

百两金中一个新的 γ -戊内酯衍生物

殷鑫, 胡瑞航, 周永强, 魏鑫, 朱蔚芊, 俸婷婷, 周英*

(贵州中医药大学药学院, 贵州 贵阳 550025)

摘要: 采用正相硅胶柱色谱、反相 ODS 柱色谱、HPLC 高效液相色谱法对百两金乙醇提取物进行分离纯化, 结合理化性质、UV、MS、NMR 等波谱学技术鉴定化合物的结构。从百两金提取物乙酸乙酯部位中分离鉴定出 4 个单体化合物, 分别为百两金内酯 A (**1**)、(+)-pinoresinol (**2**)、3,5-二甲氧基-4-羟苯基-1-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 (**3**) 和 (+)-schizandriside (**4**), 其中化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **2**~**4** 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 报春花科; 百两金; γ -戊内酯; 化学成分

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2022)06-1845-04

A new γ -valerolactone derivative from the roots of *Ardisia crispa*YIN Xin, HU Rui-hang, ZHOU Yong-qiang, WEI Xin, ZHU Wei-qian,
FENG Ting-ting, ZHOU Ying*

(College of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China)

Abstract: Four compounds were isolated from the 70% EtOH extract of *Ardisia crispa* by using various chromatographic techniques, including silica gel, ODS and semi-preparative HPLC. The structures of **1**–**4** were elucidated based on physicochemical properties and spectroscopic data. These compounds were defined as crispalactone A (**1**), (+)-pinoresinol (**2**), 3,5-dimethoxy-4-hydroxyphenol-1-*O*- β -D-glucopyranoside (**3**) and (+)-schizandriside (**4**). Compound **1** is a new γ -valerolactone derivative, and compounds **2**–**4** are firstly isolated from *Ardisia crispa*.

Key words: Primulaceae; *Ardisia crispa*; γ -valerolactone; chemical composition

百两金为报春花科紫金牛属植物百两金 (*Ardisia crispa*) 的根及根茎, 产于长江流域以南各省, 其中在四川、贵州、湖南等省分布较为广泛, 药用历史悠久^[1]。据《中药大辞典》记载, 百两金性凉, 具有清热、祛痰、利湿之功效, 主治咽喉肿痛、湿热黄疸、跌打损伤等疾

收稿日期: 2021-12-06; 修回日期: 2021-12-31.

基金项目: 国家重点研发计划 (2018YFC1708100); 国家自然科学基金项目 (82104538); 贵州省科技计划项目 (黔科合平台人才 [2019] 5407); 贵州省教育厅青年人才成长项目 (黔教合 KY [2021] 202); 贵州省科技厅基础研究计划 (黔科合基础-ZK [2021] 一般 519)。

*通讯作者 Tel: 86-851-88233090, E-mail: Yingzhou71@sina.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2021-1736

病^[2]。现代药理学研究表明, 百两金具有抗肿瘤、抗炎及抑制血管生成等作用^[3-11]。目前, 国内外学者对于百两金的研究主要以药理作用为主, 其化学成分研究甚少。为进一步阐明百两金的化学成分, 本研究从 70% 乙醇提取物的乙酸乙酯部位分离鉴定出 4 个单体化合物 (图 1), 分别为: 百两金内酯 A (**1**)、(+)-pinoresinol (**2**)、3,5-二甲氧基-4-羟苯基-1-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 (**3**) 和 (+)-schizandriside (**4**), 其中化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **2**~**4** 为首次从该植物中分离得到。

结果与讨论

化合物 **1** 白色无定形粉末, HR-ESI-MS m/z : 245.078 6 [M+Na]⁺ (C₁₈H₂₁ONa 计算值 245.078 4), 提示化合物的分子式为 C₁₂H₁₄O₄。在化合物 **1** 的 ¹H NMR 中, 观察到 3 组芳香质子信号 [δ_{H} 6.31 (1H, dd, $J = 2.2, 1.5$ Hz, H-2'), δ_{H} 6.29 (1H, dd, $J = 2.2, 1.5$ Hz, H-6'), δ_{H} 6.24 (1H, t like, $J = 2.2$ Hz, H-4')], 提示该化合物存在一个 1,3,5 三取代苯环。此外还可观察到一组次甲基

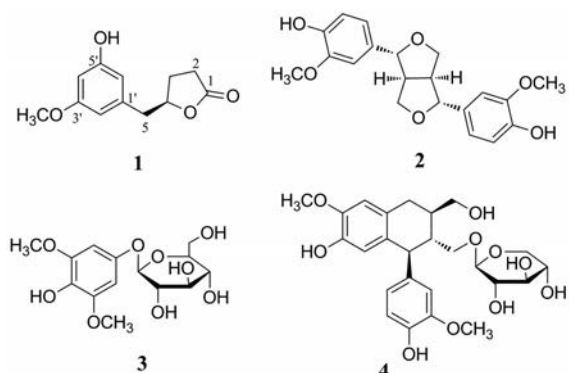


Figure 1 Chemical structures of compounds 1-4

质子信号 [δ_{H} 4.76 (1H, m, H-4)]、一组甲氧基质子信号 [δ_{H} 3.72 (3H, s), 3'-OCH₃]、3组亚甲基质子信号 [δ_{H} 2.91 (1H, dd, $J = 13.9, 6.4$ Hz, H-5a)、2.82 (1H, dd, $J = 13.9, 6.0$ Hz, H-5b)、 δ_{H} 2.50 (1H, ddd, $J = 17.8, 9.7, 9.0$ Hz, H-2a)、 δ_{H} 2.36 (1H, ddd, $J = 17.8, 9.5, 4.8$ Hz, H-2b)、 δ_{H} 2.26 (1H, m, H-3a)、 δ_{H} 1.96 (1H, m, H-3b)]。通过分析 ¹³C NMR 及 DEPT-135 谱可确定化合物 1 中含有 12 个碳, 其中包括一组苯环碳信号 δ_{C} 162.4 (C-3')、159.7 (C-5')、139.9 (C-1')、110.0 (C-6')、107.5 (C-2')、100.7 (C-4'); 1 个酯羰基碳信号 δ_{C} 180.2 (C-1); 1 个次甲基碳信号 δ_{C} 82.9 (C-4); 1 个甲氧基碳信号 δ_{C} 55.6 (3'-OCH₃); 3 个亚甲基碳信号 δ_{C} 42.2 (C-5)、29.5 (C-2)、28.0 (C-3)。通过对比化合物 1 与已知化合物 (4*R*)-5-(3',5'-dihydroxyphenyl)- γ -valerolactone 的 NMR 数据^[12], 两者数据非常接近, 其 γ -戊内酯环的碳氢数据基本一致, 最主要的区别在于苯环上的碳信号。通过进一步分析两者 ¹³C NMR 数据, 发现已知化合物 (4*R*)-5-(3',5'-dihydroxyphenyl)- γ -valerolactone 的 3'位及 5'位均连有羟基, 侧链内酯环连接在 1'位上, 导致该化合物苯环呈现出两组对称重叠的碳信号 [(C-2',6') 和 (C-3',5')], 因此在低场区仅出现 4 个芳香碳信号; 而化合物 1 中出现 6 个芳香碳信号, 同时还多出一组甲氧基碳氢信号, 由此推测该甲氧基可能连接在化合物 1 的 C-3'或 C-5'位上。在 HMBC 谱中可以明显观察到甲氧基质子 δ_{H} 3.72 (3H, s, 3'-OCH₃) 与 δ_{C} 162.4 (C-3') 存在相关信号 (图 2), 由此可确定甲氧基连接在 C-3'上。在 CD 谱中, 观察到化合物 1 在 280 nm 处出现正 Cotton 效应, 同时结合其比旋光度 [$\alpha_{\text{D}}^{24} -12$ (c 0.1, MeOH)] [已知化合物 (4*R*)-5-(3',5'-dihydroxyphenyl)- γ -valerolactone 比旋光度 [$\alpha_{\text{D}}^{27} -12.9$ (c 0.4, MeOH)], 可确定 C-4 位的绝对构型为 *R*。最后, 通过 ¹H NMR、¹³C NMR、DEPT-135、HSQC、¹H-¹H COSY、HMBC 对化合物 1 的碳氢数据进行了准确的归属 (表 1)。

综上所述, 确定化合物 1 的结构为: (4*R*)-5-(3'-

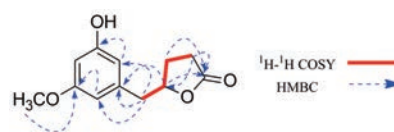


Figure 2 Key HMBC and ¹H-¹H COSY correlations of compound 1

Table 1 ¹H NMR (400 MHz in CD₃OD) and ¹³C NMR (100 MHz in CD₃OD) spectral data of compound 1

Position	δ_{C}	δ_{H}
1	180.2	-
2	29.5	2.50 (1H, ddd, $J = 17.8, 9.7, 9.0$ Hz) 2.36 (1H, ddd, $J = 17.8, 9.5, 4.8$ Hz)
3	28.0	2.26 (1H, m) 1.96 (1H, m)
4	82.9	4.76 (1H, m)
5	42.2	2.91 (1H, dd, $J = 13.9, 6.4$ Hz) 2.82 (1H, dd, $J = 13.9, 6.0$ Hz)
1'	139.9	-
2'	107.5	6.31 (1H, dd, $J = 2.2, 1.5$ Hz)
3'	162.4	-
4'	100.7	6.24 (1H, t, like, $J = 2.2$ Hz)
5'	159.7	-
6'	110.0	6.29 (1H, dd, $J = 2.2, 1.5$ Hz)
3'-OCH ₃	55.6	3.72 (3H, s)

methoxy-5'-hydroxyphenyl)- γ -valerolactone, 经 Scifinder 检索为未见文献报道的新化合物, 命名为: 百两金内酯 A (crispalactone A), 结构见图 1。

实验部分

DPX-400 型核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司); Shimadzu LC-16D 半制备型高效液相色谱仪 (日本岛津公司); RID-20A 示差检测器 (日本岛津公司); ODS 色谱填料 (日本 YMC 公司); 柱色谱硅胶 (200~300 目, 300~400 目, 青岛海洋化工厂); 提取分离所用二氯甲烷、甲醇、乙醇等有机试剂均为天津富宇精细化工有限公司生产, 均为分析纯; 高效液相所用甲醇为色谱纯。

百两金于 2019 年 5 月从贵州省凯里市采集, 由贵州中医药大学魏升华教授鉴定为植物百两金 *Ardisia crispa* 的根, 样品标本 (No. 20190502) 存放于贵州中医药大学药学院标本馆。

1 提取分离

干燥的百两金根 7.0 kg, 粉碎后经 70% 乙醇加热回流提取 (10 倍量溶剂, 提取 3 次, 每次 2 h), 过滤合并滤液, 减压回收溶剂得浸膏。浸膏经水分散, 依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取, 分别得石油醚萃取部位 7.9 g, 乙酸乙酯萃取部位 72.2 g, 正丁醇萃取部位 566.7 g。取乙酸乙酯萃取部位 (70 g), 经硅胶柱色谱 (200~300 目) 分离, 二氯甲烷与甲醇 (体积比为 100:0 至 0:100) 梯度

洗脱, 得8个流分(Fr. A~H)。Fr. B (7.1 g) 经 ODS 柱色谱, 依次用甲醇与水 (体积比为0:100至100:0) 梯度洗脱, 后经 HPLC 高效液相色谱分离, 流动相甲醇-水 (53:47) 得到化合物 **1** (3.5 mg, $t_R = 11.2$ min) 与化合物 **2** (4.5 mg, $t_R = 18.8$ min)。Fr. F (11.2 g) 经 ODS 柱色谱, 依次用甲醇与水 (体积比为0:100至100:0) 梯度洗脱, 后经 HPLC 高效液相色谱分离, 流动相甲醇-水 (42:58) 得到化合物 **4** (3.5 mg, $t_R = 15.9$ min) 和化合物 **3** (2.7 mg, $t_R = 18.6$ min)。

2 结构鉴定

化合物 **1** 白色无定形粉末, $[\alpha]_D^{24} -12$ (c 0.1, MeOH); HR-ESI-MS m/z : 245.078 6 $[M+Na]^+$ ($C_{18}H_{21}ONa$ 计算值 245.078 4); UV λ_{max} (MeOH) nm (log ϵ): 201 (2.5)、230 (1.1)、275 (0.3); CD (c 4.08×10^{-3} mol·L⁻¹ MeOH): λ_{max} ($\Delta\epsilon$) 210 (-2.5)、250 (+1.9)、280 (+2.8) nm; IR (KBr): 3 443、2 922、2 359、1 600、1 475、668 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) 和 ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) 数据见表1。

化合物 **2** 白色粉末, 易溶于甲醇、吡啶。 $[\alpha]_D^{25} +58$ (c 0.1, MeOH); ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 6.93 (2H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2,2'), 6.80 (2H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, H-6,6'), 6.76 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5,5'), 4.70 (2H, d, $J = 4.4$ Hz, H-7,7'), 4.23 (2H, dd, $J = 9.0, 6.9$ Hz, H-9a,9'a), 3.85 (6H, s, OCH₃), 3.82 (2H, dd, $J = 9.0, 3.7$ Hz, H-9b,9'b), 3.13 (2H, m, H-8,8'); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 149.1 (C-3,3'), 147.3 (C-4,4'), 133.8 (C-1,1'), 120.1 (C-6,6'), 116.1 (C-5,5'), 111.0 (C-2,2'), 87.5 (C-7,7'), 72.6 (C-9,9'), 56.4 (3,3'-OCH₃), 55.4 (C-8,8')。以上核磁数据与文献报道基本一致^[13,14], 故鉴定化合物 **2** 为 (+)-pinoresinol。

化合物 **3** 白色粉末, 易溶于甲醇、吡啶。 ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 6.13 (2H, s, H-2,6), 4.66 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1'), 3.78 (6H, s, -OCH₃), 3.78 (1H, dd, $J = 11.8, 2.4$ Hz, H-6'a), 3.66 (1H, dd, $J = 11.8, 5.2$ Hz, H-6'b); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 156.0 (C-1), 154.8 (C-3,5), 129.6 (C-4), 106.2 (C-1'), 94.5 (C-2,6), 78.2 (C-3'), 77.8 (C-5'), 75.7 (C-2'), 71.3 (C-4'), 62.6 (C-6'), 56.8 (3,5-OCH₃)。以上核磁数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 **3** 为 3,5-二甲氧基-4-羟苯基-1- O - β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **4** 白色无定形粉末, 易溶于甲醇、吡啶。 $[\alpha]_D^{25} +12$ (c 0.1, MeOH); ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 6.77 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2), 6.73 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.64 (1H, s, H-2'), 6.62 (1H, dd, $J = 8.0, 1.8$ Hz, H-6), 6.16 (1H, s, H-5'), 4.05 (1H, d, $J = 10.1$ Hz, H-7), 4.04

(1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1''), 3.97 (1H, dd, $J = 11.3, 2.8$ Hz, H-9a), 3.80 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.79 (3H, s, 3-OCH₃), 3.79 (1H, dd, $J = 11.3, 5.4$ Hz, H-9b), 3.75 (1H, dd, $J = 10.9, 4.4$ Hz, H-9'a), 3.69 (1H, dd, $J = 10.9, 6.0$ Hz, H-9'b), 2.82 (2H, m, H-7'), 2.05 (1H, m, H-8'), 1.84 (1H, m, H-8); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 148.9 (C-3), 147.1 (C-3'), 145.8 (C-4), 145.1 (C-4'), 138.6 (C-1), 134.3 (C-6'), 129.1 (C-1'), 123.1 (C-6), 117.4 (C-5'), 116.1 (C-5), 114.2 (C-2), 112.4 (C-2'), 105.8 (C-1''), 77.8 (C-3''), 75.0 (C-2''), 71.3 (C-4''), 69.3 (C-9), 66.9 (C-5''), 65.1 (C-9'), 56.4 (3'-OCH₃), 56.3 (3-OCH₃), 47.9 (C-7), 45.9 (C-8), 39.6 (C-8'), 33.8 (C-7')。以上核磁数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 **4** 为 (+)-schizandriside。

作者贡献: 周英负责课题的选题与设计; 殷鑫负责数据的分析处理及文章的撰写; 胡瑞航负责实验实施; 周永强、魏鑫、俸婷婷负责文章的审阅及实验指导; 朱蔚芊参与实验实施。

利益冲突: 作者声明无利益冲突。

References

- [1] Kobayashi H, Mejía E. The genus *Ardisia*: a novel source of health-promoting compounds and phytopharmaceuticals [J]. *J Ethnopharmacol*, 2005, 96: 347-354.
- [2] Editorial Committee of Nan Jing University of Chinese Medicine. Chinese Materia Medica (中药大辞典) [M]. Vol 1. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2014: 1181.
- [3] Nordin ML, Kadir AA, Zakaria ZA, et al. *In vitro* investigation of cytotoxic and antioxidative activities of *Ardisia crispa* against breast cancer cell lines, MCF-7 and MDA-MB-231 [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2018, 18: 87.
- [4] Yeong LT, Hamid RA, Yazan LS, et al. Low dose triterpene-quinone fraction from *Ardisia crispa* root precludes chemical-induced mouse skin tumor promotion [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2015, 15: 431.
- [5] Jun LW, Foong CP, Hamid RA, et al. *Ardisia crispa* root hexane fraction suppressed angiogenesis in human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) and *in vivo* zebrafish embryo model [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118: 109221.
- [6] Yeong LT, Hamid RA, Yazan LS, et al. Synergistic action of compounds isolated from the hexane extract of *Ardisia crispa* root against tumour-promoting effect, *in vitro* [J]. *Nat Prod Res*, 2014, 28: 2026-2030.
- [7] Hamid RA, Othman F, Anthony JJ, et al. Chemopreventive effect of *Ardisia crispa* hexane fraction on the peri-initiation phase of mouse skin tumorigenesis [J]. *Med Princ Pract*, 2013, 22: 357-361.
- [8] Nordin ML, Kadir AA, Zakaria ZA, et al. Cytotoxicity and apoptosis induction of *Ardisia crispa* and its solvent partitions against

- Mus musculus* mammary carcinoma cell line (4T1) [J]. Evid Based Complement Altern Med, 2017, 2017: 9368079.
- [9] Hamsin D, Hamid RA, Yazan LS, et al. *Ardisia crisper* roots inhibit cyclooxygenase and suppress angiogenesis [J]. BMC Complement Altern Med, 2014, 14: 102.
- [10] Hamsin D, Hamid RA, Yazan LS, et al. The hexane fraction of *Ardisia crisper* Thunb. A. DC. roots inhibits inflammation-induced angiogenesis [J]. BMC Complement Altern Med, 2013, 13: 5.
- [11] Sulaiman H, Hamid RA, Yeong LT, et al. Anti-tumor effect of *Ardisia crisper* hexane fraction on 7, 12-dimethylbenz[α]anthracene-induced mouse skin papillomagenesis [J]. J Cancer Res Ther, 2012, 8: 404-410.
- [12] In SJ, Seo KH, Song NY, et al. Lignans and neolignans from the stems of *Viburnum erosum* and their neuroprotective and anti-inflammatory activity [J]. Arch Pharm Res, 2015, 38: 26-34.
- [13] Li SN, Yang YY, Xu L, et al. Simultaneous determination of three chemical compounds in embryonic parenchyma cells and endocarp stone cells of *Arctii Fructus* at five different growth stages by UFLC-MS/MS [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2019, 54: 1265-1270.
- [14] Diao YL, Re-Zeng CD, Wang RF, et al. Phenolic compounds from stems of *Rubus amabilis* focke [J]. Nat Prod Res Devel (天然产物研究与开发), 2014, 26: 11-14, 49.
- [15] Xu JF, Li FS, Feng ZM, et al. A new sesquiterpenoid from *Mallotus apelta* [J]. Chem Nat Compd, 2011, 47: 218-219.
- [16] Kohri T, Matsumoto N, Yamakawa M, et al. Metabolic fate of (-)-[4- ^3H] epigallocatechin gallate in rats after oral administration [J]. J Agric Food Chem, 2001, 49: 4102-4112.