

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, 横滨, 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 β -N-氧化物(**3**)和海岛轮环藤碱-2' β -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¹H NMR和¹³C 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^[1], 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^[2], 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^[3]。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**)^[4~6]和海岛轮环藤酚碱(*insulanoline*, **2**)^[6, 7]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 β -N-氧化物(*insularine-2 β -N-oxide*, **3**)和海岛轮环藤碱-2' β -N-氧化物(*insularine-2' β -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。

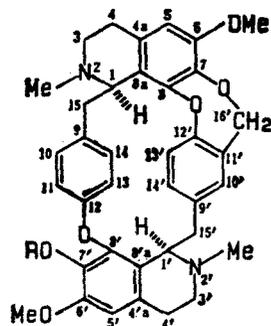
3, 高分辨质谱测定分子式为C₃₃H₄₀N₂O₇(M⁺636.2810), 较海岛轮环藤碱(**1**, C₃₃H₄₀N₂O₆)多一个氧原子。[α]_D²⁵+16.7°(c 0.12, EtOH)。紫外光谱(276 nm)及红外光谱(1610, 1585, 1505, 1220, 1075 cm⁻¹)具有首尾氧桥BBI生物碱的特征吸收^[3~7]。质谱亦显示首尾氧桥BBI生物碱的特征^[8], 且除m/z 636(M⁺)外, m/z 620([M-16]⁺), 313, 312, 311, 310, 309, 204, 190等裂解碎片与**1**的质谱^[4~6]完全一致。其M⁺峰度很低而[M-16]⁺峰度较高, 具N-氧化物的质谱特点^[9]。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¹H和¹³C NMR谱与**1**非常类似, 主要差异仅在于1-H α 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 α 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 α 和2-N \rightarrow O异侧, 后者处于 β -位^[10]。分子内NOE差谱测定结果也支持上述推断。照射2-NMe时, 1-H α 产生10.0%的NOE增益; 反之, 辐射1-H α , 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¹H NMR(ppm)

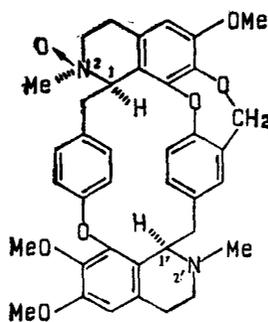
	1	2	3	4
1-H α	4.19(1H, d, $J=10.8$ Hz)	4.23(1H, d, $J=11.2$ Hz)	4.69(1H, d, $J=11.2$ Hz)	4.19(1H, d, $J=11.2$ Hz)
1'-H α	4.34(1H, dd, $J=11.4, 2.3$ Hz)	4.38(1H, dd, $J=12.4, 2.0$ Hz)	4.35(1H, dd, $J=12.2, 2.9$ Hz)	4.87(1H, dd, $J=12.0, 2.0$ Hz)
5-H	6.49(1H, s)	6.49(1H, s)	6.56(1H, s)	6.50(1H, s)
5'-H	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 ₂	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 α 同侧,也处于 α -位^[11].因此3的2-N \rightarrow O处于 β -位,其结构确定为海岛轮环藤碱-2 β -N-氧化物(insularine-2 β -N-oxide).

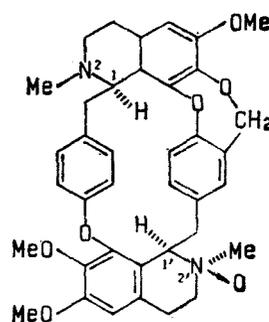
4,高分辨质谱确定分子式为C₃₈H₄₀N₂O₇(M⁺636.2826),与3完全相同.[α]_D²⁵+21.5°(c 0.19, EtOH).紫外光谱、红外光谱和质谱特征亦与3一致,表明4也系1的N-氧化物.将



1 R=Me;
3 R=H



3



4

表2 生物碱1, 2, 3和4的¹³C 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¹H和¹³C NMR谱与1比较(见表1, 2), 发现除1'-H α 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 α 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 α 有7.2%增益。表明1'-H α 与2'-NMe位于同侧, 而与2'-N \rightarrow O异侧, 后者应为 β -构型^[10~11]。综上所述, 证明4的结构为海岛轮环藤碱-2' β -N-氧化物(insularine-2' β -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' α -N-氧化物(5)和海岛轮环藤碱-2 β , 2' β -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^[3,12], 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 UVIDEC610A 型仪测定. IR 用 JASCO A-202 型仪测定, KBr 压片. ¹H 和 ¹³C NMR 用 JEOL JNM-GX 400 型仪测定, CDCl₃ 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 60F₂₅₄ 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**(1.11×10^{-4} %) 和 **4**(1.20×10^{-4} %)^{*}.

1 白色粉末, 其 TLC *R_f* 值、UV、IR、MS 和 ¹H NMR (见表 1) 与海岛轮环藤碱(*insularine*)^[4]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), $\lambda_{\max}(\text{EtOH})$: 211(log ϵ 4.74), 224(sh, 4.66), 280(3.67), 284(sh, 3.65)nm. $\lambda_{\max}(\text{OH}^-, \text{EtOH})$: 287, 299nm. ¹H NMR 数据见表 1. ¹³C NMR 数据见表 2. $[\alpha]_D$ 、IR 和 MS 与海岛轮环藤酚碱(*insulanoline*)^[6~7]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_f* 值、IR、MS 和 ¹H NMR 与 **1** 完全相同.

3 淡黄色粉末, $[\alpha]_D^{25} + 16.7^\circ$ (*c* 0.12, EtOH). $\lambda_{\max}(\text{EtOH})$: 212(log ϵ 4.77), 222(sh, 4.73), 276(3.72), 283(sh, 3.67)nm. ν_{\max} : 2860, 2805, 1610, 1585, 1505, 1220, 1075, 840 cm^{-1} . *m/z*: 636(M^+ , 1%), 635(2), 620($[\text{M}-16]^+$, 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 ($\text{C}_{38}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_7$, 计算值 636.2833) (M^+), 635.2747 ($\text{C}_{38}\text{H}_{39}\text{N}_2\text{O}_7$, 635.2754), 620.2866 ($\text{C}_{38}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_6$, 620.2883) ($[\text{M}-16]^+$), 619.2806 ($\text{C}_{38}\text{H}_{39}\text{N}_2\text{O}_6$, 619.2806).

4 淡黄色粉末, $[\alpha]_D^{25} + 21.5^\circ$ (*c* 0.19, EtOH). $\lambda_{\max}(\text{EtOH})$: 212(log ϵ 4.72), 222(sh, 4.66), 276(3.70), 283(sh, 3.64)nm. ν_{\max} : 2855, 2800, 1605, 1580, 1500, 1215, 1075, 835 cm^{-1} . *m/z*: 636(M^+ , 3%), 635(8), 620($[\text{M}-16]^+$, 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**, $[\alpha]_D^{26} + 13.6^\circ$ (c 0.28, EtOH), **4**, $[\alpha]_D^{26} + 21.4^\circ$ (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, 3.
- [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 β -*N*-oxide (**3**) and insularine-2' β -*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 ^1H and ^{13}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.