稀有植物四川金粟兰化学成分的进一步研究

王立军 刘彩云* 熊娟 胡金锋*

(复旦大学药学院 上海 201203)

摘要 对稀有植物四川金粟兰(*Chloranthus sessilifolius*)全草甲醇提取物开展进一步化学成分研究, 从中分离得到 2 个二萜类、1 个苯丙素类、1 个黄酮类和 1 个木脂素类化合物. 利用多种波谱和光谱技术(如红外、紫外、1D/2D NMR、ECD、HR-ESIMS)结合相关文献中的理化数据确定了它们的结构分别为: (3*R*,5*S*,6*S*,9*S*,10*S*,13*S*)-3,6,13-三羟基-对映松香烷-8(14)-烯-7-酮(**1**)、3*α*,15-二羟基-13*α*-甲氧基-对映松香烷-8(14)-烯-7-酮(**2**)、*p*-香豆酰- β -苯乙胺(**3**)、柚皮素三甲基醚(**4**)和(3*R*,4*R*,3'*R*,4'*R*)-6,6'-二甲氧基-3,4,3',4'-四氢-2*H*,2*H'*-[3,3']-双色原烯-4,4'-二醇(**5**). 其中, 化合物 **1** 为新的对映松香烷型二萜, 而 **3**~**5** 则均为首次从金粟兰属植物中分离得到的化合物.

关键词 四川金粟兰; 金粟兰科; 化学成分; 对映松香烷二萜

Further Chemical Constituents from the Rare Chloranthaceae Plant *Chloranthus sessilifolius*

Wang, Lijun Lau, Choiwan* Xiong, Juan Hu, Jinfeng*

(School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203)

Abstract Two diterpenoids and a few miscellaneous components (one phenethylpropanoid, one flavonoid, and one lignan) were isolated from the MeOH extract of the whole plant of the rare Chloranthaceae plant *Chloranthus sessilifolius* during a further phytochemical reinvestigation. Based on their spectroscopic data (*i.e.*, IR, UV, 1D/2D NMR, ECD, and HR-ESIMS) and/or comparing with those reported physicochemical data in related literature, the structures were determined to be (3*R*,5*S*,6*S*,9*S*,10*S*,13*S*)-3,6,13-trihydroxy-*ent*-abiet-8(14)-en-7-one (**1**), 3*α*,15-dihydroxy-13*α*-methoxy-*ent*-abiet-8(14)-en-7-one (**2**), *p*-coumaroyl- β -phenethyl amine (**3**), narigenin trimethyl ether (**4**), and (3*R*,4*R*,3'*R*,4'*R*)-6,6'-dimethoxy-3,4,3',4'-tetrahydro-2*H*,2*H'*-[3,3']-bichromenyl-4,4'-diol (**5**). Among them, compound **1** is new, while compounds **3**~**5** were isolated from the *Chloranthus* genus for the first time.

Keywords *Chloranthus sessilifolius*; Chloranthaceae; chemical constituents; *ent*-abietane-type diterpenoids

金粟兰科(Chloranthaceae)金粟兰属(*Chloranthus*)是一个全球拥有不足 20 个种的小属, 该属植物主要分布在亚洲的热带和温带地区^[1]. 我国有 13 个种和 5 个变种, 民间多以此属植物全草(如中药及 *Chloranthus serratus*)入药, 具有祛风散寒、舒筋强骨、活血散瘀和消肿止痛等功效^[1]. 金粟兰属植物往往富含倍半萜单体和乌药烷型倍半萜(lindenane)二聚体^[2~5], 同时亦被报道代谢产生对映贝壳烷(*ent*-kaurane)和半日花烷型(labdane)二萜类化合物^[2]. 四川金粟兰(*Chloranthus sessilifolius* K. F. Wu)作为中国特有的稀有金粟兰属多年生草本植物, 目前仅发现生长在我国四川省凤栖山林下潮湿地带

[6]. 我们课题组^[7,8]前期从四川金粟兰植物中发现一系列具有神经抗炎活性的新型对映松香烷型(*ent*-abietane)二萜类化合物. 其全草的甲醇粗提物用水混悬, 再依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇进行萃取. 乙酸乙酯层(248.0 g)减压浓缩后, 经硅胶柱色谱得到 6 个组分, 本工作仅将其中第三个组分(Fr.C)作为研究对象, 利用多种色谱分离手段(如 MCI 和 HPLC)从中得到了 5 个单体成分. 通过红外、紫外、1D/2D NMR、ECD 和 HR-ESIMS, 以及对文献报道的理化和核磁数据, 分别鉴定为一个新的对映松香烷型二萜(3*R*,5*S*,6*S*,9*S*,10*S*,13*S*)-3,6,13-三羟基-对映松香烷-8(14)-烯-7-酮(**1**)和 4 个已知化合物(图

* E-mail: jfhu@fudan.edu.cn

Received February 1, 2016; revised March 4, 2016; published online March 28, 2016.

Project supported by National Natural Science Foundation of China (Nos. 21472021, 81273401, 21575029) and the National Basic Research Program of China (973 Program, No. 2013CB530700).

国家自然科学基金(Nos. 21472021, 81273401, 21575029)和国家重点基础研究发展计划(973 计划, No. 2013CB530700)资助项目.

1), 即: 13 α -甲氧基-3 α ,15-二羟基-对映松香烷-8(14)-烯-7-酮(=15-hydroxysessilifol F) (**2**)^[9]、*p*-香豆酰- β -苯乙胺(**3**)^[10]、柚皮素三甲基醚(**4**)^[11]和(3*R*,4*R*,3'*R*,4'*R*)-6,6'-二甲氧基-3,4,3',4'-四氢-2*H*,2*H'*-[3,3']-双色原烯-4,4'-二醇(**5**)^[12].

图1 化合物1~5的结构

Figure 1 Chemical structures of compounds 1~5

1 结果与讨论

化合物**1**为无色无定形粉末,其分子式($\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_4$)是根据其HR-ESIMS(准分子离子峰检测测定为 m/z 337.2375 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 计算值为 337.2373)推断出来的,并得到其 ^{13}C NMR数据的佐证.在IR光谱中,3408 (br.)、1693和1633 cm^{-1} 处吸收带显示,该化合物依次存在羟基和 α,β 不饱和羰基官能团,后者得到UV光谱(λ_{max})在248.5 nm吸收带的进一步确认.分析其 ^1H NMR数据,推断化合物**1**结构中含有3个单峰甲基(δ 0.98, 1.10, 1.31),2个双峰甲基[δ 0.95, 0.99 (each d, $J=7.0$ Hz, Me-16, Me-17)],1个烯氢[δ 6.72 (br s, H-14)]和2个连氧的次甲基[δ 3.30 (dd, $J=11.7, 4.2$ Hz, H-3), 4.28 (d, $J=12.6$ Hz, H-6)]等质子信号.其 ^{13}C NMR谱图中的20个碳信号可归属为1个羰基,5个甲基,4个亚甲基,6个次甲基(包括2个分别在 δ 78.8和75.2的含氧次甲基;1个在 δ 141.9的双键次甲基),1个连氧的叔碳(δ 72.4)和3个季碳(包括1个双键季碳在 δ 135.9).以上数据说明化合物**1**在结构上与从宽叶金粟兰(*C. henryi*)中分离得

到的对映松香烷二萜类化合物 15-hydroxysessilifol F^[9](化合物**2**)十分相似,区别在于化合物**1**少了1个甲氧基信号和1个连氧的叔碳信号,取而代之的是**1**中多了1个连氧的次甲基信号,表明化合物**1**中3个羟基都是游离状态,且位置发生了变化.在化合物**1**的COSY谱中,除看到自旋体系H-5-H-6外,还可看到异丙基的两个甲基Me-16(17)与H-15相关.以上数据很容易证实化合物**1**中的C-6位(而非C-15)发生氧化而连有一个羟基.在**1**的HMBC谱图上,H-6 [δ 4.28, (d, $J=12.5$ Hz, H-6 α)]同C-5 (δ 55.6)/C-7 (δ 202.5)相关可以进一步证实C-6被羟化(图2).化合物**1**的相对构型是通过分析相关质子的耦合常数以及NOESY谱确定的.H-3和H-6显示大的耦合常数($J_{\text{H-2}\alpha,3}=11.1$ Hz; $J_{\text{H-5,6}}=12.5$ Hz)证实这两个质子都处在直立键.在NOESY(图2)谱中,Me-18/H-3, Me-18/H-5, Me-19/H-6, H-3/H-1 β , H-1 β /H-9, H-9/H-12 β 和H-12 α /Me-16(17)等NOE相关信号确定了H-3、H-5、H-9、OH-6和OH-13都是处于 β -位.化合物**1**的绝对构型是通过与我们前文报道的一个结构类似的对映松香烷型二萜 sessilifol D^[7]比对它们的圆二色谱(ECD)加以确定的.化合物**1**在259和333 nm两处均产生正的Cotton效应与sessilifol D (254和330 nm)^[7]一致.因此,化合物**1**被确定为(3*R*,5*S*,6*S*,9*S*,10*S*,13*S*)-3,6,13-三羟基-对映松香烷-8(14)-烯-7-酮(**1**)[(3*R*,5*S*,6*S*,9*S*,10*S*,13*S*)-3,6,13-trihydroxy-*ent*-abieta-8(14)-en-7-one](图1).

图2 化合物1的HMBC和NOE相关.

Figure 2 Key HMBC and NOE correlations of **1**

在前期工作中,我们^[7,8]发现部分对映松香烷型二萜,如 sessilifol F、sessilifol I、3 α ,7 β -dihydroxy-*ent*-abieta-8,11,13-triene,具有很好的神经抗炎活性(IC_{50} 分别为8.3、7.4、4.3 $\mu\text{mol/L}$).本工作中,在神经抗炎模型BV-2上对所分离得到的两个对映松香烷型二萜(**1**, **2**)进行了类似的活性测试,但两者活性都很弱($\text{IC}_{50}>50$ $\mu\text{mol/L}$).

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

比旋光值采用 Rudolph Autopol VI 旋光仪测定; 紫外和红外分别采用日立 U-2900E 双光束分光光度仪和 Thermo Scientific Nicolet iS5 傅里叶变换红外光谱仪测定; 圆二色谱采用 JASCO-810 分光偏振计测定; 核磁共振谱采用 Bruker Avance III 400 MHz 和 600 MHz 核磁共振仪测定, 化学位移以 δ 表示并以相应的残余溶剂峰作为参照; 低分辨质谱采用 Agilent 1100 series 质谱仪测定; 高分辨质谱则采用 Agilent Technologies 6224 TOF LC/MS 质谱仪测定; 半制备型高效液相色谱仪为 Waters e2695 系列, 配备有 Waters 2998 PDA 检测器和 Waters 2424 ELSD 检测器; 半制备型色谱柱为 SunFire ODS column (5 μ m, 250 mm $\times$ 10 mm; 流速: 3.0 mL/min); 正相柱色谱硅胶规格为 200~300 目(烟台牟平区康必诺化学试剂厂和青岛海洋化工厂分厂); 三菱凝胶吸附树脂 MCI gel CHP20P 规格为 75~150 μ m (Mitsubishi Chemical Industries, 日本东京); 薄层层析(TLC)板规格为 GF254/0.25 mm(烟台牟平区康必诺化学试剂厂)。分析纯试剂购自于上海泰坦科技股份有限公司, 色谱级溶剂购自北京百灵威科技有限公司, 氘代试剂由 Sigma-Aldrich 生产; 薄层层析显色剂为 10% H₂SO₄/EtOH (*V*:*V*) (120 $^{\circ}$ C 烘烤)。

四川金粟兰(*Chloranthus sessilifolius*) 全草 2012 年 8 月采集于四川凤栖山, 经第二军医大学生药教研室黄宝康教授鉴定。标本(20120801)现存于复旦大学药学院天然药物化学教研室。

2.2 提取与分离

四川金粟兰全草 6.8 kg, 用 20 L 的纯甲醇室温冷浸 24 h, 共 3 次。合并 3 次提取液, 经过滤、减压浓缩, 得到 463 g 总浸膏。将得到的浸膏用 2 L 的水分散制成悬浊液, 然后依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇进行萃取。乙酸乙酯部分经减压浓缩得 248 g 样品, 接着用硅胶柱色谱(10 cm $\times$ 80 cm)进行初步分离, 石油醚和丙酮梯度洗脱(9:1~0:1, *V*/*V*), 得到 6 个组分 Fr.A~Fr.F 前文已报道从 Fr.A、Fr.B、Fr.D、Fr.E 等组分中分离得到一系列二萜^[7,8]和倍半萜^[8]。Fr.C 和 Fr.F 初步检测分析时原以为不含感兴趣的二萜成分, 被置于一旁未做研究^[8]。后经仔细分析发现 Fr.C 含有少量二萜成分, 但 Fr.F 是从硅胶柱色谱上最后洗脱下来的组分, 仅十几毫克且色素较重, 经 TLC 和 HPLC 分析发现不含任何感兴趣的化学成分, 被最终弃置。

Fr.C 采用 MCI 柱色谱(6.0 cm $\times$ 30 cm)进行进一步分离, 洗脱剂为甲醇和水(50%~100%, *V*/*V*)。将 70%~

80%甲醇部分(Fr. CB)用硅胶柱(4 cm $\times$ 60 cm) 进行梯度洗脱, 洗脱剂为石油醚和乙酸乙酯(4:1~1:1, *V*/*V*)得到 5 个组分 Fr.CB1~Fr.CB5。将 Fr.CB2 用硅胶柱色谱(2.5 cm $\times$ 40 cm) 分离纯化, 洗脱剂为二氯甲烷和乙酸乙酯(1:1, *V*/*V*), 再用半制备 HPLC[流动相: *V*(MeOH):*V*(H₂O)=65:35]进一步纯化得到化合物 **3** (5.5 mg, *t_R*=10.1 min)和化合物 **5** (4.1 mg, *t_R*=6.8 min)。化合物 **4** (7.8 mg, *t_R*=15.5 min)是经过一系列的硅胶柱色谱最后经半制备 HPLC 色谱[流动相: *V*(MeOH):*V*(H₂O)=55:45]从 Fr.CB3 获得。Fr.CB5 用半制备 HPLC 色谱[流动相: *V*(MeOH):*V*(H₂O)=55:45]进行纯化, 最后得到化合物 **1** (2.1 mg, *t_R*=12.1 min)和化合物 **2** (2.6 mg, *t_R*=19.2 min)。

(3*R*,5*S*,6*S*,9*S*,10*S*,13*S*)-3,6,13-三羟基-对映松香烷-8(14)-烯-7-酮(**1**): 无定形粉末; [α]_D²⁵ +9.0 (*c* 0.21, CH₂Cl₂); UV-Vis (MeOH) $\lambda_{\max}$ [log ϵ /(L $\cdot$ mol⁻¹ $\cdot$ cm⁻¹)]: 248.5 (3.2); ECD (*c* 1.19 $\times$ 10⁻³ mol/L, MeOH) ($\Delta\epsilon$): 259 (+1.7), 333 (+0.4) nm; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 1.74 (ddd, *J*=13.4, 3.5, 3.5 Hz, H-1 α), 1.26 (ddd, *J*=13.4, 13.4, 3.4 Hz, H-1 β), 1.66~1.76 (m, H-2 α), 1.56~1.67 (m, H-2 β), 3.30 (dd, *J*=11.1, 4.0 Hz, H-3), 1.51 (d, *J*=12.5 Hz, H-5 β), 4.28 (d, *J*=12.5 Hz, H-6 α), 2.06~2.16 (m, H-9 β), 1.70~1.80 (m, H-11 α), 1.36~1.46 (m, H-11 β), 2.08~2.18 (m, H-12 α), 1.34~1.44 (m, H-12 β), 6.72 (br s, H-14), 0.95 (d, *J*=7.0 Hz, Me-16), 0.99 (d, *J*=7.0 Hz, Me-17), 1.31 (s, Me-18), 1.10 (s, Me-19), 0.98 (s, Me-20); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ : 37.0 (C-1), 26.7 (C-2), 78.8 (C-3), 39.7 (C-4), 55.6 (C-5), 75.2 (C-6), 202.5 (C-7), 135.9 (C-8), 50.1 (C-9), 35.8 (C-10), 20.7 (C-11), 32.8 (C-12), 72.4 (C-13), 141.9 (C-14), 37.4 (C-15), 16.7 (C-16), 16.8 (C-17), 30.3 (C-18), 15.1 (C-19), 16.0 (C-20); IR (film) ν : 3408 (br), 2965, 2931, 2871, 1693, 1633, 1446, 1380, 1249, 1001 cm⁻¹; ESIMS *m/z*: 337.0 [M+H]⁺, 359.0 [M+Na]⁺; HR-ESIMS calcd for C₂₀H₃₃O₄ [M+H]⁺ 337.2373, found 337.2375。

辅助材料(Supporting Information) 新化合物 **1** 的 1D/2D NMR、高分辨质谱及 ECD 光谱等谱图。这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载。

References

- [1] Editorial committee *Flora of China*, Science Press, Beijing, **1982**, Vol. 20, pp. 80~96 (in Chinese). (编委会, 中国植物志, 科学出版社, 北京, **1982**, Vol. 20, pp. 80~96.)
- [2] Wang, A. R.; Song, H. C.; An, H. M.; Huang, Q.; Luo, X.; Dong, J. Y. *Chem. Biodiversity* **2015**, 2, 451.

- [3] Wang, L. J.; Xiong, J.; Liu, S. T.; Liu, X. H.; Hu, J.-F. *Chem. Biodiversity* **2014**, *11*, 919.
- [4] Liu, S. T.; Xiong, J.; Tang, Y.; Wang, W. X.; Bui, V. B.; Ma, G. L.; Huang, Y.; Zhao, Y.; Yang, G. X.; Hu, J.-F. *Chem. Biodiversity* **2014**, *11*, 904.
- [5] Xiong, J.; Liu, S. T.; Tang, Y.; Wang, W. X.; Bui, V. B.; Zhao, Y.; Fan, H.; Yang, G. X.; Hu, J.-F. *Phytochem. Lett.* **2013**, *6*, 586.
- [6] Wang, D. Q. *Lishizhen Med. Mater. Med. Res.* **1991**, *2*, 140 (in Chinese).
(王德群, 时珍国药研究, **1991**, *2*, 140.)
- [7] Wang, L. J.; Xiong, J.; Liu, S. T.; Pan, L. L.; Yang, G. X.; Hu, J.-F. *J. Nat. Prod.* **2015**, *78*, 1635.
- [8] Wang, L. J.; Xiong, J.; Lau, C.; Pan, L. L.; Hu, J.-F. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **2015**, *17*, 1220.
- [9] Xie, C. F.; Sun, L. M.; Liao, K. Liu, S.; Wang, M. C.; Xu, J.; Bartlam, M.; Guo, Y. Q. *J. Nat. Prod.* **2015**, *78*, 2800.
- [10] Sinz, A.; Matusch, R.; Van Eläcker, F.; Santisuk, T.; Chaichana, S.; Reutrakul, V. *Phytochemistry* **1999**, *50*, 1069.
- [11] Seidel, V.; Bailleul, F.; Waterman, P. G. *Phytochemistry* **2000**, *55*, 439.
- [12] Sielinou, V. T.; Vardamides, J. C.; Nkengfack, A. E.; Laatsch, H. *Phytochem. Lett.* **2012**, *5*, 409.

(Qin, X.)