

虎皮楠中 1 个新的环戊二烯负离子结构生物碱

谭承建^{1,2}, 邱迎彤^{1*}, 郝小江^{1*}

1. 中国科学院昆明植物研究所 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650201

2. 贵州民族大学化学与环境科学学院, 贵州 贵阳 550025

摘要: 目的 研究贵州虎皮楠 *Daphniphyllum oldhami* 枝叶中生物碱成分。方法 采用硅胶、Sephadex LH-20 和 RP₁₈ 等柱色谱技术进行分离、纯化, 通过 MS、NMR 等光谱学方法鉴定化合物的结构。结果 从虎皮楠枝叶中分离得到 1 个虎皮楠生物碱, 命名为虎皮楠素 D (1)。结论 化合物 1 为新的虎皮楠生物碱, 该化合物结构中含有 1 个新颖的环戊二烯负离子结构单元。

关键词: 虎皮楠科; 虎皮楠; 生物碱; 虎皮楠素 D; 环戊二烯负离子

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)20-2989-03

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.20.003

A new alkaloid with cyclopentadienyl anion moiety from *Daphniphyllum oldhami*

TAN Cheng-jian^{1,2}, QIU Ying-tong¹, HAO Xiao-jiang¹

1. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China

2. College of Chemistry and Environment, Guizhou Minzu University, Guiyang 550025, China

Abstract: Objective To investigate the alkaloids of *Daphniphyllum oldhami* collected in Songtao of Guizhou province. **Methods** Column chromatography including silica gel, Sephadex LH-20, and RP₁₈ were used to isolate the alkaloid constituents, and their structures were elucidated by MS and NMR spectroscopic data. **Results** One alkaloid was obtained from *D. oldhami* and named as oldhamine D (1). **Conclusion** Compound 1 is a new *Daphniphyllum* alkaloid containing a rare cyclopentadienyl anion moiety.

Key words: Daphniphyllaceae; *Daphniphyllum oldhami* (Hemsl.) Rosenth.; alkaloid; oldhamine D; cyclopentadienyl anion

虎皮楠科 (Daphniphyllaceae) 虎皮楠属 *Daphniphyllum* Bl. 植物为单科单属植物, 多为常绿灌木或小乔木, 全世界 30 余种, 主要分布在东南亚地区^[1]。我国有 10 种, 主要分布于我国南部地区^[1]。虎皮楠生物碱是虎皮楠科植物特有的一类成分, 高度复杂而多变的多环结构一度是国际天然产物领域中具有挑战性的研究热点^[2-5]。

虎皮楠 *Daphniphyllum oldhami* (Hemsl.) Rosenth. 为乔木或小乔木, 分布于我国长江以南各省区^[1]。其味苦、涩, 性凉; 有清热解毒、活血化瘀之功效; 主治感冒发热、扁桃体炎、肝脾肿大、毒蛇咬伤、骨折等疾病^[6]。研究显示, 虎皮楠生物碱 daphnicyclidin A~H 具有较强的细胞毒性^[7], 而 logeracemin A 则具有

较强的抗 HIV 的生物活性^[8]。本研究小组曾经从贵州松桃采集的虎皮楠中发现新骨架的虎皮楠生物碱 oldhamine A, 该化合物为 1 个新颖的降碳并含有环戊二烯负离子结构单元的生物碱, 通过单晶衍射确定了该化合物结构^[9]。此外, 还从该植物中分离得到 1 个具有跨环效应的虎皮楠生物碱^[10]。为了发现更多结构新颖并具有生物活性的虎皮楠生物碱, 本实验继续对产自贵州松桃的虎皮楠化学成分进行了研究, 从中分离得到 1 个新的具有环戊二烯负离子结构单元的生物碱, 命名为虎皮楠素 D (oldhamine D, 1)。

1 仪器与材料

Bruker AM-400 型核磁共振仪 (德国 Bruker 公

收稿日期: 2015-07-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30830114, 31100259, 30800092, 31360084, 31360084)

作者简介: 谭承建 (1979—), 男, 重庆万州人, 博士, 主要从事天然药物化学研究。E-mail: tcj1229@163.com

*通信作者 郝小江 E-mail: haoxj@mail.kib.ac.cn, diyt@mail.kib.ac.cn

司), Finnigan MAT 90 型质谱仪(德国 Finnigan Mat 公司), 柱色谱硅胶(200~300、300~400 目)及薄层板 GF₂₅₄ 均为青岛海洋化工厂生产, Sephadex LH-20 为 Amersham Biosciences 公司产品, RP₁₈ 为日本 Daiso 公司产品。

虎皮楠样品于 2012 年 10 月采自贵州松桃地区, 由贵州省科学院陈训研究员鉴定为虎皮楠科虎皮楠属植物虎皮楠 *Daphniphyllum oldhami* (Hemsl.) Rosenth., 凭证标本(chengjian-201238)保存于贵州省中国科学院天然产物重点实验室。

2 提取与分离

虎皮楠枝叶(60 kg), 粉碎后用 75%乙醇 120 L 热回流提取 3 次, 每次 2 h, 提取液减压浓缩后得到浸膏 2 kg。捻溶于 6 L 沸水中, 用 2 mol/L HCl 溶液调节水溶液至 pH 为 3, 氯仿萃取 3 次, 每次 7 L。酸水液再用 2 mol/L NaOH 溶液调节 pH 至 11, 用氯仿萃取 3 次, 每次 8 L, 回收氯仿得到总生物碱 120.3 g。总生物碱用硅胶柱色谱进行粗分, 氯仿-甲醇(10:0→0:10)梯度洗脱, 得到 4 个部分 Fr. A~D)。其中 Fr. D(10.6 g)经硅胶柱色谱(氯仿-甲醇 10:1)得到 3 个部分 Fr. D1~D3, Fr. D2 经 Sephadex LH-20(甲醇)纯化得到部位 Fr. D2-1 和 D2-2, Fr. D2-2 经 RP₁₈ 反相柱色谱(30%乙醇)分离得到化合物 1(10 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 淡黄色固体, 改良碘化铋钾显色呈阳性反应。 $[\alpha]_D^{27} + 98.3^\circ$ (*c* 0.28, 氯仿-甲醇 1:1)。

HR-ESI-MS m/z : 368.168 6 $[M + H]^+$ (计算值 368.168 2), 确定其分子式为 C₂₂H₂₅NO₄, 不饱和度为 11。UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 204, 255, 261, 296, 362。IR ν_{\max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 431, 2 926, 1 663, 1 618, 1 458, 提示分子中含有共轭的羰基(1 663 和 1 618 cm⁻¹)。¹³C-NMR 数据(表 1)显示 22 个碳信号, 包括 9 个季碳(8×sp² 和 1×sp³); 4 个次甲基; 7 个亚甲基以及 2 个甲基信号。位于低场的 2 个亚甲基(δ_C 60.9, 54.7)和 1 个次甲基(δ_C 67.7)与杂原子氮相连。¹H-NMR 数据(表 1)包含 2 个甲基信号, 根据其裂分情况, 它们分别应与叔碳和季碳相连 [δ_H 1.27 (d, *J* = 7.0 Hz), 1.47 (s)]。以上所述的波谱特征与 daphnicyclidin 型虎皮楠生物碱类似^[7]。

该化合物的平面结构可以通过 2D-NMR 来确定, 分析 ¹H-¹H COSY 及 HSQC 相关确定 3 个结构片段: a (C-2-C-4 和 C-18-C-20)、b (C-6-C-7 和 C-11-C-12) 和 c (C-16-C-17)。在 HMBC 图谱中, H-19 α 与 C-7 (δ_C 60.9)、H-7 β 与 C-4 (δ_C 67.7) 的相关信号表明 C-4、C-7 和 C-19 通过 N 原子彼此相连。H-21 与 C-4、C-5、C-6 相关信号表明 C-4、6、21 与 C-5 (δ_C 51.4) 相连; 另外, H-4、6 与 C-8 (δ_C 138.2) 的 HMBC 相关证实了 C-5 与 C-8 相连。H-11、12 与 C-10 (δ_C 203.2) 的相关信号确定了羰基的位置。H-16 α 与 C-9、15, H-11 与 C-9、10 的相关信号表明片段 b 和 c 通过 C-10、C-9 和 C-15 相连。H-16 与 C-14、15, H-17 与 C-15 的相关信号证实 C-15 与 C-14 相互连接。H-17 与 C-15、22, H-16 α

表 1 化合物 1 的 NMR 数据 (400/100 MHz, CD₃OD)

Table 1 NMR data of compound 1 (400/100 MHz, CD₃OD)

碳位	δ_C	δ_H	碳位	δ_C	δ_H
1	198.4, C	—	13	123.7, C	—
2	48.0, CH	2.64 (m)	14	113.1, C	—
3	17.8, CH ₂	2.37 (m)	15	144.3, C	—
4	67.7, CH	3.61 (d, <i>J</i> = 4.5 Hz)	16 α	25.7, CH ₂	3.16 (m)
5	51.4, C	—	16 β		2.73 (q, <i>J</i> = 4.5, 18.0 Hz)
6	49.0, CH	2.58 (m)	17 α	67.9, CH ₂	4.36 (m)
7 α	60.9, CH ₂	2.62 (m)	17 β		4.27 (m)
7 β		4.00 (t, <i>J</i> = 9.0 Hz)	18	30.4, CH	2.41 (brs)
8	138.2, C	—	19 α	54.7, CH ₂	3.13 (d, <i>J</i> = 4.5 Hz)
9	125.4, C	—	19 β		3.27 (brd, <i>J</i> = 4.0 Hz)
10	203.2, C	—	20	17.1, CH ₃	1.27 (d, <i>J</i> = 7.0 Hz)
11	40.3, CH ₂	2.62 (m)	21	35.8, CH ₃	1.47 (s)
12 α	28.8, CH ₂	1.76 (q-like, <i>J</i> = 12.0 Hz)	22	167.6, C	—
12 β		2.10 (m)			

与 C-15、14 的相关表明 C-14 与 C-22 的连接。根据 HMBC 相关, 确定了 3 个片段、杂原子及季碳之间相连方式, 初步确定化合物结构如图 1 所示。然而, 文献检索显示, 由 C-1、C-8、C-9、C-13、C-14 及 C-15 构成共轭体系存在 2 种异构体, 即 C-1 是羰基, 结构中形成环戊二烯负离子结构单元的 A, 或是 C-1 为烯醇式结构, 结构中包含环戊二烯结构单元的 B。为了进一步确定该片段结构, 比较了化合物 1 和这两类结构间的化学位移, 发现化合物 1 与 C-1 为共轭羰基的 oldhamine A^[9] [C-1 (δ_C 196.8), C-8 (δ_C 137.6), C-9 (δ_C 124.2), C-13 (δ_C 121.7), C-14 (δ_C 111.7) 和 C-15 (δ_C 144.2)] 化学位移相似, 而与具有环戊二烯结构单元, C-1 为烯醇结构的 daphnicyclidin A^[7] [C-1 (δ_C 187.1), C-8 (δ_C 146.7), C-9 (δ_C 132.6), C-13 (δ_C 117.4), C-14 (δ_C 113.1), C-15 (δ_C 149.3)] 化学位移相差较大。由此推测化合物 1 存在一个季碳组成的共轭体系, 含有一个环戊二烯负离子结构单元, 其结构应该为前者 (图 1-A)。

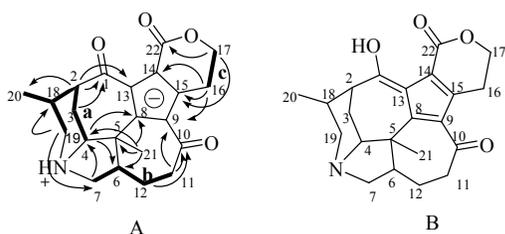


图 1 化合物 1 主要的 ¹H-¹H COSY (—) 和 HMBC (—>) 相关
Fig. 1 Key ¹H-¹H COSY (—) and HMBC (—>) correlations of compound 1

化合物 1 的相对构型由 ROESY 谱及与化合物 Daphnicyclidin A^[7] 比较而确定。ROESY 谱中, H-21 与 H-3 β 的相关, H-3 β 与 H-2 的相关, H-21 与 H-4、H-6 的相关表明 H-2、H-4、H-6 和 H-21 处于 β 构型, 而 H-3 α 与 H-18 的相关表明 H-18 处于 α 构型。因此, 该化合物的结构最终鉴定如图 2 所示, 为 1 个新的虎皮楠生物碱, 命名为虎皮楠素 D。

4 讨论

前人从虎皮楠属植物中共分离得到 2 个具有环戊二烯负离子结构的生物碱成分^[9,11]。该类生物碱结构中的环戊二烯负离子与氮正离子形成内盐而稳定存在^[9,11]。研究表明, 结构中的环戊二烯负离子易受到外界环境 pH 值的影响而发生结构转化: 酸性环境促使其向环戊二烯结构转化, 而碱性环境促使其向环戊二烯负离子的结构转换^[9]。

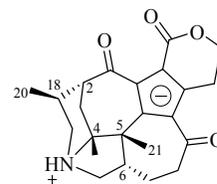


图 2 化合物 1 的结构

Fig. 2 Structure of compound 1

从贵州松桃地区采集的虎皮楠中分离得到 5 个 daphnicyclidin 型的虎皮楠生物碱^[12], Kobayashi 等^[7] 研究表明该类生物碱具有一定的细胞毒性。然而, 本研究并未发现上述生物碱具有细胞毒性^[9,12]。可见, 该类生物碱活性还需进一步验证和研究。

参考文献

- [1] 中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第 45 卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1980.
- [2] 邱迎彤. 虎皮楠科生物碱和楝科四降三萜化学成分研究 [D]. 昆明: 中国科学院昆明植物研究所, 2007.
- [3] 穆淑珍. 两种虎皮楠属植物中生物碱成分研究 [D]. 昆明: 中国科学院昆明植物研究所, 2007.
- [4] 李春顺. 两种虎皮楠属植物中生物碱成分研究 [D]. 昆明: 中国科学院昆明植物研究所, 2008.
- [5] Kobayashi J, Morita H. The *Daphniphyllum* alkaloids [J]. *Nat Prod Rep*, 2009, 26: 936-962.
- [6] 国家中医药管理局中华本草编委会. 中华本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
- [7] Kobayashi J, Inaba Y, Shiro M, et al. Daphnicyclidins A-H, novel hexa- or pentacyclic alkaloids from two species of *Daphniphyllum* [J]. *J Am Chem Soc*, 2001, 123(46): 11402-11408.
- [8] Xu J B, Zhang H, Gan L S, et al. Logeracemin A, an anti-HIV *Daphniphyllum* alkaloid dimer with a new carbon skeleton from *Daphniphyllum longeracemosum* [J]. *J Am Chem Soc*, 2014, 136(21): 7631-7633.
- [9] Tan C J, Di Y T, Wang Y H, et al. Oldhamine A, a novel alkaloid from *Daphniphyllum oldhami* [J]. *Tetrahedron Lett*, 2008, 49(21): 3376-3379.
- [10] Tan C J, Wang Y H, Di Y T, et al. Daphnioldhamine A, a novel alkaloid from *Daphniphyllum oldhami* [J]. *Tetrahedron Lett*, 2012, 53(21): 2588-2591.
- [11] Zhang W, Guo Y W, Krohn K. Macropodumines A-C: novel pentacyclic alkaloids with an unusual skeleton or zwitterion moiety from *Daphniphyllum macropodum* Miq. [J]. *Chem Eur J*, 2006, 12(19): 5122-5127.
- [12] 谭承建. 虎皮楠和孟仑三宝木两种植物的化学成分研究 [D]. 昆明: 中国科学院昆明植物研究所, 2009.