

东亚小金发藓中 1 个新的二苯甲酮类化合物

段绪红^{1,2}, 何培², 秦梦², 李琳¹, 裴林^{2*}, 赵建成^{1*}

1. 河北师范大学生命科学学院, 河北 石家庄 050016

2. 河北省中医药科学院, 河北 石家庄 050030

摘要: 目的 对东亚小金发藓 *Pogonatum inflexum* 全草的化学成分进行研究, 以期发现新的活性化合物。方法 采用硅胶、凝胶、MCI-Gel 树脂及 RP-HPLC 等多种色谱技术进行分离纯化, 运用波谱方法对所分离的化合物进行结构鉴定。并用 MTT 法测定了化合物 1 对 HepG2、HL-60、A549 和 MCF-7 4 种人源肿瘤细胞株的细胞毒活性。结果 从东亚小金发藓全草丙酮提取物中分离得到 2 个化合物, 分别鉴定为 2-(4-苯甲酰基-3-羟基苯氧基)-1-(哌啶-1-基) 乙-1-酮 (1)、2-(4-苯甲酰基-3-羟基苯氧基) 乙酸叔丁酯 (2)。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为金发藓酮 A; 化合物 2 为首次从金发藓科植物中分离得到; 化合物 1 对人肝癌细胞 HepG2 具有较强的细胞毒活性。

关键词: 金发藓科; 东亚小金发藓; 二苯甲酮; 细胞毒活性; 金发藓酮 A; 2-(4-苯甲酰基-3-羟基苯氧基)-1-(哌啶-1-基) 乙-1-酮

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)06-1291-03

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.06.003

A new benzophenone from endohydric moss *Pogonatum inflexum*

DUAN Xu-hong^{1,2}, HE Pei², QIN Meng², LI Lin¹, PEI Lin², ZHAO Jian-cheng¹

1. College of Life Science, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016, China

2. Hebei Province Academy of Chinese Medicine Sciences, Shijiazhuang 050030, China

Abstract: Objective To study the chemical components of endohydric moss *Pogonatum inflexum* in order to find new bioactive compounds. **Methods** The constituents were separated by column chromatographic methods of silica gel, MCI-Gel resin, Sephadex LH-20, and HPLC. The structures were elucidated by spectroscopic data analysis. The cytotoxicity of compounds for HepG2, HL-60, A549, and MCF7 cell line was also evaluated by using MTT method. **Results** Two compounds were isolated and identified as 2-(4-benzoyl-3-hydroxyphenoxy)-1-(piperidin-1-yl) ethan-1-one (1) and tert-butyl-2-(4-benzoyl-3-hydroxyphenoxy) acetate (2). **Conclusion** Compound 1 is a new compound named pogonatone A; Compound 2 is isolated from *Polytrichaceae* species for the first time; Compound 1 also displays the high cytotoxicity to HepG2 cell line.

Key words: Polytrichaceae; *Pogonatum inflexum* (Lindb.) Lac.; benzophenones; cytotoxic activity; pogonatone A; 2-(4-benzoyl-3-hydroxyphenoxy)-1-(piperidin-1-yl) ethan-1-one

东亚小金发藓为金发藓科小金发藓属植物东亚小金发藓 *Pogonatum inflexum* (Lindb.) Lac. 的全草。生长于林边潮湿土壁, 在我国南北山区常成大片生长; 具有镇静安神、散瘀止血之功效; 常用于治疗心悸怔忡、失眠多梦、跌打损伤、吐血^[1]。有文献报道从金发藓科金发藓属植物中分离得到了一些骨架特异的化合物并显示出了较好的生物活性^[2-4]。而东亚小金发藓的化学成分未见文献报道, 为了阐明其药效物质基础, 进一步开发利用该植物资源, 本实

验对东亚小金发藓全草的丙酮提取物进行了研究, 从中分离得到 2 个二苯甲酮类化合物 (图 1), 分别鉴定为 2-(4-苯甲酰基-3-羟基苯氧基)-1-(哌啶-1-基) 乙-1-酮 [2-(4-benzoyl-3-hydroxyphenoxy)-1-(piperidin-1-yl) ethan-1-one, 1] 和 2-(4-苯甲酰基-3-羟基苯氧基) 乙酸叔丁酯 [tert-butyl-2-(4-benzoyl-3-hydroxyphenoxy) acetate, 2], 其中化合物 1 为新化合物, 命名为金发藓酮 A, 并且该化合物对人肝癌细胞 HepG2 具有较强的细胞毒活性。

收稿日期: 2018-11-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31070184)

作者简介: 段绪红 (1982—), 男, 硕士, 主管中药师, 主要从事中药新药研究与开发。Tel: (0311)85362316 E-mail: duanxuhong@126.com

*通信作者 裴林, 男, 教授, 博士生导师。Tel: (0311)85363996 E-mail: peilin148@163.com

赵建成, 男, 教授, 博士生导师。Tel: (0311)80787560 E-mail: zhaojiancheng@mail.hebtu.edu.cn

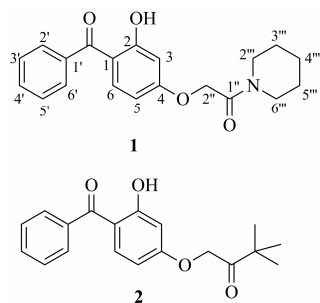


图 1 化合物 1 和 2 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1 and 2

1 仪器与材料

高分辨质谱仪 Q-TOF (美国 Waters 公司); Bruker AV-500 核磁共振仪; BPN-240CRH 二氧化碳培养箱 (昆山一恒仪器有限公司); 柱色谱用硅胶 (100~200、200~300 目, 青岛海洋化工厂); Sephadex LH-20 (Pharmacia 公司); ODS 柱色谱材料 (YMC 公司); MCI 柱色谱材料 (MCI-gel CHP-20P, 日本三菱公司); 半制备 HPLC 分析仪器 (安捷伦 1200 型高效液相色谱仪); 制备用色谱柱: Zorbax Prep HT GF (250 mm×21.2 mm, 7 μm); 色谱乙腈为国药集团化学试剂有限公司产品; 水 (杭州娃哈哈集团有限公司); 其他试剂为国产分析纯。

东亚小金发藓样品 2016 年 6 月采于贵州省贵阳市, 标本经贵州大学生命科学学院熊源新教授鉴定为东亚小金发藓 *Pogonatum inflexum* (Lindb.) Lac., 凭证标本 (HBSD20160619) 保存于河北师范大学生命科学院系统与进化实验室。

2 提取与分离

取东亚小金发藓全株晒干样品 1.5 kg, 适当粉碎后过 30 目筛, 然后用丙酮溶液提取 5 次, 每次用量为 5 L, 室温浸泡 3 d, 滤过, 合并提取液, 提取物浓缩到小体积后, 用 MCI 脱色, 将从 MCI 柱上 90% 乙醇洗脱部分减压浓缩得浸膏 35.8 g。浸膏用 35 g 硅胶 (100~200 目) 拌样, 烘干, 干法上样, 过 300 g 硅胶 (200~300 目) 柱色谱, 采用氯仿-丙酮 (50:1、30:1、10:1、5:1、3:1、1:1) 梯度洗脱, 分成 6 个组分。将氯仿-丙酮 (10:1) 洗脱部分 (1.1 g) 通过 MCI 凝胶柱, 用水-甲醇 (1:0→0:1) 梯度洗脱, 得到共 4 个流分 (Fr. 1~4)。Fr. 3 (0.3 g) 经反复 Sephadex LH-20 (氯仿-甲醇) 柱色谱分离纯化得到流分 Fr. 3A~3C; 流分 Fr. 3C (0.2 g), 采用 Agilent 公司的 Zorbax PrepHTGF (250 mm×21.2 mm, 7 μm) 反相色谱柱, 以 60% 乙腈-

水溶液为流动相, 体积流量 20 mL/min, 收集 21 min 的色谱峰, 得化合物粗品。粗品再经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱纯化后得到化合物 1 (8.5 mg); 收集 37 min 的色谱峰, 经重结晶纯化后, 得到化合物 2 (5.5 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 白色粉末 (甲醇)。HR-ESI-MS m/z : 340.162 0 $[M+H]^+$ (计算值 340.162 6), 结合 1H -和 ^{13}C -NMR 谱, 确定化合物分子式为 $C_{20}H_{21}O_4N$, 不饱和度为 11。化合物 1 的 1H -、 ^{13}C -NMR 和 DEPT 谱数据 (表 1) 显示化合物中存在 20 个碳和 21 个氢。其中有 8 个芳香质子氢信号 δ_H 7.41 (1H, d, J = 9.0 Hz, H-6), 6.50 (1H, dd, J = 9.0, 2.4 Hz, H-5), 6.52 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-3) 为苯环 1,2,4-三取代偶合系统; 1 个单取代苯环: δ_H 7.64 (2H, d, J = 7.5 Hz, H-2', 6'), 7.53 (2H, d, J = 7.5 Hz, H-3', 5'), 7.63 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-4'); 1 个连氧亚甲基信号: δ_H 4.92 (2H, s, H-2''); 此外, 1H -NMR 在高场区域还显示有 10 个烷烃氢质子信号, 根据化合物的不饱和度为 11, 除去 2 个羰基不饱和度及 8 个芳香族碳, 化合物中还应有一个环, 推测结构中可能含有哌啶环片段。 ^{13}C -NMR 谱 (表 1) 中显示 20 个碳信号, 包括 1 个连氧亚甲基碳信号 (δ_C 66.5)、5 个亚甲基碳信号 (δ_C 24.4, 25.7, 26.4, 42.7, 45.5)、8 个次甲基碳信号 (δ_C 102.5, 108.0, 128.9, 128.9, 129.2, 129.2, 132.4, 134.8)、6 个季碳信号 (δ_C 114.8, 138.3, 163.9, 164.7, 165.2, 199.1)。与文献比对^[5], 化合物 1 的 B 环可能为单取代, 同时在 HMBC (图 2) 中, H-2'、H-6' 与 δ_C 199.1 (C=O) 的相关信号以及 H-3'、H-5' 与 δ_C 138.3 (C-1') 的相关信号证实了 B 环未被取代, 且 C-1' 与羰基相连; δ_H 11.94 与 δ_C 114.8 (C-1) 和 102.5 (C-3) 的相关信号证实了化合物 1 中的 A 环的羟基位于 C-2, δ_H 4.92 与 δ_C 164.7 (C-4) 的相关信号表明乙氧基侧链与 C-4 相连, 也印证了 A 环的 ABX 偶合系统; δ_H 4.92 与 δ_C 165.2 (C-1'') 的相关信号提示亚甲基与羰基相连; H-2''' 与 C-3''', H-3''' 与 C-2'''/C-4''', H-4''' 与 C-3'''/C-5''', H-5''' 与 C-4'''/C-6''', H-6''' 与 C-5''' 的相关信号提示化合物 1 中存在哌啶环结构, H-2'''/H-6''' 与 δ_C 165.2 (C-1'') 的相关信号提示哌啶环连接在 C-1''。至此, 化合物 1 的结构确定为 2-(4-苯甲酰基-3-羟基苯氧基)-1-(哌啶-1-基)乙-1-酮, 为 1 个新化合物, 命名为金发藓酮 A。

化合物 2: 白色粉末 (甲醇)。HR-ESI-MS m/z : 329.143 1 $[M+H]^+$ (计算值 329.143 8), 结合 1H -

表 1 化合物 1 和 2 的 NMR 数据 (500/125 MHz, DMSO- d_6)Table 1 NMR Data (500/125 MHz, DMSO- d_6) of compounds 1 and 2

碳位	1		2	
	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
1	114.8 (s)		113.8 (s)	
2	163.1 (s)		166.1 (s)	
3	102.6 (d)	6.52 (1H, d, $J = 2.4$ Hz)	101.9 (d)	6.48 (1H, d, $J = 2.6$ Hz)
4	164.7 (s)		164.3 (s)	
5	108.0 (d)	6.50 (1H, dd, $J = 9.0, 2.4$ Hz)	107.5 (d)	6.46 (1H, dd, $J = 9.0, 2.6$ Hz)
6	134.8 (d)	7.41 (1H, d, $J = 9.0$ Hz)	135.4 (d)	7.65 (1H, d, $J = 9.0$ Hz)
2-OH		11.94 (1H, s)		12.61 (1H, s)
C = O	199.1 (s)		200.1 (s)	
1'	138.3 (s)		138.2 (s)	
2',6'	129.2 (d)	7.64 (2H, d, $J = 7.5$ Hz)	128.9 (d)	7.60 (2H, d, $J = 7.5$ Hz)
3',5'	128.9 (d)	7.53 (2H, d, $J = 7.5$ Hz)	128.3 (d)	7.54 (2H, d, $J = 7.5$ Hz)
4'	132.3 (d)	7.63 (1H, dd, $J = 7.5, 1.5$ Hz)	131.6 (d)	7.66 (1H, dd, $J = 7.5, 1.5$ Hz)
1''	165.2 (s)		167.0 (s)	
2''	66.5 (t)	4.52 (2H, s)	65.5 (d)	4.59 (2H, s)
2'''	42.7 (t)	3.41 (2H, m)	82.9 (s)	
3'''	25.7 (t)	1.58 (2H, m)	28.1 (q)	1.53 (3H, s)
4'''	24.4 (t)	1.24 (2H, m)	28.1 (q)	1.53 (3H, s)
5'''	26.4 (t)	1.58 (2H, m)	28.1 (q)	1.53 (3H, s)
6'''	45.5 (t)	3.41 (2H, m)		

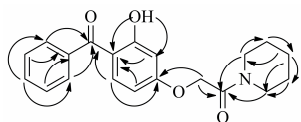


图 2 化合物 1 的主要 HMBC 相关

Fig. 2 Key HMBC correlations of compound 1

和 ^{13}C -NMR 谱, 确定化合物分子式为 $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_5$, 不饱和度为 10。化合物 2 的 ^1H -、 ^{13}C -NMR 和 DEPT 谱数据 (表 1) 显示化合物中存在 19 个碳和 18 个氢。对比化合物 2 和化合物 1 的 NMR 图谱, 可知两者均含有二甲苯酮结构, ^1H -NMR 的高场区, 化合物 2 出现了 3 个甲基信号, 取代了化合物 1 的 10 个烷烃氢质子信号, 在 HMBC 谱 (图 3) 中, H-3'''、H-4''' 和 H-5''' 与 δ_C 82.9 (C-2'') 的相关信号提示结构中含有叔丁基。参考文献报道^[6], 鉴定化合物 2 为 2-(4-苯甲酰基-3-羟基苯氧基) 乙酸叔丁酯。

4 抗肿瘤活性测定

采用 MTT 法^[7]对化合物 1 开展了人肝癌 HepG2

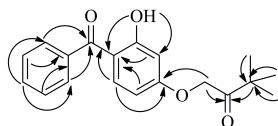


图 3 化合物 2 的主要 HMBC 相关

Fig. 3 Key HMBC correlations of compounds 2

细胞、白血病 HL-60 细胞、肺泡基底上皮癌 A549 细胞和乳腺癌 MCF-7 细胞等人类癌细胞的抗增殖活性研究, 结果表明, 化合物 1 对 HepG2 细胞半数抑制浓度 (IC_{50}) 为 $12.89 \mu\text{mol/L}$, 具有较强的细胞毒活性。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 [M]. 上海: 上海科技出版社, 1999.
- [2] Fu P, Lin S, Shan L, *et al.* Constituents of the moss *Polytrichum commune* [J]. *J Nat Prod*, 2009, 72(7): 1335-1337.
- [3] Zheng G Q, Chang C J, Stout T J, *et al.* Ohioensins: Novel benzonaphthoxanthones from *Polytrichum ohioense* [J]. *J Org Chem*, 1993, 58(2): 366-372.
- [4] Zheng G Q, Ho D K, Elder P J, *et al.* Ohioensins and pallidisetins: Novel cytotoxic agents from the moss *Polytrichum pallidisetum* [J]. *J Nat Prod*, 1994, 57(1): 32-41.
- [5] Rouis Z, Abid N, Aouni M, *et al.* Benzophenone Glycosides from *Hypericum humifusum* ssp. *austral* [J]. *J Nat Prod*, 2013, 76(5): 979-982.
- [6] Wu T Q, Barker M, Arafah K M, *et al.* A UV-blocking polymer shell prevents one-photon photoreactions while allowing multi-photon processes in encapsulated upconverting nanoparticles [J]. *Angew Chem: Int Ed*, 2013, 52(42): 11106-11109.
- [7] Zhou M, Zhou K, Gao X M, *et al.* Fistulains A and B, new bischromones from the bark of *Cassia fistula*, and their activities [J]. *Org Lett*, 2015, 17(11): 2638-2641.