

为研究开发我国 *Psychotria* 属药用植物资源, 同时寻找结构新颖的抗肿瘤活性先导化合物。在前期抗肿瘤活性指导下, 首次对广东产药用植物 *Psychotria* sp. 的化学成分进行系统研究。从其乙酸乙酯部位得到四个酚酸性成分, 采用物理常数对照和现代波谱分析技术对其进行结构研究, 确定其为: 11-*O*-丁香酰矮地茶素 (1)、岩白菜素 (2)、没食子酸 (3) 和没食子酸甲酯 (4)^[5-7]。化合物 1, 2, 3, 4 均首次从此属植物中发现。现代药理研究表明岩白菜素具有止咳、免疫调节、抗病毒、抗凝血及保肝等作用^[8]; 没食子酸主要具有抗肿瘤、抗乙肝病毒、抗艾滋病病毒、杀锥虫等生理活性^[9-10]; 没食子酸甲酯能抑制血小板聚集、心脑血管梗塞和短暂性局部缺血等, 同时还具有抗病毒活性尤其是对 II - 型单纯疱疹效果明显^[11-12]。

1 结果与讨论

化合物 1, 无色针状晶体, FeCl₃ 反应呈阳性。ESI MS m/z : 531 [M + Na]⁺, 推测其相对分子质量为 508, 结合¹H NMR 和¹³C NMR 及 DEPT [23 个 C, 11 个季碳, 8 个 CH, 1 个 CH₂, 3 个 CH₃] 确定分子式为 C₂₃H₂₄O₁₃, 不饱和度 12。δ_C 166.1 (s), 163.7 (s) 说明有两个共轭酯基存在。¹H NMR 5.63 (dd, 12.0, 2.0, 1H), 5.31 (d, 11.4, 1H), 4.68 (m, 2H), 4.48 (m, 2H) 及¹³C NMR δ_C 80.5 (d), 79.8 (d), 74.8 (d), 73.5 (d), 71.6 (d), 64.6 (t) 提示结构中存在饱和连氧碳片段。δ_H 7.21 (s, 1H) 及¹³C NMR δ_C 163.7 (s), 119.0 (s), 110.8 (d), 152.4 (s), 141.5 (s), 148.3 (s), 115.7 (s); 提示结构中存在五取代苯环。δ_C 119.3 (s), 107.7 (d, 2C), 148.8 (s, 2C), 142.7 (s), 166.1 (s) 及 3 个甲氧基碳信号 δ_H 3.99 (br s, 3H, -OCH₃), 3.89 (br s, 6H, -OCH₃), δ_C 59.7 (q), 55.8 (q, 2C) 说明存在一个对称取代的没食子酸结构单元。

将化合物 1 的 NMR 数据与 11-*O*-丁香酰矮地茶素对照^[5-6], 基本一致。确定其为 11-*O*-丁香酰矮地茶素。此化合物首次从 *Psychotria* 属植物中得到。

化合物 2, 无色柱状晶体, FeCl₃ 和 H₂SO₄/EtOH 反应呈阳性。暗示化合物含有芳香酚羟基和醇羟基。ESI MS m/z : 329 [M + H]⁺, 推测相对分子质量为 328, 结合¹H NMR 和¹³C NMR 及 DEPT [14 个 C, 5 个季碳, 6 个 CH, 1 个 CH₂, 1 个 CH₃] 确定分子式为 C₁₄H₁₆O₉, 不饱和度 7。δ_C 164.3 (s)

表 1 化合物 1 和 2 ¹³C NMR 数据

Table 1 ¹³C NMR chemical shifts of the aglycones of 1 and 2 (Pry - D₅)

No.	1		2	
	δ _C * ¹⁾	δ _C (mult)	δ _C *	δ _C (mult)
2	78.5 (d)	79.8 (d)	81.7 (d)	83.5 (d)
3	70.9 (d)	71.6 (d)	70.7 (d)	73.4 (d)
4	73.5 (d)	74.8 (d)	73.7 (d)	75.0 (d)
4a	79.5 (d)	80.4 (d)	79.8 (d)	81.3 (d)
6	163.1 (s)	163.7 (s)	163.2 (s)	164.3 (s)
6a	118.0 (s)	119.0 (s)	117.9 (s)	119.0 (s)
7	109.7 (d)	110.8 (d)	109.5 (d)	111.0 (d)
8	151.0 (s)	152.4 (s)	150.8 (s)	152.7 (s)
9	140.7 (s)	141.5 (s)	140.6 (s)	141.3 (s)
10	148.0 (s)	148.3 (s)	148.0 (s)	148.8 (s)
10a	115.7 (s)	115.7 (s)	115.9 (s)	116.5 (s)
10b	72.1 (d)	73.5 (d)	72.1 (d)	72.1 (d)
11	64.0 (t)	64.6 (t)	61.1 (t)	62.5 (t)
9-OCH ₃	59.7 (q)	59.7 (q)	59.7 (q)	60.2 (q)
1'	119.7 (s)	119.3 (s)		
2'	107.3 (d)	107.7 (d)		
3'	147.7 (s)	148.8 (s)		
4'	141.1 (s)	142.7 (s)		
5'	147.7 (s)	148.8 (s)		
6'	107.3 (d)	107.7 (d)		
7'	165.3 (s)	166.1 (s)		
3'-OCH ₃	56.2 (q)	55.8 (q)		
5'-OCH ₃	56.2 (q)	55.8 (q)		

1) * 为参考文献 NMR 值, 测试溶剂为 DMSO - D₆

说明有共轭酯基存在。¹H NMR δ_H 5.25 (d, 10.4, 1H), 4.69 (t, 10.0, 1H), 4.64 (t, 10.0, 1H), 4.48 (t, 8.4, 1H), 4.31 ~ 4.17 (m, 8.4, 3H); ¹³C NMR δ_C: 83.5 (d), 81.3 (d), 75.5 (d), 73.9 (d), 72.1 (d), 62.5 (t) 提示结构中存在饱和连氧碳片段。δ_H 7.76 (s, 1H) 及¹³C NMR δ_C 152.7 (s), 141.8 (s), 119.5 (s), 116.5 (s), 111.0 (d) 提示结构中存在五取代苯环。1 个甲氧基碳信号 δ_H 3.98 (br s, 3H, -OCH₃), δ_C 60.2 (q)。

将 2 与 1 的 NMR 数据进行对比, 发现二者十分相似。只是比 1 少了一个 3, 5-二甲氧基-没食子酸结构。将 2 的 NMR 数据与岩白菜素对照, 基本一致^[5-6], 且旋光相似 ([α]_D²⁰ -43.2° (c, 0.7, CH₃OH))。综上所述, 确定 2 的结构为 (2*R*, 3*S*, 4*S*, 4a*R*, 10b*S*) - (-) - 岩白菜素。

化合物 3, 无色柱状晶体, FeCl₃ 显蓝黑色。暗示化合物含有酚羟基。EIMS m/z : 170 [M]⁺, 结合 NMR 及 DEPT [7 个 C: 5 个季碳, 2 个 CH]

确定分子式为 $C_7H_6O_5$, 不饱和度 5。 1H NMR 中 δ_H 8.10 (2H, s, H-3 和 H-5) 和 ^{13}C NMR δ_C 171.6 (s), 149.6 (s), 142.5 (s, 2 个 C), 124.9 (s), 112.5 (d, 2 个 C) 说明 3 为结构对称的芳香酸类化合物。将化合物 3 的 NMR 数据与没食子酸^[7]对照, 基本一致。同时将 3 与没食子酸标准品共同进行 TLC 分析, 两者具有相同 R_f 值, 因此确定 3 为没食子酸。

化合物 4, 浅黄色针状晶体, $FeCl_3$ 显蓝黑色, 暗示 4 含有芳香酚羟基。EIMS m/z : 184 $[M]^+$ 和 NMR 显示 4 有 8 个 C (4 个季碳, 2 个 CH, 1 个 CH_3 , 1 个共轭羰基), 确定其分子式为 $C_8H_8O_5$, 不饱和度 5。将化合物 4 的 NMR 数据与 3 比较, 发现二者十分相似, 只是 4 比 3 多了一个甲基信号 [δ_H 3.73 (s, 3H) 和 δ_C 53.6 (s)], 且 δ_C 171.6 (s) 向高场移动至 δ_C 169.6 (s)。将 4 的理化数据与没食子酸甲酯^[7]比较, 基本一致。同时将 4 与没食子酸甲酯进行 TLC 分析, 二者 R_f 值一致; 再将 4 与没食子酸混合点样, 在 TLC 板上只显示样一个斑点, 确定 4 为没食子酸甲酯, 即 3, 4, 5-三羟基苯甲酸甲酯。

2 实验部分

2.1 仪器设备: 北京泰克光学仪器厂 X-6 型熔点仪; POLARTRONIC HH W5 旋光仪 (德国 SCHMIDT + HAENSCH 公司); 英国 VG 公司 ZAB-HS 双聚焦磁质谱仪; 美国 Finnigan 公司 LCQDE-CAXP 高效液相色谱-质谱联用仪; 瑞士 Bruker 公司 AVANCE AV 400 超导核磁共振仪。层析硅胶 (200~300 目) 为青岛海洋化工厂产品; 溶剂和试剂均为广州化学试剂厂分析纯。

实验药材购自广东清平药材市场, 经广州中医药大学中药学院黄海波副教授、彭光天博士鉴定为九节属植物 *Psychotria* sp. 的干燥茎, 样品保存于广州中医药大学中药学院天然药物与质量标准研究室 (编号 PSY07-1)。

2.2 提取及分离

九节属植物 *Psychotria* sp. 干燥茎 (12 kg) 粉碎 (过 20 目筛) 用甲醇室温下渗漉、减压浓缩得深褐色浸膏 (200 g)。浸膏用蒸馏水捏溶, 依次以石油醚 (PE)、乙酸乙酯 (EtOAc), 正丁醇 (n -BuOH) 萃取; 萃取液减压浓缩得 PE 相 (20 g, 褐色浸膏), EtOAc 相 (82 g, 红褐色浸膏), n -BuOH 相 (150 mL, 褐色溶液)。

乙酸乙酯部位 (82 g) 进行硅胶 (200~300

目) 柱层析。以极性逐渐增加的石油醚-乙酸乙酯溶剂体系 (V (PE) : V (EtOAc) = 100:0, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 1:1, 4:6, 2:8, 0:100) 洗脱。TLC 跟踪、得到 19 个流份 (Fr1 ~ Fr-19)。流份 Fr-7 (V (PE) : V (EtOAc) = 7:3) 经反复硅胶柱层析, 以石油醚/丙酮 (PE/ Me_2CO) 体系进行梯度洗脱, 其 V (PE) : V (Me_2CO) = 10:1 依次分离得到化合物 4 (50mg)、3 (200 mg); 流份 Fr-13 (V (PE) : V (EtOAc) = 6:4) 依次经硅胶柱层析 (V (氯仿) : V (甲醇) = 20:1)、凝胶柱层析 (V (洗脱剂甲醇) : V (水) = 40:60) 得化合物 1 (200 mg); 流份 Fr-15 (V (PE) : V (EtOAc) = 4:6) 经硅胶柱层析 (V (PE) : V (Me_2CO) = 3:1) 得化合物 2 (600 mg)。

2.3 化合物的物理常数和波谱数据

化合物 1, 无色针状结晶 (甲醇), θ_{mp} 258 ~ 259 $^{\circ}C$ 。分子式为 $C_{23}H_{24}O_{13}$ 。 $FeCl_3$ 反应呈浅棕色。 $[\alpha]_D^{20} + 24.8^{\circ}$ (甲醇, $c = 0.68$); HPLC-ESI-MS, m/z , 531 $[M + Na]^+$; 1H NMR (Pyr- d_5) δ_H : 11.2 (s, 1H), 9.13 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 5.63 (dd, 12.0, 2.0, 1H), 5.31 (d, 11.4, 1H), 4.68 (m, 2H), 4.48 (m, 2H), 3.99 (s, 3H), 3.89 (s, 6H); ^{13}C NMR (Pyr- d_5) δ_C 数据见表 1。

化合物 2, 无色柱状晶体 (甲醇, 遇光和热变色), θ_{mp} 161 ~ 163 $^{\circ}C$ 。分子式为 $C_{14}H_{16}O_9$ 。 $FeCl_3$ 显蓝黑色, $H_2SO_4/EtOH$ 显红色。 $[\alpha]_D^{20} - 43.2^{\circ}$ ($c = 0.7$, CH_3OH); HPLC-ESI-MS $[M + H]^+$ 329; 1H NMR (Pyr- d_5) δ_H : 12.2 (s, 1H), 9.34 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 5.25 (d, 10.4, 1H), 4.69 (m, 1H), 4.48 (t, 8.4, 1H), 4.31-4.17 (m, 8.4, 2H), 3.98 (br s, 3H); ^{13}C NMR (Pyr- d_5) δ_C 数据见表 1。

化合物 3, 无色针状结晶 (甲醇), θ_{mp} 235 ~ 238 $^{\circ}C$, $FeCl_3$ 显色呈蓝黑色。分子式 $C_7H_6O_5$ 。 EIMS m/z : 170 $[M]^+$, 1H NMR (400 MHz, Pyr- d_5), δ_H : 8.10 (2H, s, H-3 和 H-5); ^{13}C NMR (100 MHz, Pyr- d_5), δ_C : 171.6 (s), 149.6 (s), 142.5 (s, 2 个 C), 124.9 (s), 112.5 (d, 2 个 C)。

化合物 4, 无色针状结晶 (甲醇), θ_{mp} 197 ~ 200 $^{\circ}C$, $FeCl_3$ 显色呈蓝黑色。分子式 $C_8H_8O_5$ 。 EIMS m/z : 184 $[M]^+$, 1H NMR (400 MHz, Pyr- d_5), δ_H : 8.10 (2H, s, H-3 和 H-5); ^{13}C NMR (100 MHz, Pyr- d_5), δ_C : 169.6 (s), 149.5 (s), 142.5 (s, 2 个 C), 124.9 (s), 112.5 (d, 2 个 C)。

(下转第 152 页)

参考文献:

- [1] 刘宇红,姜广路,赵立平,等. 第四次全国结核病流调-结核分枝杆菌耐药性分析与评价[J]. 中华结核和呼吸杂志,2002,25(4):224.
- [2] 王魁民,刘宇红,姜广路,等. 世界卫生组织中国结核病耐药监测的结果评价[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(8):863.
- [3] WEN Lu, CAI Xiaoling, SHE Zhigang, et al. Three metabolites from the mangrove endophytic fungus *Sporothrix* sp. (#4335) from the South China Sea[J]. Journal of Organic Chemistry, 2009, 74(3): 1093-1098.
- [4] HUANG Zhongjing, CAI Xiaoling, SHAO Changlun, et al. Chemistry and weak antimicrobial activities of phomopsins produced by mangrove endophytic fungus *Phomopsis* sp. ZSU-H76[J]. Phytochemistry, 2008, 69: 1604-1608.
- [5] XU Fang, ZHANG Yi, WANG Jiajun, et al. Xyloketal from mangrove fungus *Xylaria* sp. 2508[J]. Journal of Natural Products, 2008, 71(7): 1251-1253.
- [6] CHENG Zhongshan, TANG Wencheng, SU Zhijian, et al. Identification of mangrove endophytic fungus 1403 (*Fusarium proliferatum*) based on morphological and molecular evidence[J]. Journal of Forestry Research, 2008, 19(3): 219-224.
- [7] CHEN Yiguang, SHAO Changlun, HUANG Zhongjing, et al. Structure elucidation and NMR assignments for two amide alkaloids from a mangrove endophytic fungus (No. ZZF-22) [J]. Magnetic Resonance of Chemistry, 2009, 47(1): 92-95.
- [8] LI Jun, LU Yuanyuan, SU Xiaojian, et al. A norsesquiterpene lactone, a benzoic acid derivative from leaves of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinsk and their activities inhibiting glucosidase and glycogen phosphorylase [J]. Planta Medica, 2008, 74: 287-289.
- [9] 魏美燕,胡谷平,郑彩娟,等. 中国南海红树内生真菌 *Microsphaeropsis* sp. 二氢异香豆素类化合物研究[J]. 中山大学学报:自然科学版,2010,49(2):68-71.
- [10] 龚运淮,丁立生. 天然产物核磁共振碳谱分析[M]. 昆明:云南科学技术出版社,2005.

(上接第149页)

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编写委员会. 中国植物志(第72卷)[M]. 北京:科学出版社,2004:47-61.
- [2] 广东省食品药品监督管理局. 广东中药材标准(第一册)[M]. 广州:广东科技出版社,2004:12-14.
- [3] HAYASHI T, SMITH F T, LEE K H. Antitumor agents. 89. Psychorubrin, a new cytotoxic naphthoquinone from *Psychotria rubra* and its structure-activity relationships [J]. J Med Chem, 1987, 30(11): 2005-2008.
- [4] KUO Y C, CHEN C C, TSAI W J, et al. Regulation of herpes simplex virus type 1 replication in Vero cells by *Psychotria serpens*: relationship to gene expression, DNA replication, and protein synthesis [J]. Antiviral Res, 2001, 51(2): 95-109.
- [5] JIA Z H, MITSUNAGA K, KOIKE K, et al. New bergenin derivatives from *Ardisia crenata* [J]. Nat Med, 1995, 49(2): 187-189.
- [6] 韩力,倪慕云. 中药朱砂根化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 1989, 14(12): 737-739.
- [7] FENG W S, GAO L, ZHENG X K, et al. Polyphenols of *Euphorbia helioscopia* [J]. Chin J Nat Med, 2009, 7(1): 37-39.
- [8] 王继良,何瑾,邹澄,等. 岩白菜素的研究进展[J]. 中国民族民间医药杂志, 2006, 83: 321-325.
- [9] 郑民实,陈楚城,段文军. 没食子酸抗HBsAg/HBeAg的实验研究[J]. 实用中医药杂志,1998, 14: 5-7.
- [10] 毕良武,吴在蒿,陈笏鸿,等. 单宁在抗艾滋病研究中的应用[J]. 林产化工通讯, 1998(2): 11-15.
- [11] KOIDE T, NOSE M, INOUE M, et al. Trypanocidal effects of gallic acid and related compounds [J]. Planta Med, 1998, 64(1): 27-30.
- [12] KANE C J, MENNA J H, SUNG C S, et al. Methyl-3,4,5-trihydroxybenzoic acid is a potent and highly specific inhibitor of herpes simplex virus *in vitro*. II. Antiviral activity of methyl gallate and its derivatives [J]. Biosci Rep, 1988, 8(1): 85-94; 95-102.