

干姜中五个新的姜辣素类化合物

张晓娟¹, 王彦志^{1,2*}, 李曼倩¹, 宋志敏¹, 郭燕¹, 胡雪雨¹, 冯卫生^{1,2*}

(1. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046; 2. 呼吸疾病诊疗与新药研发河南省协同创新中心, 河南 郑州 450046)

摘要: 运用 Diaion HP-20、Sephadex LH-20、硅胶、半制备高效液相等多种色谱分离技术分离纯化研究干姜中化学成分, 利用理化性质及 MS 和 NMR 波谱学技术鉴定了 5 个姜辣素类化合物: 4-(2-丁基-6-甲基-4*H*-吡喃-4-基)-2-甲氧基苯酚 (**1**)、4-(2-己基-6-甲基-4*H*-吡喃-4-基)-2-甲氧基苯酚 (**2**)、1-(4-羟基-3-甲氧基苯基)十三烷-3,5-二醇 (**3**)、[10]-gingerdiol (**4**) 和 1-[1-(4-羟基-3-甲氧基苯基)-3-氧代-5-基]吡咯烷-2-酮 (**5a, 5b**), 化合物 **1~3, 5a, 5b** 均为新化合物。

关键词: 干姜; 姜辣素; 波谱技术; 分离鉴定

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2020)10-2421-07

Five new gingerol compounds from *Zingiberis Rhizoma*

ZHANG Xiao-juan¹, WANG Yan-zhi^{1,2*}, LI Man-qian¹, SONG Zhi-min¹,
GUO Yan¹, HU Xue-yu¹, FENG Wei-sheng^{1,2*}

(1. School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. Respiratory Disease Diagnosis and Treatment and New Drug Development Henan Collaborative Innovation Center, Zhengzhou 450046, China)

Abstract: We separated and purified five chemical constituents of dried ginger by Diaion HP-20, Sephadex LH-20, silica gel and semi-preparative high performance liquid chromatography. Five gingerols were identified by physicochemical properties and MS and NMR spectroscopy techniques: 4-(2-butyl-6-methyl-4*H*-pyran-4-yl)-2-methoxyphenol (**1**), 4-(2-hexyl-6-methyl-4*H*-pyran-4-yl)-2-methoxyphenol (**2**), 1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) tridecane-3,5-diol (**3**), [10]-gingerdiol (**4**) and 1-[1-(4-hydroxy-3-methoxy phenyl)-3-oxodecan-5-yl]pyrrolidin-2-one (**5a, 5b**). Compounds **1~3, 5a, 5b** are new compounds.

Key words: *Zingiberis Rhizoma*; gingerol; spectrum technology; isolation and identification

干姜为姜科姜属植物姜 (*Zingiber officinale* Rosc.) 的干燥根茎^[1], 是一种用途广泛的药食两用的中药材^[2,3]。主要产区为热带亚洲地区, 中国境内的姜科植物主要分布在西南部至东南部各省区, 其中云南省种类最多^[4]。味辛、性热, 归脾、胃、肾、心、肺经, 具有温中散寒、回阳通脉等功效^[5-7]。干姜中主要含有挥发油类、姜辣素类及二苯基庚烷类化学成分。现代药理学研究

表明, 干姜中姜辣素具有镇痛抗炎、抗肿瘤、抗溃疡、抗缺氧、改善局部血液循环、止呕等多种药理作用^[8-14]。为明确干姜中姜辣素成分, 需对干姜中辣味成分进行系统研究。本实验采用 Diaion HP-20、Sephadex LH-20、硅胶、半制备高效液相等多种色谱分离技术从干姜乙酸乙酯提取物中分离得到 5 个姜辣素成分, 分别是: 4-(2-丁基-6-甲基-4*H*-吡喃-4-基)-2-甲氧基苯酚 (**1**)、4-(2-己基-6-甲基-4*H*-吡喃-4-基)-2-甲氧基苯酚 (**2**)、1-(4-羟基-3-甲氧基苯基)十三烷-3,5-二醇 (**3**)、[10]-gingerdiol (**4**) 和 1-[1-(4-羟基-3-甲氧基苯基)-3-氧代-5-基]吡咯烷-2-酮 (**5**), 化合物 **1~3, 5a, 5b** 均为新化合物。结构见图 1。

收稿日期: 2020-04-13; 修回日期: 2020-07-17.

基金项目: 河南中医药大学科技创新团队项目资助 (2015XCXTD02); 河南省高等学校重点科研项目计划 (19A360012).

*通讯作者 Tel: 86-371-65962746, E-mail: wangyzlb@126.com;

Tel: 86-371-65680011, E-mail: fwsh@hactcm.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2020-0538

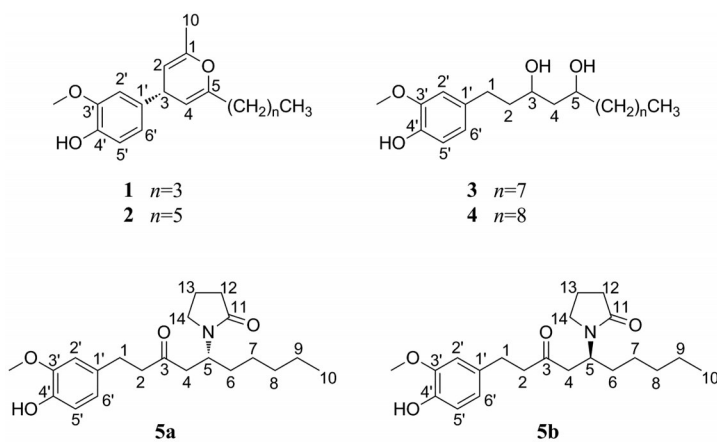


Figure 1 Structures of compounds 1–5

结果与讨论

化合物 1 黄色油状液体, 易溶于甲醇及氯仿, UV (MeOH) λ_{\max} (log ϵ): 202 nm (1.09), 224 nm (0.49), 281 nm (0.09); $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -0.335 (*c* 0.810, MeOH)。HR-ESI-MS $[M+H]^+$ m/z 275.164 1 (Calcd. 275.164 2), 提示化合物 **1** 的分子式为 $C_{17}H_{22}O_3$, 不饱和度为 7。遇 $FeCl_3$ 显色剂显蓝色, 提示此化合物中含有酚羟基。分析其 1H NMR (500 MHz, CD_3OD) 谱 (表 1), 在低场区存在一组 ABX 耦合系统的苯环氢质子信号 [δ_{H} 6.69 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), δ_{H} 6.67 (1H, s, H-2'), δ_{H} 6.59 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6')]; 2 个不饱和双键氢信号 δ_{H} 5.83 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-2, H-4); 1 个甲氧基氢信号 δ_{H} 3.79 (3H, s, -OCH₃); 2 个甲基氢信号 δ_{H} 2.82 (3H, s, H-10) 及 δ_{H} 0.94 (3H, t, $J = 7.3$ Hz, H-9); 1 个次甲基氢信号 δ_{H} 2.82 (1H, overlap, H-3); 3 个亚甲基 [δ_{H} 2.57 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, H-6), δ_{H} 1.60 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, H-7), δ_{H} 1.37 (2H, q, $J = 7.5$ Hz, H-8)]。根据 ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) 共发现 17 个碳信号, 其中 δ_{C} 155.7 (C-5), δ_{C} 154.7 (C-1), δ_{C} 106.7 (C-2), δ_{C} 106.1 (C-4) 为两个不饱和双键的碳信号; δ_{C} 148.7 (C-3'), δ_{C} 145.6 (C-4'), δ_{C} 134.3 (C-1'), δ_{C} 121.8 (C-6'), δ_{C} 116.0 (C-5'), δ_{C} 113.1 (C-2') 为苯环上的特征碳信号; δ_{C} 56.3 为甲氧基碳信号; δ_{C} 35.3 (C-3) 为次甲基碳信号; δ_{C} 31.6 (C-10) 及 δ_{C} 14.2 (C-9) 为甲基碳信号; δ_{C} 31.4 (C-7), δ_{C} 28.6 (C-6), δ_{C} 23.2 (C-8) 为亚甲基碳信号。化合物 **1** 的 1H - 1H COSY 谱 (图 2) 中, 可观察到 δ_{H} 2.57 (H-6) 与 δ_{H} 1.60 (H-7) 的相关, δ_{H} 1.60 (H-7) 与 δ_{H} 1.37 (H-8) 的相关, δ_{H} 1.37 (H-8) 与 δ_{H} 0.94 (H-9) 的相关关系, 可推断存在四碳链。分析 HSQC 谱, 进一步确定 C-H 的数据归属。结合 HMBC 谱发现, δ_{H} 6.67 (H-2') 与 δ_{C} 35.3 (C-3) 相关及 δ_{H} 6.59 (H-6') 与 δ_{C} 35.3 (C-3) 相关并结合氢谱 ABX 耦合系统的苯环可推断 C-1' 与 C-3 相连。根据 δ_{H} 5.83 (H-2)/ δ_{C} 106.1 (C-4) 相关, δ_{H} 2.82 (H-3) 与 δ_{C}

134.3 (C-1'), δ_{C} 154.7 (C-1), δ_{C} 106.7 (C-2) 相关; δ_{H} 5.83 (H-4) 与 δ_{C} 155.7 (C-5) 相关并结合 δ_{C} 155.7 (C-5)、 δ_{C} 154.7 (C-1) 的化学位移表明存在吡喃环。 δ_{H} 2.82 (H-10) 与 δ_{C} 154.7 (C-1)、 δ_{C} 106.7 (C-2) 相关, 推断 C-10 与吡喃环 C-1 位相连。依据 δ_{H} 2.57 (H-6) 与 δ_{C} 106.1 (C-4)、 δ_{C} 155.7 (C-5)、 δ_{C} 31.4 (C-7)、 δ_{C} 23.2 (C-8) 相关; δ_{H} 1.60 (H-7) 与 δ_{C} 23.2 (C-8)、 δ_{C} 14.2 (C-9) 相关并结合 1H - 1H COSY 谱进一步确定 C-6 与 C-7、C-7 与 C-8、C-8 与 C-9 连接次序, 推断四碳链位于吡喃环 C-5 位上。化合物 **1** 含有一个手性中心, 经手性柱分析 (CHIRALCEL IC 手性柱, 环己烷: 异丙醇=97:3, $t = 13.019$ min) 确定化合物 **1** 为光学纯。为了确定化合物 **1** 的绝对构型, 采取量子化学计算的方法进行, 由于化合物 **1** 中侧链对 CD 的贡献不大, 却会产生多个构象增加量子化学计算的任务量, 因此对简化的化合物 **1** (即 **1a**, 图 3) 采用量子化学计算的方法 [B3LYP-SCRF/6-31G (d,p)/B3LYP/6-31G (d,p), MeOH] 计算了 $3S$ 的 ECD 谱, 结果表明计算的 ECD 谱与化合物 **1** 的实验值吻合较好 (图 3), 故确定化合物 **1** 的构型为 $3S$, 综上所述, 化合物 **1** 为姜辣素类化合物, 故确定化合物 **1** 结构为 4-(2-丁基-6-甲基-4H-吡喃-4-基)-2-甲氧基苯酚 (**1**)。

化合物 2 黄色油状液体, 易溶于甲醇及氯仿, UV (MeOH) λ_{\max} (log ϵ): 203 nm (1.63), 224 nm (0.80), 281 nm (0.15); IR 谱显示该化合物结构中含有羟基 (3 417 cm^{-1}) 和双键及苯环 (1 652, 1 517 cm^{-1}); $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -0.914 (*c* 0.322, MeOH)。HR-ESI-MS $[M+H]^+$ m/z 303.195 5 (Calcd. 303.195 5), 化合物 **2** 的分子式为 $C_{19}H_{26}O_3$, 不饱和度为 7。遇 $FeCl_3$ 显色剂显蓝色, 提示此化合物中含有酚羟基。其 1H NMR (500 MHz, CD_3OD) 谱与 ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) 数据 (表 1) 显示与化合物 **1** 相似, 仅在碳链长度不同, 故同为姜辣素类化合物。其氢谱数据如下, δ_{H} 6.70 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-

5'), δ_{H} 6.68 (1H, s, H-2'), δ_{H} 6.60 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6'), δ_{H} 5.83 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-2, H-4), δ_{H} 3.80 (3H, s, -OCH₃), δ_{H} 2.82 (3H, s, H-12), δ_{H} 0.92 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, H-11), δ_{H} 2.82 (1H, overlap, H-3), δ_{H} 2.57 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, H-6), δ_{H} 1.62 (2H, t, $J = 7.0$ Hz, H-7), δ_{H} 1.34 (6H, overlap, H-8, H-9, H-10); 根据 ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) 共发现 19 个碳信号, 数据如下 δ_{C} 155.6 (C-5), δ_{C} 154.6 (C-1), δ_{C} 106.5 (C-2), δ_{C} 106.0 (C-4), δ_{C} 148.5 (C-3'), δ_{C} 145.5 (C-4'), δ_{C} 134.2 (C-1'), δ_{C} 121.6 (C-6'), δ_{C} 115.8 (C-5'), δ_{C} 113.0 (C-2'), δ_{C} 56.1 (-OCH₃), δ_{C} 35.1 (C-3), δ_{C} 31.2 (C-12), δ_{C} 14.2 (C-11), δ_{C} 32.6 (C-9), δ_{C} 29.7 (C-8), δ_{C} 29.2 (C-7), δ_{C} 28.8 (C-6), δ_{C} 23.5 (C-10)。分析 HSQC 谱, 进一步确定 C-H 的数据归属。结合 HMBC 谱 (图 2) 发现, 观察到 δ_{H} 6.68 (H-2') 与 δ_{C} 35.1 (C-3) 相关; δ_{H} 6.60 (H-6') 与 δ_{C} 35.1 (C-3) 相关并结合氢谱 ABX 耦合系统的苯环可推断 C-1' 与 C-3 相连。 δ_{H} 2.82 (H-3) 与 δ_{C} 134.2 (C-1'), δ_{C} 154.6 (C-1), δ_{C} 106.5 (C-2) 相关; δ_{H} 5.83 (H-2) 与 δ_{C} 106.0 (C-4) 相关; δ_{H} 5.83 (H-4) 与 δ_{C} 155.6 (C-5) 相关并结合 δ_{C} 155.6 (C-5)、 δ_{C} 154.6 (C-1) 的化学位移表明存在吡喃环, 依据 δ_{H} 2.82 (H-12) 与 δ_{C} 154.6 (C-1)、 δ_{C} 106.5 (C-2) 相关, 推断 C-12 与 C-1 相连。 δ_{H} 2.57 (H-6) 与 δ_{C} 106.0 (C-4), δ_{C} 155.6 (C-5), δ_{C} 29.7 (C-8) 相关; δ_{H} 1.62 (H-7) 与 δ_{C} 32.6 (C-9) 相关; δ_{H} 0.92 (H-11) 与 δ_{C} 32.6 (C-9)、 δ_{C} 23.5 (C-10) 相关并结合化合物 2 的 ¹H-¹H COSY 谱 (图 2), δ_{H} 2.57 (H-6) 与 δ_{H} 1.62 (H-7) 相关、 δ_{H} 1.62 (H-7) 与 δ_{H} 1.34 (H-8) 相关、 δ_{H} 1.34 (H-8) 与 δ_{H} 1.34 (H-9) 相关、 δ_{H} 1.34 (H-10) 与 δ_{H} 0.92 (H-11) 相关进一步确定 C-6 与 C-7、C-7 与 C-8、C-8 与 C-9、C-9 与 C-10、C-10 与 C-11 连接次序, 推断六碳链位于吡喃环 C-5 位上。其绝对构型采用与化合物 1 类似的方法确定为 3*S*, 综上所述, 确定化合物 2 结构为 4-(2-己基-6-甲基-4*H*-吡喃-4-基)-2-甲氧基苯酚 (2)。

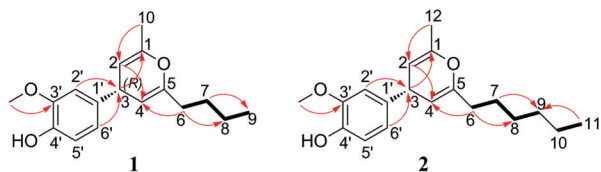


Figure 2 ¹H-¹H COSY (—) and key HMBC (H→C, →) of compounds 1 and 2

化合物 3 无色油状物, 易溶于甲醇、氯仿及乙酸乙酯, UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ): 203 nm (1.55)、281 nm (0.15); [α]_D²⁰ -3.041 (*c* 0.082, MeOH)。HR-ESI-MS [$M + H$]⁺ *m/z* 339.241 5 (Calcd. 339.249 1), 提示化合物 3 的

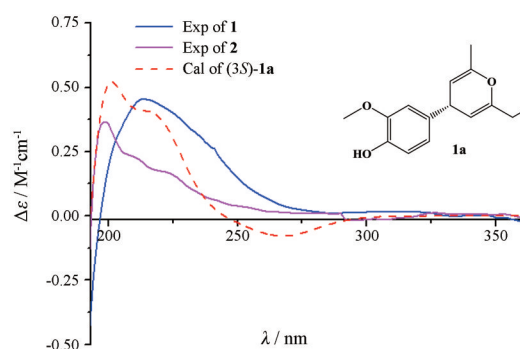


Figure 3 Comparison of B3LYP/6-31g (d, p) calculated ECD spectrum for (3*S*)-1a with the experimental spectra of 1 and 2 in MeOH. $\sigma = 0.33$ eV; shift = +3 nm

Table 1 ¹H NMR and ¹³C NMR (500/125 MHz in CD₃OD) spectral data of compounds 1 and 2

Position	1		2	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1'	—	134.3	—	134.2
2'	6.67 (1H, s)	113.1	6.68 (1H, s)	113.0
3'	—	148.7	—	148.5
4'	—	145.6	—	145.5
5'	6.69 (1H, d, $J = 8.0$ Hz)	116.0	6.70 (1H, d, $J = 8.0$ Hz)	115.8
6'	6.59 (1H, d, $J = 8.0$ Hz)	121.8	6.60 (1H, d, $J = 8.0$ Hz)	121.6
1	—	154.7	—	154.6
2	5.83 (1H, d, $J = 8.9$ Hz)	106.7	5.83 (1H, d, $J = 8.9$ Hz)	106.5
3	2.82 (1H, overlap)	35.3	2.82 (1H, overlap)	35.1
4	5.83 (1H, d, $J = 8.9$ Hz)	106.1	5.83 (1H, d, $J = 8.9$ Hz)	106.0
5	—	155.7	—	155.6
6	2.57 (2H, t, $J = 7.4$ Hz)	28.6	2.57 (2H, t, $J = 7.4$ Hz)	28.8
7	1.60 (2H, t, $J = 7.4$ Hz)	31.4	1.62 (2H, t, $J = 7.0$ Hz)	29.2
8	1.37 (2H, q, $J = 7.5$ Hz)	23.2	1.34 (2H, overlap)	29.7
9	0.94 (3H, t, $J = 7.3$ Hz)	14.2	1.34 (2H, overlap)	32.6
10	2.82 (3H, s)	31.6	1.34 (2H, overlap)	23.5
11	—	—	0.92 (2H, t, $J = 7.0$ Hz)	14.2
12	—	—	2.82 (3H, s)	31.2
-OCH ₃	3.79 (3H, s)	56.3	3.80 (3H, s)	56.1

分子式为 C₂₀H₃₄O₄, 不饱和度为 4。遇 FeCl₃ 显色剂显蓝色, 提示此化合物中含有酚羟基。其 ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) 谱与 ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) 数据 (表 2) 显示与化合物 4 相似, 较化合物 4 少一个碳, 故同为姜辣素类化合物。在芳香区存在 3 个氢质子信号, [δ_{H} 6.81 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), δ_{H} 6.69 (1H, s, H-2'), δ_{H} 6.67 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6')] 为 ABX 系统; 1 个甲氧基氢信号和 2 个次甲基氢信号 [δ_{H} 3.84 (5H, overlap, -OCH₃, H-3, H-5)]; 10 个亚甲基氢信号 [δ_{H} 2.67, 2.61 (2H, m, H-1), δ_{H} 1.73 (2H, m, H-2), δ_{H} 1.60、1.50 (2H, overlap, H-4), δ_{H} 1.44 (2H, overlap, H-6), δ_{H} 1.24 (12H, overlap, H-7, H-8, H-9, H-10, H-11, H-12)]; 1 个甲基氢信号 [δ_{H} 0.85 (3H, t, $J = 6.7$ Hz, H-13)]。根据 ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) 共发现 20 个碳信号, 其中 δ_{C} 146.4 (C-3'), δ_{C} 143.7 (C-4'), δ_{C} 133.9 (C-1'), δ_{C} 120.9 (C-6'),

δ_c 114.3 (C-5'), δ_c 111.0 (C-2') 为苯环上碳信号; δ_c 73.4 (C-5), δ_c 72.4 (C-3) 均为次甲基碳信号, 化学位移偏低场, 推测应与吸电子基相连; δ_c 55.9 (-OCH₃) 为甲氧基碳信号; δ_c 43.0 (C-4), δ_c 40.0 (C-2), δ_c 38.4 (C-6), δ_c 31.9 (C-11), δ_c 31.4 (C-1), δ_c 29.6 (C-8), δ_c 29.5 (C-9), δ_c 29.3 (C-10), δ_c 25.3 (C-7), δ_c 22.9 (C-12) 均为亚甲基碳信号; δ_c 14.1 (C-13) 为碳链末端甲基碳信号。综上所述, 以上数据与化合物**4**对照基本一致, 仅碳原子个数不同, 并结合质谱数据确定其结构, 故确定化合物**3**结构为1-(4-羟基-3-甲氧基苯基)十三烷-3,5-二醇(**3**)。

Table 2 ¹H NMR and ¹³C NMR (500/125 MHz in CDCl₃) spectral data of compound **3**

Position	δ_H	δ_C
1'		133.9
2'	6.69 (1H, s)	111.0
3'		146.4
4'		143.7
5'	6.81 (1H, d, $J = 8.0$ Hz)	114.3
6'	6.67 (1H, d, $J = 8.0$ Hz)	120.9
1	2.67, 2.61 (2H, m)	31.4
2	1.73 (2H, m)	40.0
3	3.84 (1H, overlap)	72.4
4	1.60, 1.50 (2H, overlap)	43.0
5	3.84 (1H, overlap)	73.4
6	1.44 (2H, overlap)	38.4
7	1.24 (2H, overlap)	25.3
8	1.24 (2H, overlap)	29.6
9	1.24 (2H, overlap)	29.5
10	1.24 (2H, overlap)	29.3
11	1.24 (2H, overlap)	31.9
12	1.24 (2H, overlap)	22.9
13	0.85 (3H, t, $J = 6.7$ Hz)	14.1
14		
-OCH ₃	3.86 (3H, s)	55.9

化合物5 无色油状物, 易溶于甲醇, IR谱显示该化合物结构中含有羟基 (3 337 cm⁻¹) 和羰基 (1 673 cm⁻¹); $[\alpha]_D^{20} -4.062$ (c 0.100, MeOH)。HR-ESI-MS $[M+H]^+$ m/z 362.232 6 (Calcd. 362.232 6), 提示化合物**5**的分子式为C₂₁H₃₁NO₄, 不饱和度为7。遇FeCl₃显色剂显蓝色, 提示此化合物中含有酚羟基。分析其¹H NMR (500 MHz, CD₃OD)谱(表3), 在芳香区存在3个氢质子信号 [δ_H 6.76 (1H, s, H-2'), δ_H 6.67 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), δ_H 6.60 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6')] 为ABX系统; 1个甲氧基氢信号 δ_H 3.82 (3H, s, -OCH₃); 1个次甲基氢信号 δ_H 4.39 (1H, m, H-5); 10个亚甲基氢信号 [δ_H 3.24 (2H, m, H-14), δ_H 2.75 (4H, m, H-1, H-2), δ_H 2.62 (2H, m, H-4), δ_H 2.27 (2H, m, H-12), δ_H 1.91 (2H, m, H-13), δ_H 1.45 (2H, m, H-6), δ_H 1.27 (2H, overlap, H-9), δ_H 1.22 (4H, overlap, H-7, H-8)] 和1个甲基氢信号 δ_H 0.88

(3H, t, $J = 6.8$ Hz, H-10)。根据¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) 共发现21个碳信号, 其中1个碳信号被氘代甲醇溶剂峰覆盖, 可根据HSQC确定。 δ_c 210.4 (C-3) 为酮羰基; δ_c 177.7 (C-11) 为内酰胺羰基; δ_c 148.9 (C-3'), δ_c 145.8 (C-4'), δ_c 134.0 (C-1'), δ_c 121.8 (C-6'), δ_c 116.1 (C-5'), δ_c 113.3 (C-2') 为苯环上的特征碳信号; δ_c 56.4 为甲氧基碳信号; δ_c 48.0 (C-5) 为次甲基碳信号; δ_c 46.6 (C-4), δ_c 45.2 (C-2), δ_c 32.4 (C-12), δ_c 33.1 (C-6), δ_c 32.5 (C-8), δ_c 44.2 (C-14), δ_c 30.3 (C-1), δ_c 26.9 (C-7), δ_c 23.6 (C-9), δ_c 19.1 (C-13) 为亚甲基碳信号; δ_c 14.3 (C-10) 为甲基碳信号。分析HSQC谱, 进一步确定C-H的数据归属。根据化合物**5**的HMBC谱(图4)中, 观察到 δ_H 6.76 (H-2') 与 δ_C 30.3 (C-1)、 δ_C 121.8 (C-6')、 δ_C 145.8 (C-4') 相关, δ_H 6.60 (H-6') 与 δ_C 30.3 (C-1)、 δ_C 113.3 (C-2')、 δ_C 145.8 (C-4') 相关进一步证实苯环为ABX耦合系统, 根据 δ_H 2.75 (H-1) 与 δ_C 45.2 (C-2)、 δ_C 210.4 (C-3)、 δ_C 134.0 (C-1') 相关, δ_H 2.62 (H-4) 与 δ_C 210.4 (C-3)、 δ_C 48.0 (C-5)、 δ_C 33.1 (C-6) 相关, δ_H 4.39 (H-5) 与 δ_C 33.1 (C-6) 相关, δ_H 1.45 (H-6) 与 δ_C 32.5 (C-8) 相关, δ_H 0.88 (H-10) 与 δ_C 32.5 (C-8)、 δ_C 23.6 (C-9) 相关可推断C-1与C-1'相连, 并结合化合物**5**的¹H-¹H COSY谱(图4)显示, δ_H 2.62 (H-4) 与 δ_H 4.39 (H-5) 相关, δ_H 4.39 (H-5) 与 δ_H 1.45 (H-6) 相关, δ_H 1.45 (H-6) 与 δ_H 1.22 (H-7) 相关, δ_H 1.27 (H-9) 与 δ_H 0.88 (H-10) 相关可推断为十碳链, 根据化合物**5**的¹H-¹H COSY谱(图4)显示, δ_H 2.27 (H-12) 与 δ_H 1.91 (H-13) 相关, δ_H 1.91 (H-13) 与 δ_H 3.24 (H-14) 相关, 结合HMBC谱, 根据 δ_H 1.91 (H-13) 与 δ_C 177.7 (C-11)、 δ_C 32.4 (C-12)、 δ_C 44.2 (C-14) 相关确定了五元内酰胺的结构并根据C-5位氢谱及碳谱数据, 推断内酰胺片段连接在C-5位上。注意到化合物**5**含有一个手性中心, 经手性柱分析(CHIRALCEL AD-H手性柱, 环己烷:异丙醇=9:1, $t_a = 15.832$ min, $t_b = 18.972$ min) 确定化合物**5**为消旋体, 通过手性拆分, 分离成化合物**5a**及**5b**。为了确定化合物**5a**及**5b**的绝对构型, 采取量子化学计算的方法进行, 由于化合物**5**中侧链对CD的贡献不大, 却会产生多个构象增加量子化学计算的任务量, 因此对简化的化合物**5**(即**5A**, 图5)采用量子化学计算的方法[B3LYP-SCRF/6-31G(d,p)//B3LYP/6-31G(d,p), MeOH]计算了**5S**的ECD谱, 结果表明计算的ECD谱与化合物**5a**的实验值吻合较好(图5), 故确定化合物**5**的一对对映体的构型分别为**5S**及**5R**, 即**5a**及**5b**的构型分别为**5S**及**5R**, 综上所述, 化合物**5**为姜辣素类化合物, 故确定化合物**5**结构为1-[1-(4-羟基-3-甲氧基苯基)-3-氧代-5-基]吡咯烷-2-酮。

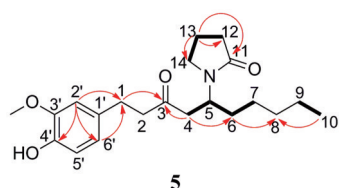


Figure 4 ^1H - ^1H COSY (—) and key HMBC ($\text{H}\rightarrow\text{C}$, \curvearrowright) of compound **5**

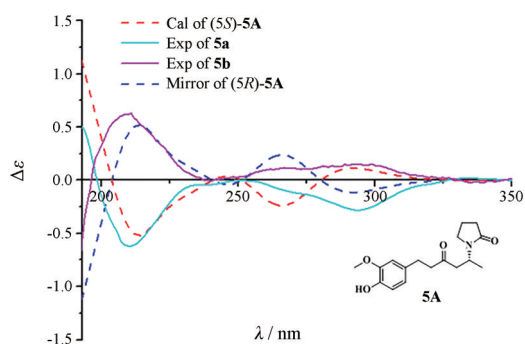


Figure 5 Comparison of B3LYP/6-31g(d, p) calculated ECD spectrum for (5S)-**5A** with the experimental spectra of **5** in MeOH. $\sigma = 0.25$ eV; shift = +3 nm

Table 3 ^1H NMR and ^{13}C NMR (500/125 MHz in CD_3OD) spectral data of compound **5**

Position	δ_{H}	δ_{C}
1'	—	134.0
2'	6.76 (1H, s)	113.3
3'	—	148.9
4'	—	145.8
5'	6.67 (1H, d, $J = 8.0$ Hz)	116.1
6'	6.60 (1H, d, $J = 8.0$ Hz)	121.8
1	2.75 (2H, m)	30.3
2	2.75 (2H, m)	45.2
3	—	210.4
4	2.62 (2H, m)	46.6
5	4.39 (1H, m)	48.0
6	1.45 (2H, m)	33.1
7	1.22 (2H, overlap)	26.9
8	1.22 (2H, overlap)	32.5
9	1.27 (2H, overlap)	23.6
10	0.88 (3H, t, $J = 6.8$ Hz)	14.3
11	—	177.7
12	2.27 (2H, m)	32.4
13	1.91 (2H, m)	19.1
14	3.24 (2H, m)	44.2
-OCH ₃	3.82 (3H, s)	56.4

实验部分

TripleTOF 6600 型高效液相色谱-四极杆飞行时间高分辨质谱联用仪 (AB SCIEX); LC3000 型半制备高效相色谱仪 (赛普锐思公司); Bruker AM-500MHz 核磁共振谱用超导核磁共振仪, TMS 做内标; Thermo

Nicolet IS10 红外光谱仪 (Thermo Scientific, USA); Rudolph AP-IV 型旋光仪 (Rudolph, USA); Thermo EVO300 紫外分光光度计 (Thermo Scientific, USA); 1260 Infinity II 高效液相色谱仪; RE-5210A 型旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂); N-1100 型旋转蒸发仪 (东京理化仪器有限公司); Sephadex LH-20 (Pharmacia Biotech 公司); SMB100-20/45 型反相色谱材料 RP-1 (日本富士公司); 硅胶正相色谱填料 (青岛海洋化工厂); Kromasil 100-5 C18 column 型分析色谱柱; CHIRALCEL IC 及 AD-H 手性柱; 色谱纯及分析纯试剂 (天津四友精细化学品有限公司)。

干姜购自安徽亳州, 产地为四川省宜宾市, 经河南中医药大学董诚明教授鉴定为姜科草本植物姜 *Z. officinale* Rosc. 的干燥根茎。保存于河南中医药大学中药化学提取分离实验室, 标本号: BS631005。

1 提取分离

取干姜 50 kg, 粉碎成粗粉后用乙酸乙酯 (200 L) 浸泡 1 h, 之后回流提取 (75 °C, 3×200 L×1.5 h), 45 °C 水浴减压浓缩得总提物稠膏 4 kg。总提物用 60% 的乙醇溶解后, 经 Diaion HP-20 大孔吸附树脂色谱柱, 依次用 60% 乙醇、80% 乙醇、95% 乙醇梯度洗脱, 收集后减压浓缩得到相应的部位 (Fr.1~Fr.3)。然后将组分 Fr.1 (1.5 kg) 上硅胶柱 (100~200 目), 流动相采用二氯甲烷/甲醇梯度洗脱, 分为 7 段 (Fr.1.1~Fr.1.7)。组分 Fr.1.1 (500 g) 再次过硅胶柱 (200~300 目), 流动相采用石油醚/丙酮梯度洗脱, 划分为 9 小段 (Fr.1.1.1~Fr.1.1.9)。将组分 Fr.1.1.6 (198 g) 再过硅胶柱 (100~200 目), 流动相采用石油醚/乙酸乙酯梯度洗脱, 得到 7 个组分 (Fr.1.1.6.1~Fr.1.1.6.7)。随后以甲醇为洗脱剂, 组分 Fr.1.1.6.3 (19 g) 经过 Sephadex LH-20 柱色谱, 得到 5 个组分 (I~V)。组分 III 通过半制备型 HPLC (210 nm, 254 nm) 在 YMC HPLC 柱 (双波长紫外检测器 203 nm、254 nm, 250 mm×10 mm, 5 μm, 流速 3 mL·min⁻¹) 进行纯化得到化合物 **2** (16.1 mg, 82% 甲醇水溶液, $t_{\text{R}} = 34.651$ min) 和化合物 **5** (5.0 mg, MeOH/H₂O, 79%, $t_{\text{R}} = 28.665$ min); 组分 IV 通过半制备型 HPLC 在 YMC HPLC 柱 (流速 3 mL·min⁻¹) 进行纯化得到化合物 **1** (40.5 mg, MeOH/H₂O, 65%, $t_{\text{R}} = 23.109$ min); 组分 Fr.1.1.6.6 (25 g) 经过 Sephadex LH-20 柱色谱, 得到 5 个组分 (a~e)。组分 a 通过半制备型 HPLC 在 YMC HPLC 柱 (流速 3 mL·min⁻¹) 进行纯化得到化合物 **4** (16.6 mg, 65% 甲醇水溶液, $t_{\text{R}} = 20.031$ min); 组分 b 通过半制备型 HPLC 在 YMC HPLC 柱 (流速 3 mL·min⁻¹) 进行纯化得到化合物 **3** (4.1 mg, 58% 甲醇水溶液, $t_{\text{R}} = 25.643$ min)。

2 数据归属

化合物 1 黄色油状液体, 易溶于甲醇及氯仿, 遇 FeCl_3 显色剂显蓝色, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -0.335$ (c 0.810, MeOH)。HR-ESI-MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 275.164 1 (Calcd. 275.164 2), 化合物 1 的分子式为 $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_3$ 。UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$) 202 nm (1.09)、224 nm (0.49)、281 nm (0.09); ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) 和 ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) 数据见表 1。

化合物 2 黄色油状液体, 易溶于甲醇及氯仿, 遇 FeCl_3 显色剂显蓝色, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -0.914$ (c 0.322, MeOH)。HR-ESI-MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 303.195 5 (Calcd. 303.195 5), 化合物 2 的分子式为 $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_3$ 。UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$) 203 nm (1.63)、224 nm (0.80)、281 nm (0.15); IR (MeOH) ν_{max} : 3 417、1 652、1 517 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) 和 ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) 数据见表 1。

化合物 3 无色油状物, 易溶于甲醇、氯仿及乙酸乙酯, 遇 FeCl_3 显色剂显蓝色, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -3.041$ (c 0.082, MeOH)。HR-ESI-MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 339.249 1 (Calcd. 339.249 1), 提示化合物 3 的分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_4$ 。UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$) 203 nm (1.55)、281 nm (0.15); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) 和 ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) 数据见表 2。

化合物 4 无色油状物, 易溶于甲醇、氯仿及乙酸乙酯, 遇 FeCl_3 显色剂显蓝色。HR-ESI-MS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z 375.245 0 (Calcd. 375.350 6), 分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{36}\text{O}_4$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ_{H} 6.84 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5'), 6.73 (1H, s, H-2'), 6.71 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-6'), 3.99 (2H, overlap, H-3, H-5), 3.89 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 2.73、2.64 (2H, m, H-1), 1.85、1.76 (2H, m, H-2), 1.66 (2H, overlap, H-4), 1.54、1.44 (2H, overlap, H-6), 1.24 (14H, overlap, H-6, H-7, H-8, H-9, H-10, H-11, H-12, H-13), 0.85 (3H, t, $J = 6.7$ Hz, H-14)。 ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ_{C} 146.4 (C-3'), 143.7 (C-4'), 133.9 (C-1'), 120.9 (C-6'), 114.3 (C-5'), 111.0 (C-2'), 69.7 (C-5), 69.0 (C-3), 55.9 ($-\text{OCH}_3$), 42.3 (C-4), 39.4 (C-2), 37.5 (C-6), 32.0 (C-12), 31.9 (C-1), 29.6 (C-8), 29.6 (C-9), 29.6 (C-10), 29.3 (C-11), 25.8 (C-7), 22.7 (C-13), 14.1 (C-14)。以上数据与文献^[15]对照基本一致, 同为姜辣素类化合物, 故确定化合物 4 为 [10]-gingerdiol (4)。

化合物 5a 无色油状物, 易溶于甲醇, 遇 FeCl_3 显色剂显蓝色, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -18.323$ (c 0.024, MeOH)。HR-ESI-MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 362.232 6 (Calcd. 362.232 6), 提示化合物 5 的分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{NO}_4$ 。UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$) 203 nm (1.36)、282 nm (0.11); IR (MeOH) ν_{max} : 3 362、1 669、1 449 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) 和 ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) 数据见表 3。

化合物 5b 无色油状物, 易溶于甲醇, 遇 FeCl_3 显色剂显蓝色, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -4.507$ (c 0.026, MeOH)。UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$) 203 nm (1.42)、282 nm (0.12); IR (MeOH) ν_{max} : 3 337、1 673、1 452 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) 和 ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) 数据见表 3。

作者贡献: 王彦志、张晓娟、冯卫生设计研究; 张晓娟、李曼倩、宋志敏、郭燕和胡雪雨进行了研究并分析了数据; 王彦志给出了关于论文写作的建议, 张晓娟写了论文。所有作者都阅读并批准了最后的手稿。

利益冲突: 作者声明不存在利益冲突。

References

- [1] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [S]. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 13.
- [2] Li BZ, Li F, Piao YG, et al. Extraction of chemical constituents from Rhizoma Zingiberis and its application in cigarette [J]. Guangzhou Chem Ind (广州化工), 2019, 47: 95-97.
- [3] Qi X, Zhang YY. Progress in chemical and pharmacological research of ginger [J]. Shandong Chem Ind (山东化工), 2018, 47: 41-42.
- [4] Sun FJ, Li ZL, Qian SH, et al. Chemical constituents of rhizomes of dried *Zingiber officinale* [J]. Chin Wild Plant Resour (中国野生植物资源), 2016, 35: 20-24.
- [5] Fang WT, Zhan ZL, Peng HS. Historical evolution and change of differentiation on dried ginger, fresh ginger and baked ginger [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2017, 42: 1641-1645.
- [6] Cui WH, Wang YZ, Li ZZ. Chemical constituents from Rhizoma Zingiberis [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2018, 53: 1160-1164.
- [7] Wang WX. Analysis of the characteristics of chemical constituents pharmacological action and clinical application of ginger [J]. Clin J Chin Med (中医临床研究), 2016, 8: 146-148.
- [8] Jung HW, Yoon CH, Park KM, et al. Hexane fraction of Zingiberis Rhizoma Crudus extract inhibits the production of nitric oxide and proinflammatory cytokines in LPS-stimulated BV2 microglial cells via the NF-kappaB pathway [J]. Food Chem Toxicol, 2009, 47: 1190-1197.
- [9] Yoshikawa M, Hatakeyama S, Chatani N, et al. Qualitative and quantitative analysis of bioactive principles in Zingiberis Rhizoma by means of high performance liquid chromatography and gas liquid chromatography. On the evaluation of Zingiberis Rhizoma and chemical change of constituents during Zingiberis Rhizoma processing [J]. J Pharm Soc Jpn, 1993, 113: 307-315.
- [10] Mo SJ, Son EW, Lee SR, et al. CML-1 inhibits TNF-alpha-induced NF-kappaB activation and adhesion molecule expression in endothelial cells through inhibition of IkbAlpha kinase [J]. J Ethnopharmacol, 2007, 109: 78-86.

- [11] Saha A, Blando J, Silver E, et al. 6-Shogaol from dried ginger inhibits growth of prostate cancer cells both *in vitro* and *in vivo* through inhibition of STAT3 and NF- κ B signaling [J]. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2014, 7: 627-638.
- [12] Li Y, Hong Y, Han Y, et al. Chemical characterization and antioxidant activities comparison in fresh, dried, stir-frying and carbonized ginger [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2016, 1011: 223-232.
- [13] Semwal RB, Semwal DK, Combrinck S, et al. Gingerols and shogaols: important nutraceutical principles from ginger [J]. *Phytochemistry*, 2015, 117: 554-568.
- [14] Vishwakarma SL, Pal SC, Kasture VS, et al. Anxiolytic and antiemetic activity of *Zingiber officinale* [J]. *Phytother Res*, 2002, 16: 621-626.
- [15] Chen H, Soroka DN, Haider J, et al. [10]-Gingerdiols as the major metabolites of [10]-gingerol in zebrafish embryos and in humans and their hematopoietic effects in zebrafish embryos [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61: 5353-5360.