

管花马兜铃化学成分的研究(Ⅱ)

南京中医药大学(210029)

彭国平*

中国药科大学

楼凤昌 赵守训

中科院福建物质结构研究所

陈元柱

摘要 从管花马兜铃 *Aristolochia tubiflora* 中分离并鉴定了7个化合物,分别为棕榈酮(Ⅰ)、 β -谷甾醇(Ⅱ)、欧朴吗素-7(Ⅲ)、豆甾烷-3,6-二酮(Ⅳ)、香草酸(Ⅴ)、豆甾-1-烯-3,6-二酮(Ⅵ)、奥伦胺乙酰化物(Ⅶ),其中化合物Ⅲ和Ⅶ为首次从该属植物中分得;化合物Ⅶ具有细胞毒活性。

关键词 管花马兜铃 马兜铃属 欧朴吗素-7 奥伦胺乙酰化物 细胞毒活性

马兜铃属 *Aristolochia* L. 植物可入药。民间用于清热解毒,蛇虫咬伤的管花马兜铃 *A. tubiflora* Dunn 的化学成分及其活性研究尚未有报道,我们从管花马兜铃中共分得15个结晶,鉴定了其中7个化合物,分别是:棕榈酮(Ⅰ)、 β -谷甾醇(Ⅱ)、欧朴吗素-7(Ⅲ)、豆甾烷-3,6-二酮(Ⅳ)、香草酸(Ⅴ)、豆甾-1-烯-3,6-二酮(Ⅵ)、奥伦胺乙酰化物(Ⅶ);欧朴吗素-7及奥伦胺乙酰化物是首次从该属植物中分得;欧朴吗素结构中NMR特异现象通过X-射线单晶衍射得到解决;Ⅲ和Ⅶ的结构如图1。

Ⅲ为无色针晶,薄层检查为一个斑点,三氯化铁显暗红色斑点,三氯化锑显红色,熔点165℃;红外光谱显示:Ⅲ结构中具有羟基(3420cm^{-1})及芳环($1611, 1600, 1512\text{cm}^{-1}$);紫外光谱 λ_{max} nm: 220(sh), 232, 267, 297(sh), 309, 325(sh)nm, 它的峰型特别(图2),与常见共轭体系的紫外特征差异较大,因而它的母核判断非常困难。质谱 m/z 324(M^+), 309($M^+ - \text{CH}_3$)及162($M^+/2$)说明Ⅲ可能有含 CH_3 并且分子易断裂成 $M^+/2$ 的碎片。核磁共振氢谱(DMSO- d_6)显示一组丙烯基质子: δ 1.93(3H, d, $J=6\text{Hz}$, CH_3-), 6.37(1H, dq, $J=15.5, 6\text{Hz}$, $\text{CH}_3-\text{CH}=\text{CH}-$), 6.55(1H, d, $J=15.5\text{Hz}$, $\text{CH}_3-\text{CH}=\text{CH}-$);还有一个芳甲基 2.44(3H, s), 2个甲氧基

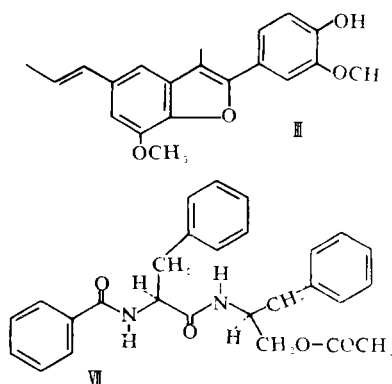


图1 化合物Ⅲ和Ⅶ的化学结构式

3.90(3H, s), 4.03(3H, s)和一个羟基 δ 9.41(1H, brs);此外还有3个单峰芳质子 δ 7.02(1H, s), 7.19(1H, s), 7.31(1H, s)和邻二芳氢 δ 6.98(1H, d, $J=7\text{Hz}$), 7.26(1H, d, $J=7\text{Hz}$);核磁共振碳谱显示有4个甲基 δ 9.70, 18.4, 56.4, 56.4。将Ⅲ经醋酐/吡啶乙酰化得Ⅲ乙酰化物,熔点144℃;红外光谱中有酯羰基(1760cm^{-1}),说明Ⅲ已确实被乙酰化;它的紫外光谱也与Ⅲ类似;核磁共振氢谱(CDCl_3)中出现了乙酰基的甲基峰 δ 2.34(3H, s)而消失了羟基峰,核磁共振碳谱(CDCl_3)除有原来的4个甲基和乙酰基的2个碳 δ 169.0和20.7之外,还有丙烯基的2个烯碳 δ 131.4, 124.6以及其余14个烯(芳)碳 δ 151.2, 111.0, 132.9, 109.1, 133.9, 105.0, 145.0,

* Address: Peng Guoping, Nanjing College of Traditional Chinese Medicine, Nanjing

142.2、130.2、119.5、122.9、139.6、150.7、111.8。由于紫外光谱无法帮助确定Ⅲ的共轭体系,只能从以上的数据中加以分析;由于Ⅲ中有丙烯基,提示可能是苯丙素类化合物,从 $M^+ \rightarrow M^+ / 2$ 可以判断Ⅲ可能是木脂素类,且碳谱也完全符合木脂素(除2个甲氧基之外共有2个甲基及16个烯或芳碳)。该属植物中所分离到的木脂素中只有里卡灵A⁽¹⁾和新木脂素类⁽²⁾中具有丙烯基,两者显然均不符合Ⅲ的氢谱、碳谱和紫外光谱。可是,前者脱氢后形成大共轭体系却非常符合Ⅲ的所有要求,其分子式为 $C_{20}H_{20}O_4$,分子量324也和Ⅲ的 M^+ 相符合并且也是3个(只有间位偶合)单峰氢及邻偶2个氢共5个芳氢。查阅文献⁽³⁾里卡灵A的2,3-位脱氢化物是欧朴吗素-7(eupomatenoid-7)。Ⅲ的紫外光谱、红外光谱、核磁共振氢谱、熔点及Ⅲ乙酰化物的理化数据与eupomatenoid-7及eupomatenoid-7乙酰化物的数据一致,因此该化合物可能是eupomatenoid-7(图1);但是,11-位的甲基氢(δ 2.44)比一般的芳甲基氢(应小于2.40ppm)处在更低场些,而其碳却在异常的高场,仅为9.6ppm(一般芳甲基碳在20ppm左右)。为了解释该现象和进一步确证该化合物结构,我们培养了Ⅲ乙酰化物的单晶,测定了其X-ray衍射的晶体结构,结果表明推证的eupomatenoid-7结构是正确的,其中: O_1 、 C_2 、 C_{3a} 、 C_1 、 C_5 、 C_6 、 C_7 、 C_{7a} 、 O_2 、 C_8 、 C_9 、 C_{10} 、 C_{11} 、 $C_{1'}$,处于同平面上,与由 $C_{1'}$ 、 C_2' 、 C_3' 、 C_4' 、 C_5' 、 C_6' 、 O_3 、 O_4 所组成的平面之间夹角为21.73°,这样, C_{11} -Ⅱ处于芳环C的去屏蔽区,使之向低场移动;同样,由于 C_{11} -Ⅱ和 C_6' -Ⅱ的空间距离非常近,使 C_6' -Ⅱ对 C_{11} 产生类似 γ -效应的作用,即 C_6 -H与 C_{11} -H之间的强烈排斥使它们的s电子云分别流向 C_6 和 C_{11} , C_6' 与 C_{11} 均向高场移动,使 C_{11} 移动到9.6ppm而 C_6 也明显比 C_2 处于高场处。这2个平面的夹角这样小是原先未预料到的(原模型分析时考虑到11位甲基与芳环C上的氢之间有很大的空间阻碍而错误地认为这2个平面间的夹角会近90°),可能有2个因素,一方面这两个大共轭体系有很强的共轭效应,要使这2个平面趋于同平面,另一方面较大的空间阻力又阻止它们处于同平面上。这样,两者共同作用的结果使得这2个平面间夹角为21.73°。文献中此类化合物仅从少数植物中分得 C_{11} -位甲基的NMR都是氢在2.4ppm左右,碳在9.5ppm左右。因此,这个甲基的NMR特征是此类化合物的集中表现,可作为是该类化合物的光谱特征。

1 仪器和试剂

熔点仪用PHMK79/2212型显微熔点测定仪(温度未校正);红外光谱用Shimadzu IR-400型红外光谱仪测定(KBr压片);紫外光谱用Shimadzu UV-300型紫外分光光度仪测定(EtOH为溶剂)。核磁共振谱用Bruker AM-500, Bruker ACF-300型核磁共振仪测定(1H NMR: 500MHz, 300MHz, ^{13}C NMR: 125MHz, 75MHz,以TMS作内标)。质谱用JEOLJMS D300, VGZAB-HS及Nicolet FTMS-2000型质谱仪测定。X-衍射谱用Rigaku AFC 5R型四园衍射仪测定。硅胶H和HF₂₅₁由青岛海洋化工厂生产。

2 提取和分离

管花马兜铃去叶后的茎、根4.5kg,切碎后以90%乙醇回流提取3次(3h, 3h, 2h),提取液合并回收至1500ml,再加丙酮1500ml后滤去沉淀。回收至干,得总浸膏150g,加150g硅藻土

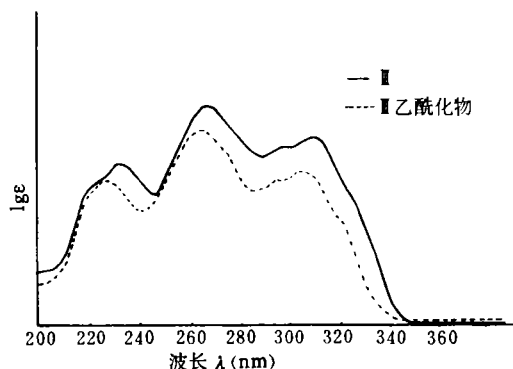


图2 化合物Ⅱ和Ⅲ的乙酰化物的UV谱

混匀,低温烘干后研细,上加压柱(柱径 5.5cm,硅胶 H 300g)用超载柱的形式进行分离。以石油醚-乙酸乙酯进行梯度洗脱,500ml 为一个流份,依次得 I 600mg(8~13 流份)。II 350mg(71~74 流份)。III 500mg(104~107 流份),IV 120mg(167~182 流份)。V 50mg(397~413 流份)。然后对各流份再进行 TLC 分析,合并 71~270,419~591,上柱再分离,71~270 流份以石油醚-乙酸乙酯(10:3)洗脱得 VI 200mg;419~591 以苯-乙酸乙酯梯度洗脱得 VII 40mg。

3 鉴定

I (palmitone):无色片晶,mp 87~88℃;IR_{v_{max}}cm⁻¹:2948,1700(CO),1462,720(-CH₂-)。EIMS m/z:450(M⁺),323(M⁺-C₉H₁₉),254,196(麦氏重排),239,211(α-裂解);¹HNMRδ(CDCl₃):0.88(6H,t,J=6.6Hz,2×CH₃-),1.25[48H,brs,2×(-CH₂-)₁₂],1.55(4H,m,2×-CH₂-),2.37(4H,t,J=5.6Hz,-CH₂COCH₂-)。

II (β-sitosterol):无色针晶,mp 135-136℃,IR 与标准品图谱一致,TLC 与标准品一致。

III (eupomatenoid-7):mp 105~106℃;IR_{v_{max}}cm⁻¹:3420(OH),1611,1600,1512,960(Ar),1263,1141;UV_{λ_{max}}nm:220(sh),232,267,297(sh),309,325(sh);EIMS m/z:325(M⁺),309(M⁺-CH₃),265(309-CH₃,-H-CO),162(M⁺/2);¹HNMRδ(CDCl₃):1.93(3H,d,J=6Hz,CH₃-CH=),6.37(1H,dq,J=15.5,6Hz,CH₃-CH=CH-),6.55(H,d,J=15.5Hz,CH₃-CH=CH-),2.44(3H,s,CH₃-Ar),3.90(3H,s,CH₃O),4.03(3H,s,CH₃O),6.98(1H,d,J=7Hz,C₅-H),7.02(1H,s,C₆-H),7.19(1H,s,C₁-H),7.26(1H,d,J=7,C₆-H),7.31(1H,s,C₂-H),9.41(1H,brs,OH);¹³CNMRδ(CDCl₃):9.70(C₁₁),18.4(C₁₀),105.2(C₆),109.2(C₁),110.0(C₃),114.5(C₅),120.7(C₆),124.1(C₉),131.5(C₈),133.7(C₅),145.8(C₇),146.5(C₃),56.4(CH₃O),56.4(CH₃O)。

III 乙酰化物(eupomatenoid-7 acetate)制备:III 50mg 溶于 2ml 吡啶中再加 2ml 醋酐,室温放置 2h,常法处理得 III 的乙酰化物,无色针晶,mp 144℃。IR_{v_{max}}cm⁻¹:1760(-COO-),1508,1510,1093,963;UV_{λ_{max}}nm:228,255,275(sh),294(sh),306,322(sh);¹HNMRδ(CDCl₃):1.90(3H,d,J=6Hz,CH₃-CH=),2.34(3H,s,Ac),2.43(3H,s,CH₃-Ar),6.23(1H,dq,J=15.5,6Hz,CH₃-CH=CH-),6.49(1H,d,J=15.5Hz,CH₃-CH=CH-),3.92(3H,s,CH₃O),4.03(3H,s,CH₃O),6.84(1H,s,C₆-H),7.05(1H,s,C₁-H),7.12(1H,d,J=9Hz,C₅-H),7.35(1H,d,J=9Hz,C₆-H),7.41(1H,s,C₂-H);¹³CNMRδ(CDCl₃):151.2(C₂),111.0(C₃),132.9(C_{3a}),109.4(C₁),133.9(C₅),105(C₆),145.0(C₇),142(C_{7a}),131.4(C₈),124.6(C₉),18.4(C₁₀),9.60(C₁₁),130.2(C₁),119.5(C₂),122.9(C₃),139.6(C₁),150.7(C₅),111.8(C₆),169.0(-COO-),20.7(CH₃-CO),56.1(2×CH₃O)。

IV (stigmastane-3,6-dione),无色针晶,mp 205~206℃,UV_{λ_{max}}nm 220 以上无强吸收,IR_{v_{max}}cm⁻¹:1720,1708(2×-CO-),966,802,702;EIMS m/z:428(M⁺),399,287,245,149,55;以上数据与文献^[1]一致;TLC 与标准品一致。

V (vanillic acid),白色针晶,mp 205~207℃;IR_{v_{max}}cm⁻¹:3470(-OH),3100~2500(-COOH),1670(Ar-COOH),1598,1520,760,EIMS m/z:168(M⁺),153(M⁺-CH₃),151(M⁺-OH),125(153-CO),123(M⁺-COOH),108(123-CH₃),97(125-CO);¹HNMRδ(CDCl₃):3.90(3H,s,CH₃O),6.91(1H,d,J=8Hz,C₅-H),7.52(1H,d,J=2,HZ,C₂-H),7.65(1H,dd,J=8,2Hz,C₆-H);以上数据与文献^[8]一致;TLC 与标准品一致。

VI (stigmast-4-en-3,6-dione):浅黄针晶,mp 174~176℃;IR_{v_{max}}cm⁻¹:1685(α,β-不饱和羰

基),1412,1598,942,865;UV $\lambda_{\max}$ nm:251;以上数据与文献^[4]一致;TLC 检查与标准品一致。

Ⅶ(aurantiamide acetate):白色针晶,mp185~186℃;IR $\nu_{\max}$ cm⁻¹:3340(NH),1726(CO),1662(CON),1631(Ar-CON),1262,1534,743,698;EIMS m/z :444(M⁺),384(M⁺-HAc),293(384-CH₂Ar),252,224,105(α -裂解),91(CH₂Ar),77(Ar⁺),¹HNMR δ (CDCl₃):7.65(2H,d,J=8.5Hz),7.47(1H,t,J=8.5Hz),7.38(2H,t,J=8.5Hz,ArCO),7.24~7.05(8H,m),7.00(2H,d,J=7Hz,2×Ar),6.70(1H,brs,Ar-CONH-),5.90(1H,brs,CONH-),4.70(1H,brs,>CHN),4.28(1H,brs,>CHN),3.86(1H,dd,J=11,4.5Hz),3.74(1H,dd,J=11,4.0,-CH₂O-),3.17(1H,brd,J=13),2.99(1H,m,CH₂Ar),2.73~2.64(2H,m,CH₂Ar),1.97(3H,s,CH₃CO);DMSO-d₆时,差异如下: δ 6.70移至8.40(1H,d,J=8,D₂O交换衰弱), δ 5.90移至8.07(d,J=8.5,D₂O交换衰弱), δ 4.28、4.70分别移至 δ 4.62和4.12;¹H-¹HCOSY(DMSO-d₆): δ 8.44与4.62、4.52与2.92相关(-CO-NH-CH-CH₂-), δ 8.07与4.13, δ 4.13与2.73、 δ 4.13与3.81、4.13与3.35、3.81与3.95相关(-O-CH₂-NH-CH₂-)。

4 活性试验

由于马兜铃属植物中的化合物的抗癌活性研究较多,在我们鉴定的15个化合物中就有报道^[4]。因此我们选择地做了Ⅲ和Ⅶ细胞毒活性试验(由美国PURDUE大学抗肿瘤药物研究所肿瘤细胞实验室代测),结果如表,发现Ⅲ没有活性,但是Ⅶ对3种癌细胞均有一定的活性(表)。

表 细胞毒活性试验结果

样 品	A-549 肺癌细胞 ED(μ g/ μ l)	MCF-7 乳房癌细胞 ED(μ g/ μ l)	HT-29 结肠癌细胞 ED(μ g/ μ l)
Ⅶ	2.15×10^{-1}	7.73×10^{-2}	2.60
adriawycin (阳性对照)	4.21×10^{-4}	8.05×10^{-3}	2.95×10^{-3}
Ⅲ	>10	>10	>10

致谢:管花马兜铃由安徽芜湖中医学校刘晓龙讲师在安徽九华山天台区采集,经中国药科大学周荣汉教授鉴定。南京大学配位化学研究所姚亦明测定NMR谱。赴美学者赵耕先测试细胞毒活性。南京药物研究所薛慧中副教授提供部分标准品。

参 考 文 献

1 丁林生,等. 中草药,1983,14(9):424

2 Consensi M et al. Phytochem,1990,29(1):257

3 Browden B F et al. Aust J Chem,1972,25:2659

4 薛慧中,等. 南京药学院学报,1985,16(3):7

5 何兴林,等. 植物学报,1984,26(5):527

(1994-10-18 收稿)

第四期科技期刊主编学术讨论会、第十期编辑研讨会
在湖南长沙市、张家界市举行

由湖南省科技期刊编辑学会及湖南省编协老编辑研究会主办的全国第4期科技期刊主编学术讨论会、第10期科技期刊编辑研讨会于1995-10-19~10-27在湖南省长沙市、张家界市举行。来至北京、上海、天津、河北、山西、陕西、内蒙、辽宁、四川、湖南、湖北、安徽、江苏、浙江等省、市的主编及编辑58人。湖南省科技期刊编辑学会理事长陈钧在开幕式上作了改革开放意识、科技意识、信息意识和质量意识及其关系的报告。省科技期刊编辑学会副理事长、常务理事等同志分别就编辑心理学;量和单位;图表的编辑加工等作了中心发言。到会同志就在当前市场经济的新形势下,科技期刊如何做到社会效益、经济效益两不误,如何进一步提高刊物质量,加强编辑部建设等问题进行了广泛的探讨和交流。

晏振富

ABSTRACTS OF ORIGINAL ARTICLES

Studies on the Chemical Constituents of Emeixuedan (*Hemsleya emeiensis*)

Shi Yaqin, Zhang Wenjin, et al

Seven compounds were isolated from the tubers of *Hemsleya emeiensis* L. T. Shen et W. J. Chang and identified as oleanolic acid-3-O- α -L-arabinopyranosyl (1 $\rightarrow$ 3)- β -D-glucopyranoside (I), chikusetsusaponin Na (II), hemslosides Ma₁ (III), G₁(N), H₁(V), dihydrocucurbitacin F-25-O-acetate (VI) and dihydrocucurbitacin F(VII) on the basis of chemical and physical properties and spectral data. They all were isolated from this plant for the first time. Among them, I was obtained for the first time from the genus of *Hemsleya* Cogn.

(Original article on page 619)

Studies on the Chemical Constituents of Tubeflower Dutchmanspipe (*Aristolochia tubiflora*)

Peng Guoping, Lou Fengchang, Chen Yuanzhu, et al

Seven constituents were isolated from the stem and root of *Aristolochia tubiflora* Dunn. They were identified as palmitone (I), β -sitosterol (II), eupomatenoid-7(III), stigmastame-3,6-dione (IV), vanillic acid(V), stigmast-4-en-3,6-dione (VI), aurantiamide acetate (VII). VII showed cytotoxicity against A-549, MCF-7, HT-29 cells in culture.

(Original article on page 623)

Study on the Quality Standard of Shixiangzhitong Pill

Xu Renliu, Ning Tong

TLC was used for the qualitative identification of *Magnolia officinalis* Rehd. et wils, *Cyperus rotundus* L. and *Rheum palmatum* L. in Shixiangzhitong pill. The content of chrysophanol in Shixiangzhitong pill was assayed by TLC-scanning. The proposed method can be used to control the quality of Shixiangzhitong pill.

(Original article on page 629)

Spectrophotometric Determination of Trace of Mercury in Traditional Chinese Medicine with Iodine-Rhodamine B-Polyvinyl Alcohol

Cheng Guangxin, Wang Lihua, Ni Kunyi, et al

A spectrophotometric method for the determination of trace amounts of mercury (II) was described based on the formation of a complicated ion-association complex of Hg(II)-I⁻-Rhodamine B in the presence of polyvinyl alcohol. The maximum absorption of the ion-association complex was at 595nm. Beer's law was obeyed for mercury (II) in the range of 0~5 μ g/25ml. The apparent molar absorptivity was 7.36×10^5 L/mol $\cdot$ cm. The recovery of mercury was 97.0%~103.0%, RSD <3%. The procedure was highly selective with good sensitivity and the result of determination was satisfactory.

(Original article on page 632)

Effects of Membranous Milkvetch (*Astragalus membranaceus*) on the Action of "Decoction of Invigorating Yang for Recuperation"

Lin Guitao, Li Wanzhong

Astragalus membranaceus (AM) plays an important role in the traditional Chinese recipe "Decoction of Invigorating Yang for Recuperation" (DIC) as the main ingredient which invigorates Qi and promotes blood circulation. But in clinics, doses of AM used in the recipe often varies. For the purpose to investigate the effect of different doses of AM on the action of DIC, animal experiments were designed and studied. Results showed that when the doses of AM were 15 and 30g, the resulting DIC showed a better antiirritability and enhancing immunity effects, as well as in vivo antithrombosis and vitro anticoagulation actions as compared to a dose of 120g AM in DIC ($P < 0.05$).

(Original article on page 639)