

陵水暗罗有效成分的研究

I. 天然含锌化合物暗罗素的分离及结构

韩公羽 徐炳祥 王肖鹏

刘明珠 许学余 孟利宁

(第二军医大学训练部中草药研究组, 上海)

陈仲良 朱大元

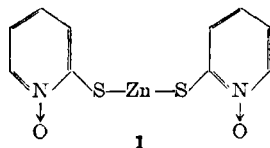
(中国科学院上海药物研究所)

我们从海南岛产的药用植物陵水暗罗中分得一种含锌化合物(得量0.0008%), 经鉴定为2-巯基吡啶-*N*-氧化物锌盐, 并经合成确证。该化合物对鼠疟具有抗疟原虫的作用。这种金属化合物存在于高等植物中, 可能是一种植物他感物质(allelopathy)。因此对植物生理与植物生化必然有其重要意义。

陵水暗罗 *Polyalthia nemoralis* A. et DC. 为番荔枝科暗罗属植物, 系多年生灌木, 产于广东南部、海南岛地区^[1], 根供药用。广东海南民间用于治疗疟疾和肝炎。

关于陵水暗罗的化学成分研究, 国内外尚未见报道, 本属植物的研究也不多。曾从 *P. fragrans* 中分得一种萜类化合物暗罗酸(Polyalthic acid)^[2,3], 从 *P. nitidissima* 中分得一种阿朴芬类生物碱(norglaucine)及从 *P. oliveri* 中分得一种与吡啶结合的倍半萜暗罗醇(Polyalthenol)^[4]。

我们从1972年起进行了陵水暗罗抗疟有效成分的提取分离, 从中分得一种结晶, 定名暗罗素, 得率为百万分之八, 为一种天然含锌化合物, 并确定其结构为1。



暗罗素为淡黄色方块状结晶或无色针状结晶(氯仿重结晶), 粗品常带淡草绿色, 略溶于氯仿, 难溶于丙酮、乙醇、苯等有机溶剂。m. p. 为257~259°C。其紫外光谱 $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 246 nm(log ϵ 4.73) 274(4.30) 327(3.78)显示为芳香族化合物, 而其峰形大致与吡啶类衍生物一致。元素分析含碳、氢、氧、氮和硫。质谱分子离子峰精密质量为315.9323(相对丰度为17.04%), 此化合物及其某些碎片峰具有明显的特点即 $M+2$ (317.9272, 相对丰度11.29%)和 $M+4$ (319.9245, 相对丰度7.34%)预示有特殊元素存在的可能。暗罗素经灼烧有残留物存在, 灼烧灰分经发射光谱分析, 确认其主量元素为锌。由于锌在自然界

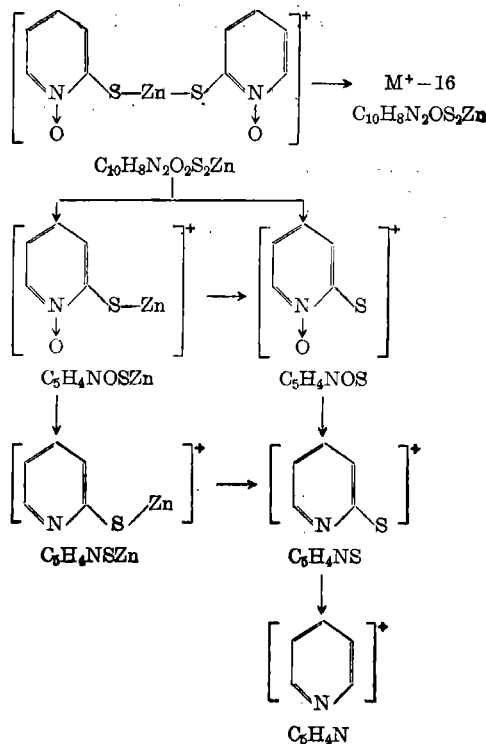
存在多种同位素: Zn^{64} 精密质量 63.9291(自然界锌中含量 48.89%)、 Zn^{66} 精密质量 65.9260(27.81%)、 Zn^{68} 精密质量 67.9249(18.57%), 正与质谱中出现 $M+2$ 、 $M+4$ 峰的现象完全一致, 我们按质谱分子离子峰的精密质量数计算暗罗素的分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2\text{Zn}$ (精密质量计算值 315.9317) 与元素分析数据相符。

暗罗素的高分辨质谱

Base peak 32736/mass 69

Peak	Intensity	I/Base%	Mass
202	2403	7.34	319.9245 $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2 \text{Zn}^{68}$
199	3698	11.29	317.9272 $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2 \text{Zn}^{66}$
197	5581	17.04	315.9323 $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2 \text{Zn}^{64}$
191	389	1.18	301.9377 $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2\text{OS}_2 \text{Zn}^{68}$
189	496	1.15	299.9390 $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2\text{OS}_2 \text{Zn}^{66}$
137	1385	4.23	193.9272 $\text{C}_6\text{H}_4\text{NOS} \text{Zn}^{68}$
134	2798	8.54	191.9280 $\text{C}_6\text{H}_4\text{NOS} \text{Zn}^{66}$
132	3774	11.52	189.9308 $\text{C}_6\text{H}_4\text{NOS} \text{Zn}^{64}$
119	1041	3.17	177.9316 $\text{C}_6\text{H}_4\text{NS} \text{Zn}^{68}$
116	1533	4.68	175.9333 $\text{C}_6\text{H}_4\text{NS} \text{Zn}^{66}$
113	2549	7.78	173.9352 $\text{C}_6\text{H}_4\text{NS} \text{Zn}^{64}$
76	2828	8.63	125.9948 $\text{C}_6\text{H}_4\text{NOS}$
65	1643	5.01	109.9981 $\text{C}_6\text{H}_4\text{NS}$
28	15000	45.82	78.0675 $\text{C}_6\text{H}_4\text{N}$

暗罗素的质谱碎片图



暗罗素的红外光谱无羰基吸收, 出现芳香核吸收 1600 及 1550 cm^{-1} , 另外 770 cm^{-1} 为芳香环四个邻接氢的面外变角振动, 1260 cm^{-1} 可能为 $\text{N}\rightarrow\text{O}$ 的伸缩振动^[5].

暗罗素的核磁共振谱, 仅于芳香质子区出现四组共振信号, δ 为 (1) 8.51、(2) 7.70、(3) 7.35、(4) 7.09. 质子比为 1:1:1:1, 如图所示.

观察各组质子的裂分情况正与 2-位取代吡啶一致.

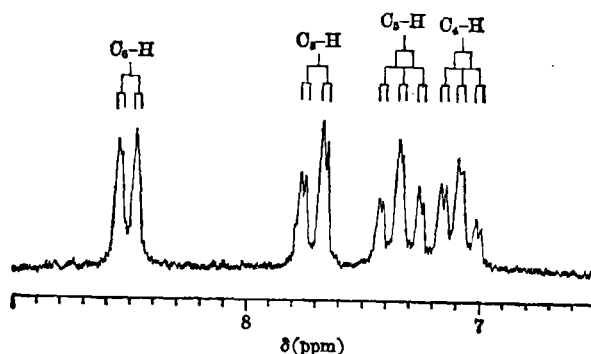
(1) 8.51 双重双峰, $J_o=9\text{ Hz}$, $J_m=1.5\text{ Hz}$, 为 $\text{C}_6\text{-H}$.

(2) 7.70 双重双峰, $J_o=9\text{ Hz}$, $J_m=1.5\text{ Hz}$, 为 $\text{C}_3\text{-H}$.

(3) 7.35 双重三重峰, J_o 均为 9 Hz , $J_m=1.5\text{ Hz}$, 为 $\text{C}_5\text{-H}$.

(4) 7.09 双重三重峰, J_o 均为 9 Hz , $J_m=1.5\text{ Hz}$, 为 $\text{C}_4\text{-H}$.

由于暗罗素的分子式 C, H, N, O, S 五个元素均为双数, 而八个质子可分为四组共振吸收信号, 每组各为两个等价质子, 因而推测可能是对称的结构.



暗罗素核磁共振图

溶剂: $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$; 标准: TMS 内标

我们按 **1** 式进行合成, 产品的红外光谱和核磁共振谱与天然品完全一致, 因而确证暗罗素的结构为 **1**^[6].

暗罗素 50 mg/kg 对鼠疟 (*Plasmodium berghai*) 有效. 但对猴 30 mg/kg 即出现呕吐等副反应, 因而未进行临床试验.

化合物 **1** 为已知化合物^[7~10], 具有较强的防霉杀菌作用, 可用于日用品化学工业. 而从植物中分得天然锌化合物极为罕见, 含巯基氧化吡啶的锌化合物更为首次发现. 近年国外十分重视研究生物间的生存竞争, 反映在植物对植物的互相作用称植物他感物质 (allelopathy). 高等植物利用金属锌化合物的防霉杀菌作用, 以保护机体不受微生物的侵蚀, 这可能是植物他感物质的另一形式, 这对植物生理、植物生化必然有其重要意义.

实 验

本实验所用陵水暗罗根系采自海南岛保亭地区. 光谱数据系由下列型号仪器测定: 高分辨质谱为 MAT-731 型仪, 紫外光谱为上海分析仪器厂 751 型仪, 核磁共振为 PS-100 型仪和 Perkin-Elmer R-32-90 MC 型仪, 红外光谱为 Perkin-Elmer 型仪, 薄层层

析仪用 E. Merck 硅胶 HF 板, 层析硅胶为山东济南化工厂生产。

提取分离

(一) 陵水暗罗根粉 46 公斤, 用 95% 乙醇回流提取三次。提取液减压浓缩成浸膏。此浸膏以乙酸乙酯抽提至抽提液颜色极浅, 合并, 水洗, 干燥后浓缩至约 4000 ml, 加硅胶 2 kg 拌匀, 烘干, 硅胶柱层析分离, 硅胶 7 kg, 装柱 12×170 cm, 以石油醚 (60~90°): 乙酸乙酯 (5:1) 洗脱, 以 1500 ml 为一分, 分部收集, 共收集 150 流分, 从第 47~110 流分析出 2.5 g 褐色沉淀。

上述沉淀 2 g, 加丙酮每次 60 ml 溶去部分杂质。不溶部分加丙酮 300 ml, 回流一小時, 热滤。滤液置冰箱中冷却, 即有草绿色大方块结晶析出, 得 540 mg, 以乙醇丙酮重结晶, 得淡黄色小方块结晶 270 mg。

(二) 取相当于 110 kg 陵水暗罗根的乙醇浸膏, 加水 3~4 倍量充分搅拌, 静放 24 小时。倾去上层清液, 离心沉淀, 得灰棕色固体约 1300 g。沉淀加丙酮 4~5 倍量, 分次洗涤除去可溶物, 得黑色丙酮难溶部分 350 g (如沉淀带粘, 可用一倍量石油醚处理一次), 加丙酮 10 倍量, 回流抽提两次。丙酮抽提液浓缩至一半, 滤除析出的黄棕色沉淀, 再浓缩至 1/6, 放置过夜, 即有草绿色方块结晶析出, 得 840 mg, 以乙醇丙酮重结晶, 得 540 mg。m. p. 257~259°C。

薄层层析: 以硅胶 HF 板, 粘合剂为羧甲基纤维素钠, 用石油醚: 丙酮 (1:1) 展开, 紫外荧光灯检视紫色暗斑, $R_f = 0.49$ 。

[分析] $C_{10}H_8N_2O_2S_2Zn$ 计算值: C, 38.29; H, 2.54; N, 8.82; S, 20.18。实验值: C, 38.13; H, 2.78; N, 8.94; S, 19.99。

红外光谱 KCl 压片: 1600, 1550, 770, 1260, 1258, 1195, 1143, 1084, 850, 700, 576, 557, 519, 450 cm^{-1} 。

原植物由中国科学院广州植物研究所鉴定; 质谱由北京 2808 信箱代做; 核磁共振由上海医药工业研究院、中国科学院上海药物研究所分析室代做; 元素分析由中国科学院上海有机化学研究所、上海医药工业研究院及第二军医大学药理学系代做; 发射光谱由中国科学院上海冶金研究所代做, 均此一并致谢。

参 考 文 献

- [1] 中国科学院华南植物研究所编, 《海南植物志》, 第一卷, 247 页, 北京, 科学出版社, 1964。
- [2] I. Heilbron, "Dictionary of Organic Compounds," Fourth revised and enlarged edition, Vol. 5, p. 2769, London. Eyre & Spottiswoode Publishers Ltd, E. & F. N. Spon Ltd, 1965。
- [3] K. W. Gopinath, T. R. Govindachari, P. C. Parthasarathy, N. Viswanathan, *Helv. Chim. Acta* **44**, 1040 (1961)。
- [4] M. Leboeuf, M. Hamonniere, A. Cave, H. E. Gottlieb, N. Kunesch, E. Wenkert, *Tetrahedron Lett.*, 3559 (1976)。
- [5] Koji Nakanishi, "IR Absorption Spectroscopy", p. 51, Holden-Day Inc., 1962。
- [6] 徐炳祥, 韩公羽, 许学余, 刘明珠, 待发表。
- [7] K. S. Karsten, J. J. Farran, U. S. 3236733 (1966)。
- [8] L. F. Judge, D. J. Kooyman, U. S., 3281366 (1966)。
- [9] 森永豪, 昌谷忠, 古谷肇, 日本公开特许 昭 51-67718 (1976)。
- [10] C. O. Wilson, T. E. Jones, "American Drug Index", 709, Philadelphia., Toronto J. B. Lippincott Company, 1976。

STUDY ON THE ACTIVE PRINCIPLE OF *POLYALTHIA NEMORALIS*

I. THE ISOLATION AND IDENTIFICATION OF NATURAL ZINC COMPOUND

HAN GUNG-YU XU BING-XIANG WANG XIAO-PENG
LIU MING-ZHU XU XUE-YU MENG LI-NING

(Second Military Medical College, Shanghai)

CHEN ZHONG-LIANG ZHU DA-YUAN

(Shanghai Institute of Materia Medica, Academia Sinica)

ABSTRACT

A zinc containing organic compound was isolated from the Chinese medicinal plant *Polyalthia nemoralis* A. et DC. (0.0008% yield) and was identified as zinc salt of 2-mercaptopyridine-*N*-oxide by means of NMR, IR, UV and high resolution MS spectra and confirmed by chemical synthesis.

The compound was shown to exhibit antimalarial activity against *Plasmodium berghei*.