

齿叶地不容的生物碱成分研究

左爱学, 李莉, 马云淑, 饶高雄*

(云南中医学院药学院, 云南昆明 650500)

[摘要] 目的:研究齿叶地不容 *Stephania dentifolia* 的化学成分。方法:应用氧化铝、硅胶和葡聚糖凝胶 LH-20 等柱色谱方法分离化合物,根据理化性质测试和波谱分析鉴定化合物结构。结果:从齿叶地不容新鲜块茎的稀硫酸提取物中,分离得到 8 个生物碱成分,分别为青风藤碱(sinoacutine, **1**)、青藤碱(sinomenine, **2**)、8-甲氧基青藤碱(cephamonine, **3**)、四氢巴马汀(tetrahydropalmatine, **4**)、卡巴任(capaurine, **5**)、千金藤宁碱(stepharanine, **6**)、(+)-stepharine(**7**)、巴马汀(palmatine, **8**)。结论:所有化合物均为首次从齿叶地不容中分离得到。

[关键词] 齿叶地不容;化学成分;生物碱

防己科千金藤属 *Stephania* 全世界约有 60 种,我国有 39 种,分布于长江流域及其以南各省区,以云南与广西种类最多,部分种具有不规则类球形硕大块根,俗称“山乌龟”,多数在民间药用,具有解热、镇痛、抗菌消炎、止血等功效^[1],从“山乌龟”中已开发了一些疗效确切的现代药物,如具有镇痛作用的的颠痛定(tetrahydropalmatine)、治疗神经衰弱的荷苞牡丹碱(*L-dicentrine*, 痛可宁)^[2],对多种实验性心律失常具有较强的对抗作用的克班宁(*crebanine*)^[3]等。近年来,对千金藤属植物的化学成分和生物活性研究成了天然药物化学研究的一个热点^[4]。前期作者对千金藤属植物河谷地不容 *Stephania intermedia* 块茎的化学成分进行了研究,从河谷地不容中分离得到 7 个化合物,主要为阿朴菲型生物碱和小檗碱型生物碱^[5]。

齿叶地不容 *S. dentifolia* Lo et Yang 属于防己科千金藤属植物,分布于云南南部、老挝、缅甸等地区;千金藤属植物富含生物碱^[6]成分,但目前对齿叶地不容开展化学成分方面的研究报道较少,仅见有光千金藤碱和克班宁的报道^[7];为了进一步探索齿叶地不容的生物活性成分,作者开展了其新鲜块茎的化学成分研究,利用各种色谱方法从其块茎中分离

得到 8 个生物碱,根据理化性质测试及波谱分析,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**)、卡巴任(capaurine, **5**)、千金藤宁碱(stepharanine, **6**)、(+)-stepharine(**7**)、巴马汀(palmatine, **8**)。所有化合物均为首次从齿叶地不容中分离得到。

1 材料

YANACO 显微熔点仪,温度未校正;Finnigan MAT-95 质谱仪;Bruker AM-400 核磁共振波谱仪, TMS 为内标。柱色谱硅胶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、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。

齿叶地不容块根于 2006 年 10 月采于云南省个旧市,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齿叶地不容 *S. dentifolia* 的块根,标本保存于云南省高校天然药物活性成分与功能重点实验室(DBR-2010-JH-10-M)。

2 提取与分离

新鲜的齿叶地不容块根 8 kg,刮去粗皮,切成碎块,用搅拌机磨成糊状,再以 2% 稀硫酸于室温下浸泡提取 2 次,每次加 45 L,浸泡 5 d,不时搅拌以促进溶出。酸水液过滤,合并 2 次酸水提取液,用 20% 氢氧化钠调节 pH 9,依次用氯仿、正丁醇萃取,分别得到氯仿部分(Fr-A, 42 g)和正丁醇部分(Fr-B,

[稿件编号] 20121003001

[基金项目] 云南省自然科学基金重点项目(2002C0006Z)

[通信作者] *饶高雄,教授,主要从事中药化学及中药质量控制研究工作, E-mail: rao13987124569@qq.com

[作者简介] 左爱学,博士,从事天然药物活性成分分离分析方面的研究工作, E-mail: zuoax@163.com

60 g)。

Fr-A 部分 42 g 用 1 kg 氧化铝柱色谱分离,用氯仿-丙酮系统梯度洗脱(19:1~3:7),各流分经薄层色谱检查后合并为 5 个流分。各流分再经硅胶柱色谱分离(石油醚-丙酮-二乙胺 90:10:1~60:40:1),最后经 LH-20 柱色谱(甲醇-氯仿 1:1)纯化,得到化合物 **1**(19 mg),**2**(20 mg),**3**(14 mg),**4**(16 mg),**5**(39 mg),**7**(92 mg)。Fr-B 部分 60 g 用 1.5 kg 硅胶柱色谱分离,以氯仿-甲醇-二乙胺系统梯度洗脱(100:10:1~100:100:1),流分经薄层色谱检查后合并为 3 部分。各部分再经多次氧化铝柱色谱分离(氯仿-甲醇 80:20~55:45)、硅胶柱色谱(氯仿-丙酮-三乙胺 100:10:1~100:50:1),LH-20 柱色谱(甲醇)纯化得到化合物 **6**(88 mg),**8**(450 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1** 无色块状晶体(甲醇);mp 196~198 °C;ESI-MS m/z 328 $[M+H]^+$; 1H -NMR(CDCl₃, 400 MHz) 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, $J=17.6, 5.3$ Hz, H-10a), 3.30(1H, d, $J=17.6$ Hz, H-10b), 1.75(1H, t d, $J=12.6, 4.5$ Hz, H-15a), 2.40(1H, d, $J=12.6$ Hz, H-15b), 2.49(1H, dd, $J=12.4, 3.0$ Hz, H-16a), 2.60(1H, dd, $J=12.4, 3.0$ Hz, H-16b), 2.45(3H, s, N-CH₃), 6.40(1H, br s, 4-OH), 3.74(3H, s, 3-OCH₃), 3.87(3H, s, 6-OCH₃); ^{13}C -NMR(CDCl₃, 100 MHz) δ : 120.5(C-1), 109.5(C-2), 145.4(C-3), 143.4(s-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(C-12), 43.7(C-13), 151(C-14), 32.6(C-15), 47(C-16), 41.7(N-CH₃), 56.3(3-OCH₃), 54.8(6-OCH₃)。以上数据与文献[8]报道的青风藤碱基本一致。

化合物 **2** 无色块状晶体(甲醇);mp 164~165 °C; $[\alpha]_D^{21} - 84.8^\circ$ (c 0.2, 乙醇);ESI-MS m/z 330 $[M+H]^+$; 1H -NMR(CDCl₃, 400 MHz) 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-5a), 4.35(1H, d, $J=16.0$ Hz, H-5b), 5.47(1H, br s, H-8), 3.17(1H, t, $J=4.0$ Hz, H-9), 2.07(1H, dd, $J=12.0, 4.0$ Hz, H-10a), 2.52(1H, dd, $J=12.0, 4.0$ Hz, H-10b), 3.02(1H, br s, H-14), 1.91(2H, m, H-15), 2.70(1H, dd,

$J=18.0, 5.0$ Hz, H-16a), 3.00(1H, dd, $J=18.0, 5.0$ Hz, H-16b), 2.43(3H, s, N-CH₃), 3.48(3H, s, 7-OCH₃), 3.80(3H, s, 3-OCH₃); ^{13}C -NMR(CDCl₃, 100 MHz) 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(C-15), 47.1(C-16), 42.7(N-CH₃), 54.7(3-OCH₃), 56.7(7-OCH₃)。以上数据与文献[9]报道的青藤碱基本一致。

化合物 **3** 浅黄色易吸潮粉末;ESI-MS m/z 360 $[M+H]^+$; 1H -NMR(CDCl₃, 400 MHz) δ : 6.62(1H, d, $J=8.3$ Hz, H-1), 6.53(1H, d, $J=8.3$ Hz, H-2), 2.31(1H, d, $J=16.0$ Hz, H-5a), 4.23(1H, d, $J=16.0$ Hz, H-5b), 3.50(1H, t, $J=3.0$ Hz, H-9), 2.11(1H, dd, $J=12.0, 3.0$ Hz, H-10a), 2.51(1H, dd, $J=12.0, 3.0$ Hz, H-10b), 3.0(1H, d, $J=3.0$ Hz, H-14), 1.81(1H, t d, $J=13.0, 5.0$ Hz, H-15a), 1.94(1H, br d, $J=13.0$ Hz, H-15b), 2.72(1H, dd, $J=18.0, 5.0$ Hz, H-16a), 2.90(1H, dd, $J=18.0, 5.0$ Hz, H-16b), 2.41(3H, s, N-CH₃), 3.36(3H, s, 7-OCH₃), 3.79(3H, s, 3-OCH₃), 4.0(3H, s, 8-OCH₃); ^{13}C -NMR(CDCl₃, 100 MHz) 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)。以上数据与文献[10]报道的 8-甲氧基青藤碱基本一致。

化合物 **4** 无色片状晶体(甲醇);mp 140~142 °C;ESI-MS m/z 356 $[M+H]^+$; 1H -NMR(CD₃OD, 400 MHz) 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-8a), 3.53(1H, d, $J=15.8$ Hz, H-8b), 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); ^{13}C -NMR(CD₃OD, 100 MHz) 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)。以上数据与文献[11]报道的四氢巴马汀基本一致。

化合物5 白色片状晶体(甲醇); mp 187 ~ 190 °C; ESI-MS m/z 372 [M + H]⁺; ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ: 6.26 (1H, s, H-4), 2.73 (3H, m, H-5, 13a), 3.09 (2H, m, H-6a, 13b), 3.69 (1H, dd, $J = 16.0, 3.0$ Hz, H-6b), 3.70 (3H, m, H-8, 13a), 3.84 (9H, s, 3, 9, 10-OCH₃), 3.89 (3H, s, 2-OCH₃), 6.77 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-11), 6.82 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-12), 4.21 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-13a); ¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) 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), 124.0 (C-12), 129.0 (C-12a), 33.0 (C-13), 49.4 (C-13a), 61.0 (2-OCH₃), 55.7 (3-OCH₃), 56 (9-OCH₃), 56.2 (10-OCH₃)。以上数据与文献[12-13]报道的卡巴任基本一致。

化合物6 红色针晶(甲醇); mp >200 °C; ESI-MS m/z 324 [M + H]⁺; ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ: 7.50 (1H, s, H-1), 6.90 (1H, s, H-4), 3.31 (2H, m, H-5), 4.86 (2H, m, H-6), 9.40 (1H, s, H-8), 7.66 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-11), 7.74 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-12), 8.41 (1H, s, H-13), 3.96 (3H, s, 3-OCH₃), 4.07 (3H, s, 9-OCH₃)。以上数据与文献[14]报道的千金藤宁碱基本一致。

化合物7 淡红色针晶(甲醇); mp 180 ~ 181 °C; ESI-MS m/z 298 [M + H]⁺; ¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ: 6.65 (1H, s, H-3), 2.77 (1H, m, H-4a), 2.95 (1H, m, H-4b), 3.20 (1H, m, H-5a), 3.56 (1H, m, H-5b), 4.38 (1H, m, H-6a), 2.42 (1H, dd, $J = 5.5, 11.5$ Hz, H-7a), 2.25 (1H, dd, $J = 5.5, 11.5$ Hz, H-7b), 6.88 (1H, dd, $J = 10.0, 3.0$ Hz, H-8), 6.42 (1H, dd, $J = 10.0, 2.7$ Hz, H-9), 6.30 (1H, dd, $J = 10.0, 2.7$ Hz, H-11), 6.99 (1H, dd, $J = 10.0, 3.0$ Hz, H-12), 3.58 (3H, s, 2-OCH₃), 3.81 (3H, s, 1-OCH₃); ¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz) 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), 56.4 (1-OCH₃), 61.0 (2-OCH₃)。以上数据与文献[15]报道的(+)-stepharine 基本一致。

化合物8 浅黄色针晶(甲醇); mp 205 ~ 207 °C; ESI-MS m/z 375 [M + Na]⁺; ¹H-NMR (DMSO, 400 MHz) 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 (DMSO, 100 MHz) 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), 55.8 (2-OCH₃), 57.0 (3-OCH₃), 61.7 (9-OCH₃), 56.2 (10-OCH₃)。以上数据与文献[16]报道的巴马汀基本一致。

4 结果与讨论

首次对云南产的齿叶地不容进行了化学成分研究,利用各种色谱方法从其块茎中分离得到8个生物碱成分,其中化合物1~3属于吗啡烷型生物碱,化合物4~5属原小檗碱型生物碱,化合物6,8属于小檗碱型生物碱,化合物7属于原阿朴菲型生物碱;所有化合物均为首次从齿叶地不容中分离得到。

研究表明,云南产齿叶地不容的化学成分主要是生物碱类化合物,结构类型以吗啡烷型、原小檗碱型、小檗碱型、原阿朴菲型等为主,这与之前的研究报道^[6]一致。与同属植物河谷地不容的化学成分比较,齿叶地不容所含生物碱的结构类型更加丰富;河谷地不容主要含有阿朴菲型和原小檗碱型生物碱,以阿朴菲型生物碱含量较高;齿叶地不容则含有更多的原阿朴菲型和原小檗碱型生物碱,以小檗碱型生物碱含量较高。研究结果丰富了对齿叶地不容物质基础的认识,增加了对齿叶地不容化学成分的了解;对科学评价“地不容”植物资源的药用价值以及综合利用齿叶地不容资源有一定意义。

[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册 [M]. 北京: 科学出版社, 1996:40.
- [2] 朱兆仪, 冯毓秀, 何丽一, 等. 中国防己科千金藤属药用植物资源利用研究 [J]. 药学学报, 1983, 18(6): 460.
- [3] 李淑仪, 杨秀英. 克班宁药理活性的初步研究 [J]. 中草药, 1989, 20(8): 38.
- [4] Semwal D K, Badoni R, Semwal R, et al. The genus *Stephania* (menispermaceae): chemical and pharmacological perspectives [J]. J Ethnopharmacol, 2010, 132(2): 369.
- [5] 左爱学, 李莉, 饶高雄. 民族药物河谷地不容的生物碱成分研究 [J]. 云南民族大学学报, 2011, 20(1): 17.
- [6] 王宪楷, 赵同芳. 千金藤属植物中生物碱成分的分布及其生物活性 [J]. 中国药学杂志, 1990, 25(1): 3.
- [7] 王方材, 王刚. 齿叶千金藤中克斑宁及1-光千金藤定碱分离与鉴定 [J]. 云南中医学院学报, 1991, 14(3): 41.
- [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(2): 125.
- [12] 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.
- [13] Min Z D, Zhong S M. Studies on the alkaloids of *Stephania kwangsiensis* H. S. Lo. [J]. Acta Pharm Sin, 1980, 15: 532.
- [14] 陈熾, 方圣鼎, 梁栋, 等. 云南地不容生物碱的研究 [J]. 植物学报, 1989, 31(4): 296.
- [15] Hussain R A, Kim J, Beecher C W W, et al. Unambiguous carbon-13NMR assignments of some biologically active protoberberine alkaloids [J]. Heterocycles, 1989, 29: 2257.
- [16] 马兆堂, 杨秀伟, 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.

Akaloids from roots of *Stephania dentifolia*

ZUO Ai-xue, LI Li, MA Yun-shu, RAO Gao-xiong*

(College of Pharmacy, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

[Abstract] Eight alkaloids were isolated from the thin sulfuric acid extracts of the fresh roots of *Stephania dentifolia* by aluminum oxide, silica and Sephadex LH-20 column chromatography methods. Based on the spectroscopic analysis and chemical evidence, the structures of these alkaloids were identified as sinoacutine (**1**), sinomenine (**2**), cephamonine (**3**), tetrahydropalmatine (**4**), capaurine (**5**), stepharanine (**6**), (+)-stepharine (**7**) and palmatine (**8**). All compounds were obtained from this plant for the first time.

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

doi:10.4268/cjcmm20130421

[责任编辑 孔晶晶]