

• 化学成分 •

地椒中醌类和酚苷类新化合物

许 啸¹, 王小萍¹, 沈 蒙¹, 隋 宏², 王 乐¹, 范书生¹, 王秀环¹, 闫 昕¹, 李 晓¹, 折改梅^{1*}

1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102

2. 宁夏医科大学药学院, 宁夏 银川 750004

摘要: 目的 对地椒 *Thymus quinquecostatus* 化学成分进行研究, 以期发现新化合物。方法 采用色谱硅胶、AB-8 大孔树脂、Sephadex LH-20 凝胶色谱、ODS 反相色谱等多种技术进行分离纯化, 运用质谱、核磁共振谱等方法进行化合物结构鉴定。结果 从地椒醋酸乙酯部位分离得到 2 个化合物, 分别鉴定为 6-羟基-11-甲基-12-羟甲基萘并 [2,3-β] 呋喃-1,4-二酮(1)、2-羟基-4-异丙基-5-甲基苯-O-β-D-葡萄糖苷(2)。结论 化合物 1、2 为新化合物, 分别命名为地椒醌 A、地椒苷 A。

关键词: 地椒; 地椒醌 A; 地椒苷 A; 醌类; 酚苷类; 6-羟基-11-甲基-12-羟甲基萘并 [2,3-β] 呋喃-1,4-二酮; 2-羟基-4-异丙基-5-甲基苯-O-β-D-葡萄糖苷

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2020)05-1171-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.05.012

A new quinone and a new phenolic glycoside from *Thymus quinquecostatus*

XU Xiao¹, WANG Xiao-ping¹, SHEN Meng¹, SUI Hong², WANG Le¹, FAN Shu-sheng¹, WANG Xiu-huan¹, YAN Xin¹, LI Xiao¹, SHE Gai-mei¹

1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China

2. School of Pharmacy, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China

Abstract: Objective To study the chemical components of *Thymus quinquecostatus* in order to find new compounds. **Methods** The constituents were separated by column chromatographic methods of silica gel, AB-8 resin, Sephadex LH-20 and ODS column. The structures were elucidated by MS and NMR analyses. **Results** Two compounds were isolated and identified as 6-hydroxy-11-methyl-12-hydroxymethyl naphtho [2,3-β] furan-1,4-dione (1) and 2-hydroxy-4-isopropyl-5-methylbenzene-O-β-D-glucopyranoside (2). **Conclusion** Compounds 1 and 2 are new compounds, named quinquequinone A and quineside A, respectively.

Key words: *Thymus quinquecostatus* Cêlak.; quinquequinone A; quineside A; quinone; phenolic glycoside; 6-hydroxy-11-methyl-12-hydroxymethyl naphtho [2,3-β] furan-1,4-dione; 2-hydroxy-4-isopropyl-5-methylbenzene-O-β-D-glucopyranoside

地椒 *Thymus quinquecostatus* Cêlak. 为唇形科百里香属植物的地上部分, 又被称为地花椒、百里香、山椒、山胡椒等, 始载于宋代《嘉佑本草》^[1], 《中国药植图鉴》《陕西中草药》和《新疆中草药手册》均有记载, 其性味辛、温, 主要分布于我国的西北地区, 民间常用于治疗感冒头痛、慢性气管炎、慢性胃痛、急性胃肠炎、牙痛及湿疹瘙痒等疾病^[2-3]。

现代药理研究表明, 地椒具有抗炎、抗菌以及抗肝癌、胃癌的作用^[4-6], 其化学成分主要为挥发性、黄酮类、酚酸类等化合物^[7-10]。本实验对地椒乙醇提取物的醋酸乙酯部位进行化学成分研究, 从中分离得到 2 个化合物, 分别鉴定为 6-羟基-11-甲基-12-羟甲基萘并 [2,3-β] 呋喃-1,4-二酮 (6-hydroxy-11-methyl-12-hydroxymethyl naphtho [2,3-β] furan-1,4-

收稿日期: 2019-07-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81760769); 宁夏回族自治区重点研发计划 (2018BEG03016); 北京中医药大学青年教师项目 (1000061222118)

作者简介: 许 啸 (1995—), 女, 在读硕士, 研究方向为中药、民族药药效成分和新药创制研究。Tel: 13521701679 E-mail: xux_26@163.com

*通信作者 折改梅 (1976—), 女, 研究员, 博士生导师, 研究方向为中 (民族) 药药效成分和新药创制研究。

Tel: (010)84738628 E-mail: shengaimai@126.com

dione, **1**)、2-羟基-4-异丙基-5-甲基苯-*O*- β -D-葡萄糖苷 (2-hydroxy-4-isopropyl-5-methylbenzene-*O*- β -D-glucopyranoside, **2**), 化合物 **1** 和 **2** 均为新化合物, 分别命名为地椒醌 A 和地椒苷 A。结构见图 1。

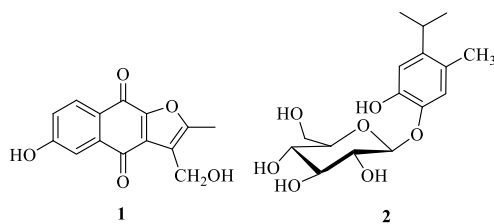


图1 化合物 **1** 和 **2** 的结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds **1** and **2**

1 仪器与材料

Esquire-LC_00054 质谱仪、Avance III (500 MHz) 超导核磁共振仪 (瑞士 Bruker 公司); RE-52A 旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); SHB-III 循环水式多用真空泵 (北京中兴伟业有限公司); 柱色谱硅胶 (100~200、200~300 目, 青岛海洋化工厂); ODS 色谱材料 (日本三菱化学公司); AB-8 型大孔树脂 (天津南开大学化工厂); Sephadex LH-20 (18~110 μ m, 瑞典 Pharmacia 公司)。

地椒药材采自陕西榆林, 由新疆农业大学马生军教授鉴定为唇形科百里香属植物地椒 *Thymus quinquecostatus* Cêlak. 的干燥地上部分。

2 提取与分离

取干燥地椒 8 kg, 加入 10 倍量 70% 乙醇回流提取, 提取温度 85 $^{\circ}$ C, 提取 3 次, 每次 2 h, 滤过, 合并提取液, 减压浓缩至无醇味, 再依次用石油醚 (60~90 $^{\circ}$ C)、三氯甲烷、醋酸乙酯、水饱和正丁醇进行萃取, 最终得到石油醚部位 (8.8 g)、三氯甲烷部位 (35.4 g)、醋酸乙酯部位 (43.3 g)、正丁醇部位 (36.3 g) 和水部位 (36.2 g)。

取醋酸乙酯部位, 经硅胶 (200~300 目) 柱色谱分离, 以三氯甲烷-甲醇-水 (9:1:0.1 $\rightarrow$ 5:5:1) 梯度洗脱, 收集洗脱流分, 得到 5 个馏份 Fr. 1~5。其中, Fr. 5 (26.8 g, 三氯甲烷-甲醇-水 5:5:1 洗脱部位) 经 AB-8 大孔树脂、ODS 反相色谱、Sephadex LH-20 凝胶色谱, 甲醇-水 (0:100 $\rightarrow$ 100:0) 洗脱, 反复纯化, 得到化合物 **1** (28 mg) 和 **2** (5.1 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 紫色针状结晶 (甲醇), 易溶于甲醇, 微溶于氯仿、丙酮等溶剂。HR-ESI-MS m/z : 259.061 2 $[M+H]^+$ (计算值 258.052 8), 结合 1H -NMR 谱和

^{13}C -NMR 谱, 确定其分子式为 $C_{14}H_{10}O_5$, 计算不饱和度为 10。

1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) 谱中, δ_H 11.00 (1H, s, 6-OH) 为苯环上活泼氢信号; δ_H 7.92 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-8)、7.36 (1H, d, J = 2.5 Hz, H-5)、7.13 (1H, dd, J = 3.5, 8.5 Hz, H-7) 为苯环上 3 个芳氢的 ABX 耦合信号。 ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) 谱中, δ_C 181.3 (s, C-4) 和 171.8 (s, C-1) 为 2 个羰基碳信号。 ^{13}C -NMR 和 DEPT 谱中, δ_C 150.8 (C-2)、120.1 (C-3) 为季碳信号, 并相较于胡桃醌结构, 多出 2 个季碳信号 δ_C 157.2 (C-11)、128.3 (C-12), 1 个亚甲基信号 δ_C 53.8 (C-14) 和 1 个甲基信号 δ_C 12.3 (C-13), 这与文献报道的五元环并萘醌型骨架^[11-12]相似, 因此, 推测其萘醌结构中 C-2 和 C-3 被 1 个五元环取代。根据以上核磁信息推测化合物 **1** 为五元环并萘醌型化合物。

HSQC 谱中, δ_H 2.48 (3H, s) 与 δ_C 12.3 (C-13) 上的碳直接相关联, δ_H 4.63 (2H, d, J = 5.5 Hz) 与 δ_C 53.8 (C-14) 上的碳直接相关联。结合 HMBC 谱 (图 2), 可以看到 H-13 [δ_H 2.48 (3H, s)] 与 C-3 (δ_C 120.1)、C-12 (δ_C 128.3) 和 C-11 (δ_C 157.2) 相关, 并与 C-2 (δ_C 150.8) 弱相关; H-14 [δ_H 4.63 (2H, d, J = 5.5 Hz)] 与 C-11 (δ_C 157.2)、C-12 (δ_C 128.3) 和 C-3 (δ_C 120.1) 相关, 故推断出结构片段 1 (图 2)。

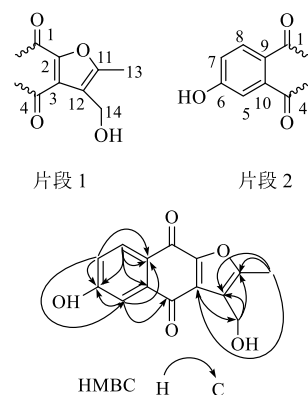


图2 化合物 **1** 的结构片段和 HMBC 相关

Fig. 2 Structure fraction and HMBC correlations of compounds **1**

HSQC 谱中, δ_H 7.13 (1H, dd, J = 3.5, 8.5 Hz, H-7) 和 δ_C 120.2 (C-7) 上的碳直接相关联; δ_H 7.92 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-8) 与 δ_C 129.1 (C-8) 上的碳直接相关联; δ_H 7.36 (1H, d, J = 2.5 Hz, H-5) 与 δ_C 112.8 (C-5) 上的碳直接相关联。结合 HMBC 谱, 可以看到 H-7 [δ_H 7.13 (1H, dd, J = 3.5, 8.5 Hz, H-7)]

与 C-6 (δ_{C} 162.7)、C-9 (δ_{C} 123.7) 和 C-5 (δ_{C} 112.8) 相关; H-8 [δ_{H} 7.92 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-8)] 与 C-1 (δ_{C} 171.8)、C-6 (δ_{C} 162.7) 和 C-10 (δ_{C} 135.3) 相关, 并与 C-4 (δ_{C} 181.3) 弱相关; H-5 [δ_{H} 7.36 (1H, d, J = 2.5 Hz, H-5)] 与 C-4 (δ_{C} 181.3)、C-6 (δ_{C} 162.7)、C-9 (δ_{C} 123.7) 和 C-7 (δ_{C} 120.2) 相关, 并且 H-5 与 C-3 (δ_{C} 120.1) 弱相关。结合 H-14 [δ_{H} 4.63 (2H, d, J = 5.5 Hz)] 与 C-3 (δ_{C} 120.1) 相关, 以及 H-7 [δ_{H} 7.13 (1H, dd, J = 3.5, 8.5 Hz, H-7)] 与 C-5 (δ_{C} 112.8) 相关, 推测苯环上 C-6 的氢原子被羟基取代, 推出结构片段 2 (图 2)。综上所述, 化合物 1 的结构鉴定为 6-羟基-11-甲基-12-羟甲基萘并 [2,3- β] 呋喃-1,4-二酮, 命名为地椒醌 A。经 Sci Finder Web 数据库检索, 该化合物为新化合物。

化合物 2: 白色粉末 (甲醇), 易溶于甲醇。HR-ESI-MS m/z : 346.185 7 [$M + \text{NH}_4$] $^+$ (计算值 328.152 2), 结合 ^1H -NMR 谱和 ^{13}C -NMR 谱, 确定其分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_7$, 计算不饱和度为 5。

^1H -NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 谱中, δ_{H} 6.92 (1H, s, H-3)、6.46 (1H, s, H-6) 为 2 个芳氢的质子信号, 提示为苯环上四取代; 且 2 个芳氢均为单峰, 提示 2 个芳氢可能处于对位。 ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 谱中, δ_{C} 150.6、150.5、134.1、127.1、117.8、116.1 为 1 组芳香碳信号, 提示分子中存在 1 个 1,2,4,5-四取代的苯环。 ^1H -NMR 谱中, δ_{H} 4.61 (1H, d, J = 7.5 Hz) 为糖的端基质子信号, δ_{H} 3.82~3.23 为糖上的其他质子信号。 ^{13}C -NMR 谱中, δ_{C} 104.4、78.2、78.0、75.1、71.6、62.6 为 1 组吡喃糖的 6 个碳信号, 提示该化合物有 1 个吡喃葡萄糖。根据以上核磁数据推测化合物 2 为 1 个吡喃葡萄糖苷类化合物。

^1H -NMR 谱中, δ_{H} 1.12 (6H, dd, J = 12.5 Hz) 6 个质子信号为 2 个等价的甲基上的质子信号, 同时, 高场还出现了 δ_{H} 3.12 (1H, m), 推测存在 1 个异丙基, 在 ^{13}C -NMR 谱中也观察到 1 个亚甲基碳信号 δ_{C} 27.9 和 2 个甲基碳信号 δ_{C} 23.2、23.1。 δ_{H} 2.12 (3H, s) 的 3 个氢原子为单峰, 提示有 1 个甲基直接连接于苯环, 该甲基碳信号 δ_{C} 16.2 在 ^{13}C -NMR 谱中也观察到。结合文献报道^[13], 推测苯环结构中有 1 个异丙基和 1 个甲基取代。

HSQC 谱中, δ_{H} 1.12 (3H, m), 1.12 (3H, m) 分别与 δ_{C} 23.2 (C-9), 23.1 (C-8) 上的碳直接相关联, δ_{H} 3.12 (1H, m) 与 δ_{C} 27.9 (C-7) 上的碳直接相关联,

δ_{H} 2.12 (3H, s) 与 δ_{C} 16.2 (C-10) 上的碳直接相关联, δ_{H} 6.92 (1H, s, H-3) 与 δ_{C} 116.1 (C-3) 上的碳直接相关联, δ_{H} 6.46 (1H, s, H-6) 与 δ_{C} 117.8 (C-6) 上的碳直接相关联。结合 HMBC 谱 (图 3), 可以看到 H-8 和 H-9 [δ_{H} 1.12 (3H, m), 1.12 (3H, m)] 与 C-4 (δ_{C} 134.1) 和 C-7 (δ_{C} 27.9) 相关, H-7 [δ_{H} 3.12 (1H, m)] 与 C-2 (δ_{C} 150.6)、C-4 (δ_{C} 134.1)、C-3 (δ_{C} 116.1)、C-9 (δ_{C} 23.2)、C-8 (δ_{C} 23.1) 相关, H-6 [δ_{H} 6.46 (1H, s, H-6)] 与 C-1 (δ_{C} 150.5)、C-4 (δ_{C} 134.1)、C-10 (δ_{C} 16.2) 相关, 并与 C-7 (δ_{C} 27.9) 弱相关, H-3 [δ_{H} 6.92 (1H, s, H-3)] 与 C-2 (δ_{C} 150.6)、C-5 (δ_{C} 127.2)、C-7 (δ_{C} 27.9) 相关, 并与 C-4 (δ_{C} 134.1)、C-6 (δ_{C} 117.8)、C-10 (δ_{C} 16.2) 弱相关, H-10 [δ_{H} 2.12 (3H, s)] 与 C-1 (δ_{C} 150.5)、C-4 (δ_{C} 134.1)、C-6 (δ_{C} 117.8) 相关, 推断出结构片段 1 (图 3)。

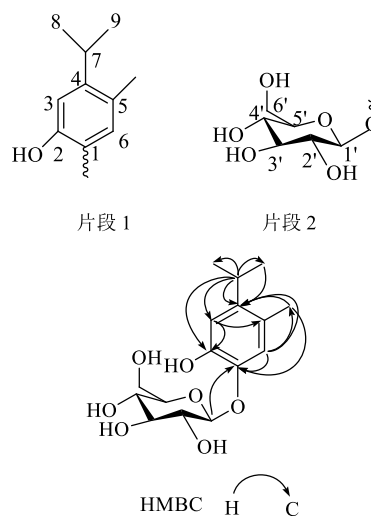


图 3 化合物 2 的结构片段和 HMBC 相关

Fig. 3 Structure fraction and HMBC correlations of compounds 2

HSQC 谱中, δ_{H} 3.82~3.23 (5H) 和 δ_{C} 78.2 (C-3'), 78.0 (C-5'), 75.1 (C-2'), 71.6 (C-4'), 62.6 (C-6') 上的碳直接相关联, δ_{H} 4.61 (1H, d, J = 1.0 Hz, H-1') 与 δ_{C} 104.6 (C-1') 上的碳直接相关联。结合 HMBC 谱, 可以看到 δ_{H} 3.82~3.23 (5H) 中的氢与 C-1' (δ_{C} 104.6)、C-3' (δ_{C} 78.2)、C-5' (δ_{C} 78.0)、C-2' (δ_{C} 75.1)、C-4' (δ_{C} 71.6)、C-6' (δ_{C} 62.6) 有相关, 故推出结构片段 2 (图 3)。在 HMBC 谱中, 还观察到 δ_{H} 4.61 (1H, d, J = 1.0 Hz, H-1') 与 C-1 (δ_{C} 150.5) 有相关, 推测葡萄糖连接在苯环 1 位碳上。综上所述, 化合物 2 的结构鉴定为 2-羟基-4-异丙基-5-甲基苯- O - β -D-葡萄糖苷, 经 Sci Finder Web 数据库检索, 该化合物

为新化合物,命名为地椒苷A。

4 讨论

地椒是一种具有特色的民族药,民间常用于治疗感冒、头痛、牙痛以及腹胀冷痛等,宁夏回族聚集区的百姓用地椒及其组成的复方治疗胃癌。对地椒乙醇提取物的醋酸乙酯部位化学成分进行研究,共分离鉴定了2个化合物,均为新化合物。本课题组在对地椒的前期研究中,发现地椒含有野黄芩苷、野黄芩素、迷迭香酸等化合物,为地椒的化学成分研究提供了依据,也为其今后开发和利用提供了参考依据。

参考文献

- [1] 李世瑞,栾殿梅,张学忠,等. 五肋百里香挥发油抑制关节肿胀的作用 [J]. 中国药学杂志, 1982, 17(5): 49.
- [2] 宋玲,隋宏. 地椒对心脑血管疾病抗氧化作用的研究现状 [J]. 宁夏医科大学学报, 2018, 40(11): 1355-1357.
- [3] 杨杰,刘一亚,王米渠. 百里香活性成分及活血化淤分子机制探讨 [J]. 中医研究, 2011, 24(12): 2-4.
- [4] 温馨,李广智. 地椒草提取物杀菌效果及其毒性观察 [J]. 职业卫生与病伤, 2018, 33(6): 384-386.
- [5] 孙震晓,孙晋华,程霜,等. 中药地椒提取物的抗肿瘤作用及对小鼠免疫功能的影响 [J]. 中西医结合学报, 2003, 1(3): 209-210.
- [6] 孙震晓,张英慧,程霜,等. 中药地椒乙醇提取物对人白血病细胞增殖的抑制作用 [J]. 中西医结合学报, 2005, 3(5): 382-385.
- [7] 胡怀生. 甘肃庆阳地椒草叶挥发油的化学成分研究 [J]. 陇东学院学报, 2018, 29(3): 21-24.
- [8] 路立峰,李赫宇,张晓林,等. 地椒挥发油提取工艺及GC-MS成分分析 [J]. 食品研究与开发, 2016, 37(19): 163-167.
- [9] 田玉欣,王炎,谢梦,等. 地椒中总黄酮的含量测定及其体外抗氧化活性的研究 [J]. 华西药理学杂志, 2017, 32(1): 37-39.
- [10] 颜承,陈晓怡,隋宏,等. 地椒抗氧化活性部位化学成分的研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2016, 39(5): 383-389.
- [11] Liu Y, Ge W H, Zhu Y Q, *et al.* NIS-Induced enone difunctionalization for the synthesis of naphtho [2,3-b] furan-4,9-diones [J]. *Eur J Org Chem*, 2017, 3: 551-559.
- [12] Baiju T V, Almeida R G, Sivanandan S T, *et al.* Quinonoid compounds, via, reactions of lawsone and 2-aminonaphthoquinone with α -bromonitroalkenes and nitroallylic acetates: Structural diversity by C-ring modification and cytotoxic evaluation against cancer cells [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, doi: 10.1016/j.ejmech.2018.03.079.
- [13] 孙丽娟,刘红兵,范文乾,等. 牛至的化学成分研究(I) [J]. 中草药, 2007, 38(12): 1782-1785.