

# 海南青牛胆化学成分的研究\*

郭幼莹 林连波 申 静

(海南医学院,海口 570102)

**摘要** 从防己科植物的一个新种海南青牛胆(*Tinospora hainanensis* H. S. Lo et Z. X. Li)的藤茎中分离出 5 种化学成分,分别鉴定为:罗汉松甙酮 A(makisterone A, I)、2,3-二甲氧基-9,10-二羟基-N-甲基四氢原小檗碱季铵盐(2,3-dimethoxy-9,10-dihydroxy-N-methyltetrahydroprotoberberine quaternary salt, II)、巴马汀(palmatine, III)、β-香树脂醇(β-amyrin, IV)和阿魏酸二十二酯(docosyl ferulate, V)。其中,II 为新季铵生物碱,定名为海南青牛胆碱(haitinosporine)、I、IV、V 为首次从青牛胆属植物中分出。

**关键词** 海南青牛胆;罗汉松甙酮 A;β-香树脂醇;阿魏酸二十二酯;海南青牛胆碱

海南青牛胆(*Tinospora hainanensis* H. S. Lo et Z. X. Li)系防己科青牛胆属植物,为一新种<sup>[1]</sup>。民间将其与中华青牛胆(*Tinospora sinensis* (Lour) Merr.)同称为松筋藤,用以治疗关节疼痛和筋骨损伤。其化学成分未见报道。作者从其藤茎中分出 5 种成分,2 种为季铵生物碱,3 种为非生物碱成分。分别鉴定为:罗汉松甙酮 A(makisterone A, I)、2,3-二甲氧

基-9,10-二羟基-N-甲基四氢原小檗碱季铵盐(2,3-dimethoxy-9,10-dihydroxy-N-methyltetrahydroprotoberberine quaternary salt, II)、巴马汀(palmatine, III)、β-香树脂醇(β-amyrin, IV)和阿魏酸二十二酯(docosyl ferulate, V)。I~V 结构式见图 1。其中,II 为新季铵生物碱,定名为海南青牛胆碱(haitinosporine);I、IV 与 V 为首次从青牛胆属植物中分出。

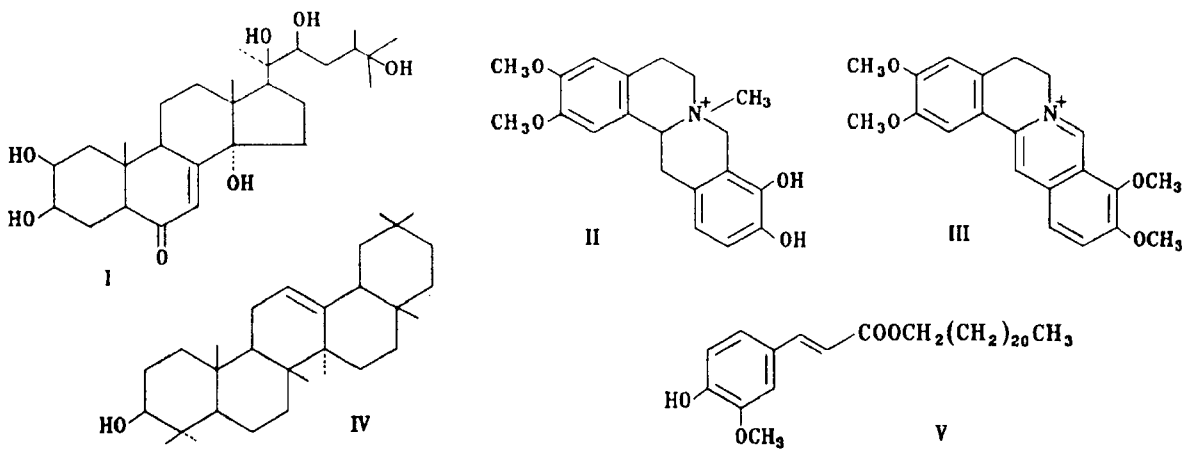


Fig 1 Structures of I~V.

II 的碘化物为类白色晶体, mp 242 ~ 245°C (Dec.), Dragendoff 试剂反应阳性。<sup>1</sup>HNMR(DMSO-d<sub>6</sub>)信号与四氢原小檗碱类生

本文于 1997 年 3 月 21 日收到。

\* 国家自然科学基金资助课题

物碱类似。显示 1 个氮甲基  $\delta$  2.79(3H, s), 2 个甲氧基  $\delta$  3.79, 3.82(各 3H, s), 2 个羟基  $\delta$  9.14, 9.42(各 1H, s), 4 个芳氢  $\delta$  6.86, 6.88(各 1H, s),  $\delta$  6.84, 7.03(各 1H, d,  $J = 8.3$  Hz), 其中,  $\delta$  6.84 与  $\delta$  6.86 部分重叠。改用( $C_5D_5N$ )为溶剂, 可清晰见到 2 个芳氢的双峰信号  $\delta$  7.24, 6.99(各 1H, d,  $J = 8.4$  Hz)。此外, 还观察到  $\delta$  4.58, 4.79(各 1H, d,  $J = 15.7$  Hz)信号, 为与 9, 10 位含氧基芳环相连的 C-8 2 个不等价 H 的特征信号<sup>[2]</sup>。氮甲基信号  $\delta$  2.79(3H, s, DMSO- $d_6$ ), 3.11( $C_5D_5N$ )较一般氮甲基信号向低场位移, 可能为氮甲基季铵化所致。其余质子信号为  $\delta$  3.05, 3.15(各 1H, m, 5-H),  $\delta$  3.85, 4.05(各 1H, m, 6-H, 3.85 与 3.82 重叠),  $\delta$  2.95(1H, dd,  $J = 12.8, 7.9$  Hz, 13-H), 3.85(1H, dd, 与 3.82 重叠 13-H),  $\delta$  4.99(1H, dd,  $J = 7.96, 4.2$  Hz, 13a-H)。<sup>13</sup>CNMR (BB + DEPT)显示 1 个氮甲基  $\delta$  38.73, 2 个甲氧基  $\delta$  55.74, 56.15, 4 个亚甲基  $\delta$  22.77, 27.81,

60.56, 60.75, 5 个次甲基(4 个为苯环次甲基) $\delta$  64.70, 111.96, 112.07, 112.62, 119.28, 8 个苯环上的季碳  $\delta$  114.36, 120.86, 122.08, 122.80, 142.78, 145.69, 145.69, 147.78 信号, 也支持 II 具有四氢原小檗碱的化学结构骨架。FAB-MS  $m/z$  显示: 分子离子峰 342, 与  $C_{20}H_{24}NO_4$  分子量相符。碎片离子峰 192, 190 与 136, 表明 192, 190 碎片有 2 个甲氧基, 136 碎片有 2 个羟基(见图 2), 即 2 个甲氧基位于 A 环, 2 个羟基位于 D 环。氢谱 4 个芳氢及 8-H 的信号提示 4 个取代基位置可能在 2, 3 位及 9, 10 位。碳氢相关谱和碳氢远程相关谱归属的碳氢相关信号(见表 1), 进一步确认 II 的 2 个甲氧基位于 2, 3 位, 2 个羟基位于 9, 10 位。NOE 差谱照射实验也支持对 D 环 2 个羟基处于邻位的归属, 即分别照射 2 个羟基, 另 1 个羟基有增益。综上所述, 推定 II 为 2, 3-二甲氧基-9, 10-二羟基-N-甲基四氢原小檗碱季铵盐。

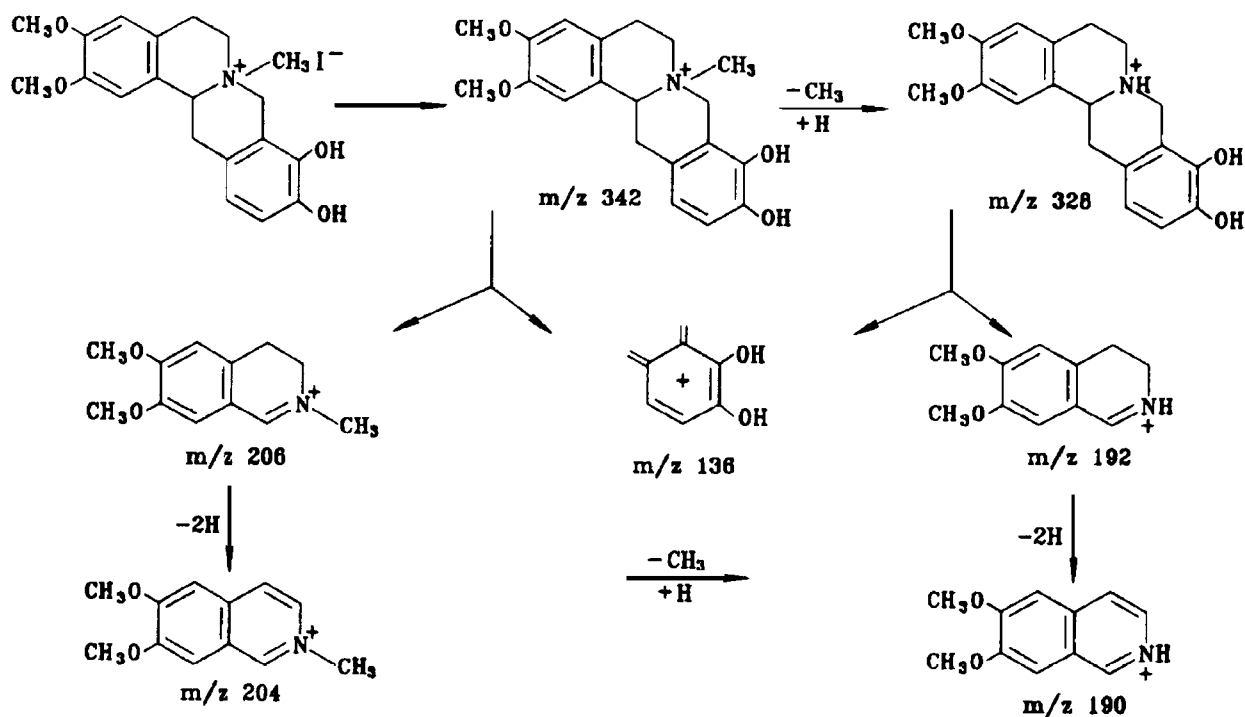


Fig 2 The mass spectral fragmentation behaviour of compound II.

Tab 1 Cross peak of carbon to proton in  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  COSY and HMBC of II

C	$^1\text{H}$ (ppm)	$^{13}\text{C}$ (ppm)	HMBC	C	$^1\text{H}$ (ppm)	$^{13}\text{C}$ (ppm)	HMBC
1	6.86, s	111.96	4-H	12	6.84, d	119.28	.....
2	.....	145.69	4-H, 2-OCH <sub>3</sub>		J = 8.3 Hz		
3	.....	147.78	1-H, 3-OCH <sub>3</sub>	12a	.....	122.80	11-H
4	6.88, s	112.62	1-H	13	2.95, dd	27.81	
4a	.....	120.86	1-H		J = 12.8, 7.9 Hz		
5	3.05, 3.15, m	22.77	4-H		3.85, dd		
6	3.85, 4.05, m	60.56	.....		(与 3.82 重叠)		
8	4.58, 4.79, d	60.75	.....	13a	4.99, dd	64.70	
	J = 15.7 Hz				J = 7.96, 4.2 Hz		
8a	.....	114.36	8-H, 12-H, 9-OH	13b	.....	122.08	4-H, 13a-H
9	.....	142.78	11-H	2-CH <sub>3</sub> O	3.79, s	55.74	
10	.....	145.69	.....	3-CH <sub>3</sub> O	3.82, s	56.15	.....
11	7.03, d	112.07	12-H, 10-OH	N-CH <sub>3</sub>	2.79, s	38.73	.....
	J = 8.3 Hz			9-OH	9.42, s	.....	.....
				10-OH	9.14, s	.....	.....

## 实 验 部 分

Kofler 显微熔点测定仪, 温度未校正; Perkin-Elmer 599B 红外分光光度计; MAT-771 质谱仪; Bruker AM-400 核磁共振仪。柱色谱用硅胶(200~300 目), 薄层色谱用硅胶 H(10~40  $\mu$ ), 均为青岛海洋化工厂产品; 植物材料采自海南省文昌县。

### 1 提取与分离

藤茎粗粉 20 kg, 用 92% EtOH(含 HOAc 3%) 渗漉, 接收 12 倍渗漉液, 减压浓缩, 得流膏 1800 ml。流膏加 5 倍量 H<sub>2</sub>O 稀释后, 依次用 Et<sub>2</sub>O, EtOAc, CHCl<sub>3</sub>(pH 8), *n*-BuOH 萃取, 萃取液分别浓缩成稠膏。

*n*-BuOH 萃取所得稠膏 126 g, 取 16 g 上硅胶柱, 减压色谱, CHCl<sub>3</sub>-MeOH 梯度洗脱, 每流分约 100 ml。收集 CHCl<sub>3</sub>-MeOH(95:5) 洗脱液(Fr. 18~24) 浓缩得粒状沉淀, MeOH 重结晶得化合物 I 143.6 mg; 收集 Fr. 58~94 洗脱物, 再上硅胶 H 柱, 合并 CHCl<sub>3</sub>-MeOH(90:10) 洗脱液, 浓缩, 残渣加适量温水溶解, 调至 pH 2~3, 加 KI 适量搅匀, 放置, 沉淀用 MeOH 重结晶两次, 得 II 的碘化物 192 mg。

CHCl<sub>3</sub> 萃取所得稠膏 3 g, 加 1% HCl 浸溶, 滤去沉淀, 滤液调至 pH 10, 用 CHCl<sub>3</sub> 提取, 提取液蒸干, 残渣加水溶解, 在 pH 2~3 条件

下, 加 KI 适量, 沉淀用 MeOH 重结晶得 III 的碘化物 11 mg。

Et<sub>2</sub>O 萃取所得稠膏总量 290 g, 取 50 g 上 400 g 硅胶柱, 减压色谱, 石油醚-苯梯度洗脱, 每流分约 250 ml, 收集 Fr. 171~183(石油醚-苯 1:1), 浓缩, 沉淀用石油醚重结晶得化合物 IV 104 mg; 收集 Fr. 207~227(石油醚-苯 3:7), 浓缩, 沉淀用 MeOH 重结晶得化合物 V 35 mg。

### 2 结构鉴定

化合物 I 白色柱状结晶, mp 262~267°C。IR(KBr) cm<sup>-1</sup>: 3400(宽), 2960, 1660, 1060; FAB-MS *m/z*: 495 (M<sup>+</sup> + 1), 分子式 C<sub>28</sub>H<sub>46</sub>O<sub>7</sub>;  $^1\text{H}$ NMR(C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)  $\delta$  ppm: 0.98(3H, s, 19-CH<sub>3</sub>), 1.03(3H, d, J = 6.75 Hz, 28-CH<sub>3</sub>), 1.16(3H, s, 18-CH<sub>3</sub>), 1.27(3H, s, 26-CH<sub>3</sub>), 1.29(3H, s, 27-CH<sub>3</sub>), 1.55(3H, s, 21-CH<sub>3</sub>), 6.22(1H, s, 7-H);  $^{13}\text{C}$ NMR(BB + DEPT)  $\delta$  ppm: 37.71(C-1), 68.01(C-2, C-3), 32.21(C-4), 51.21(C-5), 203.69(C-6), 121.55(C-7), 166.08(C-8), 34.41(C-9), 38.57(C-10), 21.40(C-11), 31.57(C-12), 48.05(C-13), 84.24(C-14), 31.94(C-15), 21.40(C-16), 49.88(C-17), 17.77(C-18), 24.24(C-19), 77.04(C-20), 21.40(C-21), 74.82(C-22), 34.41(C-23),

41.60 (C-24), 72.30 (C-25), 26.17 (C-26), 28.12 (C-27), 15.33 (C-28)。以上氢谱和碳谱数据与罗汉松甾酮 A 文献值一致<sup>[3]</sup>。

**II** 的碘化物 类白色晶体, mp 242 ~ 245°C (Dec.)。FAB-MS  $m/z$  (%): 342 ( $M^+$ , 100), 192 (42), 190 (15), 136 (26);  $^1\text{H}$ NMR (DMSO- $d_6$ ) 与  $^{13}\text{C}$ NMR (BB + DEPT) 数据见表 1  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  COSY 和 HMBC 碳氢相关峰。

**III** 的碘化物 黄棕色晶体, mp 222 ~ 225°C (Dec.);  $^1\text{H}$ NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm: 3.23 (2H, t,  $J = 6$  Hz, 5-H), 4.94 (2H, t,  $J = 6$  Hz, 6-H), 3.87 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 3.93 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 4.03 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 4.10 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 7.09 (1H, s, 1-H), 7.70 (1H, s, 4-H), 8.01 (1H, d,  $J = 9.1$  Hz, 11-H), 8.04 (1H, d,  $J = 9.1$  Hz, 12-H), 9.51 (1H, s, 13-H), 9.89 (1H, s, 8-H)。以上氢谱数据与巴马汀文献值相符<sup>[2,4]</sup>。

化合物 **IV** 白色针状结晶, mp 196 ~ 198°C; EI-MS  $m/z$  (%): 426 ( $M^+$ , 69), 218 (100), 203 (57), 189 (28), 分子式  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ , 碎片离子峰与香树脂醇类 a, b 碎片离子峰相符<sup>[5]</sup>;  $^1\text{H}$ NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1 ~ 2 (多个 H, m, 多个  $\text{CH}_2$ ), 0.77 (3H, s', 24- $\text{CH}_3$ ), 0.81 (3H, s, 28- $\text{CH}_3$ ), 0.85 (6H, s, 29, 30- $\text{CH}_3$ ), 0.92 (3H, s, 25- $\text{CH}_3$ ), 0.96 (3H, s, 26- $\text{CH}_3$ ), 0.98 (3H, s, 23- $\text{CH}_3$ ), 1.11 (3H, s, 27- $\text{CH}_3$ ), 3.21 (1H, m, 3-H), 5.16 (1H, t,  $J = 3.95$  Hz, 12-H), 8 个甲基氢谱数据与香树脂醇类文献值一致<sup>[6]</sup>, 由于 8 个甲基信号均为单峰, 提示均为叔甲基, 即 **IV** 为 C-20 上有 2 个甲基的齐墩果烯型  $\beta$ -香树脂醇, 羟基信号由于  $\text{CDCl}_3$  影响未出现, 但 3 位接羟基后碳上的氢化学位移位于低场  $\delta$  3.21 ppm 处。此外,  $\delta$  5.16 烯质子及  $\delta$  1 ~ 2 范围内复杂多重峰显示多个  $-\text{CH}_2-$  信号均支持以上推论, 熔点也与  $\beta$  型文献值 197 ~ 197.5°C 相符<sup>[7]</sup>。

化合物 **V** 白色鳞片结晶, mp 63 ~ 64°C; IR (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 3500 (宽), 1710, 1630, 1590, 1510; EI-MS  $m/z$ : 502 ( $M^+$ ), 分子式  $\text{C}_{32}\text{H}_{54}\text{O}_4$ ;  $^1\text{H}$ NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 0.86 (3H, t,  $J = 7$  Hz,

$\text{CH}_3$ ), 1.23, 1.65 (多个 H, brs, 长链  $\text{CH}_2$ ), 4.17 (2H, t,  $J = 7$  Hz, OCH<sub>2</sub>), 5.86 (1H, br, OH), 6.27 (1H, d,  $J = 16$  Hz, 8-H), 7.59 (1H, d,  $J = 16$  Hz, 7-H), 6.90 (1H, d,  $J = 8$  Hz, 5-H), 7.01 (1H, d,  $J = 1$  Hz, 2-H), 7.05 (1H, dd,  $J = 8, 1$  Hz, 6-H);  $^{13}\text{C}$ NMR (BB + DEPT)  $\delta$  ppm: 14.47 ( $\text{CH}_3$ ), 23.05 ( $\text{CH}_2$ ), 26.34 ( $\text{CH}_2$ ), 29.15 ( $\text{CH}_2$ ), 29.68, 30.60 (多个  $\text{CH}_2$ ), 32.29 ( $\text{CH}_2$ ), 56.30 (OCH<sub>3</sub>), 64.98 (OCH<sub>2</sub>), 109.68 (C-2), 115.07 (C-5), 116.06 (C-8), 123.39 (C-6), 127.43 (C-1), 144.98 (C-7), 147.12 (C-4), 148.27 (C-3), 167.74 (C-9)。以上氢谱、碳谱数据与阿魏酸二十八酯<sup>[8]</sup>及 3-甲氧基-4-羟基反式苯丙烯酸正十八醇酯<sup>[9]</sup> (即反式阿魏酸十八酯) 相应部位文献值一致, 说明化合物 **V** 为阿魏酸脂肪醇酯, 据分子式推定其为阿魏酸二十二酯 (反式)。

致谢 植物学名由海南师范学院钟义教授鉴定; 实验室工作得到内蒙古医学院贾世山教授的指导、结构鉴定工作得到上海药物研究所茅翔老师的帮助。

## 参 考 文 献

- 1 罗献瑞, 赵素云. 中国防己科资料. 广西植物, 1986, 6:51
- 2 Amarendra Patra, Arundhati Ghosh, Alok K. Mitra. Alkaloids of *Stephania glabra*. *J of Medicinal Plant Research*, 1980, 40:333
- 3 Miller RW, Clardy J, Kozlowski J, et al. Phytoecdysteroids of *Diploclisia glaucescens* seed. *Planta Medica*, 1985, 51:40
- 4 方圣鼎, 王怀女, 陈熾, 等. 千金藤属生物碱的研究, 中草药, 1981, 12:1
- 5 丛浦珠. 质谱学在天然有机化学中的应用. 北京: 科学出版社, 1987:694
- 6 Nakanishi K, Goto T, Lto S, et al. Natural products chemistry. New York and London, Tokoy: Kodansha LTD, Academic Press, INC, 1974:357
- 7 江苏新医学院. 中药大辞典, 附编. 上海科技出版社, 1993:318
- 8 Govindachari TR, Parthasarathy PC, Desai HK, et al. Cluytyl ferulate, A new long chain ester from *Gmelina arborea* Linn. & *Lannea grandis* (Dennst). *Indian J Chem*, 1971, 9:1027
- 9 孔令义, 闵知大. 大戟根化学成分的研究. 药学报, 1996, 31:524

## STUDIES ON CHEMICAL CONSTITUENTS OF *TINOSPORA HAINANESIS*

Guo Youying(Guo YY), Lin Lianbo(Lin LB) and Shen Jing(Shen J)

(*Hainan Medical College, Haikou 570102*)

**ABSTRACT** *Tinospora hainanesis* is a new species of Menispermaceae plant. It is used as folk remedy for joint pain and physical injury.

Five compounds were isolated from the vine stalk of *Tinospora hainanesis*. By spectral analysis and chemical methods, the structures of the compounds were identified as makisterone A (I), 2,3-dimethoxy-9,10-dihydroxy-*N*-methyltetrahydroproto-berberine quaternary salt (II), palmatine (III),  $\beta$ -amyrin (IV) and docosyl ferulate (V). II is a new quaternary alkaloid named as haitinosporine. I, IV and V were isolated for the first time from the plants of *Tinospora* genus.

**KEY WORDS** *Tinospora hainanesis*; Makisterone A;  $\beta$ -amyrin; docosyl ferulate; haitinosporine