

DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2017.04.006

博落回中苯并菲啶类生物碱外消旋体的分离与鉴定^{*}

赛春梅¹ 华会明² 王建安¹ 王其宝¹ 王慧云¹(¹ 济宁医学院药学院,日照 276826; ² 沈阳药科大学中药学院,沈阳 110016)

摘要 目的 对博落回[*Macleaya cordata*(Willd.) R. Br.]中苯并菲啶类生物碱外消旋体进行分离鉴定。方法 采用硅胶柱色谱、氧化铝、ODS、Sephadex LH-20 柱色谱和制备高效液相色谱、薄层色谱、手性液相色谱等方法进行分离纯化,通过 1D NMR、2D NMR、UV、IR、X-单晶衍射及计算 ECD 等方法对化合物进行结构鉴定。结果 从博落回乙醇提取物中分离得到 11 个化合物,分别鉴定为:(+)-博落回新碱 A(1),(-)-博落回新碱 A(2),(-)-博落回新碱 C(3),(+)-博落回新碱 C(4),(-)-6-丙酮基二氢血根碱(5),(+)-6-丙酮基二氢血根碱(6),(-)-6-丙酮基二氢白屈菜赤碱(7),(+)-6-丙酮基二氢白屈菜赤碱(8),(+)-6-甲氧基二氢血根碱(9),(+)-6-甲氧基二氢白屈菜赤碱(10),(+)-spallidamine(11)。结论 化合物 1~4 为新化合物。

关键词 博落回;苯并菲啶类生物碱外消旋体;手性拆分

中图分类号:R284.1;R284.2 文献标识码:A 文章编号:1000-9760(2017)08-256-08

Isolation and identification of the racemic benzophenanthridine alkaloids from *Macleaya cordata*

SAI Chunmei¹, HUA Huiming², WANG Jianan¹, WANG Qibao¹, WANG Huiyun¹(¹ School of Pharmacy, Jining Medical University, Rizhao 276826, China;² Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: Objective To study the racemic benzophenanthridine alkaloids from *Macleaya cordata*. **Methods** Chromatographic methods were used for the isolation and purification, including opening silica gel, aluminium oxide, ODS, Sephadex LH-20 column chromatography, preparative TLC, semi-preparative HPLC, and chiral HPLC separation. Their structures were elucidated on the basis of 1D, 2D NMR, UV, IR spectroscopic analyses, single-crystal X-ray diffraction, and electronic circular dichroism calculation. **Results** Eleven compounds were isolated from the ethanol extract of *Macleaya cordata*. Their structures were identified as (+)-macleayin A (1), (-)-macleayin A (2), (+)-macleayin B (3), (-)-macleayin B (4), (-)-6-acetonyldihydrosanguinarine (5), (+)-6-acetonyldihydrosanguinarine (6), (-)-6-acetonyldihydrochelerythrine (7), (+)-6-acetonyldihydrochelerythrine (8), (+)-6-methoxyldihydrosanguinarine (9), (+)-6-methoxyldihydrochelerythrine (10), and (+)-spallidamine (11). **Conclusion** Compounds 1~4 were new compounds.

Keywords: *Macleaya cordata*; Racemic benzophenanthridine alkaloids; Chiral HPLC separation

博落回(*Macleaya cordata*(Willd.) R. Br.)是罂粟科(*Papaveraceae*)博落回属(*Macleaya* R. Br.)多年生草本植物。我国长江以南、南岭以北的大部分省区均有分布,生长于海拔 150~830m 的丘陵或低山林中、灌丛中或草丛间^[1]。博落回,性苦、辛,寒,大毒。散瘀,祛风,解毒,止痛,杀虫,主治一

切恶疮,顽癣,湿疹,蛇虫咬伤,跌打肿痛,风湿痹痛等。有报道临床用于治疗滴虫性阴道炎,痔疮合并感染,酒皴鼻等^[2]。文献报道,博落回中生物碱有抗肿瘤、抗菌、杀虫等多种药理活性,且博落回是医药、兽药、生物农药原料,是纯天然绿色“三药”产品。本课题组对该植物的乙醇提取物进行了化学成分的研究。从中分离得到 11 个化合物,其中 4 个新化合物,命名为(+)-博落回新碱 A(1),

* [基金项目]国家自然科学基金资助项目(81172958)

(-)-博落回新碱 A(2), (-)-博落回新碱 C(3), (+)-博落回新碱 C(4)。7 个已知化合物, 鉴定为 (-)-6-丙酮基二氢血根碱(5), (+)-6-丙酮基二氢血根碱(6), (-)-6-丙酮基二氢白屈菜赤碱(7), (+)-6-丙酮基二氢白屈菜赤碱(8), (±)-6-甲氧基二氢血根碱(9), (±)-6-甲氧基二氢白屈菜赤碱(10), (±)-spallidamine(11)。报道如下。

1 实验仪器与材料

1.1 仪器

UV 光谱仪: Shimadzu UV-2201 spectrometer (岛津企业管理有限公司, 日本)。红外光谱仪: Bruker IFS-55 spectrometer (布鲁克股份公司, 德国), KBr 压片。ECD: Bio-logic MOS 450 spectropolarimeter (大连华洋分析仪器有限公司, 中国)。核磁共振波谱仪: Bruker AVANCE III HD NMR spectrometer 和 Bruker AVANCE-600 NMR spectrometer (布鲁克股份公司, 德国), TMS 做内标。HRESIMS 质谱仪为 Bruker micrOTOF-Q mass spectrometer (布鲁克股份公司, 德国)。X-射线单晶衍射仪: Gemini E X-ray single crystal diffractometer (安捷伦科技有限公司, 美国)。高效液相色谱仪: 制备高效液相色谱 (Shimadzu) (岛津企业管理有限公司, 日本), 检测器 (Shimadzu SPD-20A UV detector), 泵 (LC-6AB pump), 色谱柱 (YMC ODS-A, 5m, 250mm × 20mm)。分析高效液相色谱仪: Shimadzu LC-20AB, 检测器 (DAD detector SPD-20MA) (岛津企业管理有限公司, 日本)。手性拆分用色谱柱: Daicel Chiralpak IB, IC (250 × 4.6mm)。旋光仪: Anton Paar MCP 200 PolarimeterM [安东帕 (上海) 商贸有限公司, 中国]。

1.2 试剂

柱色谱用硅胶 (200 ~ 300 目、100 ~ 200 目) 和薄层色谱用硅胶 GF254 (青岛海洋化工厂); 中性氧化铝 (200 ~ 300 目, 上海陆都化学试剂厂); ODS 柱色谱填料 (100 μm, 日本 YMC 公司); Sephadex LH-20 (GE Healthcare)。常规用试剂均为 AR 级; 10% 硫酸乙醇溶液、碘化铋钾溶液显色剂均按《中草药有效成分提取分离》方法配制。

1.3 药材

博落回药材购于河北省安国药材大市场, 经沈阳药科大学中药学院中药资源教研室路金才教授鉴定为罂粟科博落回属植物博落回 [Macleaya cor-

data (Willd.) R. Br.] 的地上部分。

2 提取与分离

取二氯甲烷萃取物 500g, 经硅胶柱色谱进行分离, 用石油醚-丙酮系统 (100:5, 100:10, 100:20, 100:50, 100:100, 0:100, v/v) 进行梯度洗脱, 得到 6 个流份 Fr. A ~ F。Fr. A 再经硅胶柱色谱进行分离, 以石油醚-乙酸乙酯系统 (100:0, 100:3, 100:5, 100:8, 100:20, v/v) 进行梯度洗脱, 得到 5 个亚流份 Fr. A1 ~ A5, Fr. A5 经过氧化铝柱色谱, 石油醚-乙酸乙酯系统梯度洗脱, 得流份 Mixture I 和 Mixture II, Mixture I 再过 Sephadex LH-20 柱色谱, 以 CH₂Cl₂: MeOH = 1:1 的溶剂洗脱, 重结晶得到化合物 5 和 6 的混合物 (8.5mg), 再经过手性 HPLC 制备, 得到化合物 5 (0.95mg), 6 (0.95mg), 重结晶的剩余样品再经硅胶柱色谱, 石油醚-乙酸乙酯-丙酮系统梯度洗脱, 重结晶 (化合物 7 和 8 的混合物, 9.0mg) 后再用手性 HPLC 制备, 得到化合物 7 (0.97mg), 8 (0.97mg)。Fr. D1 ~ Fr. D5 剩余部分分别过 Sephadex LH-20 柱色谱, MeOH 或 CH₂Cl₂: MeOH = 1:1 的溶剂洗脱, 流份分别通过 TLC, 喷改良碘化铋钾试剂检视生物碱, 显色为阳性的流份合并在一起, 得到生物碱混合物 23.9g, 该生物碱部分再经过 ODS 柱色谱。60% MeOH 洗脱的 Fr. 41 ~ 45 经过制备液相色谱和手性 HPLC 纯化, 得到化合物 3 (1.8mg), 4 (1.8mg)。65% MeOH 洗脱的 Fr. 67 ~ 77 甲醇不溶解的部分过 Al₂O₃ 柱色谱, 石油醚-乙酸乙酯系统梯度洗脱, 再过 Sephadex LH-20, CH₂Cl₂: MeOH = 1:1 的溶剂洗脱, 重结晶 (化合物 1 和 2 的混合物, 25mg) 纯化后再经过手性液相色谱法制备, 得到化合物 1 (0.8mg), 2 (0.8mg)。Fr. E 经过硅胶吸附柱色谱, 以 CH₂Cl₂-MeOH 系统 (100:0, 200:1, 100:1, 100:2, v/v) 梯度洗脱, 得到 4 个亚流份 Fr. E1 ~ E4, Fr. E1 再经过 ODS 柱色谱, MeOH-H₂O 系统梯度洗脱, 制备液相色谱纯化得到化合物 11 (4.0mg), E1 经过 Sephadex LH-20, CH₂Cl₂: MeOH = 1:1 的溶剂洗脱, 重结晶, 再经手性 HPLC 制备, 得到化合物 9 (1.0mg), 10 (4.5mg)。

3 结构鉴定

3.1 4 个新化合物的结构鉴定

本课题组对该植物的乙醇提取物进行了化学

成分的研究,从中分离得到 11 个化合物,其中 4 个为新化合物和 7 个已知化合物。化合物 1~11 化

学结构见图 1。

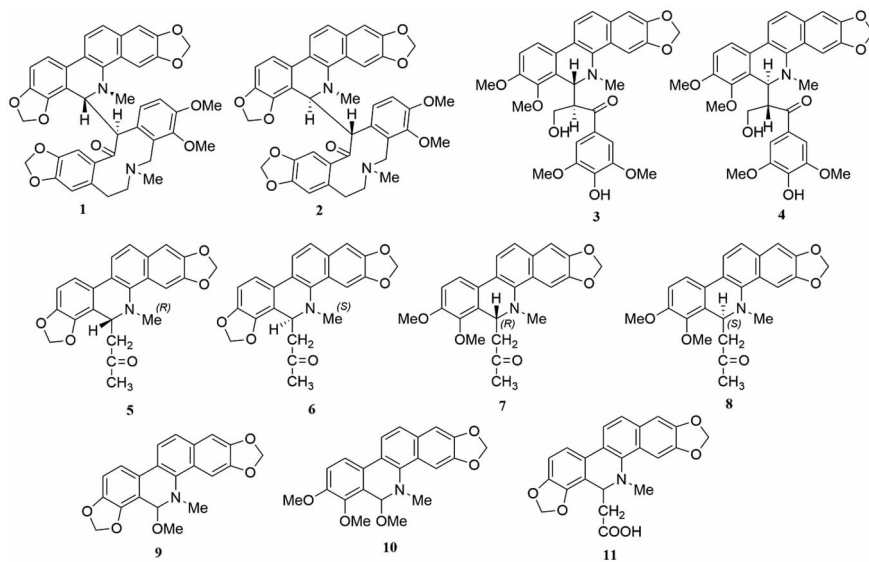


图 1 化合物 1~11 的化学结构

化合物 1 和化合物 2: 化合物 *macleanin A* 为白色粉末。改良碘化铋钾显橘黄色,推测为生物碱类化合物。HRESIMS 给出准分子离子峰 m/z 701. 2489 [$M + H$] + (计算值为 701. 2494), 确定该化合物分子式为 $C_{41}H_{36}N_2O_9$, 其不饱和度为 25。紫外光谱中最大吸收峰 λ_{max} : 230, 288 nm。红外光谱 (KBr) 中给出羰基 (1668cm^{-1})、亚甲二氧基 ($2792, 939\text{cm}^{-1}$) 和苯环 ($1619, 1485, 1463\text{cm}^{-1}$) 吸收峰。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) 谱中显示有 3 个 AB 自旋系统的芳香氢信号 δ_H 7. 68 (1H, d, $J = 8.5\text{Hz}$), 7. 46 (1H, d, $J = 8.5\text{Hz}$), 7. 12 (1H, d, $J = 7.9\text{Hz}$), 6. 57 (1H, br s), 7. 50 (1H, br s), 7. 07 (1H, d, $J = 8.1\text{Hz}$), 苯环对位的 2 个芳香氢信号 δ_H 7. 01 (1H, s), 6. 61 (1H, s), 3 组亚甲二氧基质子信号 δ_H 6. 11 (1H, d, $J = 1.5\text{Hz}$), 5. 95 (1H, br s), 5. 92 (1H, d, $J = 1.4\text{Hz}$), 5. 90 (1H, d, $J = 1.4\text{Hz}$), 5. 91 (1H, d, $J = 1.2\text{Hz}$), 5. 89 (1H, d, $J = 1.2\text{Hz}$), 2 个甲氧基质子信号 δ_H 3. 95 (3H, s), 3. 46 (3H, s) 和 2 个 N- CH_3 质子信号 δ_H 2. 49 (3H, s), 1. 52 (3H, s)。 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) (表 1) 结合 HSQC 谱显示有 40 个碳信号, 其中有 28 个芳香碳, 3 个亚甲二氧基碳 δ_C 101. 7, 101. 4 和 100. 9, 2 个甲氧基碳 δ_C 60. 9, 56. 1, 2 个 N- CH_3 碳 δ_C 41. 6, 40. 9, 3 个亚甲基碳 δ_C 57. 3, 48. 4, 33. 9, 2 个 sp^3 次甲基碳 δ_C 57. 3, 52. 7。与苯并菲啶类生物碱比较^[3,4], 该化合物可能

是一个苯并菲啶类生物碱的二聚体。高分辨质谱显示该化合物分子式有 41 个碳, 所以碳谱中缺一个碳信号。

在 ^1H NMR 信号中, 有 2 对邻位偶合的芳香氢 δ_H 7. 68 (H-11), 7. 46 (H-12) 和 7. 12 (H-10), 6. 57 (H-9), 2 个对位的芳香氢 δ_H 7. 01 (H-1) 和 6. 61 (H-4), 2 组亚甲二氧基氢 δ_H 6. 11 (1H, d, $J = 1.5\text{Hz}$), 5. 95 (1H, br s), 5. 91 (1H, d, $J = 1.2\text{Hz}$), 5. 89 (1H, d, $J = 1.2\text{Hz}$), 1 个 N- CH_3 δ_H 2. 49 (3H, s)。在 ^{13}C NMR 及 HSQC 谱中也存在与上述氢对应的碳信号。HMBC 谱中存在 H-1/C-3, C-4a, C-12; H-4/C-2, C-4b, C-12a; H-10/C-6a; H-11/C-4b, C-10a, C-12a; H-12/C-1, C-4a, C-10b; 5-N- CH_3 /C-6, C-4b; 2 组 $-\text{CH}_2\text{O}-$ /C-2, C-3, C-7, C-8 相关 (图 2)。以及在 $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY 谱中存在 H-9/H-10 和 H-11/H-12 的相关 (图 2)。HRESIMS/MS 谱中显示了 m/z 332. 0969 ($\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{NO}_4$) 血根碱碎片峰。以上信息均证明该二聚体中存在 6-取代二氢血根碱部分^[3,4]。剩余 ^1H NMR 信号有 3 个芳香氢信号 δ_H 7. 50 (1H, br s), 7. 07 (1H, br d), 6. 23 (1H, s), 1 组亚甲二氧基氢信号 δ_H 5. 92 (1H, d, $J = 1.4\text{Hz}$), 5. 90 (1H, d, $J = 1.4\text{Hz}$), 2 个甲氧基信号 δ_H 3. 46 (3H, s), 3. 95 (3H, s), 3 个亚甲基信号 δ_H 2. 56 (1H, br s), 1. 96 (1H, d, $J = 15.0\text{Hz}$), 2. 39 (1H, d, $J = 10.3\text{Hz}$), 1. 81 (1H, br s), 3. 07 (1H, d, $J =$

13. 2Hz), 2. 32(1H, br s), 碳谱中给出相应的碳信号。以上数据与别隐品碱^[5]相似, 除了¹³C NMR 谱中缺少羰基信号, ¹H NMR 谱中缺少一个芳香氢信号, 表明可能存在别隐品碱部分。所以推测该化合物可能是由二氢血根碱和别隐品碱组成的二聚体, 且在 C-6 和 C-13' 位通过碳-碳键直接相连, 在¹H-¹H COSY 谱中存在 H-6/H-13' 的相关, 证明了该推测。

化合物(±)-*macleayin* A 的相对构型是通过关键的 NOESY 实验确定的(图 2)。在 NOESY 相关中看不到 H-6 和 H-13' 的相关, 且这两个氢的偶

合常数为 9. 3Hz, 说明这两个氢处于相反的两个面上。然而, 由于缺少关键的碳信号(C-14')、氢信号(H-1')以及部分关键的 HMBC 相关信号, 不能完全确定该化合物的结构, 幸运的是我们成功培养了适合做单晶衍射的晶体。采用 Cu 靶测试, 显示 Flack parameter 为 N, 中心对称的空间群($p2_1/c$), 结果表明该化合物是外消旋体^[6], 且旋光数据 $[\alpha]_D^{25}$ (c 0. 2, CH₂Cl₂) 为 0, 证明其是外消旋体。解析单晶衍射, 结果表明该外消旋体包括(6R, 13' R) 和(6S*, 13'S*)二种构型异构体。见图 3。

表 1 博落回新碱 A 的¹H 和¹³C NMR 数据(in CDCl₃)

Position	δ_H (multi, J, in Hz)	δ_C	Position	δ_H (multi, J, in Hz)	δ_C
1	7. 01 (s)	104. 0	6'	2. 39 (d, 10. 3)	
2		147. 5		1. 81 (br s)	57. 3
3		147. 8	8'	3. 07 (d, 13. 2)	
4	6. 61 (s)	100. 8		2. 32 (br s)	48. 4
4a		127. 8	8'a		130. 8
4b		139. 2	9'		147. 0
6	4. 81 (d, 9. 3)	57. 3	10'		150. 6
6a		115. 3	11'	7. 07 (br d, 8. 1)	110. 8
7		144. 8	12'	7. 50 (br s)	125. 4
8		147. 0	12'a		131. 5]
9	6. 57 (br s)	107. 2	13'	4. 51 (br s)	52. 7
10	7. 12 (br d, 7. 9)	116. 6	14'		-a
10a		125. 6	14'a		135. 1
10b		124. 5	5-N-CH ₃	2. 49 (s)	40. 9
11	7. 68 (d, 8. 5)	119. 8	7'-N-CH ₃	1. 52 (s)	41. 6
12	7. 46 (d, 8. 5)	124. 0	2,3-OCH ₂ O-	5. 91 (d, 1. 2)	
12a		130. 8		5. 89 (d, 1. 2)	101. 4
1'	-a	111. 6	7,8-OCH ₂ O-	6. 11 (d, 1. 5)	
2'		145. 6		5. 95 (br s)	100. 9
3'		148. 6	2',3'-OCH ₂ O-	5. 92 (d, 1. 4)	
4'	6. 23 (s)	110. 2		5. 90 (d, 1. 4)	101. 7
4'a		130. 4	9'-OCH ₃	3. 46 (s)	60. 9
5'	2. 56 (br s)		10'-OCH ₃	3. 95 (s)	56. 1
	1. 96 (d, 15. 0)	33. 9			

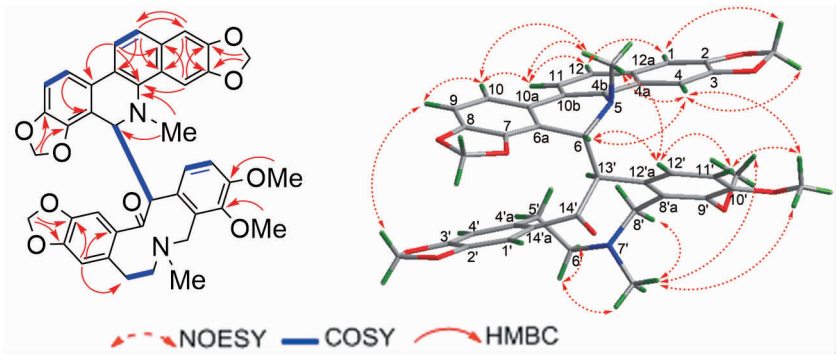
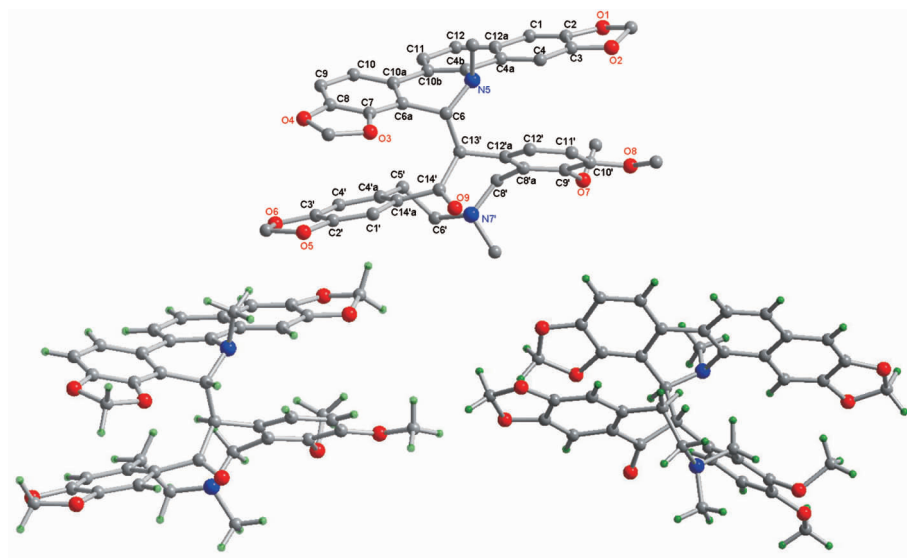


图 2 博落回新碱 A 的 HMBC、¹H-¹H COSY、NOESY 相关图



(+) -macleayin A(6R,13'R) (-) -macleayin A(6S,13'S)

图 3 博落回新碱 A 的单晶衍射图

该外消旋体的手性拆分是采用 HPLC 色谱法, 用 Daicel Corporation 的手性柱 CHIRALPAK IB (250mm×4.6mm), 流动相为正己烷: 乙醇: 二乙胺 = 40: 60: 0.1, 流速为 1.0 ml/min, 拆分为比例为 1: 1 的 1 和 2, 手性拆分的 HPLC 色谱图见图 4。

拆分后的二个对映异构体是通过计算 ECD 确定其绝对构型^[7]。输入单晶衍射确定的构象为优势构象, 1、2 构象都进行含时密度泛函理论电子圆二色谱 (TDDFT ECD) 计算, 得到预测的计算 ECD 图谱, 将计算的 ECD 图谱和实验测得的 ECD 图谱进行比对, 确定其绝对构型。实验及计算 ECD 图谱见图 5, 1 的实测 ECD 图谱与 (6R, 13'R) 计算的 ECD 图谱一致, 2 的实测 ECD 图谱与 (6S, 13'S) 计算的 ECD 图谱一致, 表明 1 绝对构型为 6R, 13'R, 2 的绝对构型为 6S, 13'S。测定其比旋光度为 1: $[\alpha]_D^{20}$ (c 0.05, MeOH) + 254, 2: $[\alpha]_D^{20}$ (c 0.05, MeOH) - 230。化合物 1 和 2 为未见文献报道的新化合物, 故命名 1 为 (+)-博落回新碱 A [(+)-macleayin A], 2 为 (-)-博落回新碱 A [(-)-macleayin A]。

化合物 3 和化合物 4: 化合物 (±)-macleayin C 为无色簇晶 (二氯甲烷: 甲醇 = 1: 1)。HRESIMS 给出准分子离子峰 m/z 596. 1892 $[M + Na]^+$ (calcd. 596. 1891), 确定该化合物分子式为 $C_{32}H_{31}NO_9$, 其不饱和度为 18。紫外光谱中最大吸收峰 λ_{max} : 227, 281, 320nm。红外光谱 (KBr) 中给出羰基 (1659 cm^{-1}) 和苯环 ($1605, 1492, 1464\text{ cm}^{-1}$) 吸收

峰。

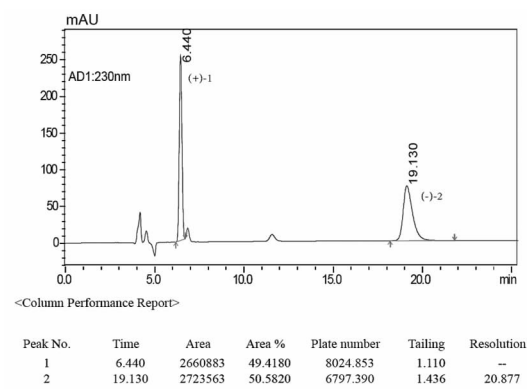


图 4 (-)-博落回新碱 A 的手性液相色谱图

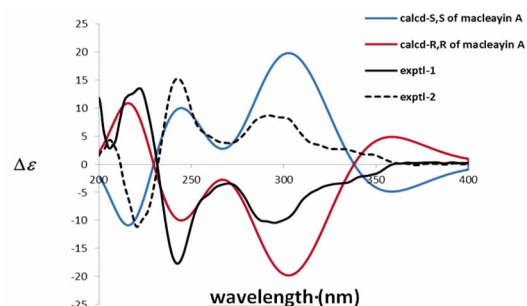


图 5 化合物 1 和 2 的实验和计算 ECD 图谱

^{13}C NMR (100MHz, DMSO-d_6) 共显示 32 个碳信号 (表 2), 高场区有 4 个甲氧基碳信号 (δ 60.5, 55.8, 55.3 $\rightarrow$ 2), 1 个氮甲基碳信号 (δ 41.6); 1 个羟甲基碳信号 δ 61.8 (C-9'), 2 个次甲基碳信号 δ 49.5 (C-8') 和 58.4 (C-6); 低场区有 14 个芳香季

碳信号(δ 151.7, 146.8, 146.8, 146.7 $\Rightarrow$ 2, 145.9, 140.3, 138.9, 130.1, 128.8, 126.5, 125.9, 124.2, 123.0), 8 个芳香次甲基碳信号(δ 123.6, 119.4, 119.2, 112.3, 105.5 $\Rightarrow$ 2, 103.3, 99.6), 共有 22 个芳香碳信号, 初步推测化合物中应有 4 个苯环, 而且有 2 个苯环骈合在一起; 此外低场区还给出 1 个亚甲二氧基碳信号(δ 100.9) 和 1 个羰基碳信号 δ 201.0(C-7')。见表 2。

表 2 博落回新碱 C 的 NMR 数据(DMSO-d₆)

Position	¹³ C NMR	¹ H NMR(J in Hz)	HMBC(HC)
1	103.3	7.12(s)	C-3,4a,12
2	146.8		
3	146.8		
4	99.6	6.44(s)	C-2,4b,12a
4a	126.5		
4b	138.9		
6	58.4	4.57(d, 11.0)	C-4b,7,10a,7',8',9',N-CH ₃
6a	125.9		
7	145.9		
8	151.7		
9	112.3	7.14(d, 8.6)	C-7,8,10a
10	119.2	7.66(d, 8.6)	C-6a,8,10b
10a	124.2		
10b	123.0		
11	119.4	7.85(d, 8.6)	C-4b,10a,12a
12	123.6	7.53(d, 8.6)	C-1,4a,10b
12a	130.1		
1'	128.8		
2',6'	105.5	6.58(s)	C-2',4',6',7'
3',5'	146.7		
4'	140.3		
7'	201.0		
8'	49.5	3.54(ddd, 11.0, 10.6, 3.6)	C-6,6a,7',9'
9'	61.8	3.16(ddd, 10.4, 3.7, 3.6)	
		3.82(ddd, 10.6, 10.4, 7.4)	C-7',8'
2,3-OCH ₂ O-	100.9	6.07, 5.81(each d, 1.0)	C-2,3
N-CH ₃	41.6	2.33(s)	C-4b,6
7-OCH ₃	60.5	3.84(s)	C-7
8-OCH ₃	55.8	3.90(s)	C-8
3',5'-OCH ₃	55.3	3.41(s)	C-3',5'
4'-OH		8.96(br s)	
9'-OH		4.21(dd, 7.4, 3.7)	C-8',9'

¹H NMR recorded at 600MHz, ¹³C NMR recorded at 100MHz.

¹H NMR(600MHz, DMSO-d₆) (表 2) 谱图中可以观察到 8 个芳香氢信号 δ 7.85(1H, d, J = 8.6Hz), 7.66(1H, d, J = 8.6Hz), 7.53(1H, d, J = 8.6Hz), 7.14(1H, d, J = 8.6Hz), 7.12(1H, s), 6.58(2H, s), 6.44(1H, s)。根据偶合裂分及¹H-¹H COSY, 推测 δ 7.85(H-11) 和 7.53(H-12), δ 7.66(H-10) 和 7.14(H-9) 分别是两个苯环上两组相邻氢信号, δ 7.12(1H, s, H-1) 和 δ 6.44(1H, s, H-4) 为同一苯环对位上的两个氢信号; δ 6.58(2H, br s, H-2', 6') 应为苯环上对称的 2 个氢; 低场区还有 1 个酚羟基信号 δ 8.96(1H, br s, 4'-OH), 1 组亚甲二氧基氢信号 δ 6.07(1H, d, J = 1.0Hz), 5.81(1H, d, J = 1.0Hz)。在高场区, 存在 2 个次甲基氢信号 δ 3.54(1H, ddd, J = 11.0, 10.6, 3.6Hz, H-8') 和 δ 4.57(1H, d, J = 11.0Hz, H-6); 1 个亚甲基的 2 个氢信号 δ 3.82(1H, ddd, J = 10.6, 10.4, 7.4Hz, H-9'a), 3.16(1H, ddd, J = 10.4, 3.7, 3.6Hz, H-9'b); 4 个甲氧基的氢信号 δ 3.90(3H, s), 3.84(3H, s), 3.41(6H, s); 1 个氮甲基的氢信号 δ 2.33(3H, s); 1 个羟基氢信号 δ 4.21(1H, dd, J = 7.4, 3.7Hz, 9'-OH)。根据以上信息推测该化合物为苯并菲啶类生物碱。

在 HMBC 谱中, 芳香氢信号 δ 7.67(H-10) 与芳香季碳 δ 123.0(C-10b), 125.9(C-6a) 有相关; 芳香氢信号 δ 7.14(H-9) 与芳香季碳 δ 124.2(C-10a), 145.9(C-7), 151.7(C-8) 有相关, 且在¹H-¹H-COSY 谱中, δ 7.67, 7.14 存在相关; 甲氧基氢信号 δ 3.90 和 δ 3.84 分别与芳香季碳 δ 151.7(C-8), 145.9(C-7) 有相关, 故确定结构片段 I 存在。见图 6。

芳香氢信号 δ 7.85(H-11) 与芳香季碳 δ 124.2(C-10a), 130.1(C-12a), 138.9(C-4b) 存在 HMBC 相关; 芳香氢信号 δ 7.53(H-12) 与芳香碳 δ 103.3(C-1), 123.0(C-10b), 126.5(C-4a) 有相关, 且在¹H-¹H COSY 谱中, δ 7.85, 7.53 存在相关; 芳香氢信号 δ 7.12(1H, s, H-1) 与芳香碳 δ 123.6(C-12), 126.5(C-4a), 146.8(C-3) 有相关; 芳香氢信号 δ 6.44(1H, s, H-4) 与芳香季碳 δ 130.1(C-12a), 138.9(C-4b), 146.8(C-2) 有相关; 亚甲二氧基的氢信号 δ 6.07(1H, d), 5.81(1H, d) 与芳香季

碳 δ 146.8 (C-2,3) 有相关, 故确定结构片段 II。见图 6。

苯环上呈对称的 2 个氢 δ 6.58 (2H, s, H-2', 6') 与芳香碳 δ 128.8 (C-1'), 140.3 (C-4'), 146.7 (C-3') 和羰基碳 δ 201.0 (C-7') 存在相关, 甲氧基氢信号 δ 3.41 (6H, s) 与芳香碳 (δ 146.7) 存在相关, 表明存在 3,5-二甲氧基-4-羟基苯甲酰基片段。氮甲基氢信号 δ 2.33 与次甲基碳 δ 58.4 (C-6) 和芳香季碳 δ 138.9 (C-4b) 存在相关, 次甲基氢信号 δ 4.57 (H-6) 与甲基碳 δ 41.6 (N-CH₃)、次甲基碳 δ 49.5 (C-8')、亚甲基碳 δ 61.8 (C-9') 和芳香季碳 δ

124.2 (C-10a), 125.9 (C-6a), 138.9 (C-4b), 145.9 (C-7) 存在相关; 次甲基氢 δ 3.54 (H-8') 与碳 δ 58.4 (C-6), 61.8 (C-9'), 125.9 (C-6a), 201.0 (C-7') 存在相关; 亚甲基氢信号 δ 3.82 (H-9'a), 3.16 (H-9'b) 与碳信号 δ 49.5 (C-8'), 201.0 (C-7') 存在相关; 羟基氢信号 δ 4.22 (9'-OH) 与碳 δ 49.5 (C-8'), 61.8 (C-9') 存在相关; 且在 1H-1H COSY 谱中, δ 4.57 (H-6) 和 3.54 (H-8') 存在相关, δ 3.54 (H-8') 和 3.82 (H-9'a)、3.16 (H-9'b) 存在相关, δ 3.82 (H-9'a) 和 3.16 (H-9'b) 存在相关, 故确定结构片段 III。见图 6。

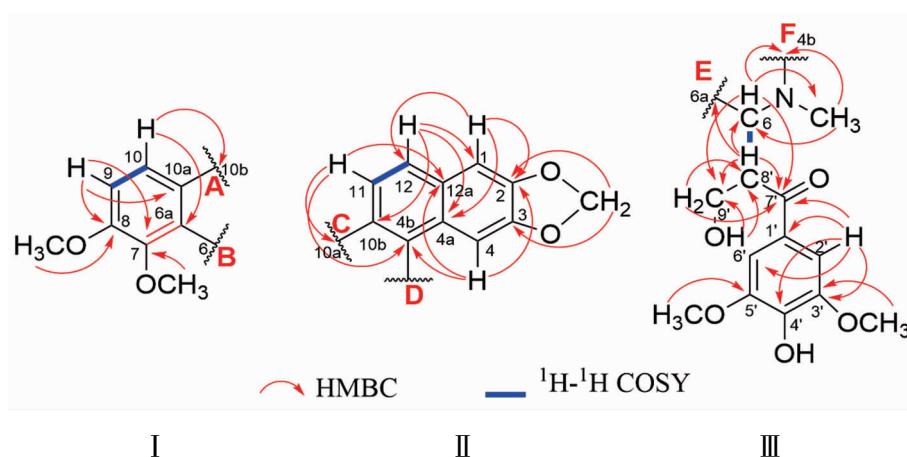


图 6 博落回新碱 C 的 HMBC、¹H-¹H COSY 相关图

根据 H-10 与 C-10b, H-11 与 C-10a 的 HMBC 相关, 确定结构片段 I 的 A 端 (C-10a) 与结构片段 II 的 C 端 (C-10b) 相连, 即是二氢白屈菜碱部分^[8-9]; N-CH₃ 信号与 C-4b 相关, H-6 与 C-4b, C-6a, C-7, C-10a 存在相关, 表明结构片段 I 的 B 端 (C-6a) 与结构片段 III 的 E 端 (C-6) 相连, 结构片段 II 的 D 端 (C-4b) 与结构片段 III 的 F 端 (N 原子) 相连。综上确定了该化合物的平面结构。相对构型的确定是通过 H-6 和 H-8' 的耦合常数为 $J = 11.0$ Hz, 且在 NOESY 谱中观测 H-6 和 N-CH₃、H-9'b 有相关, H-8' 和 H-9'a 相关 (图 7), 故 H-6 和 H-8' 处于相反的面。故该化合物是由苯并菲啶类生物碱和苯丙素类通过 C-C 键相连的杂合体。

化合物 *macleayin* C 的比旋光度为 $[\alpha]_D^{25} 0$ (c 0.16, CHCl₃), 推测该化合物可能是外消旋体。用手性 HPLC (Chiralpak IC 手性柱 (250mm × 4.6mm)) 分析, 流动相为正己烷: 无水乙醇: 二乙胺

= 35: 65: 0.1, 流速 1.0 ml/min, 检测波长 280 nm, 分析结果 (图 8) 显示有 2 个峰面积比为 1:1 的色谱峰, 进一步证明 *macleayin* C 是外消旋体, 并用此条件制备 2 个对映异构体 3 和 4。

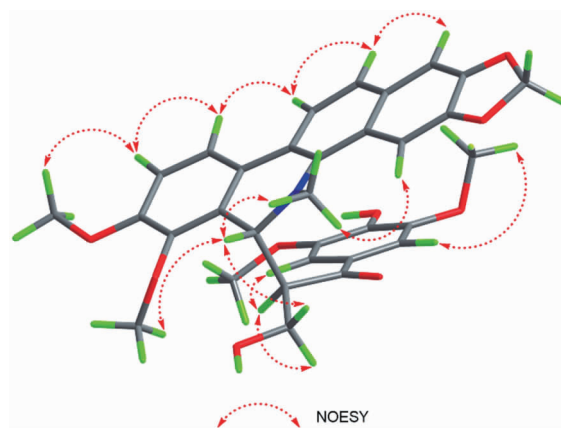


图 7 博落回新碱 C 的 NOESY 相关图

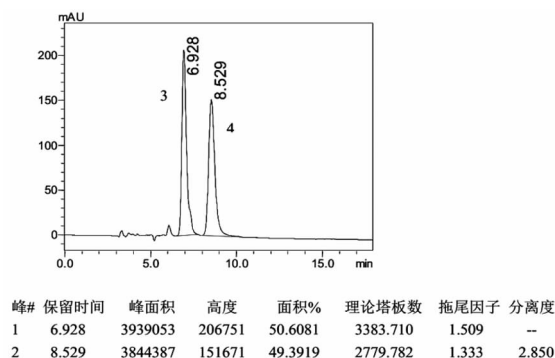


图 8 (±)-博落回新碱 C 的手性液相色谱图

3 和 4 的绝对构型是通过计算 ECD 方法(图 9)确定的,化合物 3 实测 ECD 图谱与(6R,8'R)-*macleayin* C 的计算 ECD 图谱基本一致,化合物 4 实测 ECD 图谱与(6S,8'S)-*macleayin* C 的计算 ECD 图谱基本一致,所以确定化合物 3 的绝对构型是 6R,8'R,4 的绝对构型是 6S,8'S。比旋光度分别为 3: $[\alpha]_D^{20} = -85.6$ (c 0.18, MeOH) 和 4: $[\alpha]_D^{20} = +94.4$ (c 0.18, MeOH)。化合物 3 和 4 为未见文献报道的新化合物,命名化合物 3 为(-)-博落回新碱 C[(-)-*macleayin* C],4 为(+)-博落回新碱 C[(+)-*macleayin* C]。

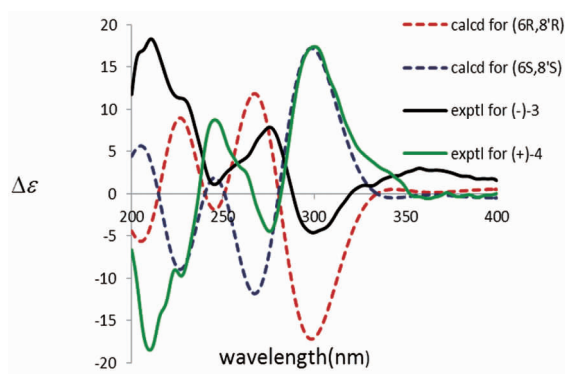


图 9 化合物 3 和 4 的实验、计算 ECD 图谱

3.2 7 个已知化合物的结构鉴定

本课题组对另外 7 个已知化合物也进行了鉴定,分别为(-)-6-丙酮基二氢血根碱(5),(+)-6-丙酮基二氢血根碱(6),(-)-6-丙酮基二氢白屈菜赤碱(7),(+)-6-丙酮基二氢白屈菜赤碱(8),(+)-6-甲氧基二氢血根碱(9),(+)-6-甲氧基二氢白屈菜赤碱(10),(+)-spallidamine(11)。

4 小结

从博落回中分离鉴定出 7 对生物碱外消旋体,其中有 4 对外消旋体成功采用手性 HPLC 法进行了拆分,并采用计算 ECD、ECD 的方法鉴定了其绝对构型,另有三对还没有找到合适的方法对其拆分。外消旋体的发现和拆分,对后续化合物的活性研究及化学合成工作有一定的指导意义,为博落回资源的进一步开发利用奠定了理论基础。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志辑委员会. 中国植物志第 32 卷[M]. 北京:科学出版社,1999:78.
- [2] 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,2006:3198-3200.
- [3] Julián A., Delgado G. (±)-Bocconarborines A and B, novel 1,3-bis-benzo[c]phenanthridinyl acetone alkaloids from Bocconia arborea[J]. Revista de la Sociedad Química de México, 2001, 45(4):189-194.
- [4] 叶冯芝,冯锋,柳文媛. 博落回的生物碱成分[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(13):1683-1686.
- [5] Seger C, Sturm S, Strasser E M, et al. ¹H and ¹³C NMR signal assignment of benzyloquinoline alkaloids from *Fumaria officinalis* L. (Papaveraceae) [J]. Magnetic Resonance in Chemistry, 2004, 42(10):882-886. DOI: 10.1002/mrc.1417.
- [6] Geng CA, Chen XL, Zhou NJ, et al. LC-MS guided isolation of (±)-sweriledugenin A, a pair of enantiomeric lactones, from *Swertia leducii* [J]. Org Lett, 2014, 16(2):370-373. DOI:10.1021/ol403198d.
- [7] Wang KB, Di YT, Bao Y, et al. Peganumine A, a β-carboline dimer with a new octacyclic scaffold from *Peganum harmala* [J]. Org Lett, 2014, 16(15):4028-4031. DOI:10.1021/ol501856v.
- [8] Deng AJ, Qin HL. Cytotoxic dihydrobenzophenanthridine alkaloids from the roots of *Macleaya microcarpa* [J]. Phytochemistry, 2010, 71(7):816-822. DOI: 10.1016/j.phytochem.2010.02.007.
- [9] Miao F, Yang XJ, Zhou L, et al. Structural modification of sanguinarine and chelerythrine and their antibacterial activity[J]. Nat Prod Res, 2011, 25(9):863-875. DOI: 10.1080/14786419.2010.482055.

(收稿日期 2017-07-05)

(责任编辑:林琳)