

## 瓜馥木的化学成分研究(Ⅱ)

彭新生<sup>1</sup>,高幼衡<sup>2\*</sup>,刁远明<sup>2</sup>,张瑞芳<sup>2</sup>,崔红花<sup>2</sup>

(1. 广东医学院,广东 东莞 523808; 2. 广州中医药大学,广东 广州 510405)

瓜馥木 *Fissistigma oldhamii* (Hemsl.) Merr. 为番荔枝科瓜馥木属植物,根入药,性温味辛,具有祛风除湿、镇痛消肿、活血化瘀等功效,主要用于跌打损伤、关节炎及坐骨神经痛的治疗<sup>[1]</sup>。为寻找反映瓜馥木中抗炎、镇痛活性特征成分,笔者对瓜馥木化学成分进行了系统研究。前文<sup>[2]</sup>已报道 *N*-甲基-2,3,6-三甲氧基吗啡烷二烯酮(*N*-methyl-trimethoxymorphinandien-7-one),本研究从其根的乙醇提取物中分得 4 个化合物,经理化常数和波谱分析,鉴定为 *O*-甲基芒籽碱(*O*-methylmoschataoline, I)、酸花木碱(毛叶含笑碱,oxyloline, II)、氧代克斑宁(7-oxocrebanine, III)和胡萝卜苷(doucosterol, IV),化合物 II~IV 为首次从瓜馥木中分得。并发现化合物 I、III 对肺腺癌 GLC-82 及 HL<sub>60</sub> 白血病细胞株均具有一定的细胞毒作用。

## 1 仪器与材料

显微熔点测定仪;AB-HS 型质谱仪;UV-2501 PC 光谱仪;EQVINOXTM 55-A590/3F 型红外光谱仪;DRX-400 型超导核磁共振仪,TMS 为内标。

药材采于江西,由江西中医学院赖学文副教授鉴定,标本存于广州中医药大学中药化学教研室。

## 2 提取与分离

瓜馥木根 22.9 kg 粉碎后用乙醇加热回流提取(3 h×3 次),合并滤液,减压浓缩得总浸膏 590 g。用 5% HCl 捏溶,得酸水溶液,经氨水碱化(pH 8~9)后用氯仿萃取,回收氯仿,得总生物碱部分 15 g。酸不溶性部分用蒸馏水洗至中性,用水分散均匀,依次用石油醚、氯仿、醋酸乙酯进行提取,回收溶剂得石油醚部分 33.2 g、氯仿部分 63 g、醋酸乙酯部分 45.4 g。氯仿部分进行硅胶柱色谱分离,二氯甲烷-甲醇为洗脱剂,其中 126~133、134~145、146~170、286~305 流份合并,126~133 流份经硅胶柱色谱分离,制备薄层色谱[以正己烷-氯仿-丙酮(12 :

2 : 0.6)为展开剂],丙酮重结晶纯化得化合物 I (30 mg)。134~145 流份减压回收溶剂后,用丙酮加热溶解,丙酮不溶解部分经氯仿-丙酮重结晶得化合物 I (20 mg)。146~170 流份经硅胶柱色谱,薄层色谱[以正己烷-氯仿-甲醇(5 : 185 : 15)为展开剂],甲醇重结晶纯化得化合物 III (25 mg)。286~305 流份经硅胶柱色谱分离(氯仿-甲醇为洗脱剂),经氯仿-甲醇重结晶纯化得白色粉末状化合物 IV (100 mg)。

## 3 结构鉴定

化合物 I:红色柱状结晶(丙酮),mp 183~184 °C,与生物碱试剂反应呈阳性,EI-MS ( $[M^+]$ ,  $m/z$  321),结合 <sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR 谱确定其分子式为 C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>4</sub>。UV  $\lambda_{max}^{MeOH}$ (nm):210,234,272,437,623;IR  $\nu_{max}^{KBr}$ (cm<sup>-1</sup>):1 660,1 598,1 488,显示 I 具有氧化阿朴菲类母核结构<sup>[3]</sup>。<sup>1</sup>H-NMR 显示  $\delta$  7.49~9.05 低场处有 6 个芳香质子信号,其中  $\delta$  8.18(1H,d,  $J=5.2$  Hz)和 8.92(1H,d,  $J=5.2$  Hz)为氧化阿朴菲类生物碱二个特征质子,分别归属为 H-4、H-5。 $\delta$  9.05(1H,d,  $J=8.4$  Hz),8.53(1H,dd,  $J=7.6,1.6$  Hz),7.70(1H,m),7.49(1H,m)显示为 D 环无取代的 4 氢。由于 H-11 受联苯双环的负屏蔽影响位于最低场<sup>[4]</sup>,可确定  $\delta$  8.53(H-8)、7.70(H-9)、7.49(H-10)、9.05(H-11)。<sup>1</sup>H-NMR 还显示有 3 个甲氧基信号,只能位于 A 环,从而推断 I 为 1,2,3-三甲氧基氧化阿朴菲生物碱,其 <sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR 数据见表 1、2,与文献报道的数据一致<sup>[5,6]</sup>,鉴定化合物 I 为 *O*-methylmoschataoline。

化合物 II:浅黄色柱状结晶(氯仿-丙酮),mp 319~321 °C,EI-MS ( $[M^+]$ ,  $m/z$  305),结合 <sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR 谱确定其分子式为 C<sub>18</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>4</sub>。UV 及 IR 谱显示 II 具有氧化阿朴菲类母核结构。化合物 II 的 <sup>1</sup>H-NMR 谱中  $\delta$  7.76(1H,d,  $J=5.2$  Hz)和 8.88(1H,d,  $J=5.2$  Hz)为阿朴菲类生物碱二个

收稿日期:2005-12-29

基金项目:广东省中医药管理局资助项目(10204)

作者简介:彭新生(1977-),男,江西省波阳市人,硕士,研究方向为中药及天然药物化学。

Tel:(0769)2896361 E-mail:pxsgz@yahoo.com.cn

\* 通讯作者 高幼衡 Tel:(020)39358083 E-mail:gaoyouheng@yahoo.com.cn

特征质子,分别归属为 H-4、H-5;  $\delta$  7.13 及 6.33(次甲二氧基氢)的单峰,表明 A 环中有 2 个芳香氢被次甲二氧基取代;  $\delta$  8.56(1H, d,  $J=8.8$  Hz)、8.01(1H, d,  $J=2.8$  Hz)及 7.27(1H, dd,  $J=8.8, 2.8$  Hz)这 3 组峰为 ABX 系统,显示为 D 环的 3H,归属为 H-11、H-8、H-10;  $\delta$  3.98 (3H, s)为甲氧基,取代了 D 环的 9 位氢。<sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR 数据见表 1、2,与文献报道的数据基本一致<sup>[7,8]</sup>,鉴定化合物 Ⅱ 为毛叶含笑碱,为首次从瓜馥木植物中分得。

表 1 化合物 I ~ Ⅲ 的<sup>1</sup>H-NMR 化学位移(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

| 氢                      | I                          | Ⅱ                          | Ⅲ                          |
|------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 3                      |                            | 7.13 (s)                   | 6.96 (s)                   |
| 4                      | 8.18 (d, $J=5.2$ Hz)       | 7.76 (d, $J=5.2$ Hz)       | 7.59 (d, $J=5.2$ Hz)       |
| 5                      | 8.92 (d, $J=5.2$ Hz)       | 8.88 (d, $J=5.2$ Hz)       | 8.76 (d, $J=5.2$ Hz)       |
| 8                      | 8.53 (dd, $J=7.6, 1.6$ Hz) | 8.01 (d, $J=2.8$ Hz)       |                            |
| 9                      | 7.70 (m)                   |                            |                            |
| 10                     | 7.49 (m)                   | 7.27 (dd, $J=8.8, 2.8$ Hz) | 7.07 (dd, $J=8.8, 2.8$ Hz) |
| 11                     | 9.05 (d, $J=8.4$ Hz)       | 8.56 (d, $J=8.8$ Hz)       | 8.17 (d, $J=8.8$ Hz)       |
| MeO-1                  | 4.05 (s)                   |                            |                            |
| MeO-2                  | 4.17 (s)                   |                            |                            |
| MeO-3                  | 4.08 (s)                   |                            |                            |
| -O-CH <sub>2</sub> -O- |                            | 6.33 (s)                   | 6.29 (s)                   |
| MeO-9                  |                            | 3.98 (s)                   | 3.90 (s)                   |
| MeO-8                  |                            |                            | 3.95 (s)                   |

表 2 化合物 I ~ Ⅲ 的<sup>13</sup>C-NMR 化学位移(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

| 碳                     | I     | Ⅱ     | Ⅲ     |
|-----------------------|-------|-------|-------|
| 1                     | 145.2 | 159.8 | 153.6 |
| 1a                    | 115.6 | 108.3 | 108.3 |
| 1b                    | 122.7 | 126.2 | 123.7 |
| 2                     | 147.4 | 151.8 | 151.9 |
| 3                     | 148.4 | 102.4 | 101.9 |
| 3a                    | 131.1 | 129.1 | 125.3 |
| 4                     | 119.1 | 110.2 | 117.0 |
| 5                     | 144.3 | 144.9 | 144.0 |
| 6a                    | 156.5 | 145.4 | 151.1 |
| 7                     | 182.4 | 182.3 | 181.1 |
| 7a                    | 131.4 | 132.9 |       |
| 8                     | 128.1 | 122.6 | 146.6 |
| 9                     | 127.6 | 147.0 | 145.6 |
| 10                    | 134.3 | 122.7 | 121.8 |
| 11                    | 128.9 | 124.3 | 123.4 |
| 11a                   | 134.5 | 135.8 |       |
| MeO-1                 | 60.9  |       |       |
| MeO-2                 | 61.4  |       |       |
| MeO-3                 | 61.8  |       |       |
| -O-CH <sub>2</sub> -O |       | 102.3 | 102.4 |
| 8-OCH <sub>3</sub>    |       |       | 61.4  |
| 9-OCH <sub>3</sub>    |       | 55.8  | 56.2  |

化合物 Ⅲ: 红色颗粒状结晶, mp 268~269 ℃, EI-MS ( $[M^+]$ ,  $m/z$  321), 结合<sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR

谱确定其分子式为 C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>5</sub>。UV 及 IR 谱显示 Ⅲ 具有氧化阿朴非类母核结构; 根据 EI-MS、<sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR 的比较, 可知 Ⅲ 与 Ⅱ 结构极其相似, 仅  $\delta$  8.01(1H, d,  $J=2.8$  Hz), 的双峰消失, 多 1 个  $\delta$  3.95 的甲氧基峰, 表明甲氧基取代了 H-8; <sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR 数据见表 1、2, 与文献报道的数据基本一致<sup>[9,10]</sup>, 鉴定化合物 Ⅲ 为氧代克班宁, 为首次从瓜馥木植物中分离得到。

化合物 Ⅳ: 为白色粉末, 经薄层色谱分析, 与胡萝卜苷对照品 R<sub>f</sub> 值相同, 均显紫红色斑点(10% 硫酸乙醇加热显色); 红外光谱与胡萝卜苷对照品一致, 故鉴定化合物 Ⅳ 为胡萝卜苷, 为首次从瓜馥木植物中分离得到。

#### 4 细胞毒活性评价

将分得的化合物 I、Ⅲ 溶解于 DMSO 中, 用培养基稀释为不同质量浓度的药液。取对数生长期的肺腺癌 GLC-82 细胞株、HL<sub>60</sub> 细胞株, 以每孔 5×10<sup>4</sup> 个、1×10<sup>5</sup> 个细胞分别接种到 96 孔培养板, 每孔加细胞悬液 190 μL, 加 10 μL 药液, 继续培养 48 h, 加入 MTT 50 μL, 继续培养 4 h, 吸去上清液(白血病 HL<sub>60</sub> 细胞株需 2 000 r/m 离心 15 min), 每孔加入 150 μL DMSO, 轻轻振荡溶解 10 min 后测吸光度(A)。化合物 I、Ⅲ 对肺腺癌 GLC-82 细胞株的 IC<sub>50</sub> 分别为: 83.31、109.71 μmol/L, 对 HL<sub>60</sub> 白血病细胞株的 IC<sub>50</sub> 分别为: 65.59、86.61 μmol/L。

#### References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1982.
- [2] Gao Y H, Cheng Y, Yie H C. Studies on the chemical constituents of *Fissistigma oldhamii* [J]. *J Chin Med Mater* (中草药), 2001, 24(2): 104-405.
- [3] Chen S B, Gao G Y, Wang L W, et al. Studies on the chemical constituents of alkaloids from Early Colmbine (*Aquilegia oxysepala*) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30(1): 8-10.
- [4] Liu X T, Zhang Q, Liang J Y, et al. A new oxoaporphine from *Desmos chinensis* Lour. [J]. *Chin Nat Med* (中国天然药物), 2004, 2(4): 205-207.
- [5] Wu J B, Cheng Y D, Chin N Y, et al. A novel morphinan-dienone alkaloid from *Fissistigma oldhamii* [J]. *Planta Med*, 1993, 59(2): 179-180.
- [6] Guinaudeau H, Leboeuf M, Cave A. Aporphinoid alkaloids Ⅲ [J]. *J Nat Prod*, 1983, 46(6): 769.
- [7] Guinaudeau H, Leboeuf M, Cave A. Aporphinoid alkaloids [J]. *Lloydia*, 1975, 38(4): 305.
- [8] Hsu C C, Dobberstein R H, Cordell G A, et al. Isolation of Lauterine and oxoputerine, two new oxoaporphine alkaloids from *Guatteria elata* [J]. *Lloydia*, 1977, 40(2): 152-156.
- [9] Kunitomo J I, Murakami Y, Oshikata M, et al. The alkaloids of *Stephania sasakii* Hayata on the tertiary mnor bases [J]. *Yakugaku Zasshi*, 1981, 101(5): 431-436.
- [10] Chen Y, Fang S D, Akinori S, et al. Studies on the alkaloids of *Stephania succifera* Lo. et Tsoong. [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1989, 31(7): 544-548.