

南蛇藤活性成分的研究

上海医药工业研究院(200040) 蒋毅* 李鹤** 罗思齐

摘要 从卫矛科植物南蛇藤 *Celastrus orbiculatus* Thunb. 根的石油醚提取物中分得 8 个单体化合物。经化学方法和光谱分析,其中 5 个化合物分别鉴定为扁蒴藤素(pristimerin, I), β -谷甾醇(II), β -香树脂醇(β -amyrin, III), β -香树脂醇棕榈酸酯(β -amyrin palmitate, IV),正三十醇乙酸酯(1-triacontanol acetate, V)。化合物 I~V 均系首次从该植物中分得。I 经体外抗癌试验,对 P₃₈₈ 细胞的 IC₅₀=0.267 μ g/ml,对 LAX 细胞 IC₅₀=0.018 μ g/ml。

关键词 南蛇藤 木栓酮 三萜 抗癌活性

卫矛科植物大多具有杀虫,抗肿瘤活性,含生物碱,倍半萜,二萜,三萜,强心甙及黄酮等类化合物,是寻找天然活性成分的重要来源之一。近年来对该科植物的化学成分研究比较多^[1]。南蛇藤 *Celastrus orbiculatus* Thunb. 为卫矛科植物,分布于我国大部分地区。民间用其叶、根入药,用于祛风胜湿,行气散血,消肿解毒,治疗风湿筋骨疼痛,跌打损伤,痈疽肿毒等疾病^[2]。有关该植物的化学研究报道较少。由于该植物的分布广,产量大,因此我们对该植物进行了活性成分研究。从该植物的石油醚提取物中分到 8 个化合物。经 UV, IR, ¹HNMR, ¹³CNMR, EI-MS 及有关的化学方法鉴定了其中 5 个化合物,分别是扁蒴藤素(pristimerin, I), β -谷甾醇(II), β -香树脂醇(β -amyrin, III), β -香树脂醇棕榈酸酯(β -amyrin palmitate, IV),正三十醇乙酸酯(1-triacontanol acetate, V),其余 3 个微量成分待鉴定。其中扁蒴藤素在进行体外抗癌活性筛选中,用 MTT 法(P₃₈₈ 细胞)IC₅₀为 0.267 μ g/ml, LAX 细胞 IC₅₀0.018 μ g/ml。另外,Ngassapa 等人^[3]对 Sneden 报道的 celastrol 的 ¹³CNMR 谱进行了更正,根据该报道,我们对扁蒴藤素(pristimerin)^[4]的 ¹³C-NMR 也进行了相应更正。

化合物 I:橙红色结晶,IR 谱中显示有

羰基和共轭双链(1735, 1725, 1655cm⁻¹等)。¹HNMR 谱中 δ ppm7.20~6.25 之间的信号峰也显示有共轭烯质子。UV 谱在 208, 246, 422nm 有吸收也说明分子中有共轭系统存在。在卫矛科中,曾报道过木栓酮类化合物^[5],具有特征的红色或橙红色的结晶。结合上述光谱特征,化合物 I 有可能为木栓酮类化合物。¹HNMR δ 7.20 为 dd 峰, J=2 和 8Hz, 为 C₆-H, 系与 C₁-H 和 C₇-H 偶合所致; δ 6.41 为 d 峰, J=8Hz, 为 C₇-H, 系与 C₆-H 偶合所致; δ 6.72 为 d 峰, 为 C₁-H, 系与 C₆-H 偶合所致; δ 2.23 为单峰, 3 个质子, 示化合物 I 中有与双链相连的甲基为 C₂₃-H。其余角甲基的质子信号分别为: δ 1.45(C₂₅-H), 1.25(C₂₆-H), 1.15(C₃₀-H), 1.07(C₂₈-H), 0.50(C₂₇-H)。¹³CNMR δ :38.141, 32.569, 31.492, 21.524, 18.230, 10.144 分别为 C₂₅, C₃₀, C₂₈, C₂₆, C₂₇, C₂₃说明化合物 I 中有 6 个角甲基。 δ 178.50 为 C₂₉酯羰基的信号, δ 178.17 为 C₂羰基,其余碳谱数据如下:119.466(C₁), 145.925(C₃), 116.969(C₄), 127.281(C₅), 133.821(C₆), 117.996(C₇), 169.751(C₈), 42.790(C₉), 164.515(C₁₀), 33.476(C₁₁), 29.553(C₁₂), 39.305(C₁₃), 44.920(C₁₄), 28.544(C₁₅), 36.285(C₁₆), 30.422(C₁₇), 44.204(C₁₈), 30.797(C₁₉), 40.292(C₂₀), 29.776

* Address: Jiang Yi, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai

** 上海医药职工大学 94 届毕业生

(C₂₁), 34.704(C₂₂)。

化合物 I 对 P₃₈₈ 及 LAX 细胞有很强的抑制率, 对化合物 I 的进一步活性筛选以及结构的改造值得研究。I 的化学结构式见图。

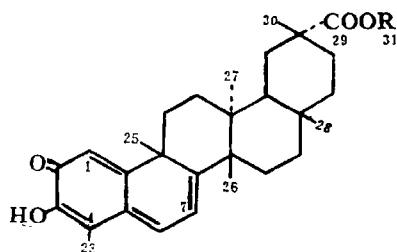


图 化合物 I 的化学结构式

celastrol: R = H, I: R = CH₃

1 仪器和材料

熔点用 Reichert 显微熔点仪测定, 温度未校正。UV 用 HP8452A 型紫外光谱仪测定。IR 用 Perkin-Elmer 683 型红外光谱仪测定。¹HNMR 用 Perkin-Elmer R₃₂FT-80 型核磁共振仪测定。¹³CNMR 用 Bruker Am-400 型核磁共振仪测定。MS 用 Varian Mat 212 型质谱仪测定。低压柱层析硅胶为青岛海洋化工厂生产的薄层层析用硅胶。药材采自浙江并由安徽医学院王德群教授鉴定。

2 提取和分离

南蛇藤根 1500g, 粉碎, 用石油醚提取 3 次。浓缩提取液得 7.22g 半固体状物。通过低压硅胶柱层析分离, 以不同比例的石油醚-乙酸乙酯洗脱, 分别得到单体化合物 I ~ VIII。

3 鉴定

化合物 I: 橙红色结晶, mp 217~219 °C。IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3350, 2940, 1730, 1650, 1590, 1520, 1435, 1375, 1300, 1245, 1220, 1205, 1185, 1155, 1145, 1095, 1085, 990, 870, 860, 850。UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm: 208, 246, 422。EI-MSm/z (%): 464 (M⁺, 17), 450 (3.5), 263 (13.3), 203 (100), 202 (61), 201 (38.6), 109 (30.1), 95 (64.2)。¹HNMR (CDCl₃) δ ppm: 7.20 (1H, dd, J = 2, 8 Hz, C₆-H), 6.72 (1H, d, J = 2 Hz, C₁-H), 6.41 (1H, d, J = 8 Hz, C₇-H), 6.60

(1H, br. s, 经 D₂O 交换后消失, -OH), 3.52 (3H, s, C₃₁-H), 2.23 (3H, s, C₂₃-H), 1.45 (3H, s, C₂₅-H), 1.25 (3H, s, C₂₆-H), 1.15 (3H, s, C₃₀-H), 1.07 (3H, s, C₂₈-H), 0.50 (3H, s, C₂₇-H)。以上数据与扁蒴藤素的数据一致^[6]。

化合物 II: 白色片状结晶, L-B 反应阳性, mp 137~138 °C。IR、EI-MS 数据与 β -谷甾醇的一致^[7]。

化合物 III: 白色针状结晶, L-B 反应阳性。mp 195~198 °C。IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3400, 2930, 2860, 1640, 1460, 1380, 1365, 1035, 995。EI-MSm/z (%): 426 (M⁺, 83.3), 411 (18.8), 393 (3.2), 218 (100), 208 (14.9), 203 (59.0), 133 (21.4)。¹HNMR (CDCl₃) δ ppm: 5.13 (1H, t, J = 3 Hz, C₁₂-H), 3.24 (1H, dd, J = 6, 10 Hz, C₃-H), 1.5 (3H, s), 1.15 (3H, s), 0.99 (3H, s), 0.96 (3H, s), 0.93 (3H, s), 0.86 (3H, s), 0.83 (3H, s), 0.78 (3H, s)。以上数据与 β -香树脂醇的数据基本一致^[8]。

化合物 IV: 白色脂状物, L-B 反应阳性。IR $\nu_{\max}^{\text{NaCl}}$ cm⁻¹: 2920, 2860, 1730, 1660, 1465, 1380, 1360, 1250, 1175, 990。EI-MSm/z (%): 664 (M⁺, 7.9), 649 (2.4), 445 (1.5), 409 (13.0), 218 (100), 203 (24.7), 189 (34.2), 95 (30.1)。¹HNMR (CDCl₃) δ ppm: 5.15 (1H, t, J = 4 Hz, C₁₂-H), 4.50 (1H, t, J = 7 Hz, C₃-H), 2.30 (2H, t, J = 7 Hz, -CH₂-CH₂-COO-)。以上数据与 β -香树脂醇棕榈酸酯的数据基本一致^[9]。

化合物 V: 白色腊状物, IR $\nu_{\max}^{\text{NaCl膜}}$ cm⁻¹: 2930, 2850, 2670, 1700, 1460, 1410, 1300, 1210, 1190, 940, 740。EI-MSm/z (%): 480 (M⁺, 1.2), 452 (2.5), 424 (2.8), 396 (10.5), 382 (10.2), 368 (38.8), 354 (6.1), 340 (22.1), 325 (8.6), 311 (2.5), 297 (9.8), 283 (4.0), 269 (7.3), 255 (2.7), 241 (11.7), 227 (9.7), 213 (7.4), 199 (5.6), 185 (19.5), 171 (6.2), 157 (2.2), 143 (1.9), 129 (35.0),

(下转第 89 页)

筛,精密称定置索氏提取器中,加乙醚 70ml,回流提取置无色,放冷,弃去乙醚液,残渣加甲醇 60ml,加热回流提取至提取液无色。将甲醇提取液置 100ml 量瓶中,用少量甲醇洗涤残渣,共洗涤 3 次,加甲醇稀释至刻度,摇匀。精密吸取 10ml,置 100ml 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀。

2.3 鉴别试验:取甲醇提取液,分置 3 个试管中,分别加 FeCl_3 反应呈污绿色;加 AlCl_3 反应呈黄色; HCl-Mg 反应呈樱红色。

2.4 标准曲线的制备:精密量取芦丁对照品溶液 0.0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0ml 分别置 25ml 量瓶中,各加水 6ml,分别加 5% NaNO_2 溶液 1ml,摇匀,放置 6min,分别加 1% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 1ml,摇匀,放置 6min,再分别加 4% NaOH 试液 10ml,再加水至刻度,摇匀,放置 15min。在 500nm 波长处测定吸收度。经回归处理后得回归方程:

$C=83.612A-0.7671(C=\mu\text{g/ml}),r=0.9997。$

2.5 样品测定:精密吸取样品液 3ml 置 25ml 量瓶中,自“加水至 6ml”起依标准曲线方程测定吸收度。由回归方程计算样品中总黄酮含量。结果见表。

表 消痔灵中总黄酮含量(n=3)			
样品号	含量(mg/片)	总黄酮(%)	RSD(%)
930126	14.4385	2.90	
940523	14.6558	2.93	
940624	13.9580	2.79	2.38
940628	14.2336	2.85	
自制	14.8246	2.96	
$\bar{x}$	14.4311	2.89	

2.6 回收率试验:在样品中加入芦丁对照品,按样品测定方法操作,测定结果 $\bar{x}=96.39\%$, $\text{RSD}=0.81\%$ 。

(1995-06-29 收稿)

(上接第 74 页)
,115(3.4),101(7.1),87(28.6),73(95.9),
61 确定化合物 V 为正三十烷醇乙酸酯。

致谢:光谱数据由本院分析室测定, ^{13}C NMR 谱由中科院上海药物研究所测定。植物由安徽中医学院王德群教授鉴定。

参 考 文 献

1 刘锡葵,等.中草药,1993,24(8):395
2 江苏新医学院编.中药大辞典.上海:上海人民出版社,1977.1567

3 Ngassapa O,et al. J Nat Prod,1994,57(1):1
4 Sreden A T. J Nat Prod,1981,44(4):503
5 林启寿.中草药成分化学.北京:科学出版社,1977.556
6 Nakanishi K,et al. J Amer Chem Soc,1973,Sep19:6473
7 中草药情报中心站.植物药有效成分手册.北京:人民卫生出版社,1983.968
8 严泽群,等.中草药,1993,24(11):567
9 Yadagiri B,et al. J Nat Prod,1984,47(1):182

(1995-07-18 收稿)

Studies on Active Principle of Oriental Bittersweet(*Celastrus orbiculatus*)

Jiang Yi,Li He,Luo Siqu

Pristimerin(I), β -sitosterol(II), β -amyrin(III), β -amyrin palmitate(IV) and 1-triacontanol acetate(V) have been isolated from the root of *Celastrus orbiculatus*. I possesses strong cytotoxicity against P₃₈₈ cell($\text{IC}_{50}=0.267\mu\text{g/ml}$) and LAX cell($\text{IC}_{50}=0.018\mu\text{g/ml}$) in vitro test. ^{13}C NMR assignments for I have been revised.

安徽省高校科技函授部中医大专班招生

经省教委批准继续面向全国招生,本着继承和发展祖国医学,培养具有专业技能的中医人才,选用 12 门全国统编中西医函授教材,与当前全国高等教育自考相配合,聘有专家教授进行教学,全面辅导和答疑。愿本部能成为你医学道路上的良师益友。凡具中学程度者均可报名,详情见简章。附邮 5 元至合肥市望江西路 6—008 信箱中函处,邮编 230022,简章备索。