

小酸浆中 Withaphysalins 的分离和结构鉴定

周咏梅¹, 石贤明¹, 马磊², 张思访^{1*}(¹江苏建康职业学院, 南京 211800; ²华东理工大学药学院, 上海 200237)

摘要 研究小酸浆 *Physalis minima* L. 的活性成分。小酸浆的地上部分经乙醇提取, 氯仿萃取, D-101 大孔树脂柱色谱粗分, Sephadex LH-20、MCI gel CHP 20P、RP-18 等色谱柱分离, 并通过理化常数和波谱学方法鉴定化合物结构。从小酸浆中分离鉴定了 5 个化合物, 分别为 Withaphysalin P (I)、14, 18-di-*O*-acetylwithaphysalin C (II)、Withaphysalin Q (III)、Withaphysalin 型化合物 1 (IV)、Withaphysalin 型化合物 2 (V)。化合物 IV、V 为新化合物, 分别命名为 Withaphysalin T、Withaphysalin U。

关键词 小酸浆; 化学成分; Withaphysalins; 结构鉴定

中图分类号 R284 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2015)01-0062-04

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20150107

Isolation and identification of Withaphysalins from *Physalis minima*ZHOU Yongmei¹, SHI Xianming¹, MA Lei², ZHANG Sifang^{1*}¹Jiangsu Jiankang Vocational College, Nanjing 211800;²School of Pharmacy, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China

Abstract To investigate the chemical constituents of *Physalis minima* L., compounds were isolated by chromatographic methods from *Physalis minima* L. Their structures were determined on the basis of spectral analysis. Five compounds were isolated and identified as Withaphysalin P (I), 14, 18-di-*O*-acetylwithaphysalin C (II), Withaphysalin Q (III), Withaphysalin 1 (IV) and Withaphysalin 2 (V). Compounds IV and V are new compounds, orderly named as Withaphysalin T and Withaphysalin U.

Key words *Physalis minima*; chemical constituents; Withaphysalins; structural identification

This study was supported by the Research Program of Jiangsu Provincial Health Vocational Education (No. JZ201006)

小酸浆 (*Physalis minima* L.) 又名灯笼草、天泡子等, 为茄科酸浆属植物, 分布于我国四川、广东、广西、云南等地, 生长于海拔 1 000 ~ 1 300 米的地区, 常生长在山坡, 目前尚未由人工引种栽培。其苦、凉, 清热利湿、祛痰止咳、软坚散结, 用于黄疸型肝炎、胆囊炎、感冒发热、咽喉肿痛、支气管炎、肺脓疡、腮腺炎、睾丸炎、膀胱炎、血尿、颈淋巴结核; 外用治脓疮、湿疹、疖肿。现代药理研究表明, 其提取物具有细胞毒性、免疫抑制、抗肿瘤、抗炎、抗惊厥、抗氧化、降血糖、抗利什曼原虫、抗菌、利尿、通便等作用^[1-10]。

前人已经从小酸浆中分离出 Physalin、Withaphysalin、phygrine、黄酮等多种活性成分^[11], 为进一步寻找新的生物活性天然产物, 本研究对小酸浆的化学成分进行了深入化学研究, 取小酸浆的地上部分经乙醇提取, 氯仿萃取, D-101 大孔树脂粗分, 经各种色谱分离手段分离得到 5 个化合物, 并应用理化常数和波谱解析方法鉴定结构, 其中, 化合物 IV 和 V 为新化合物。

1 材料

1.1 试剂与药材

硅胶 (200 ~ 300 目, 青岛海洋化工有限公司); GF₂₅₄ 硅胶 (烟台汇友公司); D-101 大孔树脂 (天津大学化工厂); Sephadex LH-20 (25 ~ 100 mm, 美国 Pharmacia 公司); MCI gel CHP 20P (75 ~ 150 mm,

日本三菱化工);RP-18(20~45 mm;富士 Silysia 化工有限公司);所有溶剂均为市售分析纯。

小酸浆 (*Physalis minima*) 药材购自重庆市南川县,经重庆市植物园易思荣教授鉴定为茄科植物小酸浆 *Physalis minima*。

1.2 仪器

PE-241 旋光仪,16-PC-FT-IR 红外光谱仪(美国 Perkin-Elmer 公司);AMX-400 型核磁共振波谱仪(美国 Bruker 公司);MAT-90/95 质谱仪(美国 Finnigan 公司)。

2 提取与分离

干燥小酸浆地上部分 3 kg,用 3 倍质量的 95% 乙醇冷浸提取 3 次,每次 2 d,合并滤液,减压浓缩得醇浸膏(700 g),将浸膏混悬于水中,用等量氯仿萃取 3 次,得到氯仿部分(120 g),氯仿层经 D-101 大孔树脂柱色谱分离,依次用体积分数为 25%、50%、75% 和 95% 乙醇洗脱,收集馏分,减压浓缩,得 4 部分。其中体积分数为 50% 乙醇洗脱部分进行 MCI 柱色谱(MCI gel CHP 20P; H_2O - Me_2CO , 1:1)得到 4 个组分(Fr. B. 1~B. 4)。Fr. B. 1 ODS 柱色谱(RP-18; MeOH - H_2O , 40:60)得到化合物 I (50 mg)、IV (18 mg)、V (27 mg)。Fr. B. 2 ODS 柱色谱(RP-18; MeOH - H_2O , 50:50)得到化合物 II (82 mg)、III (61 mg)。

3 结构鉴定

化合物 I 无色方晶(MeOH), $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 16^\circ$ (c 0.20, CHCl_3)。高分辨质谱 HREIMS $[M]^+ (m/z)$ 482.229 8, Calcd. 482.230 5, 分子式为 $\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_7$ 。红外光谱显示有羟基($3\,443\text{ cm}^{-1}$)和羰基存在($1\,751$, $1\,734$ 和 $1\,673\text{ cm}^{-1}$)分别为 α,β -不饱和 δ -内酯, γ -内酯, α,β -不饱和酮。与 Withaphysalin P 对照品共薄层,其 R_f 及显色行为一致,根据以上谱图数据及薄层对照并对照文献[5]数据,故确定化合物 I 为 Withaphysalin P。

化合物 II 白色无定形粉末(MeOH), $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 47^\circ$ (c 0.20, MeOH)。高分辨质谱 HREIMS $[M]^+ (m/z)$ 568.266 9, Calcd. 568.267 2, 其分子式为 $\text{C}_{32}\text{H}_{40}\text{O}_9$ 。红外光谱显示有羰基存在($1\,750\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,682\text{ cm}^{-1}$)分别为 α,β -不饱和 δ -内酯, α,β -不

饱和酮。与 14,18-di-*O*-acetylwithaphysalin C 对照品共薄层,其 R_f 及显色行为一致,根据以上谱图数据及薄层对照并对照文献[5]数据,故确定化合物 II 为 14,18-di-*O*-acetylwithaphysalin C。

化合物 III 白色无定形粉末, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 13^\circ$ (c 0.20, MeOH)。高分辨质谱 HREIMS $[M]^+ (m/z)$ 514.292 8, Calcd. 514.293 1, 其分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{42}\text{O}_7$ 。红外光谱显示有羰基存在($1\,749\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,713\text{ cm}^{-1}$)分别为 α,β -不饱和 δ -内酯, α,β -不饱和酮。与 Withaphysalin Q 对照品共薄层,其 R_f 及显色行为一致,根据以上谱图数据及薄层对照并对照文献[5]数据,故确定化合物 III 为 Withaphysalin Q。

化合物 IV 白色无定形粉末, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 54^\circ$ (c 0.20, MeOH)。高分辨质谱 HREIMS $[M]^+ (m/z)$ 498.225 8, Calcd. 498.225 4, 其分子式为 $\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_8$ 。红外光谱显示有羟基($3\,402\text{ cm}^{-1}$)和羰基存在($1\,750$, $1\,735$ 和 $1\,710\text{ cm}^{-1}$)分别为 α,β -不饱和 δ -内酯, γ -内酯, 酮。其 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 及 HMBC 谱数据见表 1。并通过对比发现,化合物 IV 的 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱数据与化合物 Withaphysalin P 非常接近。 ^{13}C NMR 谱数据显示化合物 IV 和 Withaphysalin P 的主要不同之处在于 A 环和 C-15 的取代。Withaphysalin P 的 1,2,3,4 位的化学位移分别为 δ 204.4 (C-1), δ 127.2 (C-2), δ 146.0 (C-3) 和 δ 32.8 (C-4), 即一个典型的 α,β -不饱和酮的结构,而化合物 IV 所对应的波谱数据为 δ 212.5 (C-1), δ 39.5 (C-2), δ 122.2 (C-3) 和 δ 128.6 (C-4), 另一个不同之处在于 15 位 C 的化学位移从 δ 32.9 上升至 δ 69.3, 即 C-15 位碳原子被羟基所取代,该羟基的相对构型通过 NOESY 谱中 δ 4.66 (H-15) 和 2.80 (H-8) 的 NOE 相关证明 C-15-OH 为 α 构型(图 1)。因此,该化合物被确定,命名为 Withaphysalin T。

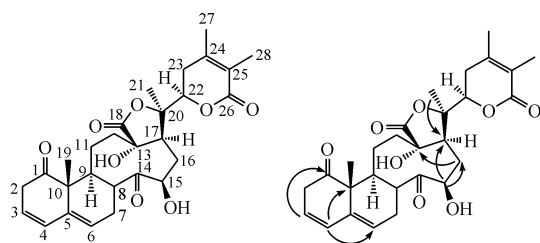


Figure 1 Chemical structure and HMBC of compound IV

Table 1 NMR spectroscopic data and HMBC for compounds IV (CDCl₃, 400 MHz and 100 MHz, δ)

H/C	Compound IV		
	δ _C	δ _H	HMBC(¹ H → ¹³ C)
1	212.5		
2	39.5	2.58-2.90 m, 3.32-3.39 m	1,3,10
3	122.2	5.65 br. d	2,4
4	128.6	6.09 d (9.6)	5,6,10
5	140.7		
6	124.1	5.96 m	7,8,10
7	27.3	2.17-2.19 m, 2.54-2.65 m	5,6,8,9,14
8	50.3	2.80-2.85 m	7,9,10,14,15
9	32.9	3.29-3.91 m	1,7,8,10,11,12,19
10	53.3		
11	27.0	1.55-1.59 m, 1.84-1.87 m	8,9,10,12,13
12	28.5	2.35-2.61 m	9,11,13,17,18
13	77.4		
14	216.8		
15	69.3	4.60-4.72 m	16,17
16	33.7	1.88-1.91 m, 2.54-2.65 m	13,14,15,17,20
17	57.3	2.31-2.37 m	12,13,15,16,20,21,22
18	178.4		
19	19.6	1.38 s	1,5,9,10
20	83.5		
21	23.1	1.50 s	17,20,22
22	76.2	4.23 dd (12.6, 3.3)	20,23,24
23	30.4	2.12-2.15 m, 2.74-2.78 m	20,22,24,25
24	148.5		
25	121.5		
26	163.9		
27	12.2	1.82 s	24,25
28	20.4	1.93 s	24,25

化合物V 白色无定形粉末, $[\alpha]_D^{20} + 47^\circ$ (c 0.20, MeOH)。高分辨质谱 HREIMS ($[M]^+ m/z$ 468.251 4, Calcd. 468.251 2), 其分子式为 C₂₈H₃₆O₆。红外光谱显示有羟基(3 501 cm⁻¹)和羰基存在(1 752, 1 684 cm⁻¹), 羰基分别为 α,β-不饱和 δ-内酯和 α,β-不饱和酮。其¹H NMR、¹³C NMR 及HMBC谱数据见表2。并通过对比发现,¹H NMR 和¹³C NMR 谱数据与已知化合物 Withaphysalin C 非常接近^[12]。¹³C NMR 谱数据显示化合物V 和 Withaphysalin C 不同之处在于 C-13,14 和 15 的化学位移。化合物 Withaphysalin C 的 C-13,14 和 15 NMR 数据为 δ 85.1 (C-13), δ 100.9 (C-14) 和 δ 27.5 (C-15), 而化合物 V 的 C-13,14 和 15 NMR 数据为 δ 59.9 (C-13), δ 60.2 (C-14) 和 δ 74.5 (C-15), 这一变化说明原来的 13,14 位的氧桥消失, 15 位被羟基所取代, 这同样被 HMBC 的相关信号所证实(图2)。根据 NOESY 谱, δ 4.57 (H-15) 与

2. 20(H-17)有 NOE 相关峰, 据此可以确定 C-15 的羟基取代位 β 构型。因此该 18,20-半缩醛类型的 Withaphysalin 化合物被确定, 命名为 Withaphysalin U。

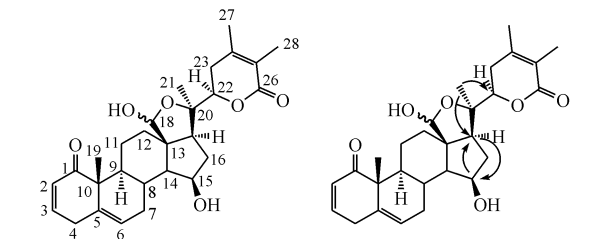


Figure 2 Chemical structure and HMBC of compound V

Table 2 NMR spectroscopic data and HMBC for compounds V (CDCl₃, 400MHz and 100 MHz, δ)

H/C	Compound V		
	δ _C	δ _H	HMBC(¹ H → ¹³ C)
1	204.6		
2	127.8	5.87 dd (9.9, 2.1)	
3	145.4	6.79 ddd (9.9, 4.8, 2.7)	5
4	32.4	2.84 dd (4.8, 21.0), 3.87 d(21.0)	2,3,5,6,10
5	135.2		
6	124.6	5.57 d (5.4)	7,8,10
7	30.5	1.88-1.91 m	8
8	33.6	1.87 m	7,9,14
9	42.7	1.75-1.83 m	1,7,8,10
10	50.3		
11	36.5	1.98-2.05 m, 2.43-2.57 m	9,10,12,13
12	36.5	1.59-1.68 m	9,11,13,17,18
13	59.9		
14	60.2	1.52-1.58 m	13,15,17,18
15	74.5	4.55-4.60 m	16,17
16	25.7	2.40-2.46 m	13,14,15,17,20
17	52.9	2.18-2.22 m	13,16,20
18	102.2	5.29 s	12,13,17
19	19.1	1.19 s	1,5,9,10
20	84.7		
21	23.8	1.27 s	17,20,22
22	81.0	4.50 dd (13.2, 4.8)	20,23,24
23	32.0	2.13-2.17 m, 2.38-2.42 m	20,22,24,25
24	149.1		
25	122.6		
26	166.3		
27	12.2	1.86 s	24,25
28	20.4	1.93 s	24,25

参 考 文 献

[1] Sathis KD, Raju SN, Harani A, et al. Alpha-glucosidase inhibitory and hypoglycemic activities of *Physalis minima* extract[J]. *Pharmacogn J*, 2009, 1(4): 273-278.

- [2] Choudhary MI, Yousuf S, Samreen, *et al.* New leishmanicidal physalins from *Physalis minima* [J]. *Nat Prod Res*, 2007, **21** (10): 877–883.
- [3] Kheng LO, Tengku STM, Shaida FS. Growth arrest and induction of apoptotic and non-apoptotic programmed cell death by *Physalis minima* L. chloroform extract in human ovarian carcinoma Caov-3 cells [J]. *Ethnopharmacology*, 2010, **128** (1): 92–99.
- [4] Choudhary MI, Yousaf S, Ahmed S, *et al.* Antileishmanial physalins from *Physalis minima* [J]. *Chem Biodivers*, 2005, **2** (9): 1164–1173.
- [5] Ma L, Gan XW, He QP, *et al.* Cytotoxic withaphysalin from *Physalis minima* [J]. *Helvetica Chimica Acta*, 2007, **90**: 1406–1419.
- [6] Ooi KL, Tengku MTS, Chui HL, *et al.* Apoptotic effects of *Physalis minima* L. chloroform extract in human breast carcinoma T-47D cells mediated by c-myc-, p53-, and caspase-3-dependent pathways [J]. *Integr Cancer Ther*, 2010, **9** (1): 73–83.
- [7] Shariff N, Sudarshana MS, Umesha S, *et al.* Antimicrobial activity of *Rauwolfia tetraphylla* and *Physalis minima* leaf and callus extracts [J]. *Afr J Biotechnol*, 2006, **5** (10): 946–950.
- [8] Patel T, Shah K, Jiwan K, *et al.* Study on the antibacterial potential of *Physalis minima* Linn [J]. *Indian J Pharm Sci*, 2011, **73** (1): 111–115.
- [9] Sahai M, Kirson I. Withaphysalin D, a new withaphysalin from *Physalis minima* Linn. var. *indica* [J]. *J Nat Prod*, 1984, **47**: 527–529.
- [10] Yoshiteru O, Anjana B, Hiroshi H. Withaphysalin E, a withanolide of *Physalis minima* var. *Indica* [J]. *Phytochemistry*, 1987, **26** (7): 2115–2117.
- [11] Editorial Committee of Chinese Materia Medica. *Chinese Materia Medica* (中华本草) (Volume VII) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1999, **7**: 292.
- [12] Kirson I, Zaretskii Z, Glotter E. Withaphysalin C, a naturally occurring 13, 14-seco steroid [J]. *Chem Soc, Perkin Trans. 1*, 1976 (11): 1244–1247.

· 新 进 展 ·

2014 年全球上市新药(1)

2014 年,全球首次批准上市的新分子实体(New Molecular Entity, NME)33 个和新生物药品(New Biologic)14 个,共 47 个。2014 年全球批准上市新药主要有三大特点:

1. 抗感染药物数量占优

在批准的 47 个新药中,抗感染药物 13 个,多年来首次独占鳌头。其它药物为抗肿瘤药 12 个,中枢神经系统药物 4 个,内分泌与代谢类药 4 个,影响血液和造血系统药物 3 个,消化系统药物 3 个,遗传病治疗药 3 个,心血管药物 2 个,免疫系统药物 2 个和呼吸系统药物 1 个。

2. 新药开发美国领先

在新药开发中,多年来美国始终保持领先地位,全球首次批准的 46 个新药中美国占 34 个,其次是日本 6 个,欧盟 6 个和中国 1 个。加上非全球最先批准的新药(如美国较欧盟晚了 1 天批准奥拉帕利 olaparib)胶囊上市)。

除了美国 FDA 先前给予审批快通道、优先审批和罕用药物设计等政策外,为了进一步鼓励新药开发,2012 年 11 月颁布了美国 FDA 安全与创新条例(FDASIA)给予“突破性治疗(breakthrough therapy)”设计来缩短药物研发至批准上市的周期。

色瑞替尼(ceritinib)是 2014 年美国 FDA 批准的第 4 个“突破性治疗”设计药物,较原完全审批上市申请书的处方药使用者收费审定日 2014 年 8 月 24 日提前了 4 个月。美国 FDA 批准色瑞替尼“突破性治疗”设计、优先审批和罕用药物设计分别是由于研发者通过初步临床实例显示该药较现有治疗药有本质上的提高;在递交应用时该药有可能显著改善治疗严重症状的安全性和有效性;该药旨在治疗罕见疾病。2014 年 7 月初,美国 FDA 批准博纳吐单抗(blinatumomab)“突破性治疗”设计后,该药较预定的 2015 年 5 月 19 日处方药使用者费用定价日提前了 5 个多月获准上市。

复方翁比他韦(ombitasvir)/帕利瑞韦(paritaprevir)/利托那韦片与达萨布韦(dasabuvir)片联合包装(商品 Viekira Pak)是美国 FDA 批准的第 11 个突破性治疗设计新药,12 月 19 日获准上市。

(医药经济报,本刊有删节)