

小花地不容的生物碱成分

左爱学¹, 张秋玲², 李莉¹, 马云淑¹, 饶高雄^{1*}

(1. 云南中医学院药学院, 昆明 650500; 2. 云南施普瑞生物工程有限公司, 昆明 650106)

[摘要] 目的: 研究小花地不容 *Stephania micrantha* 的化学成分。方法: 运用硅胶、氧化铝、凝胶等色谱方法对其块茎 2% 的稀硫酸提取物进行分离纯化, 利用波谱学阐明化合物结构。结果: 分离得到 7 个生物碱类化合物, 分别鉴定为青风藤碱(1)、青藤碱(2)、8-甲氧基青藤碱(3)、四氢巴马汀(4)、巴马汀(5)、卡巴任(6)、(+)-stepharine(7)。结论: 化合物 3, 5, 7 为首次从小花地不容中分离得到。

[关键词] 小花地不容; 化学成分; 生物碱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)06-0134-04

Studies on Alkaloids of *Stephania micrantha*

ZUO Ai-xue¹, ZHANG Qiu-ling², LI Li¹, MA Yun-shu¹, RAO Gao-xiong^{1*}

(1. College of Pharmacy, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China;
2. Yunnan Spirin Biotechnology Co. Ltd., Kunming 650106, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the chemical constituents of *Stephania micrantha*. **Method:** The powered tuber of *S. micrantha* were extracted with 2% H₂SO₄-H₂O and purified by silica gel, alumina oxide and Sephadex LH-20 column chromatograph. The structures were elucidated on the basis of spectral analysis and physico-chemical evidence. **Result:** Seven alkaloid compounds were obtained from the tuber of *S. micrantha*, they are characterized as sinoacutine (1), sinomenine (2), cephamonine (3), tetrahydropalmatine (4), palmatine (5), capaurine (6), and (+)-stepharine (7). **Conclusion:** Compounds 3, 5, 7 were isolated for the first time from *S. micrantha*.

[Key words] *Stephania micrantha*; chemical constituents; alkaloids

[收稿日期] 20120929(009)

[基金项目] 云南省自然科学基金重点项目(2002C0006Z)

[第一作者] 左爱学, 博士, 讲师, 从事中药化学, Tel: 13987125772, E-mail: zuoax@163.com

[通讯作者] * 饶高雄, 教授, 从事中药化学及中药质量控制研究, Tel: 13987124569, E-mail: rao13987124569@qq.com

- [6] 庄鹏宇, 付文卫, 谭昌恒, 等. 醉魂藤的化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2009, 21(6): 963.
- [7] 罗娅君, 肖新峰, 王照丽, 等. 大叶金花草化学成分的研究[J]. 化学研究与应用, 2009, 21(1): 97.
- [8] 黄峰, 崔红花, 于治成, 等. 狗肝菜的化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(1): 90.
- [9] 周先丽, 梁成钦, 徐庆. 明日叶的化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(3): 103.
- [10] 乌莉娅·沙依提, 陈妍. 维药芹菜根化学成分的研究[J]. 中药材, 2007, 30(12): 1535.
- [11] 宋月林, 姜勇, 周思祥, 等. 卵叶远志地上部分化学成分研究[J]. 中草药, 2010, 41(1): 27.
- [12] 魏映柔, 王同才, 张晓琦, 等. 山芝麻化学成分[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(9): 1193.
- [13] 刘玉明, 杨峻山, 刘庆华. 瘤果黑种草子化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(13): 980.
- [14] 白虹, 王英华, 詹晓平, 等. 栽培甘草地上部分化学成分研究[J]. 西北药学杂志, 2005, 20(2): 59.
- [15] 邓家刚, 蒋才武, 黄健军, 等. 壮药风车子化学成分的研究(I)[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(10): 2518.
- [16] 盛柳青, 颜继忠, 童胜强, 等. 结香茎皮化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(4): 495.

[责任编辑 邹晓翠]

防己科千金藤属植物全世界有 60 多种,我国有 40 余种,主要分布于长江流域及其以南地区,在民间多作中草药应用^[1];千金藤属植物富含生物碱类成分,已开发出一些疗效确切的药物,如具有镇痛作用的颅痛定(左旋四氢巴马汀, 1-Tetrahydropalmatine)、具有肌松作用的轮环腾宁(Cycleanine)等^[2-4]。小花地不容的块茎在中草药应用中习称“山乌龟”,主产于广西、云南等地,在制药生产上是提取颅痛定原料药的主要资源植物之一^[5],其块茎含有左旋四氢巴马汀、去氢罗默碱等生物碱^[6-7]。为了进一步了解其物质基础,我们对云南产小花地不容块茎的生物碱成分进行研究,共分离鉴定了 7 个生物碱,根据理化常数测定和光谱分析,分别鉴定为青风藤碱(sinoacutine, 1)、青藤碱(sinomenine, 2)、8-甲氧基青藤碱(cephamonine, 3)、四氢巴马汀(tetrahydropalmatine, 4)、巴马汀(palmatine, 5)、卡巴任(capaurine, 6)和(+)-stepharine(7);化合物 3, 5, 7 为首次从小花地不容中分离得到。

1 材料

熔点用 YANACO 显微熔点仪(东京百木制作所)测定,温度未校正;MS 用 Finnigan MAT-95 质谱仪(Finnigan 公司)测定;NMR 用 Bruker AM-400、500 核磁共振波谱仪(瑞士布鲁克公司)测定,TMS 为内标。柱色谱及薄层色谱硅胶板均为青岛海洋化工厂生产,柱色谱氧化铝为上海陆都化学试剂厂生产,葡聚糖凝胶 LH-20 为 Pharmacia 公司生产;乙醇、丙酮、氯仿、环己烷等试剂用工业或化学纯溶剂;薄层色谱显色剂用 10% 硫酸乙醇溶液或改良碘化铋钾试液。

小花地不容药材(块茎)于 2006 年 10 月采于云南省临沧市云县,当地草医习称为“山乌龟”,植物标本经云南中医学院药学院马云淑教授鉴定为防己科千金藤属植物小花地不容 *Stephania micrantha* 的块茎,标本(DBR-2006-JH-11-M)保存在云南省高校天然药物活性成分与功能重点实验室。

2 提取与分离

取新鲜的小花地不容块茎 8 kg,刮去粗皮,切成碎块,用搅拌机磨成糊状,再以 2% 的稀硫酸于室温下浸泡提取 2 次,每次 5 d,不时搅拌以促进溶出。酸水液滤布过滤,合并二次酸水提取液,用 20% 的氢氧化钠调节 pH 9,依次用氯仿、正丁醇萃取,得到脂溶性部分(Fr-A, 96 g)和水溶性部分(Fr-B, 21 g)。

Fr-A 部分用硅胶柱色谱,以氯仿-甲醇-三乙胺

系统梯度(100:10:1~100:100:1)梯度洗脱,经 TLC 检查后,将生物碱显色明显的流份成分合并为 2 个部分(Fr-A1-2)。Fr-A1(43 g)经硅胶柱色谱反复分离,以环己烷-丙酮-三乙胺系统(90:10:1~70:30:1)系统为洗脱剂,并结合 LH-20 柱色谱(甲醇洗脱)纯化,得到化合物 1(226 mg), 2(26 mg), 3(141 mg), 6(23 mg)。Fr-A2(19 g)经硅胶柱色谱反复分离,以石油醚-丙酮-三乙胺系统(80:20:1~60:40:1)为洗脱剂,并结合 LH-20 柱色谱(甲醇洗脱)纯化,得到化合物 4(76 mg), 7(22 mg)。

Fr-B 部分经氧化铝(中性)柱色谱[氯仿-甲醇系统(100:10~100:100)洗脱]分离,主要生物碱部位再经硅胶柱色谱[氯仿-丙酮-三乙胺系统(80:20:1~60:40:1)洗脱]和 LH-20 柱色谱(甲醇洗脱)纯化,得到化合物 5(32 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1 无色块状晶体(甲醇), mp 196~198;ESI-MS (m/z) 328 [$M + H$]⁺, 分子式 C₁₉H₂₁O₄N; ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 6.73(1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-1), 6.64(1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-2), 6.31(1H, s, H-5), 7.54(1H, s, H-8), 3.65(1H, d, $J = 5.3$ Hz, H-9), 2.95(1H, dd, $J = 17.6$ Hz, 5.3 Hz, H-10 α), 3.30(1H, d, $J = 17.6$ Hz, H-10 β), 1.75(1H, td, $J = 12.6$ Hz, 4.5 Hz, H-15 α), 2.40(1H, d, $J = 12.6$ Hz, H-15 β), 2.49(1H, dd, $J = 12.4$ Hz, 3.0 Hz, H-16 α), 2.60(1H, dd, $J = 12.4$ Hz, 3.0 Hz, H-16 β), 3.74(3H, s, 3-OCH₃), 3.87(3H, s, 6-OCH₃), 6.40(1H, br. s, 4-OH), 2.45(3H, s, N-CH₃); ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ: 120.5(C-1), 109.5(C-2), 145.4(C-3), 143.4(C-4), 118.8(C-5), 161.7(C-6), 181.5(C-7), 122.1(C-8), 61.1(C-9), 37.8(C-10), 129.8(C-11), 124.0(C-12), 43.7(C-13), 151.0(C-14), 32.6(C-15), 47.0(C-16), 41.7(N-CH₃), 56.3(3-OCH₃), 54.8(6-OCH₃)。其 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据与文献[8]报道的基本一致,鉴定为青风藤碱(sinoacutine)。

化合物 2 无色针状结晶(甲醇), mp 164~165 °C;ESI-MS (m/z) 330 [$M + H$]⁺, 分子式 C₁₉H₂₃O₄N; ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 6.63(1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-1), 6.53(1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-2), 2.46(1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-5 α), 4.35(1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-5 β), 5.47(1H, br. s, H-8), 3.17(1H, t, $J = 4.0$ Hz, H-9), 2.07(1H, dd, $J = 12.0$ Hz, 4.0 Hz, H-10 α), 2.52(1H, dd, $J = 12.0$ Hz, 4.0 Hz, H-10 β),

3.02 (1H, br. s, H-14), 1.91 (2H, m, H-15), 2.70 (1H, dd, $J = 18.0$ Hz, 5.0 Hz, H-16 α), 3.00 (1H, dd, $J = 18.0$ Hz, H-16 β), 3.48 (3H, s, 7-OCH₃), 3.80 (3H, s, 3-OCH₃), 2.43 (3H, s, N-CH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 118.2 (C-1), 109.0 (C-2), 145.0 (C-3), 144.7 (C-4), 49.2 (C-5), 193.9 (C-6), 153.4 (C-7), 115.2 (C-8), 56.0 (C-9), 24.3 (C-10), 130.4 (C-11), 122.6 (C-12), 40.5 (C-13), 47.2 (C-14), 36.0 (C-15), 47.1 (C-16), 42.7 (N-CH₃), 54.7 (3-OCH₃), 56.7 (7-OCH₃)。其 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据与文献[9]报道的基本一致, 鉴定为青藤碱 (sinomenine)。

化合物 3 浅黄色易吸潮粉末, ESI-MS (m/z) 360 [M + H]⁺; 分子式 C₂₀H₂₅NO₅; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 6.62 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-1), 6.53 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-2), 4.23 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-5 α), 2.31 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-5 β), 3.50 (1H, t, $J = 3.0$ Hz, H-9), 2.11 (1H, dd, $J = 12.0$ Hz, 3.0 Hz, H-10 α), 2.51 (1H, dd, $J = 12.0$ Hz, 3.0 Hz, H-10 β), 3.00 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-14), 1.81 (1H, td, $J = 13.0$ Hz, 5.0 Hz, H-15 α), 1.94 (1H, br. d, $J = 13.0$ Hz, H-15 β), 2.72 (1H, dd, $J = 18.0$ Hz, 5.0 Hz, H-16 α), 2.90 (1H, dd, $J = 18.0$ Hz, 5.0 Hz, H-16 β), 3.36 (3H, s, 7-OCH₃), 3.79 (3H, s, 3-OCH₃), 4.0 (3H, s, 8-OCH₃), 2.41 (3H, s, N-CH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 118.2 (C-1), 108.8 (C-2), 144.8 (C-3), 144.3 (C-4), 49.8 (C-5), 194.6 (C-6), 137.8 (C-7), 161.9 (C-8), 56.0 (C-9), 24.0 (C-10), 131.4 (C-11), 122.6 (C-12), 38.2 (C-13), 49.8 (C-14), 35.8 (C-15), 47.1 (C-16), 42.7 (N-CH₃), 60.6 (7-OCH₃), 56.0 (3-OCH₃), 60.4 (8-OCH₃)。其 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据与文献[10]报道的基本一致, 鉴定为 8-甲氧基青藤碱 (cephamonine)。

化合物 4 无色片状晶体 (甲醇), mp 140 ~ 142 °C; ESI-MS (m/z) 356 [M + H]⁺, 分子式 C₂₁H₂₅NO₄; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 6.74 (1H, s, H-1), 6.62 (1H, s, H-4), 2.71 (2H, t, $J = 6.0$ Hz, H-5), 3.17 (2H, t, $J = 6.0$ Hz, H-6), 4.24 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-8 α), 3.53 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-8 β), 6.85 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-11), 6.79 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-12), 2.92 (2H, m, H-13), 3.27 (1H, d, $J = 5.4$ Hz, H-14), 3.88 (3H, s, 9-OCH₃), 3.86 (3H, s, 10-OCH₃), 3.86 (3H, s, 2-OCH₃), 3.84 (3H, s, 3-

OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 108.7 (C-1), 126.8 (C-1a), 147.4 (C-2), 147.5 (C-3), 111.0 (C-4), 129.7 (C-4a), 29.0 (C-5), 51.4 (C-6), 53.9 (C-8), 127.8 (C-8a), 150.2 (C-9), 145.0 (C-10), 111.4 (C-11), 123.8 (C-12), 128.6 (C-12a), 36.3 (C-13), 60.1 (C-14), 59.3 (9-OCH₃), 56.0 (3-OCH₃), 55.8 (10-OCH₃), 55.8 (2-OCH₃)。¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据与文献[11]报道的基本一致, 鉴定为四氢巴马汀 (tetrahydropalmatine)。

化合物 5 浅黄色针晶 (甲醇), mp 205 ~ 207 °C; ESI-MS (m/z) 352 [M + H]⁺, 分子式 C₂₀H₁₉NO₄; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO) δ : 7.73 (1H, s, H-1), 7.08 (1H, s, H-4), 3.21 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H-5), 4.96 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H-6), 9.87 (1H, s, H-8), 8.17 (1H, d, $J = 9.1$ Hz, H-11), 8.04 (1H, d, $J = 9.1$ Hz, H-12), 9.09 (1H, s, H-13), 4.10 (3H, s, 9-OCH₃), 4.07 (3H, s, 10-OCH₃), 3.94 (3H, s, 2-OCH₃), 3.87 (3H, s, 3-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO) δ : 109.1 (C-1), 148.7 (C-2), 150.1 (C-3), 111.4 (C-4), 133.1 (C-4a), 26.2 (C-5), 55.1 (C-6), 145.2 (C-8), 118.8 (C-8a), 151.5 (C-9), 143.7 (C-10), 123.2 (C-11), 126.8 (C-12), 128.5 (C-12a), 119.8 (C-13), 137.6 (C-14), 121.2 (C-14a), 61.7 (9-OCH₃), 57.0 (3-OCH₃), 56.2 (10-OCH₃), 55.8 (2-OCH₃)。¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据与文献[12]报道的基本一致, 鉴定为巴马汀 (palmatine)。

化合物 6 白色片状晶体 (甲醇), mp 187 ~ 190 °C; ESI-MS (m/z) 372 [M + H]⁺, 分子式 C₂₁H₂₅NO₅; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 6.26 (1H, s, H-4), 2.73 (2H, m, H₂-5), 3.69 (1H, dd, dd, $J = 16.0$ Hz, 3.0 Hz, H-6 α), 3.70 (3H, m, H-6 β , H-8), 6.77 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-11), 6.82 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-12), 3.09 (2H, m, H-13a, H-13 α), 4.21 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-13 β), 3.84 (9H, s, 3, 9, 10-OCH₃), 3.89 (3H, s, 2-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 146.5 (C-1), 117.8 (C-1a), 133.6 (C-2), 150.4 (C-3), 103.8 (C-4), 131.1 (C-4a), 30.5 (C-5), 53.6 (C-6), 60.1 (C-8), 128.6 (C-8a), 150 (C-9), 145.3 (C-10), 111.0 (C-11), 124.1 (C-12), 129.0 (C-12a), 33.1 (C-13), 49.4 (C-13a), 55.7 (3-OCH₃), 56.0 (9-OCH₃), 56.2 (10-OCH₃), 61.0 (2-OCH₃); 上述波谱数据与文献[13-14]报道的基本一致, 鉴定为卡巴任 (capaurine)。

化合物 **7** 无定型粉末, mp 180 ~ 181 °C; ESI-MS(m/z) 298 [M + H]⁺, 分子式 C₁₈H₁₉NO₃; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 6.65 (1H, s, H-3), 2.77 (1H, m, H-4α), 2.95 (1H, m, H-4β), 3.20 (1H, m, H-5α), 3.56 (1H, m, H-5β), 4.38 (1H, m, H-6α), 2.42 (1H, dd, $J = 5.5$ Hz, 11.5 Hz, H-7α), 2.25 (1H, dd, $J = 5.5, 11.5$ Hz, H-7β), 6.88 (1H, dd, $J = 10.0$ Hz, 3.0 Hz, H-8), 6.42 (1H, dd, $J = 10.0$ Hz, 2.7 Hz, H-9), 6.30 (1H, dd, $J = 10.0$ Hz, 2.7 Hz, H-11), 6.99 (1H, dd, $J = 10.0$ Hz, 3.0 Hz, H-12), 3.58 (3H, s, 2-OMe), 3.81 (3H, s, 1-OMe); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 150.7 (C-1), 151.7 (C-2), 112.4 (C-3), 135.6 (C-3a), 45.1 (C-4), 48.5 (C-5), 57.8 (C-6a), 132.6 (C-6b), 26.3 (C-7), 51.2 (C-7a), 150.0 (C-8), 128.3 (C-9), 186.2 (C-10), 127.5 (C-11), 153.4 (C-12), 61.0 (2-OMe), 56.4 (1-OMe)。上述波谱数据与文献 [15] 报道的基本一致, 鉴定为 (+)-stepharine。

4 结果与讨论

在结构类型上, 化合物 **1** ~ **3** 为为吗啡烷型生物碱, **4** ~ **6** 为小檗碱型生物碱, **7** 为原阿朴菲型生物碱。化合物 **3**, **5**, **7** 为首次从小花地不容中分离得到。研究结果丰富了小花地不容物质基础的认识, 也为从化学成分角度评价其药用价值提供了线索和依据。

研究表明, 不同产地小花地不容块茎中含有的生物碱类成分结构类似, 但主成分含量有较大的区别, 广西部分地区出产的小花地不容中四氢巴马汀含量较高, 在生产上是提取颅痛定(左旋四氢巴马汀)的原料药材; 作者此次研究的云南产的小花地不容, 则以吗啡烷型生物碱成分青风藤碱含量最高, 不宜作为提取颅痛定(左旋四氢巴马汀)的原料药材。

[参考文献]

[1] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志. 第30卷. 第1分册[M]. 北京: 科学出版社, 1996:

41, 53.

- [2] 马养民. 千金藤属植物化学成分研究[J]. 西北林学院学报, 2004, 19(3): 125.
- [3] 杨士友, 孙备, 裴月梅. 颅痛定对实验动物血液流变学的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 1998, 4(4): 14.
- [4] 丁绪亮, 陈正庆, 杨素聆. 地不容的酚性生物碱[J]. 南京医科大学学报: 自然科学版, 1986, 2: 89.
- [5] 杨士友, 孙备, 楚慧君, 等. 颅痛定对动物软脑膜微循环及脑组织血流量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 1996, 2(4): 21.
- [6] 陈正庆, 丁绪亮, 闵知大, 等. 小花地不容的微量生物碱[J]. 南京医学院学报, 1987, 7(1): 13.
- [7] 闵知大, 刘信顺, 孙文基. 小花地不容生物碱的研究[J]. 药学学报, 1981, 16(7): 557.
- [8] Kashiwaba N, Morooka S, Kimura M, et al. New morphinane and hasubanane alkaloids from stephania cepharantha[J]. J Nat Prod, 1996, 59(5): 476.
- [9] Kashiwaba N, Morooka S, Kimura M, et al. Two new morphinane alkaloids from stephania cepharantha hayata (menispermaceae) [J]. Chem Pharm Bull, 1994, 42(12): 2452.
- [10] Bhakuni D S, Gupta S. The alkaloids of stephania glabra [J]. J Nat Prod, 1982, 45(4): 407.
- [11] 李泓波, 胡军, 陈剑超, 等. 江西青牛胆的化学成分[J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(2): 125.
- [12] 马北堂, 杨秀玮, 钟国跃. 黄连解毒汤中1个新的黄酮苷[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(9): 1097.
- [13] Takao T, Iwasa K, Kamigauchi M, et al. Studies on the alkaloids of papaveraceous plants xxix. Conformational analysis of tetrahydroprotoberberines by carbon-13 magnetic resonance spectroscopy[J]. Chem Pharm Bull, 1977, 25: 1426.
- [14] Min Z D, Zhong S M. Studies on the alkaloids of stephania kwangsiensis h. S. Lo. [J]. Acta Pharm Sin, 1980, 15: 532.
- [15] Hussain R A, Kim J, Beecher C W W, et al. Unambiguous carbon-13 nmr assignments of some biologically active protoberberine alkaloids [J]. Heterocycles, 1989, 29: 2257.

[责任编辑 邹晓翠]