

($J = 7.7 \text{ Hz}$) 和 $6.26 (J = 7.9 \text{ Hz})$ 显示 2 个糖端基质子信号, 推断化合物 1 为 C-19 位取代的 16α -hydroxy-*ent*-kauran-19-oic acid 苷。

糖碳谱数据与葡萄糖数据对照一致^[4], 结合 HMBC 数据分析(表 1), 糖的端基氢 $\delta 6.26 (J = 7.9 \text{ Hz}, H-1')$ 与碳信号 $\delta 175.90, 80.74, 79.12$ 有远程相关, $\delta 5.52 (J = 7.7 \text{ Hz}, H-1'')$ 与碳信号 $\delta 80.74, 76.26, 78.18$ 有远程相关, 可以确定两个糖的连接方式为 β -D-Glu(2 \rightarrow 1) β -D-Glu'。依据 1D TOCSY 和 HSQC 谱归属糖上各碳、氢信号, 1D TOCSY 谱中, $\delta 6.26, 4.41, 4.24 \sim 4.40, 3.94$ 为一个葡萄糖上的一组氢信号, 结合 HSQC 谱可得此糖各碳信号为: $93.5 (C-1')$, $80.7 (C-2')$, $78.5 (C-3')$, $70.9 (C-4')$, $79.1 (C-5')$, $62.2 (C-6')$; 1D TOCSY 谱中, $\delta 5.52, 4.54 \sim 4.56, 4.21 \sim 4.26, 4.02$ 为另一个葡萄糖上的氢信号, HSQC 谱糖碳信号为: $105.5 (C-1'')$, $76.3 (C-2'')$, $78.5 (C-3'')$, $72.0 (C-4'')$, $78.2 (C-5'')$, $63.0 (C-6'')$ 。综上所述, 鉴定化合物 1 的结构为 $16\alpha, 17$ -dihydroxy-*ent*-kauran-19-oic 19- $[\beta$ -D-glucopyranosyl(1-2)- β -D-glucopyranosyl] ester, 命名为贝壳杉烷酸苷 A (kaurane acid glycoside A), 为新化合物, 结构见图 1。

命名为贝壳杉烷酸苷 A (kaurane acid glycoside A), 为新化合物, 结构见图 1。

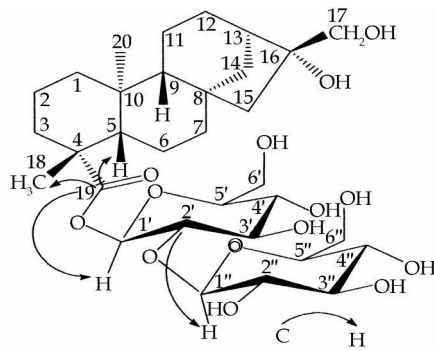


图 1 化合物 1 的结构式和主要的 HMBC 相关关系

Fig 1 Structure and key HMBC correlation of compound 1

参考文献:

[1] 中国药典[S]. 一部. 2005
 [2] 咸丽娜, 钱士辉, 李振麟. 细柱五加茎的化学成分研究[J]. 中药材, 2010, 33(4): 538-542
 [3] 向仁德, 徐任生. 南五加皮化学成分的研究[J]. 植物学报, 1983, 25(4): 356-361
 [4] 于德泉, 杨峻山. 分析化学手册[M]. 第七分册. 第2版. 北京: 化学工业出版社, 1999

海芒果叶中有机酸类成分研究

张小坡^{1,3}, 裴月湖³, 刘明生^{1,2*}, 康胜利^{1,2}, 张俊清^{1,2}

(1 海南医学院 热带药用植物研究开发省重点实验室, 海南 海口 571101; 2 海南省南药黎药研究院, 海南 海口 571101; 3 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: 目的 研究半红树植物海芒果 *Cerbera manghas* 叶中的有机酸类成分。方法 通过多种柱色谱进行分离纯化, 根据理化性质和波谱数据进行结构鉴定。结果 从海芒果叶中分离得到 7 个化合物, 分别鉴定为间羧基苯乙酸(1)、对羟基苯甲酸(2)、原儿茶酸(3)、对羟基桂皮酸(4)、间羧基苯甲酸(5)、香草酸(6)、丁二酸(7)。结论 化合物 1 为新天然产物, 化合物 2~6 为首次从该属植物中分离得到。

关键词: 海芒果; 有机酸; 间羧基苯乙酸

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)11-1763-03

Organic acids from leaves of *Cerbera manghas*

ZHANG Xiaopo^{1,3}, PEI Yue-hu³, LIU Ming-sheng^{1,2}, KANG Sheng-li^{1,2}, ZHANG Jun-qing^{1,2}

(1 Hainan Provincial Key Laboratory of R & D of Tropical Herbs, Haikou 571101, China; 2 Hainan Provincial Institute of South China Medicine and Li Nationality Medicine, Haikou 571101, China; 3 School of Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: Objective To study the organic acids in the leaves of *Cerbera manghas*. Methods The constituents were isolated by repeated column chromatography and their structures were elucidated on basis of

①收稿日期: 2010-02-14

基金项目: 海南省重点学科项目

作者简介: 张小坡(1982-), 河北人, 博士研究生, 主要从事热带药用植物开发与研究。

Tel: (0898)31350773 E-mail: z_xp1412@163.com

* 通讯作者 刘明生 Tel: (0898)66893826 E-mail: pharmacy1999@hotmail.com

physico-chemical constants and spectral data analyses **Results** Seven compounds were obtained and determined to be *m*-carboxyphenylacetic acid (**1**), *p*-hydroxybenzoic acid (**2**), protocatechuic acid (**3**), *p*-hydroxycinnamic acid (**4**), isophthalic acid (**5**), vanillic acid (**6**), and succinic acid (**7**). **Conclusion** Compound **1** is a new natural product, compounds **2**–**6** are obtained from the plants of *Cerbera* L. for the first time

Key words: *Cerbera manghas* L.; organic acids; *m*-carboxyphenylacetic acid

海芒果 *Cerbera manghas* L. 为夹竹桃科海芒果属半红树林植物, 又名海檬果、牛心茄子等。海芒果属约9种, 主要多分布于亚热带和热带地区, 澳大利亚、马达加斯加及太平洋沿岸, 中国仅产海芒果一种, 分布于南海海岸^[1]。日本学者对冲绳岛产海芒果进行了深入的化学成分研究, 分离得到强心苷、木脂素、黄酮、环烯醚萜类等成分^[2]。为进一步开发利用海南半红树植物资源, 本实验对海芒果叶的有机酸类成分进行研究, 通过硅胶柱色谱和 Sephadex LH-20 等分离手段, 得到7个化合物, 分别鉴定为间羧基苯乙酸(**1**)、对羟基苯甲酸(**2**)、原儿茶酸(**3**)、对羟基桂皮酸(**4**)、间羧基苯甲酸(**5**)、香草酸(**6**)、丁二酸(**7**)。化合物**1**为新天然产物, 化合物**2**–**6**为首次从该属植物中分得。

1 仪器与材料

XT-5 显微熔点测定仪, JASCO-FT-IR-4100 型红外分光光度仪, 核磁共振用 Bruker-ARX-300/600 型核磁共振仪测定, 薄层色谱和柱色谱用硅胶由青岛海洋化工厂生产, ODS 由江苏汉邦科技有限公司生产, Sephadex LH-20 由 Pharmacia biotech Sweden 生产, 普通色谱用试剂均为分析纯, 均为中国医药集团上海化学试剂公司生产。氘代试剂由中国科学院武汉波谱公司生产, 所用药材由中国医学科学院药用植物研究所海南分所提供, 经陈伟平研究员鉴定为夹竹桃科植物海芒果 *Cerbera manghas* L.。

2 提取与分离

海芒果叶 10.0 kg 阴干, 粉碎后用 70% 乙醇回流提取, 提取液经减压浓缩后得到浸膏 2.15 kg, 蒸馏水混悬后分别用石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯、正丁醇萃取, 得到醋酸乙酯萃取部分浸膏(50 g)及正丁醇层部分浸膏(120 g)。取醋酸乙酯部分 48 g, 进行常压硅胶柱色谱, 氯仿-丙酮梯度洗脱, 共得到6个流份(Fr. I ~ VI)。Fr. II 中析出无色针晶, 经过反复重结晶后得到化合物**6**(10 mg); Fr. II 加入氯仿后出现白色不溶物, 甲醇溶解后经 Sephadex LH-20 纯化后得到化合物**2**(5 mg)、**4**(10 mg)。Fr. IV 经硅胶柱色谱分为两个流份(Fr. A, B), Fr. A 中析

出不溶物, 甲醇溶解后经 Sephadex LH-20 纯化后得到化合物**3**(20 mg); Fr. B 经 ODS 柱色谱分离(甲醇-水), 80% 甲醇洗脱流份中出现白色粉末, 经过 Sephadex LH-20 纯化后得到化合物**1**(10 mg)、**5**(20 mg)。正丁醇萃取物 100 g 经大孔树脂粗分, 乙醇-水溶液梯度洗脱, 得到水、30%、50%、70%、95% 乙醇洗脱物, 其中 30% 乙醇洗脱物(20 g)经 ODS 柱色谱分离得到化合物**7**(13 mg)。

3 结构鉴定

化合物**1**: 无色针晶, mp 183.2~185.4 °C, 溴甲酚蓝反应呈阳性。UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 242。IR ν_{max}^{KBr} (cm^{-1}): 3430, 1690, 1620, 1590。ESI-MS m/z : 180。ESI 得准分子离子峰 179 [M - H]⁻。¹H-NMR(600 MHz, DMSO-*d*₆) 中 12.70(2H, br s) 的信号及 IR 中 1690 cm^{-1} 处的吸收峰说明结构中存在2个羧基,¹H-NMR δ 7.76(1H, s), 7.80(1H, d, *J* = 7.8 Hz), 7.41(1H, t, *J* = 7.8 Hz), 7.50(1H, d, *J* = 7.8 Hz) 提示结构中存在 1,3-二取代苯, 3.67(2H, s) 处信号说明结构中存在一个孤立的亚甲基; 结合¹³C-NMR(125 MHz, MeOD) δ : 175.1(C-9), 167.4(C-7), 138.0(C-3), 130.3(C-2), 131.0(C-1), 129.2(C-6), 129.5(C-5), 135.1(C-4), 41.6(C-8), 提示化合物**1**的结构为间羧基苯乙酸, 与苯乙酸数据^[3]对比后发现化合物**1**在芳环间位上多一个羧基取代, 证明化合物**1**为间羧基苯乙酸, 该化合物首次从自然界中分离得到, 为一新天然产物。

化合物**2**: 无色针晶, 溴甲酚蓝反应阳性, mp 213~214 °C。¹H-NMR(300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.79(2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2, 6), 6.82(2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3, 5); ¹³C-NMR(75 MHz, DMSO-*d*₆) δ 167.3(C-7), 161.7(C-4), 131.6(C-2, 6), 121.5(C-1), 115.2(C-3, 5)。以上数据与文献报道的对羟基苯甲酸一致^[4], 故化合物**2**鉴定为对羟基苯甲酸。

化合物**3**: 无色针晶, 溴甲酚蓝反应阳性, 三氯化铁反应阳性, mp 201~204 °C。¹H-NMR(600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.34(1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-2), 7.29(1H, dd, *J* = 7.8, 1.8 Hz, H-6), 6.77(1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-2); ¹³C-NMR(125 MHz, DMSO-*d*₆)

& 167. 6(C-7), 150. 1(C-4), 145. 0(C-3), 122. 0(C-1, 6), 116. 7(C-2), 115. 3(C-5)。以上数据与文献报道的原儿茶酸一致^[5], 故鉴定化合物3为原儿茶酸。

化合物4: 无色针晶, 溴甲酚蓝反应阳性, mp 210~211 °C。¹H-NMR(300 MHz, DMSO-*d*₆) & 11. 88(1H, br s, -COOH), 7. 50(2H, d, *J*=7. 2 Hz, H-3, 5), 6. 88(2H, d, *J*=7. 2 Hz, H-3, 5), 7. 47(1H, d, *J*=16. 0 Hz, H-7), 6. 28(1H, d, *J*=16. 0 Hz, H-8); ¹³C-NMR(75 MHz, DMSO-*d*₆) & 168. 0(C-9), 159. 7(C-1), 144. 2(C-7), 130. 2(C-3, 5), 125. 4(C-1), 115. 8(C-2, 6), 115. 5(C-8)。以上数据与文献报道的对羟基桂皮酸一致^[6], 故鉴定化合物4为对羟基桂皮酸。

化合物5: 无色针晶, 溴甲酚蓝反应阳性。¹H-NMR(600 MHz, DMSO-*d*₆) & 8. 50(1H, s, H-2), 8. 16(2H, d, *J*=7. 8 Hz, H-4, 6), 7. 63(1H, t, *J*=7. 8 Hz, H-5); ¹³C-NMR(125 MHz, DMSO-*d*₆) & 166. 8(-COOH), 131. 0(C-2), 133. 3(C-1, 3), 129. 0(C-4, 6), 130. 4(C-5)。以上数据与文献报道的间羧基苯甲酸一致^[7], 故鉴定化合物5为间羧基苯甲酸。

化合物6: 无色针晶, 溴甲酚蓝反应阳性, mp 210. 0~213. 2 °C。¹H-NMR(300 MHz, DMSO-*d*₆) & 12. 20(1H, br s, -COOH), 9. 85(1H, br s, -OH), 7. 43(1H, dd, *J*=8. 7, 2. 7 Hz, H-6), 7. 42(1H, d, br s, H-2), 6. 84(1H, d, *J*=8. 7 Hz, H-5), 3. 80

(3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR(75 MHz, DMSO-*d*₆) & 167. 3(-COOH), 151. 1(C-4), 147. 3(C-3), 123. 5(C-6), 121. 7(C-1), 115. 1(C-2), 112. 8(C-5), 55. 6(-OCH₃)。以上数据与文献报道的香草酸一致^[8], 故化合物6鉴定为香草酸。

化合物7: 无色柱晶, 溴甲酚绿反应阳性, mp 184~187 °C。¹H-NMR(300 MHz, DMSO-*d*₆) & 12. 12(2H, br s, -COOH), 2. 39(4H, m, H-2, 3)。以上数据与文献报道的丁二酸一致^[9], 故化合物7鉴定为丁二酸。

参考文献:

- [1] Shen L R, Jin S M, Yin B W, *et al.* Chemical constituents of plants from the genus *Cerbera* [J]. *Chem Biodivers*, 2007, 4(7): 1438-1449
- [2] 张小坡, 张俊清, 刘明生, 等. 海芒果茎皮化学成分的研究 [J]. *中草药*, 2008, 39(8): 1138-1140
- [3] Kim Y, Cho J Y, Kuk J H, *et al.* Identification and antimicrobial activity of phenylacetic acid produced by *Bacillus licheniformis* isolated from fermented soybean [J]. *Curr Microbiol*, 2004, 48: 312-317
- [4] 李药兰, 戴杰, 黄伟欢, 等. 黄花倒水莲化学成分及其抗病毒活性 [J]. *中草药*, 2009, 40(3): 345-348
- [5] 唐丽, 李国玉, 杨炳友, 等. 广枣化学成分的研究 [J]. *中草药*, 2009, 40(4): 541-543
- [6] 蔡金艳, 宫立孟, 张惠勇, 等. 金线莲化学成分的研究 [J]. *中成药*, 2008, 31(3): 370-372
- [7] 刘艳南, 苏试文, 朱挺儒. 翻白草化学成分的研究 [J]. *沈阳药科大学学报*, 1983, 18: 17-23
- [8] 陈艳, 张国刚, 毛德双. 半枝莲化学成分的研究(I) [J]. *中国药物化学杂志*, 2008, 18(1): 48-50
- [9] 袁珂, 吕洁丽, 贾安. 含羞草化学成分的研究 [J]. *中国药学杂志*, 2006, 46(17): 1293-1295

8-烷基-13-溴代盐酸小檗碱合成及对人肝癌细胞株增殖的影响

阳平^{1,3}, 叶小利², 朱家颖¹, 朱小康¹, 李学刚^{1*}

(1. 西南大学药学院, 重庆 400716; 2. 西南大学生命科学院, 重庆 400716; 3. 西南大学食品学院, 重庆 400716)

摘要: 目的 为了进一步提高小檗碱的抗肿瘤活性, 对小檗碱进行了烷基化, 为开发新抗肿瘤药物奠定基础。方法 以盐酸小檗碱为起始原料, 经格氏试剂烷基化及溴代反应, 合成一系列8-烷基-13-溴代盐酸小檗碱, 经UV、IR、¹H-NMR和元素分析进行结构鉴定。用四甲基偶氮唑盐(MTT)法观测产物对人肝癌细胞HepG2增殖能力的影响。结果 发现该细胞对目标产物的敏感性与碳链长度有很大关系, 其中8-辛基-13-溴代盐酸小檗碱对该细胞的敏感性最强, 在浓度为32 μg/mL时抑制率为96.82%, IC₅₀为3.33 μg/mL。结论 从IC₅₀可知在8个碳原子以内, 随着溴代小檗碱侧链的增长, 抗癌活性增强。

关键词: 盐酸小檗碱; 烷基化; 溴代; 细胞毒性

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)11-1765-06

①收稿日期: 2010-05-30

基金项目: 重庆市重大科技专项资助项目(CSTC, 2008AA5021); 重庆市自然科学基金资助项目(CSTC, 2008BB5257); 重庆市科委攻关项目(CSTC, 2010AC5007)

作者简介: 丁阳平(1978-), 男, 土家族, 湖南永顺人, 西南大学食品学院讲师, 博士生, 主要从事天然产物研究与开发。

Tel: 13883341918 E-mail: barry4784088@126.com

* 通讯作者 李学刚 Tel: 13808310978 E-mail: xuegangli2000@yahoo.com.cn