

190512

美登素类大环化合物的色谱分离 和 质 谱 鉴 定

I. 三种卫矛科植物中三个抗癌剂的分离和鉴定*

李朝明 李炳钧 朱吉祥

(中国科学院云南热带植物研究所)

周韵丽 黄丽瑛 登美南茜 林林琳琳

(中国科学院上海药物研究所)

川四自采美料茶陳

风娘林限七 邓巽

Kupchan, S. M. 等首次从卫矛科美登木属齿叶美登木 *M. serrata* 得到新的抗癌成分美登素^[1]以来, 至今国外仅从布昌南美登木 *M. buchananii*, 卫矛科甫台里卡属植物 *Putterlickia verrucosa*^[2]和鼠李科蛇藤属的 *Colubrina texensis* Gray.^[3]等少数几种植物中分到美登素类化合物。

我国从云南美登木 *M. hookeri* Loes. 分到美登素^[4]后, 相继从细梗美登木 *M. gracililamula*^[5]和广西美登木 *M. guangsiensis*^[6], 密花美登木 *M. confertiflorus*^[7]及裸实属 *Gymnosporia*** 中的变叶裸实 *G. deversifolia* Maxim (*Celastrus diversifolius* Hemsl)^[8], 贵州裸实 *G. esquirolii* (Levl.)^[9]等植物中也分到美登素类化合物。

我们从我国云南省和四川省不同地区已采到的10种美登木和裸实属植物中均检查到有美登素类化合物存在。

这些工作不仅为我国发掘了美登素类化合物的植物新资源, 同时还说明了美登素类化合物绝非偶然存在于某些少数植物体中, 而且很有可能是美登木属和裸实属植物所共有, 而成为美登木属和裸实属植物很有价值的植物化学分类学特征。对目前在植物分类学中主张把裸实属植物合并于美登木属的意见^[10], 提供植物化学分类学的支持。

由于美登素类化合物在植物体中含量极微, 通常只有千万分之二左右, 分离、鉴定往往很困难。在我们以往的工作中通常要几十公斤以至几百公斤样品, 一年以至几年的时间, 才能完成一种植物样品的美登素类化合物的分离和鉴定。

最近, 我们以水稻纹枯菌 *Peilicularia sasakii* (Shirai) 和实验动物肿瘤作为活性检测, 使用柱层析, 制备性薄层层析, 高效液相层析分离技术结合质谱鉴定的方法从植

* 参加工作的还有许秀坤同志。陶国达、余彩、孙吉良等同志提供植物样品。

** 分类学工作者已将国产裸实属植物并入美登木属^[10], 但为了便于进一步作植物化学分类学论证, 本文仍暂用此名。

物中分离鉴定美登素类化合物,灵敏度和可靠性很高。只需1—2公斤植物样品,1—2月时间即可完成一种植物的这类化合物的分离、鉴定,从而使我们有可能在一个较短的时期内把我国含美登素类化合物的植物资源基本搞清楚。同时对其他超微量成分的分离和鉴定也将有一定的启发。

本文着重报道,应用这一方法从滇南美登木 *Maytenus austroyunnanensis* S. J. Pei & Y. H. Li, sp. nov.、槲状美登木 *Maytenus herbertoides* (W. W. Sm.) S. J. Pei & Y. H. Li, comb. nov.、刺茶裸实 *Gymnosporia variabilis* (Hemsl.) Loesn 中成功地分离和鉴定了美登素 maytansine (I)、美登普林 maytanprine (II) 和美登布丁 maytanbutine (III) 等美登素类化合物,为我国又找到了三种新的含美登素类化合物的植物资源。

实 验

植物材料:滇南美登木采自云南省景洪县小勐养,槲状美登木采自云南省宾川县,刺茶裸实采自四川。

提取:分别称取风干粉碎的滇南美登木2.7公斤,槲状美登木3公斤,刺茶裸实2公斤,用95%酒精提取,提取物用乙酸乙酯萃取,乙酸乙酯液依次用冷的5%氢氧化钠和冷的3%盐酸洗,然后用水洗至中性。分别得中性产物(S)69克、39.5克、24.2克。

乙酰化:中性物S用醋酐和吡啶在室温下乙酰化15小时,减压蒸去剩余醋酐和溶剂得乙酰化物。

溶剂分配:乙酰化物溶解于四氯化碳中用20%水/甲醇分配,将20%水/甲醇液稀释为35%水/甲醇液,用氯仿萃取,氯仿萃取液用冷的3%盐酸洗,然后水洗至中性,经无水硫酸钠干燥,减压蒸干分别得活性部位(W)1克、1克、0.44克。

氧化铝制备性薄层层析分离:将槲状美登木、刺茶裸实的活性部位W用氯仿为展开剂,经中性层析氧化铝(过180目)板(200×200×1.5毫米),点样量每块板150~200毫克,作制备性薄层层析分离。在254nm紫外分析灯下按不同萤光色带从上至下(原点)分为8带,槲状美登木6、7、8带合并得176毫克,刺茶裸实6、7、8带合并得41.5毫克。

氧化铝干柱层析分离:滇南美登木W部位1克以氯仿作为展开剂,经中性氧化铝干柱层析分离,用254nm紫外分析灯检测从上(原点)至下分为7段,2、3段活性最高,合并得83.1毫克,编号dc-(2+3)。

硅胶柱层析分离:将槲状美登木和刺茶裸实的氧化铝PTLC产物分别用不同比例的二氯甲烷—甲醇作洗脱剂进行硅胶柱层析分离,经硅胶GF₂₅₄板层检测,槲状美登木的美登素类化合物集中在NO2(Ber2, 1.5%甲醇/二氯甲烷),34.9毫克,NO4(Ber4, 2%甲醇/二氯甲烷),9.2毫克。刺茶裸实美登素类化合物集中在1.5%和2%甲醇/二氯甲烷中,得量26.3毫克。

硅胶GF₂₅₄制备性薄层层析分离:硅胶GF₂₅₄(青岛、黄岩、E. Merck, 10~40μ),展开剂3%甲醇/乙酸乙酯和3%甲醇/氯仿,板:12×12厘米,硅胶GF₂₅₄1克加水3毫升,凉干后100℃烘20分钟备用,点样量3—5毫克。

滇南美登木的dc-(2+3),83.1毫克,以3%甲醇/乙酸乙酯展开,得活性部位

dp 2, 3.6毫克, (可供高效液相层析分离纯化), dp 5, 7.38毫克, 进一步经 3 % 甲醇/氯仿展开, 得 dp 5—3, dp 5—4 (可供高效液相层析分离纯化)。

槲状美登木的NO 2 (Ber 2), 以 3 % 甲醇/氯仿展开得 Ber 2—1 和 Ber 2—2, 分别进一步用 3 % 甲醇/乙酸乙酯展开得活性部位 Ber 2—1—a, Ber 2—2—d (供高效层析)。

NO 4 (Ber 4), (可直接供高效层析)

刺茶裸实的流份以 3 % 甲醇/乙酸乙酯展开得活性部位 M—1, 3.4毫克 (可供高效层析), M—2, 8.5毫克, 以 3 % 甲醇/乙酸乙酯展开得 M₂—a 和 M₂—b, 再次分别用 3 % 甲醇/氯仿展开, 得活性部位 M₂—a—3 和 M₂—b—2 (可供高效层析)

高效液相层析分离

仪器: GYS—3 型高效液相层析仪 (附 254nm 紫外检测器), 柱: (不锈钢 200 × 5 mm 内径) 填充硅胶 (粒度 5 μ)。

层析条件: 流动相为 4.5 % 甲醇/二氯甲烷, 流速 0.8 毫升/分钟。

将 dp 2, dp 5—3, dp 5—4, Ber 4, Ber 2—1—a, Ber 2—2—d, M—1, M₂—a—3, M₂—b—2 进行高效液相层析 (见图 1—图 9), 分别收集相应的峰, 每个峰的收集量为微克级, 得 dp 2—(a) 峰, dp 5—3—(b) 峰, dp 5—4—(a) 峰, Ber 4—(1) 峰, Ber 2—1—a—(1) 峰, Ber 2—2—d—(1) 峰, M—1—(a) 峰, M₂—a—3—(c) 峰, M₂—b—2—(b) 峰。

滇南美登木、槲状美登木、刺茶裸实活性提取物的分离流程见表 I, 表 II, 表 III。

表 I. 滇南美登木活性提取物的分离

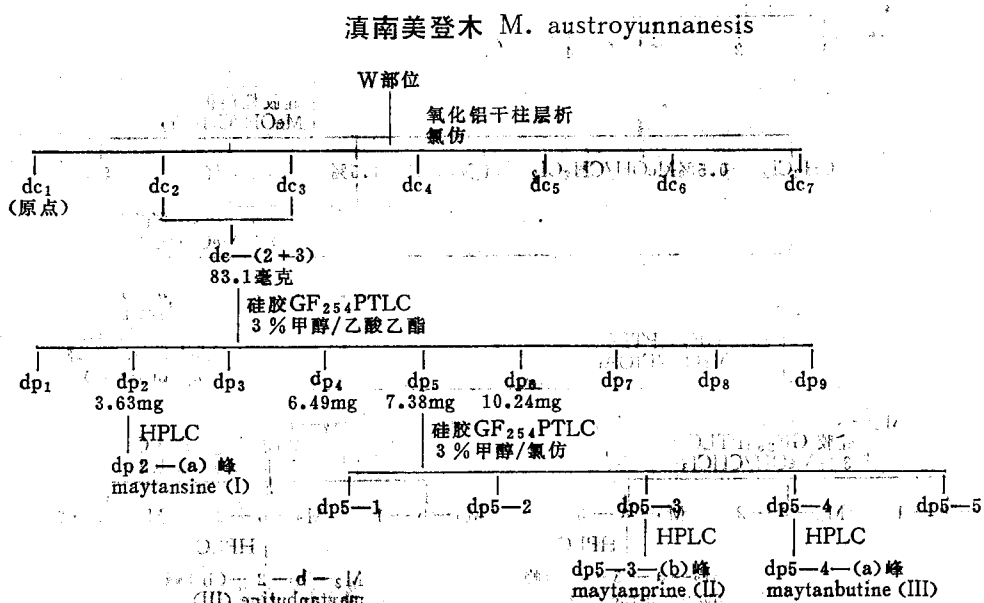


表 II. 檠状美登木活性提取物的分离

收率 0.8 : 0.96

檠状美登木 *M. berberoides*

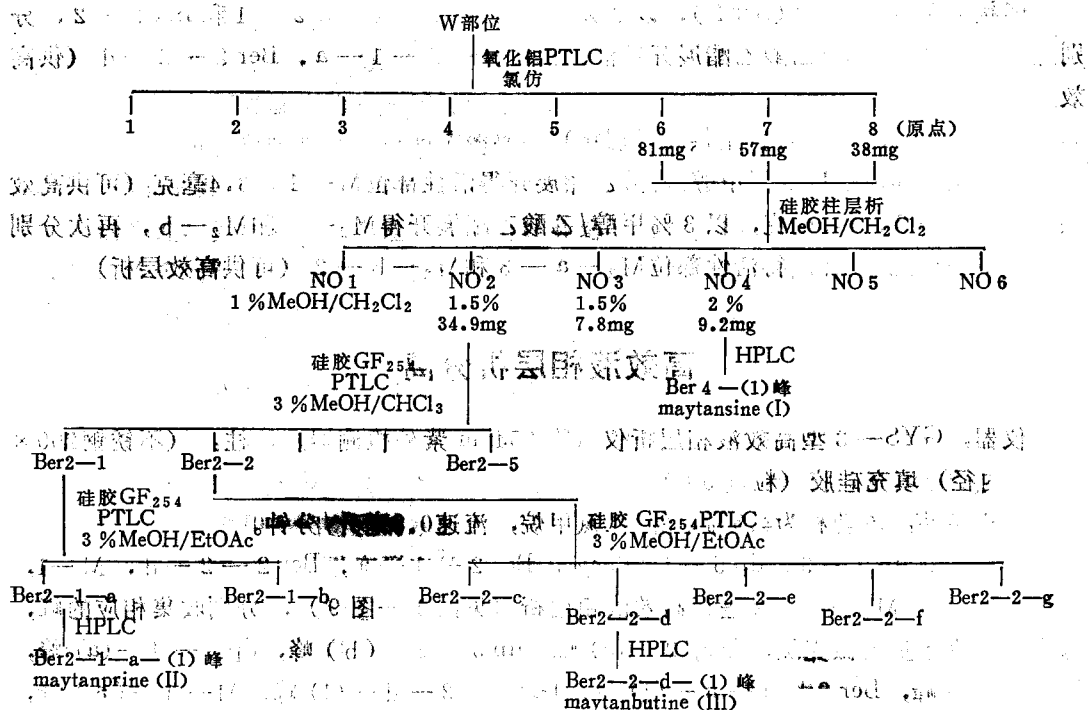
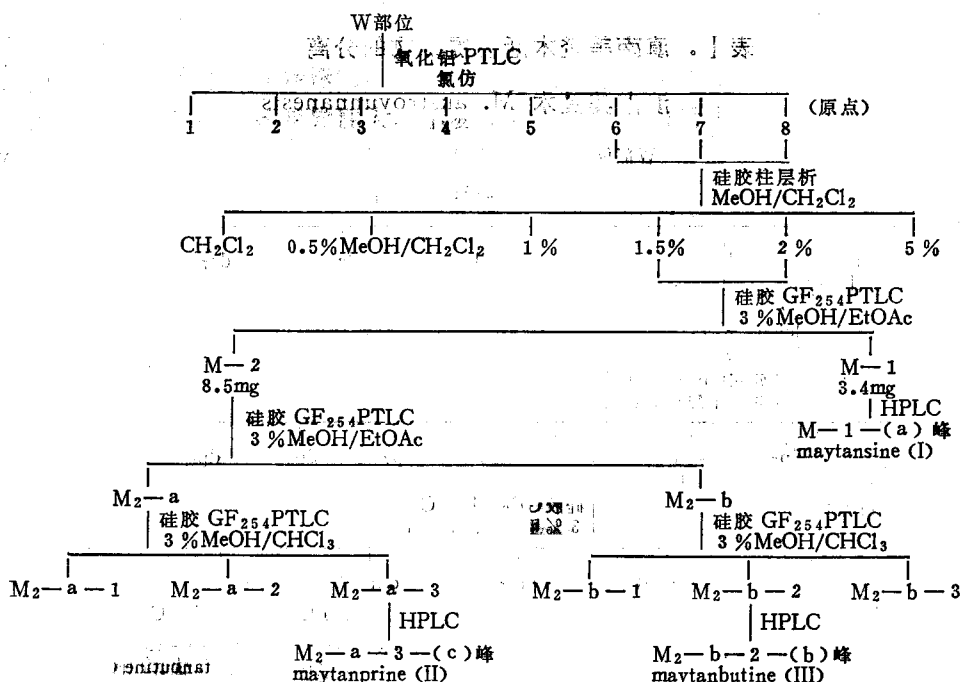


表 III. 刺茶裸实活性提取物的分离

刺茶裸实 *G. variabilis*

收率 0.8 : 0.96

刺茶裸实 *G. variabilis*



质 谱 鉴 定

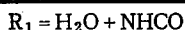
仪器: MAT—711 (varian) 质谱仪。

操作条件: 采用直接进样法, 电子能量70eV, 分辨率1000。

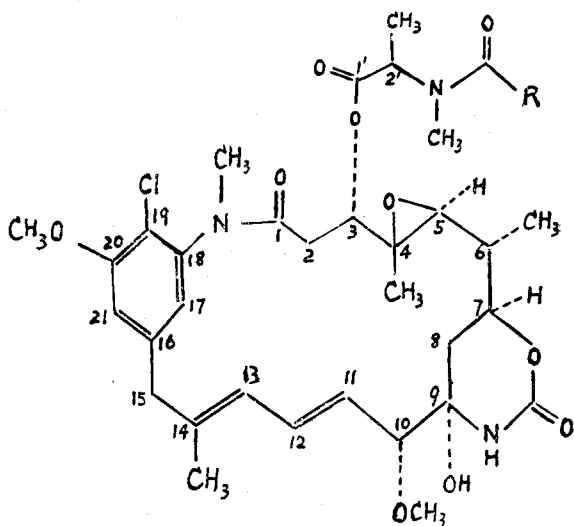
dp 2—(a)峰, dp 5—3—(b)峰, dp 5—4—(a)峰, Ber 4—(1)峰, Ber 2—1—a—(1)峰, Ber 2—2—d—(1)峰, M—1—(a)峰, M₂—a—3—(c)峰, M₂—b—2—(b)峰等, 分别经质谱分析, 结果见表Ⅳ。

表Ⅳ. 化合物的分子离子和特征碎片

名称	编 号	M	M-R ₁	M-R ₁ R ₂	485-CH ₃	485-Cl	R ₂ -COOH	R ₂ -OH	化合物
滇南美登木	dp 2—(a) 峰	691	630	485	470	450	100	128	(I)
	dp 5—3—(b) 峰	705	644	485	470	450	114	142	(II)
	dp 5—4—(a) 峰	719	658	485	470	450	128	156	(III)
槲状美登木	Ber 4—(1) 峰	691	630	485	470	450	100	128	(I)
	Ber 2—1—a—(1) 峰	705	644	485	470	450	114	142	(II)
	Ber 2—2—d—(1) 峰	719	658	485	470	450	128	156	(III)
刺茶裸实	M—1—(a) 峰	691	630	485	470	450	100	128	(I)
	M ₂ —a—3—(c) 峰	705	644	485	470	450	114	142	(II)
	M ₂ —b—2—(b) 峰	719	658	485	470	450	128	156	(III)



根据分子离子和特征碎片峰证明: 从滇南美登木中得到的dp 2—(a)峰为美登素 maytansine (I), dp 5—3—(b)峰为美登普林 maytanprine (II), dp 5—4—(a)峰为美登布丁 maytanbutine (III)。从槲状美登木中得到的Ber 4—(1)峰为美登素 maytansine (I), Ber 2—1—a—(1)峰为美登普林 maytanprine (II), Ber 2—2—d—(1)峰为美登布丁 maytanbutine (III)。从刺茶裸实中得到的 M—1—(a)峰为美登素 maytansine (I), M₂—a—3—(c)峰为美登普林 maytanprine (II), M₂—b—2—(b)峰为美登布丁 maytanbutine (III)。



maytansine (I) R=CH₃
 maytanprine (II) R=CH₂CH₃
 maytanbutine (III) R=CH₂(CH₂)₂

2001年報告
 圖1 (a) 樣品 dp2
 圖2 (b) 樣品 dp5-3
 圖3 (a) 樣品 dp5-4

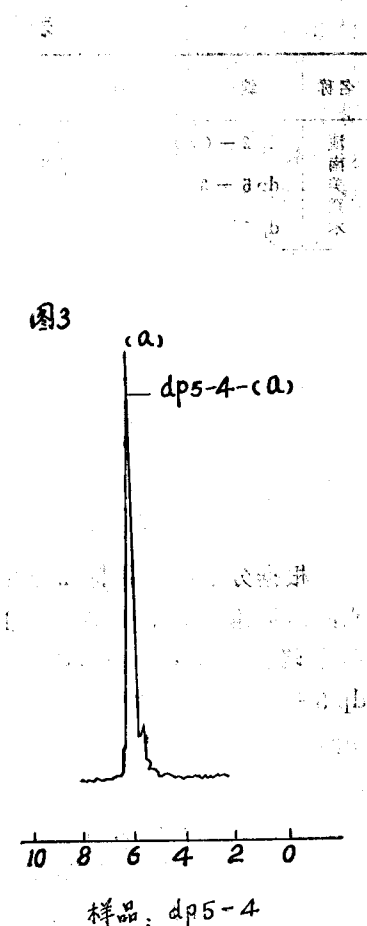
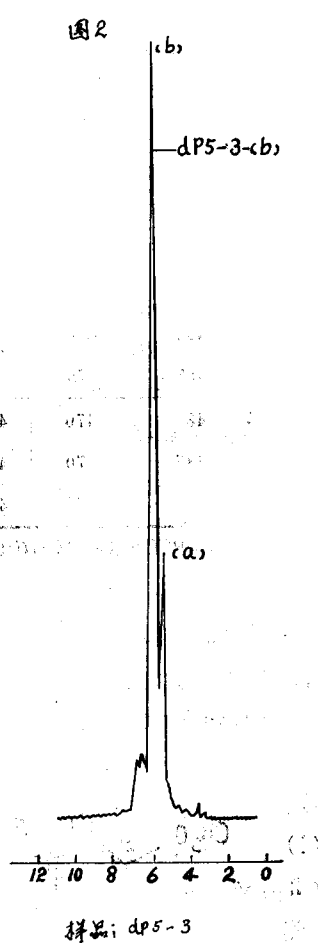
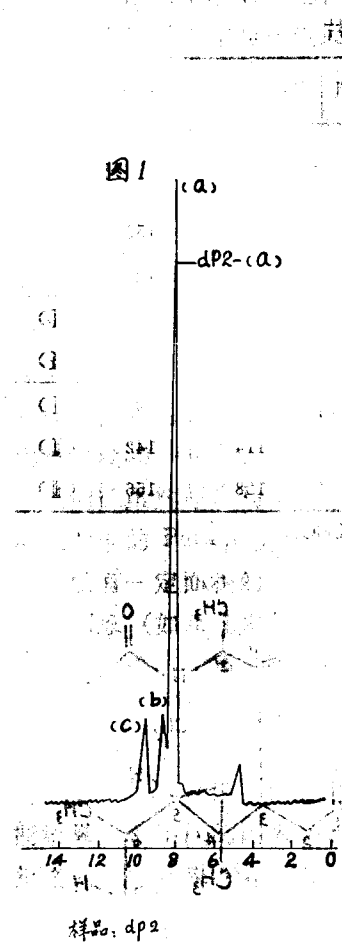


图4

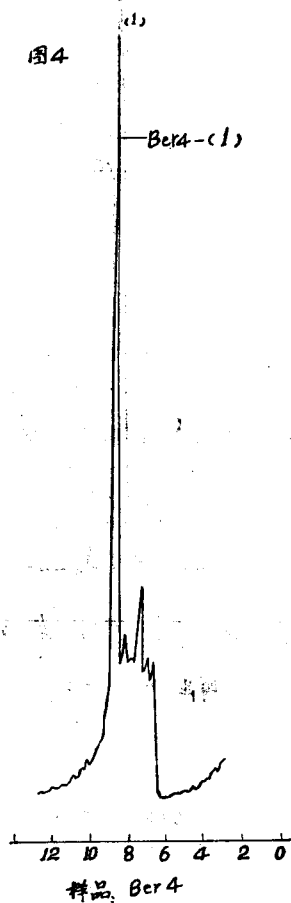


图5

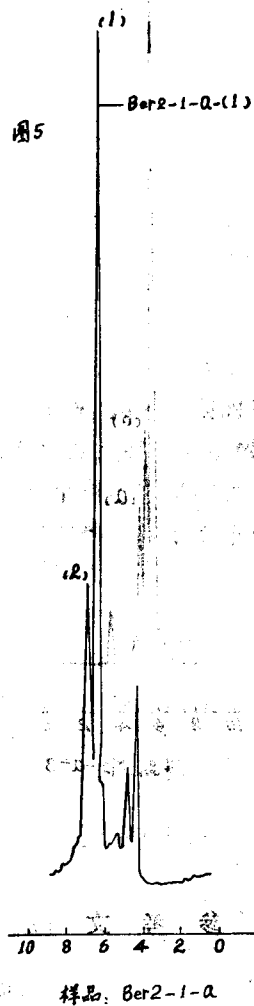
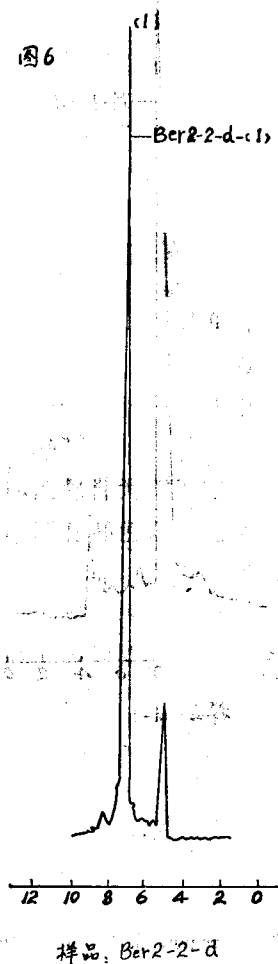


图6

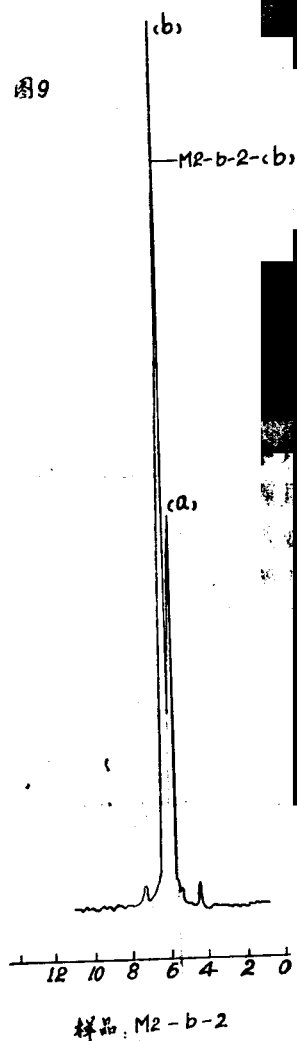
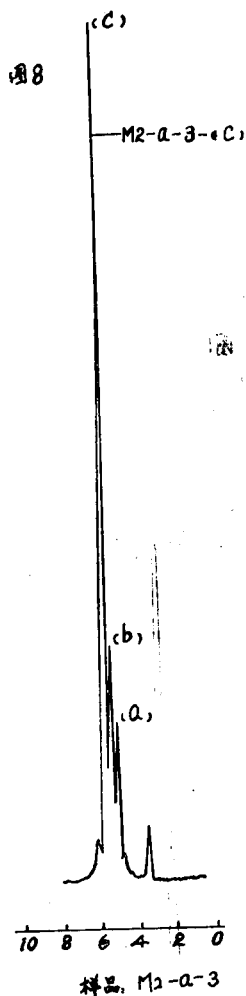
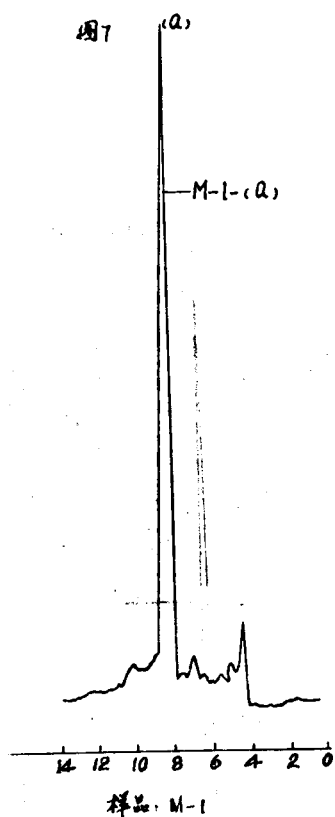


* 根据资料 [1] 和 [2]。

在进行了核磁共振谱的测定后，发现该化合物的结构与人初测定的，1,5-二硝基-2,4-二硝基苯胺 (1,5-dinitro-2,4-dinitrobenzene) 相符。

1,5-二硝基-2,4-二硝基苯胺 (1,5-dinitro-2,4-dinitrobenzene) 的核磁共振谱数据如下：

峰位 (ppm)	积分值	化学位移 (ppm)	耦合常数 (Hz)
10.00	1.00	10.00	1.00
8.00	1.00	8.00	1.00
7.00	1.00	7.00	1.00
6.00	1.00	6.00	1.00
5.00	1.00	5.00	1.00
4.00	1.00	4.00	1.00
3.00	1.00	3.00	1.00
2.00	1.00	2.00	1.00
1.00	1.00	1.00	1.00



参 考 文 献

- 〔1〕 Kupchan, S. M. et al. 1972, J. Am. Chem. Soc. 94(4):1354—6.
- 〔2〕 Kupchan, S. M. et al. 1977, J. Org. Chem. 42(14):2349—57.
- 〔3〕 Wani, M. C. et al. 1973, J. C. S. Chem. Com. 12:390.
- 〔4〕 周韵丽等, 1980, 科学通报, 25 (9):427.
- 〔5〕 李朝明等, 1980, 热带植物研究, 第16期.
- 〔6〕 钱秀丽等, 1979, 药化学报, 14(3):182.
- 〔7〕 王雪芬等, 1981, 药化学报, 16(1):59—60.
- 〔8〕 何直升等, 1980, 自然杂志, 3 (8):639.
- 〔9〕 周韵丽等, 1980, 中美天然产物化学讨论会.
- 〔10〕 裴盛基等, 1979, 热带植物研究, 第13期, 4—10.