

二权狗牙花中生物碱的研究

中国科学院上海药物研究所(200031)

黄丽瑛* 周韵丽

中国科学院昆明植物研究所

李朝明 王 春

摘 要 从西双版纳采集的二权狗牙花 *Ervatamia divaricata* 中分得 8 个生物碱。经理化分析和光谱测定鉴定为: coronaridine (I), voacangine (II), tabernaemontanine (III), dregamine (IV), 20-epiervatamine (V), tabernaelegantine A (VI), 狗牙花 J-A (ervadivaricatine A, VII) 和狗牙花 J-B (ervadivaricatine B, VIII)。其中 VII 和 VIII 为新化合物。VII 对 P-388 肿瘤细胞有明显的抑制作用。

关键词 二权狗牙花 狗牙花 J-A 狗牙花 J-B

狗牙花属 *Ervatamia* Stapf 植物因在民间的广泛药用而引起国内外学者的普遍注意。据统计在世界范围内有过研究的此属植物超过 60 种^[1], 分离并鉴定的生物碱近 250 个, 均为各种类型的吲哚碱。我国有狗牙花属植物 15 种, 除海南狗牙花 *E. hainanensis* Tsiang^[2,3] 和药用狗牙花 *E. officinalis* Tsiang^[4] 近年来有过研究外, 其余品种还未进行过成分的分析。二权狗牙花 *E. divaricata* (L.) Burk. 在我国云南省的西双版纳和海南省的南部有野生也有栽培。从这个地区采集的材料中分出的生物碱部位, 均显示有抑制肿瘤细胞(P-388)的作用。本文报道的是从西双版纳材料中生物碱的分离和鉴定。二权狗牙花全植物的粗粉, 按提取生物碱的常规方法, 将总碱分成弱、中、强碱 3 个部位, 经药理试验发现弱碱部位抗肿瘤活性最强。我们从中分得 8 个生物碱经理化分析和光谱测定, 鉴定它们为 coronaridine (I), voacangine (II), tabernaemontanine (III), dregamine (IV), 20-epiervatamine (V), tabernaelegantine A (VI), 狗牙花 J-A (ervadivaricatine A, VII) 和狗牙花 J-B (ervadivaricatine B, VIII), VII 和 VIII 为新化合物。化合物 VII, VIII 的化学结构见图 1。

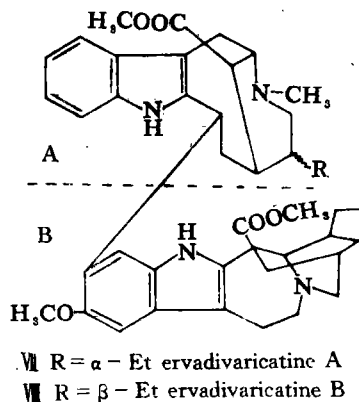


图 1 化合物 VII 和 VIII 的化学结构式

化合物 VII 和 VIII 的 UV 谱在 $\lambda_{\max}$ 226, 287, 293 nm 处有强的吸收, 提示其为吲哚生物碱, 两化合物的 IR 谱也极相似 $\nu_{\max}$ 1 730, 1 465, 1 220 cm^{-1} , 揭示分子中含有 CO-O-C 酯基和甲氧基。 ^1H NMR δ 0.95, 0.85 提示分子中含有 CH_3 , δ 2.44 含有 N-CH_3 , δ 2.55, 3.64, 3.97 提示分子中分别含有 O-CH_3 和 COOCH_3 。MS 给出相同的分子离子峰 m/z 706 和相同的分子式 ($\text{C}_{43}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_5$), 提示它们可能是双分子吲哚生物碱的同分异构体, 从它们质谱的特征碎片离子峰 m/z 196, 182 和 m/z 149, 136, 135, 122 推断可能由 A (Vobasine) 类和 B (Ibogamine) 类吲哚生物碱的片断^[5]。现以化合物 VII 为例, 解释它们的结构, 从碎片 m/z 182, 196 分别与 m/z 524,

* Address: Huang liying, Shanghai Institute of Materia Medica, Academy of Chinese Sciences, Shanghai

510 互补;提示可能 Vobasine 类生物碱 C₃ 位上的 C=O 由于质子的作用使其成为 -COH⁺ 具有亲电性,向 Ibogamine 类生物碱的芳香质子区靠近而成键,m/z 524 进一步裂解产生的 i-l 离子 m/z 393 提示分子中的甲氧基取代在 B 部分。Ⅶ的 ¹HNMR δ₀,95, 0.85 提示分子中含有 CH₃, δ₂.44 含有 -OCH₃, δ₂.55, 3.64, 3.97 提示分子中分别含有 N-CH₃ 和 COOCH₃, δ₆.92 (s, H, Ar-) 7.04 (s, H, Ar-), 提示 B 部分应是 10' 位和 11' 位取代,为了确定甲氧基的取代位置,我们对 Ⅶ进行了 NOE 检测,当照射 δ₂.44 时, δ₆.92 增益 13%, 当照射 δ₆.92 时, δ₂.44 增益 21%; 当照射 δ₇.04 时, δ₂.44 增益 35%, δ₇.49 增益 215, 提示甲氧基取代在 10' 位。为了进一步确定其结构,我们根据一个多分子缔合物在同一植物体内可以找到其单体的生物碱的生源性规则,设想分别用 dragaminol, tabernaemontanol 作为能提供亲电子的单吲哚生物碱与能供给亲电子中心的单吲哚生物碱 ibogamine 在酸性条件下进行偶合反应^[6]得到 Ⅶa 和 Ⅶa, 并通过 TLC 分别与 Ⅶ和 Ⅶ对照显示 Ⅶa, Ⅶa 与 Ⅶ的 R_f 值相同, CAS 显色也相同,它们的 UV、IR、NMR 和 MS 均相同,为此我们推定 Ⅶ为狗牙花 J-A (ervadivaricatine A), Ⅶ为狗牙花 J-B (ervadivaricatine B)。

1 仪器和材料

Koffler 熔点测定仪(温度计未校正); DIP-181 型旋光仪;岛津 UV-300 型仪;PE-599 型红外光谱仪(KBr 压片);MAT-44S 型和 MAT-711 型质谱仪(EI, eV);JNM-PS-100 型和 Bruker AM-400 型核磁共振仪。柱层析硅胶系上海五四农场出品(180~200 目);薄层硅胶 GF₂₅₄ 系青岛海洋化工厂生产;生物碱反应试剂(CAS 试剂)为 1% 的硫酸铈铵的磷酸溶液。植物采自云南西双版纳。

2 提取和分离

二杈狗牙花全植物粗粉,用乙醇热提 4 次,合并提取液浓缩成浸膏,用 5% 柠檬酸溶

解过滤,酸液用氨水调节至 pH=5,7,9,分别用 CHCl₃ 提取,得 Fraction (I), (II), (III)。取 Fraction (I), 上 Sephadex LH-20 柱(柱先用 70% MeOH-CHCl₃ 冲洗至不再沉降备用)。用同样溶剂洗脱。TLC 检测合并得 Ia, Ib, Ic, Id, Ie。Ic 经反复硅胶层析分得 I, II, III, VI, VII 和 VIII。Id 经硅胶的 PTLC 分离, Et₂O-C₆H₁₂-MeOH (77:20:3) 展开分得 I。Fraction I, 同上经 Sephadex LH-20 柱分离, TLC 检查合并得 Ia, Ib, Ic, Id, Id 再经硅胶层析, CHCl₃-MeOH 洗脱析出结晶 III, 母液经 Al₂O₃ 干柱层析, 5% MeOH-CHCl₃ 洗脱, 再经硅胶层析得 IV 和 V。

3 鉴定

I: mp 218℃~222℃ (HCl); CAS 显兰色; UV λ_{max}^{EtOH} nm: 222 (log ε 4.60), 284 (4.04), 293 (3.97)。IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3 182, 2 958, 2 862, 1 722, 1 451, 225, 755, MS m/z: 338 (M⁺, 64%), 323 (16), 309 (4), 279 (7), 253 (14), 214 (14), 154 (43), 148 (15), 136 (100), 130 (23), 122 (41)。根据以上理化数据和光谱分析并与标准品对照鉴定 I 为 coronaridine。

II: 白色结晶, mp 136℃; CAS 显紫灰色; MS m/z: 368 (M⁺, 62%), 353, 339, 309, 283, 244, 225, 208, 184, 160, 154, 148, 136 (100), 124, 122, 108。以上理化数据和光谱分析与文献^[7]报道的 voacangine 一致。

III: 白色结晶, mp 200℃; [α]_D^{MeOH} -60.27 (CHCl₃); 元素分析 C₂₁H₂₆N₂O₃ (计算值: C, 71.18; H, 7.34; N, 7.90。实测值 C, 70.87; H, 7.58; N, 7.75)。CAS 显色由黄→红; UV λ_{max}^{EtOH} nm: 240 (log ε 4.16), 315 (4.26)。IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3 320 (NH), 2 960, 1 724, 1 642, 1 350, 750。¹HNMR (CDCl₃) δ_H: 0.73 (3H), 1.02 (H), 1.21 (H), 1.56 (H), 2.11 (H), 2.26 (3H), 2.50 (3H), 2.71 (3H), 3.03 (3H), 3.92 (H), 7.05~7.55 (4H), 9.19 (NH); MS m/z: 354 (M⁺, 8%), 322 (6), 279 (3), 196 (2), 182 (100), 164 (7), 152 (13), 130 (14), 128 (18), 122 (20)。以上理化数据与光

谱分析与文献^[8]报道的 tabernaemontanine 一致。tabernaemontanine · HBr 的分解点 240℃ (dec.)。

N: 白色结晶, mp210℃; $[\alpha]_D^{25}$ -74.6 (CHCl₃); 元素分析 C₂₁H₂₆N₂O₃ (计算值: C71.18; H7.34; N7.90。实测值: C71.19; H7.34; N7.90)。CAS 试剂显红色。UV、IR, ¹HNMR 和 MS 数据与文献^[8]报道的 dragamine 一致。dragamine · HBr mp270℃ (dec.)。

V: 白色棱柱状结晶, mp187℃, B · HBr mp248℃~252℃; CAS 试剂显灰绿色。UV, IR, ¹H-NMR 和 MS 数据与文献^[9]报道的 epiervatamine 一致。

VI: mp231℃; $[\alpha]_D^{25}$ -31.9 (CHCl₃), CAS 试剂显草绿色; UV, IR, MS, ¹HNMR 光谱数据与标准品对照确定 VI 为 tabernaemontanine A。

VII: mp217℃~220℃; CAS 试剂显草绿色; UVλ_{max}^{EtOH} nm (logε): 226 (4.70), 288 (4.25), 295 (4.27)。IRν_{max}^{KBr}cm⁻¹: 3 390, 2 958, 2 930, 2 860, 1 730, 1 465, 1 220, 740。 ¹HNMR (CDCl₃)δ_H: 0.85 (3 H, t), 0.92 (3 H, t), 2.44 (3 H, s), 2.71 (1 H, b), 3.63 (1 H, s), 3.96 (3 H, s), 5.05 (1 H, b), 6.67 (1 H, s), 6.92 (1 H, s), 7.04 (3 H, m), 7.45 (1 H, s), 7.49 (1 H, m), 7.63 (1 H, s)。 ¹³CNMR (CDCl₃) 见表 1。HRMS m/z: 706 (M⁺, 50%, C₄₃H₅₄N₄O₅), 675 (10, C₄₁H₄₇N₄O₅), 662 (9, C₄₀H₄₆N₄O₅), 648 (9), 575 (8), 524 (98, C₃₃H₃₈N₃O₃), 511 (98, C₃₂H₃₇N₃O₃), 496 (19), 478 (8), 466 (7), 453 (8), 393 (98, C₂₄H₂₉N₂O₃), 381 (9), 367 (9), 337 (13), 208 (12), 196 (34), 182 (100), 180 (32), 156 (15), 144 (23), 136 (66), 124 (24), 122 (57), 108 (13)。根据以上理化数据和光谱分析确定 VII 为 ervadivaricatine A。(狗牙花 J-A)。

VIII: mp190℃, CAS 显色由无→红色; UVλ_{max}^{EtOH} nm (logε): 226 (4.77), 282 (4.21), 293 (4.22); IRν_{max}^{KBr}cm⁻¹: 3 390, 3 361, 2 930, 2

862, 1 721, 1 458, 740; ¹HNMR (CDCl₃)δ_H: 0.86 (3 H, t), 0.94 (3 H, t), 1.39 (q), 1.51 (q), 2.42 (3 H, s), 3.49 (1 H, s), 3.63 (3 H, s), 3.96 (3 H, s), 5.07 (H), 6.70 (1 H, s), 6.90 (1 H, s), 7.03 (2 H), 7.44~7.58 (3 H, m); ¹³CNMR (CDCl₃) 见表 1。MS m/z (%): 706 (M⁺, 21), 674 (3), 648 (2), 593 (33), 524 (100), 511 (14), 510 (13), 338 (4), 182 (33), 136 (21), 124 (9), 122 (17)。根据以上理化数据和光谱分析确定 VIII 为 ervadivaricatine B (狗牙花 J-B)。

表 1 VII 和 VIII 的 ¹³CNMR 光谱数据

C 位	2-Acetylindol 型		C 位	Iboga 型	
	VII	VII		VII	VII
2	135.96	136.00	2'	130.52	130.70
3	39.04	33.21	3'	36.56	32.05
5	59.65	59.45	5'	53.19	53.18
6	17.69	19.36	6'	22.30	22.27
7	110.70	110.80	7'	110.04	110.03
8	130.01	129.96	8'	130.52	130.70
9	117.92	117.39	9'	99.68	99.75
10	118.78	118.76	10'	151.22	151.31
11	121.37	121.36	11'	128.00	127.41
12	109.74	109.74	12'	110.45	110.44
13	137.26	137.28	13'	137.96	137.81
14	39.46	36.52	14'	27.51	27.53
15	34.96	38.08	15'	32.08	31.45
16	43.53	43.93	16'	55.06	55.04
18	12.79	11.29	17'	52.03	52.17
19	25.74	23.55	18'	11.51	11.46
20	43.02	49.88	19'	26.85	26.83
21	47.18	49.63	20'	39.04	38.99
COOCH ₃	49.64	49.88	21'	57.15	57.03
COOCH ₃	172.24	171.69	COOCH ₃	52.26	52.17
N-CH ₃	43.02	42.46	COOCH ₃	175.19	175.14
COOCH ₃	175.19	175.14	OCH ₃	56.29	56.23

4 VIIa 和 VIIa 的制备

分别取 dragamine 和 tabernaemontanine 80 mg 溶于 MeOH-Et₂O (1:1) (不全溶), 加入 NaBH₄ 65 mg, 混合搅拌 6 h (在搅拌至 30 min 时, 已全溶), 真空抽去部分溶剂, 加水 10 mL, 析出白色沉淀物, 用 Et₂O 摇至全溶 (共 4 次), 取乙醚提取液, 用 NaCl 饱和溶液洗一次后用 Na₂SO₄ 干燥过夜, 过滤得 dragaminol 30 mg 和 tabernaemontaninol 30 mg 备用。

取 voacangine 按 1:1 的比例分别与 tabernaemontaninol 和 dragaminol 混合, 加

入 HCl-MeOH, 70℃ 搅拌 4 h, 放置过夜, 反应液用水稀释并用氨水碱化, 乙醚提取, 经 PTLC 分离后分别得到 VIIa 和 VIIa。

VIIa: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ_{H} : 0.86 (3 H, t), 0.93 (3 H, t), 2.44 (3 H, s), 3.40 (3 H, s), 3.63 (3 H, s), 3.96 (3 H, s), 5.04 (1 H, b), 6.66 (1 H, s), 6.92 (1 H, s), 7.05 (2 H, m), 7.49 (2 H, m), 7.64 (1 H, s)。

VIIa: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ_{H} : 0.86 (3 H, t), 0.93 (3 H, t), 2.41 (3 H, s), 3.47 (1 H, s), 3.64 (3 H, s), 3.97 (3 H, s), 5.05 (1 H), 6.69 (1 H, s), 6.90 (1 H, s), 7.04 (2 H), 7.45~7.60 (3 H, m)。

VII 的药理试验对 P-388 肿瘤细胞显示强的抑制作用, $1\mu\text{g}/\text{mL}$ 的抑制率为 94.1%。

参考文献

- 1 Arnold B. The Alkaloids Chemistry and Physiology. N. Y. Academic, 1986. Chapter 1
- 2 Feng X Z, et al. Planta Medica, 1982, 44: 212
- 3 Feng X Z, et al. J Nat Prod, 1981, 44: 670
- 4 周韵丽, 等. 中草药, 1988, 19(12): 6
- 5 丛浦珠. 质谱学在天然有机化学中的应用, 北京: 科学出版社, 1987. 95
- 6 Kutney J P, et al. Helv Chim Acta, 1975, 58: 1690
- 7 Patel MB, et al. Ann Pharm Fr, 1967, 25(5): 379
- 8 Chatterjee A, et al. Indian J Chem, 1968, 6(9): 546
- 9 John R K. Aust J Chem, 1975, 28: 1813

(1996-08-27 收稿)

Studies on the Alkaloids of Erchagouyahu (*Ervatamia divaricata*)

Huang Liying, Li Chaomin, et al

Eight indole alkaloids have been isolated from *Ervatamia divaricata* (L.) Burk. According to the chemical and spectroscopic data, they were identified as coronaridine (I), voacangine (II), tabernaemontanine (III), dregamine (IV), 20-epi-ervatamine (V), tabernaemontanine A (VI), ervadivaricatine A (VII), ervadivaricatine B (VIII). VII and VIII are new and VII shows significant inhibitory activity against P-388 tumor in vivo at dosage of 12~21 $\mu\text{g}/\text{kg}$ level.

岗梅根化学成分的研究

上海医药工业研究院 (200040) 李敏华* 俞世杰 杜上铨**

摘要 从岗梅根 *Ilex asprella* 的乙醇提取物中分到 5 个化合物。经化学分析和波谱解析分别鉴定为: 赧甾醇 (clerosterol, I)、赧甾醇 3-O- β -D-葡萄糖甙 (clerosterol 3-O- β -D-glucoside, II)、丁香脂素 (syringaresinol, III)、丁香脂素 O- β -D-葡萄糖甙 (syringaresinol O- β -D-glucopyranoside, IV)、19-去氢乌索酸 (19-dehydrousolic acid, V)。均系首次从该植物中得到。

关键词 岗梅根 赧甾醇 丁香脂素 19-去氢乌索酸

岗梅根系冬青科植物梅叶冬青 *Ilex asprella* (Hook. et Arn.) Champ. ex Benth. 的根, 具清热、生津、活血、解毒之功效, 有增加豚鼠冠脉流量、加强心肌收缩力等作用^[1], Yoshiki Kashiwada 等从岗梅叶中分得具抗肿瘤活性的对-香豆酰三萜类化合物^[2]。我们从岗梅根中分离得到 5 个化合物, 根据化学

分析及波谱解析, 确证为赧甾醇 (I)、赧甾醇 3-O- β -D-葡萄糖甙 (II)、丁香脂素 (III)、丁香脂素 O- β -D-葡萄糖甙 (IV)、19-去氢乌索酸 (V), 均系首次从该植物中得到。经药理试验证实 V 具有抑制 P₃₈₈ 细胞的作用。

晶 V: 白色粉末, mp 262℃~264℃, EI-MS 测得分子量 454, Liebermann-Burchard

* Address: Li Minhua, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai

** 现在上海交通大学工作