), 52.6 (7-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[14]</sup>, 故鉴定化合物 **12** 为丁香酸甲酯。

化合物 **13**: 黄色油状物 (MeOH);  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +95.4^\circ$  (MeOH,  $c$  0.08); HR-ESI-MS  $m/z$ : 223.139 8  $[M+H]^+$  (计算值 222.125 6), 结合  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  数据确定分子式为  $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_3$ 。  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.01 (1H, d,  $J = 15.6$  Hz, H-7), 6.44 (1H, d,  $J = 15.6$  Hz, H-8), 5.93 (1H, s, H-4), 2.62 (1H, d,  $J = 16.8$  Hz, H-2a), 2.31 (1H, d,  $J = 16.8$  Hz, H-2b),

2.31 (3H, s, H-10), 1.90 (3H, s, H-13), 1.06 (3H, s, H-11), 1.02 (3H, s, H-12); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 200.8 (C-9), 200.5 (C-3), 164.8 (C-5), 148.5 (C-7), 131.9 (C-8), 128.2 (C-4), 80.1 (C-6), 50.7 (C-2), 42.8 (C-1), 27.8 (C-10), 24.9 (C-12), 23.7 (C-11), 19.3 (C-13)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[15-16]</sup>, 故鉴定化合物 **13** 为去氢催吐萝芙木醇。结构中 6 位为手性碳, CD 谱中 (图 1), 在 264 nm 处显示正的 Cotton 效应 (Δε +38.4), 结合文献报道<sup>[17]</sup>, 化合物 (+)-去氢催吐萝芙木醇在 261 nm 处有正的 Cotton 效应 (Δε +34.5), 确定其构型为 *S*, 故最终确定化合物 **13** 为 (*6S*)-去氢催吐萝芙木醇。其结构见图 2。

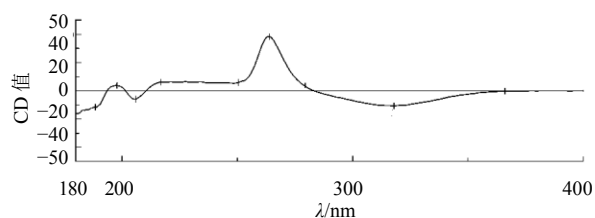


图 1 化合物 13 的 CD 图谱

Fig. 1 CD spectrum of compound 13

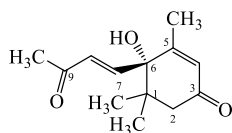


图 2 化合物 13 的结构式

Fig. 2 Structure of compound 13

化合物 **14**: 白色粉末 (MeOH);  $[\alpha]_D^{25} -88.9^\circ$  (MeOH, *c* 0.09); HR-ESI-MS *m/z*: 197.1179  $[M+H]^+$  (计算值 196.109 9), 结合 <sup>1</sup>H-NMR 和 <sup>13</sup>C-NMR 数据确定分子式为 C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>O<sub>3</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 5.75 (1H, s, H-3), 4.22 (1H, q, *J* = 3.4 Hz, H-6), 2.42 (1H, dt, *J* = 13.7, 2.4 Hz, H-7a), 2.00 (1H, dt, *J* = 14.3, 2.5 Hz, H-5b), 1.76 (3H, s, H-11), 1.75 (1H, dd, *J* = 13.7, 4.2 Hz, H-7b), 1.53 (1H, dd, *J* = 14.3, 3.8 Hz, H-5a), 1.46 (3H, s, H-9), 1.27 (3H, s, H-10); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 185.9 (C-2), 174.6 (C-8), 113.5 (C-3), 89.1 (C-7a), 67.4 (C-6), 48.1 (C-5), 46.6 (C-7), 37.3 (C-4), 31.2 (C-10), 27.6 (C-11), 27.1 (C-9)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[18]</sup>, 故鉴定化合物 **14** 为地芫普内酯。结构中 6 位和 7a 位为手性碳, CD 谱中 (图 3), 在 229 nm 处显示负的 Cotton 效应 (Δε -32.9), 结合文

献报道<sup>[19]</sup>, 化合物 (*6R,7aR*)-地芫普内酯在 223 nm 处有负的 Cotton 效应, 确定其构型为 *6R,7aR*。故最终确定化合物 **14** 为 (*6R,7aR*)-地芫普内酯。其结构见图 4。

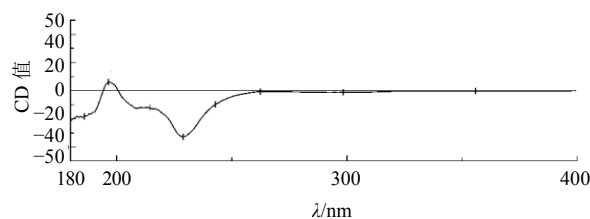


图 3 化合物 14 的 CD 图谱

Fig. 3 CD spectrum of compound 14

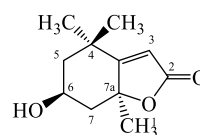


图 4 化合物 14 的结构式

Fig. 4 Structure of compound 14

#### 4 讨论

采用各种柱色谱方法对黄柏乙醇提取物中的非生物碱部分进行分离纯化, 并根据化合物的理化性质、波谱及光谱数据进行结构鉴定, 共鉴定得到 14 个化合物, 其中, 3,4,5-三甲氧基苯酚-*O*-β-*D*-葡萄糖苷 (**9**)、2-methoxy-4-(2-propenyl) phenyl-β-*D*-glucopyranoside (**10**)、tachinoside (**11**)、丁香酸甲酯 (**12**)、(*6S*)-去氢催吐萝芙木醇 (**13**)、(*6R,7aR*)-地芫普内酯 (**14**) 为首次从该属植物中分离得到, 丰富了黄柏化学组分信息库, 并为黄柏的药效研究提供更多的物质基础。

#### 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 刘寿山. 中药研究文献摘要 [M]. 北京: 科学出版社, 1963.
- [3] 李云志, 马超, 黄静. 刮筋板的化学成分和抗肿瘤活性研究 [J]. 中国药理学杂志, 2009, 44(17): 1294-1297.
- [4] 董二会, 王爱国, 杨建波, 等. 川黄柏抗糖尿病活性部位化学成分研究 [J]. 中药材, 2012, 35(9): 1441-1443.
- [5] Zhang M, Liu W X, Zheng M F, et al. Bioactive quinic acid derivatives from *Ageratin aadenophora* [J]. *Molecules*, 2013, 18(11): 14096-14104.
- [6] 王珏, 王乃利, 姚新生, 等. 小花鬼针草中咖啡酰奎宁酸类成分及其抑制组胺释放活性 [J]. 中草药, 2006, 37(7): 966-970.

- [7] Yu P Z, Hu C Q, Meehan E J, *et al.* X-Ray crystal structure and antioxidant activity of salidroside, a phenylethanoid glycoside [J]. *Chem Biodivers*, 2007, 4(3): 508-513.
- [8] Subramaniam G, Subbarao G V, Kazuhiko N, *et al.* Nitrification inhibitors from the root tissues of *Brachiaria humidicola*, a tropical grass [J]. *J Agric Food Chem*, 2007, 55(4): 1385-1388.
- [9] 赵晓宏, 陈迪华, 斯建勇, 等. 中药升麻酚酸类化学成分研究 [J]. *药学报*, 2002, 37(7): 535-538.
- [10] 常东东, 戴好富, 左文健, 等. 海南龙血树内生真菌 A12 中的抗菌活性成分研究 [J]. *中国抗生素杂志*, 2012, 37(6): 421-424.
- [11] Saijo R, Nonaka G I, Nishioka I. Phenolic glucosides gallates from *Mallotus japonicus* [J]. *Phytochemistry*, 1989, 28(9): 2443-2446.
- [12] Shimoda K, Kondo Y, Nishida T, *et al.* Biotransformation of thymol, carvacrol, and eugenol by cultured cells of *Eucalyptus perriniana* [J]. *Phytochemistry*, 2006, 67(20): 2256-2261.
- [13] 冯卫生, 王建超, 何玉环, 等. 辛夷化学成分的研究 [J]. *中国药理学杂志*, 2015, 50(24): 2103-2106.
- [14] 郑楠楠, 杨胜祥, 周 慧, 等. 箭橐花椒的化学成分及生物活性研究 [J]. *中草药*, 2015, 46(2): 189-193.
- [15] Hisahiro K, Masaki B, Toru O. Two New megastigmanes from the leaves of *Cucumis sativus* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2007, 55(1): 133-136.
- [16] 朱玲娟, 燕 菲, 陈金鹏, 等. 莢果蕨地上部分萜类化学成分研究 [J]. *中草药*, 2015, 46(12): 1737-1741.
- [17] Koreeda M, Weiss G, Nakanishi K. Absolute configuration of natural (+)-abscisic acid [J]. *J Am Chem Soc*, 1973, 95(1): 239-240.
- [18] Marino S D, Borbone N, Gala F, *et al.* New constituents of sweet *Capsicum annum* L. fruits and evaluation of their biological activity [J]. *J Agric Food Chem*, 2006, 54(20): 7508-7516.
- [19] Schühly W, Fabian C, Jahangir S, *et al.* Structure and absolute configuration of loliolide isomers determined by comparison of calculated and experimental CD spectra [A] // Seijas J A., Pilar Vázquez Tato M. Eleventh International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry [C]. Switzerland: MDPI, 2007.