

天茄子生物碱的研究

王英明^{1,2}, 李娟¹, 王英武¹, 顾景凯¹, 周 慧¹

(1. 吉林大学生命科学学院 生物大分子研究室, 吉林 长春 130023; 2. 复旦大学生命科学学院 分子免疫实验室, 上海 200433)

摘要: 目的 进行天茄子(丁香茄 *Calonyction muricatum* 的种子)中生物碱成分的分离及其结构研究。方法 天茄子用 80% 乙醇提取得到浸膏, 按照极性大小分为四个组分, 组分 I (石油醚)、组分 II (乙醚)、组分 III (甲醇) 和 IV (水)。对组分 II 和组分 III 采用柱层析、薄层层析和 HPLC 等方法分离其中的生物碱。结果 得到 5 个生物碱单体。经结构研究, 确定为: ipalbidine (W₁)、ipalbidinium (W₂)、ipalbinium (W₃)、isoipomine (W₄) 和 ipomine (W₅)。这五种生物碱都是中氮茛类生物碱。结论 W₃ 为首次从本属植物中分出, W₁、W₂ 和 W₄ 为首次从本植物中分出。

关键词: 天茄子; 中氮茛类生物碱; 纯化

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)02-0111-03

Studies on alkaloids from seed of *Calonyction muricatum*

WANG Ying-ming^{1,2}, LI Xiao-juan¹, WANG Ying-wu¹, GU Jing-kai¹, ZHOU Hui¹

(1. Biomacromolecular Laboratory, College of Life Sciences, Jilin University, Changchun Jilin 130023, China;

2. Laboratory of Molecular Immunology, College of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200433, China)

Key words seed of *Calonyction muricatum* (Linn.) G. Don.; indolizine-type alkaloids; purification

天茄子是旋花科植物丁香茄 *Calonyction muricatum* (Linn.) G. Don. 的种子, 是一味未收入我国国家药典的中药。天茄子可以用作蛇药和泻药(菲律宾), 治疗跌打损伤(忻城, 故又称跌打豆)、小儿疳积等症^[1]。在广西省, 使用该药治疗小儿肺炎已经有几十年的历史, 疗效很好。这一活性与 Gevara B Q^[2]等人的报道相符。1978年, 他们对丁香茄活性研究的结果表明, 丁香茄具有明显的抗真菌、抗细菌、镇痛和镇静活性, 并且, 种子的生物学活性最高。研究结果还表明, 天茄子的生物碱粗提物具有明显的抗微生物活性。这一点也被我们的初步实验结果证实。因此, 我们对天茄子的生物碱组份进行了研究, 从天茄子中分离得到了 5 种生物碱, 即 W₁、W₂、W₃、W₄ 和 W₅。经过结构研究, 确认它们依次是白牵牛碱(ipalbidine)、华佗豆丙碱(ipalbidinium)、华佗豆丁碱(ipalbinium)、isoipomine 和 ipomine。这几种生物碱都是中氮茛类生物碱。其中, 华佗豆丁碱是首次从该属中分离得到, 华佗豆丙碱、白牵牛碱和 isoipomine 是首次从该植物分离得到。

1 材料和仪器

天茄子购自广西, 植物标本经过东北师范大学

赵毓棠教授鉴定, 学名为 *Calonyction muricatum* (Linn.) G. Don. ARX 300 核磁共振仪, Bruker Co. LTD. (瑞士); IR-27G 型红外分光光度计, 岛津公司(日本); AutoSpec Ultima-ToF 串联质谱仪, Micromass 公司(英国); Pheodyne LCQ 仪, 有 ESI 高效液体色谱仪, Waters 公司(美); 色谱柱 Spherigel C₁₈ (10 mm×300 mm, 10^μm), 大连江申公司; 显微熔点仪, 四川大学仪器厂; 柱层析用硅胶(200-300 目)和薄层层析用硅胶 GF, 青岛海洋化工厂; 柱层析用碱性氧化铝, 上海五四化学试剂厂; 色谱用乙腈、甲醇, 山东禹王实业总公司; 水为自制重蒸水; 其它试剂为市售分析纯试剂。

2 提取与分离

天茄子 3 kg, 粉碎后用 80% 乙醇 35 L 渗漉提取, 经浓缩干燥后, 得到浸膏 260 g。将浸膏溶于甲醇, 拌 2 倍量硅藻土后干燥, 粉碎。然后, 依次用石油醚、乙醚、甲醇和水回流提取, 得到石油醚浸膏 12 mL、乙醚浸膏 64 g、甲醇浸膏 166 g 和水浸膏 2.8 g。

乙醚浸膏 50 g 经硅胶柱层析, 依次用石油醚(1~20 份)、石油醚-丙酮(4:1, 21~50 份)、石油

收稿日期: 2000-08-22

基金项目: 吉林大学博士后创新基金资助项目

作者简介: 王英明(1973-), 男, 黑龙江哈尔滨市巴彦县人, 复旦大学微生物系助教, 硕士, 现主要从事免疫学研究。Tel (021) 65642813,

Fax: (021) 65641215, E-mail: yinming_w@263.net

* 联系人, Tel (0431) 8922331-2505, Fax: (0431) 8921591, E-mail: liwe@mail.jlu.edu.cn

醚-丙酮(3:2, 51~80份)和石油醚-丙酮(3:7, 81~100份)洗脱,每500 mL收集为一组分。组份23~32合并,经过硅胶柱层析($\text{CHCl}_3\text{-CH}_3\text{OH}$, 6:1)和碱性氧化铝柱层析($\text{CHCl}_3\text{-CH}_3\text{OH}$, 9:1),用硅胶薄层层析检测(展开剂 $\text{CHCl}_3\text{-CH}_3\text{OH}$, 4:1, $R_f=0.74$, Dragendorff 显色剂),收集生物碱组份,最后得到186 mg W_1 。组份76~84合并,经硅胶柱层析($\text{C}_6\text{H}_6\text{-CH}_3\text{OH}$, 4:1)和制备性薄层层析($\text{CHCl}_3\text{-CH}_3\text{OH}$, 4:1, $R_f=0.26$),得到160 mg生物碱粗品。经过高效液相色谱分离,得到2个生物碱单体 W_4 和 W_5 。

甲醇浸膏50 g经过硅胶柱层析,依次用丙酮(1~20)、丙酮-水(3:1, 21~50)、丙酮-水(1:2, 51~100)洗脱,收集方法同上。得到的组份25~76含有生物碱,合并后干燥,得到7.6 g, 1.0 g经过硅胶柱层析($\text{CH}_3\text{OH-H}_2\text{O}$, 4:1)、Sephedex LH-20层析(甲醇洗脱, 254 nm检测)和碱性氧化铝柱层析($\text{CH}_3\text{OH-H}_2\text{O}$, 4:1)洗脱,得到两个生物碱 W_2 和 W_3 。

3 鉴定

W_1 : 白色固体, mp $146^\circ\text{C}\sim 147^\circ\text{C}$, 分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{ON}$, MW 229。显色反应: 碘化铋钾反应阳性, 三氯化铁-铁氰化钾反应阳性 (+) ESI-MS (方法见文献^[31]) m/z 230 (MH^+), m/z 230形成的二级质谱是 m/z 188($\text{MH}^+ - \text{C}_3\text{H}_6$), 三级质谱 m/z 186($\text{MH}^+ - \text{C}_3\text{H}_6 - 2\text{H}$), m/z 170($\text{MH}^+ - \text{C}_3\text{H}_6 - \text{H}_2\text{O}$)和 m/z 160($\text{MH}^+ - \text{C}_3\text{H}_6 - \text{CO}_2$)。 $^1\text{HNM R}$ 数据经对比文献^[4,5], 确定化合物 W_1 为白牵牛碱。

W_2 : 白色固体, mp $> 300^\circ\text{C}$, 分子式 $[\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{ON}]^+\text{Cl}^-$, 分子量 226(阳离子)。显色反应: 碘化铋钾反应阳性, 三氯化铁-铁氰化钾反应阳性 (+) ESI-MS m/z 226 (cation), m/z 226的二级质谱 m/z 198(cation- CO), m/z 198的三级质谱为 m/z 183(cation- $\text{CO} - \text{C}_3\text{H}_6$); 经过对比文献^[4,5], 确定 W_2 为华佗豆丙碱。

W_3 : 白色固体, mp $> 195^\circ\text{C}$ (碳化), 分子式 $[\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{ON}_6]^+\text{Cl}^-$, 分子量 388.1729 u (FAB-HRMS, 阳离子), 388.1760 u (计算值, 阳离子)。显色反应: 碘化铋钾反应阳性, 三氯化铁-铁氰化钾反应阴性 (+) ESI-MS m/z 338 (cation), 二级质谱 m/z 226 (cation- Glc), 三级质谱 m/z 198(cation- $\text{Glc} - \text{CO}$); NM R δ_{H} ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz): 2.49(2H, m, H-2), 2.58(3H, s, CH_3), 3.2~3.7(5H, m), 3.62(1H, m), 3.76(H, d, $J=8.1$ Hz), 4.85(1H, m),

4.88(2H, m, H-3), 5.56(H, d, Glc-1), 5.3~5.45(2H, m), 5.56(1H, d, $J=3.4$ Hz), 7.28(2H, d, $J=8.1$ Hz, H-3'+H-5'), 7.54(2H, d, $J=8.1$ Hz, H-2'+H-6'), 8.15(1H, s, H-8), 9.05(1H, s, H-5) δ_{C} ($\text{DMSO-}d_6$): 20.09(C-2), 21.5(CH_3), 31.5(C-1), 58.2(C-3), 60.6, 69.6, 73.2, 76.6, 77.1, 100.1(Glc-1), 116.5(C-3', C-5'), 125.1(C-8), 127.2(C-1'), 130.7(C-2', C-6'), 137.9(C-6), 140.1(C-5), 155.4(C-7), 155.8(C-9), 157.9(C-4') $^1\text{H-}^1\text{H Cosy}$ 谱, $\delta_2.58$ 和 $\delta_3.53$ $\delta_4.88$ 有很强的偶合, $\delta_2.58$ 和 $\delta_8.15$ 有弱的偶合。HMBC谱中, $\delta_2.49$ 和 $\delta_31.5$ 偶合; $\delta_2.58$ 和 $\delta_125.1$ $\delta_137.9$ 和 $\delta_155.4$ 有着偶合, 和 $\delta_155.4$ 的偶合是最强的; $\delta_7.28$ 和 $\delta_157.9$ $\delta_130.7$ 及 $\delta_127.2$ 偶合; $\delta_7.54$ 和 $\delta_137.9$ 偶合; $\delta_8.15$ 和 $\delta_155.8$ $\delta_31.5$ 偶合; $\delta_9.05$ 和 $\delta_127.2$ 有较弱的偶合。和文献^[4]比较, 确定 W_3 为华佗豆丁碱。

W_4 : 白色固体, mp $146^\circ\text{C}\sim 147^\circ\text{C}$, 分子式 $\text{C}_{30}\text{H}_{55}\text{NO}_8$, MW 537。显色反应: 碘化铋钾反应阳性, 三氯化铁-铁氰化钾反应阳性; (+) ESI-MS m/z 538 (MH^+), 二级质谱 m/z 230 (ipalbidine- H^+), 三级质谱 m/z 188(ipalbidine- $\text{H}^+ - \text{C}_3\text{H}_6$)。 $^1\text{HNM R}$ 数据对比文献^[5], 确定 W_4 为 isoipomine。

W_5 : 白色固体, mp $146^\circ\text{C}\sim 147^\circ\text{C}$, 分子式 $\text{C}_{30}\text{H}_{55}\text{NO}_8$, MW 537。显色反应: 碘化铋钾反应阳性, 三氯化铁-铁氰化钾反应阳性; (+) ESI-MS m/z 538 (MH^+), 二级质谱 m/z 230 (ipalbidine- H^+), 三级质谱 m/z 188(ipalbidine- $\text{H}^+ - \text{C}_3\text{H}_6$)。 $^1\text{HNM R}$ 数据对比文献^[5,6], 确定 W_5 为 ipomine。

4 讨论

我们从天茄子中分离得到了5种生物碱,它们具有共同的母核——中氮茛结构。 W_1 , W_4 和 W_5 是六氢中氮茛,而 W_2 和 W_3 是二氢中氮茛,据认为,后者是前者的氧化产物^[4]。1977年 Daudar 和 Winternitz F对丁香茄的脂溶性生物碱进行了研究^[6],分离得到了 ipomine,另外他们还利用薄层色谱结合质谱技术确认了 ipalbidine 的存在。 ipalbidine ipalbicine ipomine isoimomine ipobidinium 在月光花 *Calonyction aculeatum* (Linn.) House的种子中分离得到过^[5]。

1966年, Charles I等人研究了一种叫做 Kaladan 的番薯属植物的种子^[7,8],其中含有较多的生物碱(0.4%),通过分离得到了麦角醇(lysergol)和裸麦角碱(chanoclavine)。他们最后认定 Kaladan 为丁香茄而不是牵牛 *Ipomoea hederacea* Jacq.^[8]。

从大小和形态上看,他们所研究的植物标本为 1/4 的卵形,黑到棕黑色,无光泽,更象牵牛子(黑丑)。百粒重 5.5~6.0 g,这也与文献^[9]中牵牛子相吻合。

我们实验中所选用的天茄子是广西产的,收获后经过炮制得到的丁香茄种子。每个果实有种子四粒,种子大而平滑,为 1/4 的卵圆形,背拱,侧面平,白色,表面光滑有光泽(这两点与《中国植物志》^[1]的叙述不一致,而与《中药志》^[9]的叙述一致),质地坚硬。长 9 mm,宽 6~7 mm,厚为 5~6 mm,百粒重为 15±0.5 g。粉碎后,粉末味苦、微涩,有较重的油腥味。综合文献和我们的结果,我们认为 Charles 等人的种属鉴定结果是错误的,天茄子中的生物碱应该是中氮茛类生物碱。

需要指出的是,本文利用了(+) ESI-MS 技术帮助确定物质的结构,ESI-MS 的碎裂方式与 EI-MS 的结果不相同。如文献中报道的 ipalbidine 的碎片 m/z 229 215 160 145 和 70^[4]。

致谢:天茄子由吉林大学刘辉老师提供,在结构解析方面得到了沈阳药科大学冯宝民博士的大力帮助。

参考文献:

- [1] 中国植物志编委会编. 中国植物志 [M]. 62(1). 北京: 中国科技出版社, 1982.
- [2] Guevara B Q, Rosalinda C, Solevilla Y B, *et al.* Preliminary phytochemical microbiological and pharmacological studies of *Calonyction muricatum* Linn. [J]. Acta Manilana Ser A Nat Appl Sci, 1978, 17: 20-35.
- [3] 顾景凯, 钟大放, 姜浩, 等. 用电喷雾离子阱质谱法分析生物样品中艾司唑仑及其主要代谢产物 [J]. 药物分析杂志, 1999, 19(3): 150-154.
- [4] 刘铸晋, 陆仁荣, 徐凤. 华佗豆生物碱间的相互转化 [J]. 化学学报, 1987, 45: 514-517.
- [5] Khalid I, Dan D D, Koulodo M G, *et al.* Nouveaux alcalides indoliziniques isolés de *Ipomea alba* [J]. Journal of natural products, 1987, 50(2): 152-156.
- [6] Dawidar A M, Winternitz F. Structure of ipomine, new alkaloid from *Ipomea muricata* Jacq [J]. Tetrahedron, 1977, 33: 1733-1734.
- [7] Charles I, ABOU-CHAAR, GEURGE A. Digenis Alkaloid of an ipomea seed commonly known as kaladana in Pakistan [J]. Nature, 1966, 212: 218-219.
- [8] Charles I, ABOU-CHAAR, GEURGE A. Digenis alkaloid of an ipomea seed commonly known as kaladana in Pakistan [J]. Nature, 1970, 225: 664.
- [9] 中国医学科学院药物研究所等编. 中药志. 第三册 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1984.

凤尾草根茎的化学成分研究

刘清飞¹, 秦明珠²

(1. 广州中医药大学, 广东 广州 510405; 2. 南京中医药大学, 江苏 南京 210029)

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2002)02-0113-02

凤尾草 *Pteris multifida* Poir. 为蕨类植物。民间及临床用全草清热利湿、抗菌消炎、消肿止痛、凉血止血, 治疗痢疾、扁桃体炎、肝炎, 其根茎用于治疗糖尿病、抗肿瘤效佳。目前, 国内外报道凤尾草同属植物普遍含有贝壳杉烷(烯)化合物, 具有一定的抗肿瘤活性^[1-5], 而对凤尾草尚缺乏系统的研究。本课题借鉴国内外的研究, 利用现代先进的分析检测手段, 对凤尾草的化学成分进行系统研究, 为临床用药提供科学依据。

1 材料与仪器

原植物采自江苏省南京市紫金山, 由南京中医药大学大学生药室鉴定。

熔点用 Bu CHI Melting Point B-540 型仪器测定, 温度计未校正; 旋光度用 WZZ-1 自动指示旋光仪(上海光学仪器修理厂)测定; 紫外光谱用 SHIMADZU UV-VIS RECORDING SPECTROPHOTOMETER 测定; 红外光谱用岛津 W SZ-435 红外分光光度计测定; 核磁共振谱用 BRUKER ACF-300 仪器测定, TMS 为内标; 质谱使用 JMS-300 JEOL 型质谱仪测定。

化学试剂均为分析纯。β-谷甾醇标准品, 由本校中心实验室提供。

2 提取与分离

取凤尾草根茎, 洗净, 干燥, 粉碎过 40 目筛, 称取

收稿日期: 2001-06-25

基金项目: 江苏省教委自然科学基金资助项目(94059)

作者简介: 刘清飞(1971-), 男, 博士研究生, 研究方向为中药有效成分、中药新剂型与新技术研究