

中国南海软珊瑚化学成分的研究(X)

一种新喹啉酮衍生物的化学结构及其生理活性

龙康侯 鞠昭年 林永成 许实波 谢琪璇 谢瑞文

(化学系)

(生物学系)

摘 要

从中国南海短指多型软珊瑚 *Sinularia polydactyla* 分离出一种新的喹啉酮衍生物 (Quinolone derivative, 简称Q)*, 分子量191.0587, 分子式 $C_{10}H_9NO_3$, 由各种光谱及x光衍射分析等证实其结构为7-羟基-8-甲氧基-4(1H)-喹啉酮. 生理活性试验表明, Q使小白鼠心脏和脑组织血流量明显增加, 对由脑垂体后叶素所致的急性心肌缺血的保护作用以及常压耐缺氧试验等均有明显的效应; 对由乌头碱引起的心律失常也有缓解作用, 其毒性较低.

七十年代以来, 国内外在对软珊瑚的研究中, 发现了不少结构新颖并具有重要生理活性的化合物. 我们从中国短指多型软珊瑚 *Sinularia polydactyla* 分离出一种新的喹啉酮衍生物(Q), 熔点150—151°C (未校正). 分子量191.0587 (质谱测定), 分子式 $C_{10}H_9NO_3$. 化合物(Q)不但结构独特, 而且具有明显的心血管效应和较低的毒性, 很有可能成为新的心血管药物.

一、化学成分研究

1. 结构推导

(1) 基因证明

①甲氧基 Q 的 1H NMR 谱在 $\delta = 3.82$ (ppm) 有一尖单峰, 含3H, 这是一个连氧的甲基质子吸收峰, 由于该吸收峰的化学位移比通常的甲氧基大, 而且与一般芳环上的甲氧基化学位移相一致, 故此可认为是芳环上的甲氧基, ^{13}C NMR 谱的 $\delta 60.87$ (q) 的信号, 以及质谱上的M-15碎片证明了这一点.

②仲胺基 在 1H NMR谱中, $\delta 11.16$ (1H) 处有一个很低的宽峰, 重水交换后该峰消失, 因为Q分子中含有一个氮原子, 该峰的形状及化学位移都显示存在一个胺基, 该峰只含一个活泼氢, 因而是仲胺基, IR谱也有胺基的特征吸收, 去偶试验还发现其与 $\delta 7.71$ (2H) 处的一个氢有偶合, 同时还与 $\delta 5.95$ 处的氢有远程偶合.

本文1984年2月收到

• 中国科学院南海海洋研究所李楚玢鉴定软珊瑚种属, 中山大学生物系同位素研究室协助做同位素 ^{86}Rb 试验.

③ 酚羟基 化合物Q有另一个活泼氢, $\delta_{10.25}$ 这一区域的吸收峰有可能是酚羟基或羧基的, 如果化合物Q含有羧基, 则在质谱中应有M-45峰, 而在Q的质谱图上却找不到这个峰, 所以 $\delta_{10.25}$ 的氢应当属于酚羟基。

④ 酮基 ^{13}C NMR中 $\delta_{177.44}$ 是羰基碳的吸收, 该化学位移落在羧基、酯基、酮基、醛基的范围内⁽¹⁾。从前面的分析已经知道化合物Q不含羧基, 因此该碳属于羧基的可能性应当排除; 由于 ^{13}C NMR的偏共振中 $\delta_{177.44}$ 为单峰, 故该碳属于醛基可能性也应排除; 红外光谱指出了酯基也应当排除, 这是因为, 即使连在芳环上的酯基其羰基吸收也不会在 1620cm^{-1} 以下。因此可认为Q中含有一个酮基。鉴于红外吸收在 1620cm^{-1} 以下, 且通常酮基的 ^{13}C NMR化学位移远远超过 177.44ppm ⁽²⁾, 因此有理由认为该酮基是 α , β -不饱和的。

⑤ 分子片断—CH=CH—和—NH—CH=CH— ^{13}C NMR谱指出, Q中除了一个羰基碳($\delta_{177.44}$)和一个甲基碳($\delta_{60.87}$)外, 其余8个碳都是碳—碳双键上的不饱和碳($\delta_{108\sim 152}$); ^1H NMR谱显示烯质子 $\delta_{7.69}$ 与 $\delta_{6.9}$ 偶合, 偶合常数8.8证明分子中存在—HC=CH—片断。上面已经提到, 胺基上的活泼氢与 $\delta_{7.71}$ 的氢有偶合, 同时又与 $\delta_{5.95}$ 的氢有远程偶合, 因此Q还应有一个—NH—CH=CH—片断。

⑥ 苯环 已知Q的不饱和度是7。它含有一个羰基和4个碳—碳双键, 一共只用到5个不饱和度, 尚余2个不饱和度, 因此Q应有两个环系。红外光谱的 $1600\text{cm}^{-1}(\text{s})$, $1580\text{cm}^{-1}(\text{s})$ 和 $1500\text{cm}^{-1}(\text{s})$ 指出Q有苯环的骨架振动。 $800\text{cm}^{-1}(\text{s})$ 表明苯上应有两个邻接的氢。紫外光谱的 $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 252, 260nm亦显示苯环的特征吸收。 ^1H NMR中, 片断—CH=CH—上两个质子的化学位移值分别为6.9ppm, 7.69ppm, 和上述的甲氧基质子以及羟基质子的化学位移, 进一步证明了苯环结构。

⑦ 4-喹啉酮骨架(4(1H)-quinolone) 因为Q含有两个环系, 其中的一个为苯环, 另一个环中应包括一个酮基和一个—NH—CH=CH—片断, 故其骨架可能是图1。

(2) 结构式的确定

确定甲氧基和酚羟基的位置: 鉴于分子中必须保留—CH=CH—和—NH—CH=CH—两个片段, 因此两个取代基只能属于苯环, 而且可能取代的类型也只有以下6种(图2)。

将下面6个化合物分别计算苯环上6个碳原子的 ^{13}C NMR化学位移, 再将计算值与测定值进行比较, 根据最佳符合原则, 计算值与测定值最符合的那种结构即为化合物Q的真实结构。计算公式: $\delta_i = 128.5 + Z_{1i}$ ⁽¹⁾。其中 Z_{1i} 为取代苯的取代基经验参数列于表1。

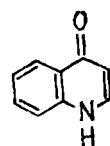


图1

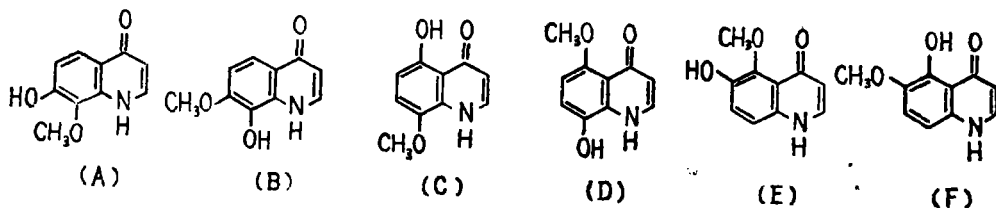


图2

表1 取代苯的取代基常数

x	Z ₁₁	Z ₁₀	Z _{1m}	Z _{1p}
OCH ₃	31.4	-14.4	1.0	-7.7
OH	26.9	-12.7	1.4	-7.3
NH ₂	18.0	-13.3	0.9	-9.8
COCH ₃	9.1	0.1	0.0	4.2

计算结果表明, (A)的计算值与测定值最接近(表2)。

表2 (A)苯环上碳原子的δ_i值

δ _i	计算值	实测值
5	123.2	121.31
6	107	108.62
7	146.1	152.19
8	133.9	136.01
9	133.6	134.66
10	118	120.31

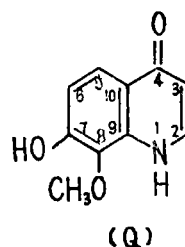


图3

因此(A)应为化合物Q的结构。Q的结构最终为x光单晶衍射方法所证实。

除化合物Q以外,还分离出4个结晶物质。经IR和¹HNMR谱等初步鉴定为直链脂肪酸,鲨肝醇,甲基脲嘧啶等。

2. 实验部分

提取与分离: 将中国海南岛附近浅海采集的短指多型软珊瑚晒干,切碎,用甲醇抽提,将甲醇抽提物进行层析,用不同比例的乙酸乙酯—石油醚和不同比例的甲醇—乙酸乙酯混合溶剂洗提。由5%的乙酸乙酯(石油醚)洗提得直链脂肪酸酯;由20%乙酸乙酯(石油醚)洗提得鲨肝醇;由100%乙酸乙酯洗提得甲基脲嘧啶;由15%的甲醇(乙酸乙酯)洗提得噻啉酮衍生物Q;由40%甲醇(乙酸乙酯)洗提得直链脂肪酸。

Q的粗产品经多次柱层析,并用甲醇和乙酸乙酯混合溶剂反复重结晶,得纯的无色棱柱形晶体1克,含量为软珊瑚干重的0.02%。

光谱数据:

UV: $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm) 227(27600), 232(肩峰 22800)

252(19000), 260(19680), 315(9000), 327(6690)。

IR: ν_{\max}^{KBr} (cm⁻¹) 3220, 3140, 3100, 3060, 2970,

2930, 2650, 2500, 1960, 1890, 1720

1620, 1580, 1560, 1520, 1500, 1460

1430, 1390, 1380, 1320, 1310, 1280

1260, 1200, 1180, 1140, 1090, 1040,

1000, 950, 910, 850, 800, 720。

NMR数据如表3。

表3 化合物Q的NMR数据^a

碳号	¹ HNMR	¹ HNMR(去偶)	¹³ CNMR
1	11.16 (q, J7.2, 1H) ^b	照射11.16	139.56
2	7.71(dd, J7.2, 1H)	7.71(dd变d)	114.82
3	5.95(d, J7.2, 1H)	5.95增高	117.44
4			121
5	7.69(d, J8.8, 1H)	7.69(d, J8.8, 1H)	121.31
6	6.90(d, J8.8, 1H)	6.90(d, J8.8, 1H)	108.62
7	10.25(S, 1H) ^b	10.25(S, 1H)	152.19
8			136.01
9			134.66
10			120.31
OCH ₃	3.82(S, 3H)	3.82(S, 3H)	60.87

a. 仪器FT-80A, 内标TMS, 溶剂DMSO. b. 重水交换消失

MS,

(M+2)⁺ 193.0641(1.43); (M+1)⁺ 192.0621(12.28);
 M⁺ 191.0587(100); (M-1)⁺ 190.0515(7.98);
 M/e 177.0381(5.54); 176.0554(2.29);
 176.0347(51.65); 162.0555(2.91); 149.0441(3.80);
 148.0398(55.64); 133.0531(4.61); 120.0430(15.11);
 119.0370(3.53); 92; 65; 63; 51; 38; 28.

二、生理活性研究

1. 方法与结果

(1) 用⁸⁶Rb测定Q对小鼠心肌、脑组织营养性血流量的影响

选取健康小鼠体重20±2(SD)克, 雌雄兼有, 按文[3.4]方法用拉丁方设计随机进行实验, 分别腹腔注射 1ml/20g 体重的生理盐水、0.05% Q 和 0.05% 潘生丁, 30分钟后从尾静脉注射 ⁸⁶RbCl 生理溶液 0.2μci/0.1ml/20g 体重, 在5秒钟内注完, 30秒钟后立即用颈椎脱臼法处死。取出心脏和脑组织, 分别放进盛有2毫升生理盐水的小玻璃皿内, 洗去组织外表的血液, 取出在滤纸片上吸去水份, 置塑料小盘内锡箔膜片上均匀剪碎, 平铺样品, 用FH-408自动定标器测定心脏及脑组织摄取⁸⁶Rb的放射性强度(脉冲/分), 结果如表4、5。

①心肌营养性血流量的改变(表4)

表4 对小白鼠心肌摄取⁸⁶Rb的影响

组别	动物数 (只)	剂量	心肌摄取 ⁸⁶ Rb数量 (脉冲/分)			心肌血流量 增加率(%)
			$\bar{X} \pm SD$	与生理盐水组 比较	与潘生丁组 比较	
生理盐水	12	1ml/20g	1766 ± 178	—	—	—
潘生丁	12	1ml/20g	2335 ± 234	P < 0.001	P > 0.05	32.2
Q	12	1ml/20g	2350 ± 322	P < 0.001	—	33.1

表4所示,心肌血流量增加率试验组和潘生丁组分别与生理盐水组比较,均具非常显著意义(P < 0.001),试验组与潘生丁组比较,差异不显著(P > 0.05)。提示Q与潘生丁组一样,均能使动物明显增加心肌血流量的作用。

②脑组织血流量的改变(表5)

表5 对小鼠脑组织摄取⁸⁶Rb的影响

组别	动物数 (只)	剂量	脑组织摄取 ⁸⁶ Rb的数量 (脉冲/分)			脑组织血流量 增加率(%)
			$\bar{X} \pm SD$	与生理盐水比较	与潘生丁比较	
生理盐水	12	1ml/20g	62 ± 29	—	—	—
潘生丁	12	1ml/20g	114 ± 38	P < 0.001	—	84
Q	12	1ml/20g	106 ± 35	P < 0.001	P > 0.05	72

表5表明,试验组Q和潘生丁组的脑组织血流量与生理盐水比较,差异均具非常显著的意义(P < 0.001),Q组与潘生丁组比较,差异不显著,(P > 0.05)。提示Q试验组与潘生丁组一样,均具明显增加脑血流量,改善脑供应氧等作用。

(2)对小白鼠常压耐缺氧试验

选取健康小鼠体重20 ± 2克,每组10只,按0.5ml/20g体重剂量尾静脉注射Q样品,对照组注射同容量生理盐水,分别放进预先放有3克(用纱布包扎)干燥的钠石灰的玻璃容器内(容积为80ml),外盖胶塞密封,在常压条件下,观察、计算小鼠呼吸停止时间,结果见表6。

表6 对小白鼠常压耐缺氧的作用

组别	动物数 (只)	剂量 (i. v.)	动物存活时间 (秒)		动物存活时间 延长率(%)
			$\bar{X} \pm SD$	与生理盐水比较	
生理盐水	10	0.5ml/20g	538 ± 88	—	—
Q	10	0.5ml/20g	648 ± 107	P < 0.05	20.7

结果表明,试验组Q能延长小鼠常压缺氧存活时间20.7%,与对照组比较,差异具显著意义(P < 0.05),提示Q具一定抗缺氧耐受能力,可改善心脏对氧的供求关系。

(3) 对脑垂体后叶素引起大鼠心肌缺血的保护作用

选取健康大白鼠体重200~250克,随机分为3组,用20%乌拉坦100mg/100g体重,腹腔注射麻醉,描记第Ⅰ标准导联心电图。选取健康的具正常心电图者进行实验。Q组按10mg/kg体重静脉注射,已知对照组按5mg/kg体重腹腔注射硝酸甘油,生理盐水对照组腹腔注射等容积生理盐水。于腹腔注射30分钟、静脉注射3分钟后,描记给药后心电图,即从尾静脉注射2 μ g/kg脑垂体后叶素,在10秒钟内注完,立即记录15秒、30秒、1分、2分、5分钟的心电图。正常大鼠注射脑垂体后叶素后,判断心电图的缺血性改变⁽⁶⁾,以未出现第一、二期缺血性变化者为阴性,比较给药组与对照组阳性率和阴性率,结果见表7。

表7 对脑垂体后叶素引起大白鼠心肌缺血的保护作用

组别	动物数(只)	剂量	给药途径	脑垂体后叶素剂量	心电图		与生理盐水组比较 χ^2 测验
					阳性数	阴性数	
生理盐水	10	ml/100g	腹腔注射		8	2	—
硝酸甘油	12	5mg/kg	腹腔注射	2 μ g/kg	1	11	P<0.005
Q	12	10mg/kg	尾静脉注射		1	11	P<0.005

结果表明,生理盐水组动物心电图呈严重心肌缺血,阳性率达80%,而Q试验组及硝酸甘油组均只有一只动物出现心肌缺血阳性反应(8.3%),两组与生理盐水组用 X^2 测验比较,差异均具非常显著意义(P<0.005),说明Q与硝酸甘油对脑垂体后叶素引起的急性心肌缺血,均有较明显的保护作用。

(4) 对由乌头硷引起心律失常的缓解作用

选用体重20 \pm 2克健康小鼠,每组10只,试验组按1ml/20g体重腹腔注射Q溶液,即为25mg/kg,对照组用等容积生理盐水腹腔注射。给药后30分钟,用5mg/ml乌头硷按0.4ml/20g体重,尾静脉恒速注射,即100 μ g/kg,1分钟注毕。测定小鼠自注药毕至死亡的时间⁽⁶⁾,结果详见表8。

表8 对乌头硷引起心律失常的缓解作用

组别	动物数(只)	剂量	乌头硷剂量	注射乌头硷后动物存活时间		动物存活时间 延长率(%)
				$\bar{X} \pm SD$	与生理盐水组比较	
生理盐水	10	1ml/20g		400 \pm 119	—	—
Q	10	1ml/20g (25mg/kg)	0.4mg/20g (100 μ g/kg)	723 \pm 237	P<0.01	80.5

结果表明,Q试验组较对照组存活时间延长80.5%,P<0.01,差异有非常显著意义。提示Q有保护心脏功能、显著缓解乌头硷引起心律失常的效应。

(5) 对麻醉猫血压和心率的影响

取健康猫3只,分别静注Q溶液2ml/kg,即1mg/kg,及等容量的生理盐水,给药

后血压、心率稍有轻微波动,平均净升压面积百分比为 $3.4 \pm 2.1\%$,平均心率增加 $0.8 \pm 0.2\%$,与对照组比较,P值均 >0.05 ,差异均无显著意义。提示Q溶液在 1mg/kg 静注对动物血压、心率均无明显影响。

(6) 急性毒性试验

选取健康小鼠体重 20 ± 2 克,每组3只,腹腔注射Q溶液,观察3天死亡率,结果 600mg/kg 组死亡 66.7% , 150mg/kg 组无一死亡。再选取健康小鼠30只,均分为3组,尾静脉注射,观察3天,结果 69.1mg/kg 组无一死亡, 81.3mg/kg 、 95.6mg/kg 组分别死亡 30% 及 40% ,但Q提取物目前尚缺乏,未能进一步作 LD_{50} 试验,从结果分析,Q毒性较小。

2. 讨论

小鼠心肌、脑组织对 ^{86}Rb 摄取量的大小,反映心肌、脑组织血流量的改变,由于液体中晶体物质可被组织细胞所摄取,在一定条件下,血流量愈大,摄取量愈多。实验结果表明,Q具有明显增加心肌、脑组织营养性血流量的作用。在相同剂量及实验条件下,Q增加心、脑血流量的作用,与已知药物潘生丁组作用相似($P > 0.05$),提示Q有改善心、脑代谢以及增加心肌、脑组织供氧量的效应。

缺氧耐力实验反映以脑缺氧为主的心脑缺氧模型。在常压缺氧条件下,Q具有较显著的抗缺氧耐受能力。根据Q增加冠脉、脑流量的实验结果,提示Q可能促使冠脉、脑组织血流量增加,供氧量增多,从而达到提高动物抗缺氧的耐受能力。

用 10mg/kg 体重的Q静脉注射,对急性心肌缺血动物具有显著的保护作用,其阴性率达 91.7% ,与对照组比较,差异非常显著,与已知有效药硝酸甘油的作用相似。脑垂体后叶素引起急性心肌缺血,是由于冠状动脉痉挛,造成急性心肌供血不足,周围血管阻力增加,导致心脏负荷加重、增加心肌耗氧量所致^[5]。Q对急性心肌缺血的保护作用,可能是通过增加冠脉血流量、改善心肌供血状况而得到保护效应。Q对由乌头碱引起小鼠心律失常,有显著的缓解作用,但对其它诱发心律失常的保护作用如何,尚待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] George C, Levy et al, *Carbon-13-Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, New York, 1980, 32.
- [2] E. Breitmaier, W. Voelter, *¹³Cnmr Spectroscopy-Methods and Applications in Organic Chemistry*, New York, 1978, 162-170.
- [3] 中草药同位素药理研究协作组,《放射性同位素在基础医学中的应用》第1版,原子能出版社,北京,1979,150.
- [4] 许实波、钟如芸、冼顺英,中草药,11(1980),6,265.
- [5] 徐叔云、卞如濂、陈修主编,药理实验方法学,第一版,人民卫生出版社,北京,1982年8月,P. 470, 713, 757.
- [6] 徐理纳等,药学报,14(1979),466.

Studies on the Chemical Constituents of the Chinese
Soft Corals Collected from the South China Sea(X)——
Chemical Structure and Physiological Activity
of A New Quinolone Derivative

Long Kanghou Ju Zhaonian Lin Yongcheng
Xu Shibo Xie Qixuan Xie Ruiwen

Abstract

A new quinolone derivative (Q), $C_{10}H_9NO_3$, has been isolated from the Chinese Soft Coral *Sinularia polydactyla*. On the basis of its IR, 1H NMR, ^{13}C NMR and MS spectra, the structure of the compound (Q) has been assigned as 7-hydroxy-8-methoxy-4(1H)-quinolone. It was further elucidated by the X-ray diffraction analysis. The physiological activity test shows that (Q) has marked effect in increasing the circulatory amount of the blood in a white mouse's brain system or its heart system and in protecting the irritable heme deficiency in myocardium caused by the brain pituitrin and in suffering the hypoxia and has some mitigation for the arrhythmia caused by aconitine.