

## 四川轮环藤根中两种海岛轮环藤碱-*N*-氧化物的分离鉴定

赖 盛 赵同芳 王宪楷\*

(华西医科大学药学院, 成都, 610041)

志津里芳一 山村庄亮

(日本庆应大学理工学部, 横浜, 223)

从中国特有植物四川轮环藤(*Cyclea sutchuenensis* Gagnep.) 根中分得两种海岛轮环藤碱-*N*-氧化物。采用波谱分析和化学方法鉴定, 证明分别为海岛轮环藤碱-2 $\beta$ -*N*-氧化物(**3**)和海岛轮环藤碱-2' $\beta$ -*N*-氧化物(**4**)。二者均为新生物碱, 是首尾氧桥双苄基异喹啉生物碱-*N*-氧化物。从该植物根中还分得已知的海岛轮环藤碱(**1**)和海岛轮环藤酚碱(**2**)。本文首次详细报道并分析了**2**的<sup>1</sup>H NMR 和<sup>13</sup>C NMR 数据。经三种人癌细胞实验, 证明**2**具有显著的抗癌活性。

**关键词:** 四川轮环藤, 双苄基异喹啉生物碱, 海岛轮环藤碱, 海岛轮环藤酚碱, 海岛轮环藤碱-*N*-氧化物。

四川轮环藤(*Cyclea sutchuenensis* Gagnep.)为防己科轮环藤属植物, 中国特有种<sup>[1]</sup>, 其化学成分未见报道。轮环藤属植物普遍富含多种双苄基异喹啉(BBI)生物碱<sup>[2]</sup>, 这类生物碱有的证明具有较强的生理活性, 是一类十分重要的异喹啉化合物<sup>[3]</sup>。为了寻找新型 BBI 生物碱, 探索其生理活性成分, 我们对四川轮环藤的生物碱成分进行了研究。从其根部乙醇提取物中, 除分得海岛轮环藤碱(insularine, **1**)<sup>[4~6]</sup>和海岛轮环藤酚碱(insulanoline, **2**)<sup>[6, 7]</sup>外, 还获得了两种海岛轮环藤碱-*N*-氧化物。采用波谱分析和化学方法, 分别鉴定为海岛轮环藤碱-2 $\beta$ -*N*-氧化物(insularine-2 $\beta$ -*N*-oxide, **3**)和海岛轮环藤碱-2' $\beta$ -*N*-氧化物(insularine-2' $\beta$ -*N*-oxide, **4**)。二者均为新生物碱, 是首尾氧桥 BBI 生物碱-*N*-氧化物。本文主要报道其结构测定。

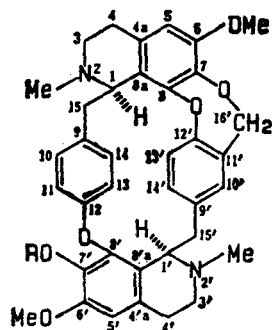
**3**, 高分辨质谱测定分子式为 C<sub>38</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (M<sup>+</sup>636.2810), 较海岛轮环藤碱(**1**, C<sub>38</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>) 多一个氧原子。[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup>+16.7°(c 0.12, EtOH)。紫外光谱(276 nm)及红外光谱(1610, 1585, 1505, 1220, 1075 cm<sup>-1</sup>) 具有首尾氧桥 BBI 生物碱的特征吸收<sup>[3~7]</sup>。质谱亦显示首尾氧桥 BBI 生物碱的特征<sup>[8]</sup>, 且除 *m/z* 636(M<sup>+</sup>)外, *m/z* 620([M-16]<sup>+</sup>), 313, 312, 311, 310, 309, 204, 190 等裂解碎片与**1**的质谱<sup>[4~6]</sup>完全一致。其 M<sup>+</sup>峰度很低而 [M-16]<sup>+</sup>峰度较高, 具 *N*-氧化物的质谱特点<sup>[9]</sup>。结合**3**呈正旋光性, 符号与**1**相同, 证明**3**为**1**的 *N*-氧化物。**3**的<sup>1</sup>H 和<sup>13</sup>C NMR 谱与**1**非常类似, 主要差异仅在于 1-H $\alpha$  和 2-NMe 等质子(见表 1)以及 1-O, 3-O 和 2-NMe 等碳原子(见表 2)的化学位移明显向低场位移。其中, 1-H $\alpha$  向低场移 0.5 ppm, 2-NMe 质子向低场移 0.71 ppm, 提示**3**为**1**的 2-*N*-氧化物。1-H $\alpha$  和 2-N $\rightarrow$ O 异侧, 后者处于  $\beta$ -位<sup>[10]</sup>。分子内 NOE 差谱测定结果也支持上述推断。照射 2-NMe 时, 1-H $\alpha$  产生 10.0% 的 NOE 增益; 反之, 辐射 1-H $\alpha$ , 2-NMe 信号也有 4.4% 的 NOE 增益。表明 2-

表1 生物碱1, 2, 3和4的<sup>1</sup>H NMR(ppm)

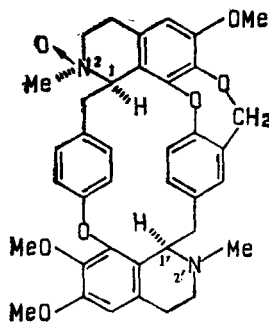
	1	2	3	4
1-H $\alpha$	4.19(1H, d, $J=10.8$ Hz)	4.23(1H, d, $J=11.2$ Hz)	4.69(1H, d, $J=11.2$ Hz)	4.19(1H, d, $J=11.2$ Hz)
1'-H $\alpha$	4.34(1H, dd, $J=11.4, 2.3$ Hz)	4.38(1H, dd, $J=12.4, 2.0$ Hz)	4.35(1H, dd, $J=12.2, 2.9$ Hz)	4.87(1H, dd, $J=12.0, 2.0$ Hz)
5-H	6.49(1H, s)	6.49(1H, s)	6.56(1H, s)	6.50(1H, s)
5'-H	6.55(1H, s)	6.47(1H, s)	6.56(1H, s)	6.60(1H, s)
10-H	7.13(1H, dd, $J=8.3, 2.0$ Hz)	7.18(1H, dd, $J=8.3, 2.4$ Hz)	7.36(1H, dd, $J=8.3, 2.0$ Hz)	7.16(1H, dd, $J=8.3, 2.0$ Hz)
10'-H	6.15(1H, d, $J=2.0$ Hz)	6.15(1H, d, $J=2.0$ Hz)	6.17(1H, d, $J=1.5$ Hz)	6.17(1H, d, $J=1.5$ Hz)
11-H	6.81(1H, dd, $J=8.3, 2.4$ Hz)	6.90(1H, dd, $J=8.3, 2.9$ Hz)	6.86(1H, dd, $J=8.3, 2.4$ Hz)	6.90(1H, dd, $J=8.3, 2.4$ Hz)
13-H	5.56(1H, dd, $J=8.3, 2.4$ Hz)	5.55(1H, dd, $J=8.3, 2.9$ Hz)	5.57(1H, dd, $J=8.3, 2.4$ Hz)	5.53(1H, dd, $J=8.3, 2.4$ Hz)
13'-H	6.19(1H, d, $J=8.3$ Hz)	6.21(1H, d, $J=8.3$ Hz)	6.19(1H, d, $J=8.3$ Hz)	6.23(1H, d, $J=8.3$ Hz)
14-H	6.05(1H, dd, $J=8.3, 2.0$ Hz)	6.08(1H, dd, $J=8.3, 2.4$ Hz)	6.01(1H, dd, $J=8.3, 2.0$ Hz)	6.06(1H, dd, $J=8.3, 2.0$ Hz)
14'-H	6.90(1H, dd, $J=8.3, 2.0$ Hz)	6.91(1H, dd, $J=8.3, 2.0$ Hz)	6.93(1H, dd, $J=8.3, 1.5$ Hz)	7.06(1H, dd, $J=8.3, 1.5$ Hz)
16'-H	4.99, 4.77(各1H, d, $J=14.2$ Hz)	4.97, 4.79(各1H, d, $J=14.2$ Hz)	4.99, 4.76(各1H, d, $J=14.6$ Hz)	4.98, 4.79(各1H, d, $J=14.4$ Hz)
2-NMe	2.57(3H, s)	2.60(3H, s)	3.28(3H, s)	2.58(3H, s)
2'-NMe	2.51(3H, s)	2.37(3H, s)	2.52(3H, s)	3.15(3H, s)
6-OMe	3.86(3H, s)	3.86(3H, s)	3.88(3H, s)	3.86(3H, s)
6'-OMe	3.81(3H, s)	3.82(3H, s)	3.81(3H, s)	3.84(3H, s)
7'-OMe	3.34(3H, s)	—	3.34(3H, s)	3.38(3H, s)
环CH <sub>2</sub>	2.5~3.5(12H, 复杂谱线)	2.5~3.5(12H, 复杂谱线)	2.5~4.6(12H, 复杂谱线)	2.4~4.6(12H, 复杂谱线)

NMe与1-H $\alpha$ 同侧,也处于 $\alpha$ -位<sup>[11]</sup>.因此3的2-N $\rightarrow$ O处于 $\beta$ -位,其结构确定为海岛轮环藤碱-2 $\beta$ -N-氧化物(insularine-2 $\beta$ -N-oxide).

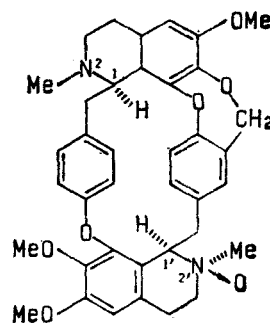
4,高分辨质谱确定分子式为C<sub>38</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>(M<sup>+</sup>636.2826),与3完全相同.[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup>+21.5°(c 0.19, EtOH).紫外光谱、红外光谱和质谱特征亦与3一致,表明4也系1的N-氧化物.将



1 R=Me;  
3 R=H



3



4

表2 生物碱1, 2, 3和4的 $^{13}\text{C}$  NMR (ppm)

	1	2	3	4
1-C	57.9(d)	57.6(d)	73.7(d)	57.2(d)
1'-C	59.2(d)	59.6(d)	58.2(d)	72.8(d)
3-C	44.5(t)	44.8(t)	59.1(t)	44.8(t)
3'-C	44.7(t)	45.0(t)	45.1(t)	59.5(t)
4-C	24.1(t)	24.4(t)	26.7(t)	24.4(t)
4'-C	24.6(t)	24.8(t)	25.0(t)	26.3(t)
4a-C	129.8(s)	129.3(s)	128.5(s)	127.8(s)
4'a-C	129.1(s)	129.2(s)	124.8(s)	125.6(s)
5-C	108.6(d)	107.8(d)	108.9(d)	108.5(d)
5'-C	107.4(d)	107.5(d)	107.4(d)	107.8(d)
6-C	149.6(s)	148.6(s)	150.4(s)	150.1(s)
6'-C	150.6(s)	150.0(s)	151.8(s)	151.5(s)
7-C	139.5(s)	138.9(s)	140.6(s)	139.9(s)
7'-C	138.2(s)	135.6(s)	138.5(s)	139.6(s)
8-C	146.9(s)	147.4(s)	147.3(s)	147.3(s)
8'-C	142.9(s)	140.0(s)	143.3(s)	143.6(s)
8a-C	123.8(s)	124.3(s)	123.9(s)	122.2(s)
8'a-C	124.1(s)	124.5(s)	124.2(s)	124.5(s)
9-C	130.0(s)	130.2(s)	130.2(s)	129.4(s)
9'-C	130.9(s)	131.0(s)	131.2(s)	131.9(s)
10-C	128.9(d)	129.3(d)	127.7(d)	127.33(d)
10'-C	126.6(d)	122.4(d)	126.9(d)	127.29(d)
11-C	112.3(d)	113.1(d)	112.7(d)	112.4(d)
11'-C	122.3(s)	123.7(s)	119.9(s)	120.6(s)
12-C	153.9(s)	154.0(s)	154.6(s)	153.5(s)
12'-C	151.5(s)	150.9(s)	152.0(s)	153.5(s)
13-C	117.0(d)	117.7(d)	117.9(d)	117.4(d)
13'-C	119.6(d)	120.1(d)	119.9(d)	120.4(d)
14-C	128.9(d)	127.3(d)	130.0(d)	129.7(d)
14'-C	127.0(d)	127.0(d)	129.7(d)	129.5(d)
15-C	41.4(t)	41.4(t)	38.5(t)	41.6(t)
15'-C	36.2(t)	35.4(t)	36.6(t)	36.8(t)
16'-C	74.4(t)	77.1(t)	75.2(t)	75.4(t)
2-NMe	42.2(q)	42.4(q)	56.0(q)	42.4(q)
2'-NMe	42.6(q)	41.9(q)	42.9(q)	56.0(q)
6-OMe	55.6(q)	56.3(q)	56.3(q)	56.2(q)
6'-OMe	55.8(q)	55.8(q)	56.2(q)	59.4(q)
7'-OMe	59.5(q)	—	60.0(q)	60.2(q)

其 $^1\text{H}$ 和 $^{13}\text{C}$  NMR谱与1比较(见表1, 2), 发现除1'-H $\alpha$ 和2'-NMe等质子及1'-O, 3'-C和2'-NMe等碳原子的化学位移明显向低场位移外, 其余信号没有显著差异, 证明4为1的2'-N-氧化物。同时, 1'-H $\alpha$ 质子信号向低场移0.43 ppm, 2'-NMe质子信号向低场移0.64 ppm; NOE实验照射2'-NMe时, 1'-H $\alpha$ 有7.2%增益。表明1'-H $\alpha$ 与2'-NMe位于同侧, 而与2'-N $\rightarrow$ O异侧, 后者应为 $\beta$ -构型<sup>[10~11]</sup>。综上所述, 证明4的结构为海岛轮环藤碱-2' $\beta$ -N-氧化物(insularine-2' $\beta$ -N-oxide)。

用间氯苯过氧甲酸(*m*-CPBA)氧化海岛轮环藤碱, 获得四种N-氧化物, 除3和4外, 还得到海岛轮环藤碱-2' $\alpha$ -N-氧化物(5)和海岛轮环藤碱-2 $\beta$ , 2' $\beta$ -N, N-双氧化物(6), 从而进

一步确证了 **3** 和 **4** 的结构. **5** 和 **6** 的详细研究结果将另文报道.

初步药理试验表明 **3** 和 **4** 对人肺癌细胞(A-549), 人胸腺癌细胞(MCF-7)和人直肠癌细胞(HT-29)无明显杀伤活力, 但海岛轮环藤酚碱(**2**)具有体外抗癌活性, 尤其对 HT-29 具显著的细胞毒作用.

值得指出的是, 尽管 BBI 生物碱已知有近 400 种, 包括首尾氧桥型 40 多种, 尾尾氧桥型 350 种左右, 但其 *N*-氧化物并不多见, 仅发现约 30 种<sup>[3,12]</sup>, 其中, cycleanine-*N*-oxide 是唯一发现的一种首尾氧桥 BBI 生物碱-*N*-氧化物. 因而 **3** 和 **4** 为罕见的首尾氧桥 BBI 生物碱-*N*-氧化物, 它们的发现是有意义的.

## 实 验

旋光用 JASCO DIP-360 型旋光仪测定. UV 用 JASCO UVIDE610A 型仪测定. IR 用 JASCO A-202 型仪测定, KBr 压片. <sup>1</sup>H 和 <sup>13</sup>C NMR 用 JEOL JNM-GX 400 型仪测定, CDCl<sub>3</sub> 作溶剂. MS 用 Hitachi M-80 GC-MS 型仪测定. 柱层析硅胶(Type 60)由日本片山化学株式会社生产. 薄层层析采用 Merck 公司 60F<sub>254</sub> 硅胶板, 展开剂 A: 6:3:1 己烷-丙酮-二乙胺, B: 4:5:1 苯-乙酸乙酯-二乙胺, C: 20:1:1 氯仿-甲醇-二乙胺.

**提取分离** 将采自四川省古蔺县的四川轮环藤根(鲜品, 28.7 kg)切成薄片, 用乙醇回流提取(残渣干重 9.0 kg). 乙醇提取物经酸碱处理, 得非季铵型总生物碱(61 g). 后者以硅胶柱层析, 4:1, 3:1 和 1:1 氯仿-甲醇依次洗脱. 经制备薄层分离纯化, 由 4:1 氯仿-甲醇洗脱部分获 **1**(0.21%); 自 3:1 氯仿-甲醇部位得 **2**(0.17%); 从 1:1 氯仿-甲醇部位分得 **3**( $1.11 \times 10^{-4}$ %) 和 **4**( $1.20 \times 10^{-4}$ %)<sup>\*</sup>.

**1** 白色粉末, 其 TLC *R<sub>f</sub>* 值、UV、IR、MS 和 <sup>1</sup>H NMR (见表 1) 与海岛轮环藤碱(insularine)<sup>[4]</sup>完全一致,  $[\alpha]_D^{25} + 45.3^\circ$  (c 0.24, EtOH).

**2** 白色粉末,  $[\alpha]_D^{25} + 53.7^\circ$  (c 0.36, EtOH),  $\lambda_{\max}$ (EtOH): 211(log  $\epsilon$  4.74), 224(sh, 4.66), 280(3.67), 284(sh, 3.65) nm.  $\lambda_{\max}$ (OH<sup>-</sup>, EtOH): 287, 299 nm. <sup>1</sup>H NMR 数据见表 1. <sup>13</sup>C NMR 数据见表 2.  $[\alpha]_D$ 、IR 和 MS 与海岛轮环藤酚碱(insulanoline)<sup>[6~7]</sup>一致. **2** 按常法重氮甲烷甲基化, 定量地得到甲基化物,  $[\alpha]_D^{25} + 39.8^\circ$  (c 0.15, EtOH), 其 TLC *R<sub>f</sub>* 值、IR、MS 和 <sup>1</sup>H NMR 与 **1** 完全相同.

**3** 淡黄色粉末,  $[\alpha]_D^{25} + 16.7^\circ$  (c 0.12, EtOH),  $\lambda_{\max}$ (EtOH): 212(log  $\epsilon$  4.77), 222(sh, 4.73), 276(3.72), 283(sh, 3.67) nm.  $\nu_{\max}$ : 2860, 2805, 1610, 1585, 1505, 1220, 1075, 840 cm<sup>-1</sup>. *m/z*: 636(M<sup>+</sup>, 1%), 635(2), 620([M-16]<sup>+</sup>, 22), 619(8), 313(14), 312(32), 311(100), 310(15), 309(6), 204(5), 190(35), 174(26), 159(16), 146(14), 145(19). HRMS *m/z*: 636.2810 (C<sub>38</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, 计算值 636.2833) (M<sup>+</sup>), 635.2747 (C<sub>38</sub>H<sub>39</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, 635.2754), 620.2866 (C<sub>38</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>, 620.2883) ([M-16]<sup>+</sup>), 619.2806 (C<sub>38</sub>H<sub>39</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>, 619.2806).

**4** 淡黄色粉末,  $[\alpha]_D^{25} + 21.5^\circ$  (c 0.19, EtOH),  $\lambda_{\max}$ (EtOH): 212(log  $\epsilon$  4.72), 222(sh, 4.66), 276(3.70), 283(sh, 3.64) nm.  $\nu_{\max}$ : 2855, 2800, 1605, 1580, 1500, 1215, 1075, 835 cm<sup>-1</sup>. *m/z*: 636(M<sup>+</sup>, 3%), 635(8), 620([M-16]<sup>+</sup>, 88), 619(45), 313(22), 312(100), 311(50), 310(93), 309(63), 204(43), 190(35), 174(26), 159(16), 146(16), 145(23).

\* 得率均按植物根残渣干重计算.

HRMS  $m/z$ : 636.2826 ( $C_{38}H_{40}N_2O_7$ , 计算值 636.2832) ( $M^+$ ), 635.2797 ( $C_{38}H_{39}N_2O_7$ , 635.2755), 620.2921 ( $C_{38}H_{40}N_2O_6$ , 620.2884) ( $[M-16]^+$ ), 619.2812 ( $C_{38}H_{39}N_2O_6$ , 619.2806).

**3 和 4 的制备** 取海岛轮环藤碱(1)40 mg 溶于 6 mL 氯仿, 加  $m$ -CPBA 24 mg (2.2 eq.), 室温搅拌 24 h, 加入碳酸钠, 适当振摇, 以水萃取 (10 mL  $\times$  3), 水层再用氯仿萃取 (10 mL  $\times$  3). 氯仿萃取液并入原氯仿层, 无水硫酸钠脱水干燥, 减压蒸去氯仿. 残渣经制备薄层分离纯化, 得 **3** (9.8 mg, 23.9%), **4** (7.6 mg, 18.5%), **5** (10.0 mg) 和 **6** (10.0 mg). **3**,  $[\alpha]_D^{25} + 13.6^\circ$  ( $c$  0.28, EtOH), **4**,  $[\alpha]_D^{25} + 21.4^\circ$  ( $c$  0.14, EtOH). 二者的  $[\alpha]_D$  及分子式、TLC  $R_f$  值、UV、IR 和  $^1H$  NMR 分别与天然化合物完全一致.

致谢: 华西医科大学植物标本园兰福全同志协助采集并鉴定植物样品, 特此致谢.

### 参 考 文 献

- [1] 中国科学院昆明植物研究所, “云南植物志”, 第 3 卷, 科学出版社, 北京, 1983, 第 257 页.
- [2] 朱兆仪, 冯毓秀, 何丽一, 王艳春, 药学学报, 1983, 18, 535.
- [3] Guha, K. P.; Mukherjee, B.; Mukherjee, R., *J. Nat. Prod.*, 1979, 42, 1.
- [4] 赖 盛, 赵同芳, 王宪楷, 华西药理学杂志, 1988, 3, 6.
- [5] Dwuma-Badu, D.; Ayim, J. S. K.; Mingle, C. A.; Tackie, A. N.; Slatkin, D. J.; Knapp, J. E.; Schiff, P. L., Jr., *Phytochemistry*, 1975, 14, 2520.
- [6] 方新德, 钱林建, 沈培芝, 史芝英, 中草药, 1985, 16, 8.
- [7] 菊池徹, 别所清, 薬学雑誌, 1958, 78, 1408.
- [8] Baldas, J.; Bick, I. R. C.; Ibuka, T.; Kapil, R. S.; Porter, Q. N., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 1972, 599.
- [9] Bryce, T. A.; Maxwell, J. R., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1965, 206.
- [10] Guinaudeau, H.; Freyer, A. J.; Shamma, M., *Nat. Prod. Rep.*, 1986, 477.
- [11] Leet, J. E.; Freyer, A. J.; Minard, R. D.; Shamma, M., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 1984, 651; 1985, 1565.
- [12] (a) Schiff, P. L., Jr., *J. Nat. Prod.*, 1983, 46, 1; 1987, 50, 529; 1991, 54, 645.  
(b) Bentley, K. W., *Nat. Prod. Rep.*, 1991, 8, 339.

## Two Novel Insularine-*N*-oxides from the Roots of *Cyclea Sutchuenensis* Gagnep

Lai, Sheng Zhao, Tong-Fang Wang, Xian-Kai\*

(School of Pharmacy, West China University of Medical Sciences, Chengdu, 610041)

Shizuri, Yoshikazu Yamamura, Shosuke

(Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Keio University,  
Hiyoshi, Yokohama, 223, Japan)

### Abstract

Two novel insularine-*N*-oxides, insularine-2 $\beta$ -*N*-oxide (**3**) and insularine-2' $\beta$ -*N*-oxide (**4**), have been isolated along with insularine (**1**) and insulanoline (**2**) from the roots of *Cyclea sutchuenensis* Gagnep. indigenous only to China. Their structures have been elucidated on the basis of spectral analysis and confirmed by chemical correlation with **1**. Both **3** and **4** are rare examples of naturally occurring head-to-tail bisbenzylisoquinoline *N*-oxides. Additionally, the  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectral data of **2** were first reported and assigned in detail in this paper. **2** showed significant inhibitory activity against human colon adenocarcinoma.