

长叶榧叶中对人体 DNA 多聚酶 β 的抑制成分[△]

福建省中医药研究院(福州 350003) 陈仁通*
上海市徐汇区中心医院 张与欢
中国科学院上海药物研究所 方圣鼎

摘 要 从长叶榧 *Torreya jackii* 叶中分得 5 种成分,经波谱分析及化学反应鉴定为二十烷醇(I)、 β -谷甾醇(II)、反式璎珞柏酸(III)、(+)-松脂素单甲醚(IV)和(+)-松脂素(V),其中 III 对人体 DNA 多聚酶 β 及白血病 P₃₈₈ 具有明显的抑制作用。

关键词 长叶榧 反式璎珞柏酸 (+)-松脂素及其单甲醚 DNA 多聚酶 β

DNA 多聚酶 β 是一种真核细胞核酶,具有修复 DNA 的基本功能,似乎有理由相信筛选具有 DNA 多聚酶 β 抑制作用的物质,将会与寻找肿瘤治疗剂有密切相关,鉴此我们从长叶榧叶中寻找抗肿瘤剂时,采用人体 DNA 多聚酶 β ,结果发现,从长叶榧叶中分得二十烷醇(I), β -谷甾醇(II),反式璎珞柏酸(III),(+)-松脂素(V)及其单甲醚(IV)等五种成分,仅化合物 III 具有明显的抑制作用,其余无效。化合物 III 对 P₃₈₈ 细胞亦具有明显的抑制作用^[1]。化合物 IV 和 V 均属于四氢呋喃并四氢呋喃类,从氢谱与碳谱来看其 2 和 6 位上的二个芳香取代基同时与环处于反式横键构象。化合物 V 与(+)-松脂素结构相同。化合物 IV 为(+)-松脂素单甲醚。两者用重氮甲烷甲基化后均可获得(+)-桉脂素(VI),此结果采用波谱分析而证实。长叶榧叶中的成分除了常见的 β 谷甾醇外,其余均为首次从该植物中得到。据文献报道^[2],化合物 IV, V 及 VI 的 C₂ 及 C₆ 均为 S 构型,故对 cAMP 磷酸二酯酶的抑制作用比其对应的 R, S 或 R 构型具有更高的抑制活性。

化合物 III ~ VI 的化学结构式,见图 1。

1 仪器和试剂

熔点用 Reichert 和 RDCSY- I 型测定,温度未经校正,红外光谱用 Perkin-Elmer 683 型仪,核磁共振谱用 QE-400MHz 质谱用 Funigen MAT-711 型仪,紫外光谱用 Du-8 型仪测定,柱层析硅胶和薄层层析硅胶均为青岛海洋化工厂产品。

2 提取和分离

取福建泰宁县产长叶榧叶,干燥,磨粉,用乙醇提取,提取物依次用石油醚和乙醚提取。石油醚提取物经硅胶层析得二十烷醇(I)(石油醚-乙酸乙酯 96:4), β -谷甾醇(II)(石油醚-乙酸乙酯 96:4)和反式璎珞柏酸(III)(石油醚-乙酸乙酯 9:1)。乙醚提取物经硅胶层析得(+)-松脂素单甲醚(IV)(石油醚-乙酸乙酯 8:2)和(+)-松脂素(V)(石油醚-乙酸乙酯 6:4)。

3 鉴定

二十烷醇(I):白色针状晶体(乙酸乙酯),mp 82℃~83℃,IR 光谱呈直链烷烃醇的吸收特征,IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3340(OH), 2935,

* Address: Chen Rentong, Fujian Provincial Institute of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou
陈仁通, 1956 年毕业于上海第一医学院药学系本科药物化学专业,现为福建省中医药研究院研究员。研究领域为植物化学,着重于从中草药中生理活性成分的分离与鉴定,研究中草药十余种:三尖杉,长叶榧,南方红豆杉,小叶买麻藤,重阳木,木芙蓉及福建薯蓣等,发表论文 20 余篇,主持与协作完成科研课题获省级成果奖 3 项,协作完成课题获国家级成果奖 1 项。

[△] 福建省自然科学基金资助项目

2860 ($\text{CH}_3\text{-CH}_2$), 1470, 1135, 1090, 1070 和 720。EIMS (m/z): 298 (M^+), 280 ($\text{M}^+ - 18$), 然后质谱峰成群, 峰间差 $m/z 14 (\text{CH}_2)$, 碎片丰度从低质量数到高质量数呈平滑曲线

下降。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (3 H, t, $J=7.5\text{Hz}$), 1.25 (s, $\text{CH}_2 \times 17$), 1.42 (2 H, m), 1.53 (1 H, s, OH, 加 D_2O 后消失) 和 3.58 (2 H, t, $J=5.6\text{Hz}$)。

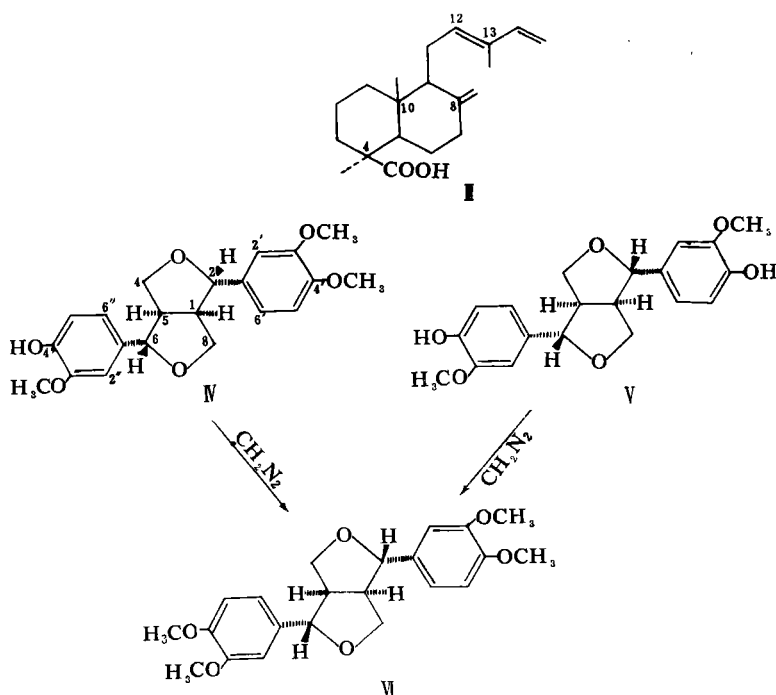


图1 化合物Ⅲ~Ⅵ的化学结构式

β -谷甾醇 (Ⅱ): 白色针状晶体 (甲醇), mp $137^\circ\text{C} \sim 138^\circ\text{C}$ 。EIMS (m/z): 414 (M^+), 329, 273, 255, 107, 95, 93, 91, 81 和 67, 与已知品 TLC R_f 值和 IR 光谱均为一致, 混合熔点亦不下降。

反式璎珞柏酸 (Ⅲ): 白色针状晶体 (氯仿-甲醇), mp $101^\circ\text{C} \sim 103^\circ\text{C}$ 。 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 35^\circ$ (c, 0.3, CHCl_3); $\text{UV} \lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}} \text{nm}$: 237 ($\log \epsilon 4.28$), $\text{IR} \nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$: 3100, 2950, 2850, 1700 ($>\text{C}=\text{O}$), 1650, 1600, 1450, 1410, 1385, 1320, 1270, 1240, 1180, 1100, 990, 900 ($-\text{CH}=\text{CH}_2$), 890 ($>\text{C}=\text{CH}_2$) 和 800。EIMS ($m/z, \%$): 302 ($\text{M}^+, 60$), 287 ($\text{M}^+ - 5, 25$), 273 (8), 257 (10), 241 (13), 231 (10), 201 (12), 175 (45) 和 119 (63)。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DM-SO-d_6) δ : 0.55 (3 H, s, $\text{C}_{10}\text{-CH}_3$), 1.08 (3 H,

s, $\text{C}_1\text{-CH}_3$), 1.66 (3 H, s, $\text{C}_{13}\text{-CH}_3$), 4.40 (1 H, s) 和 4.75 (1 H, s) 为环外次甲基, 5.0~5.1 (2 H, m, $\text{C}_{15}\text{-H}$), 5.15 (1 H, t, $J=6.5\text{Hz}$, $\text{C}_{12}\text{-H}$), 6.75 (1 H, q, $J=8.6\text{Hz}$, $\text{C}_{14}\text{-H}$), 12.2 (1 H, s, $\text{C}_4\text{-COOH}$, 加 D_2O 后消失), 上述结果与反式璎珞柏酸的结构相符^[1]。

(+) 松脂素单甲醚 (Ⅳ): 无色胶状物, $[\alpha]_{\text{D}}^{35} + 66.5^\circ$ (c, 0.43, CHCl_3); $\text{UV} \lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}} \text{nm}$: 234 ($\log \epsilon 4.16$) 和 ($\log \epsilon 3.67$)。 $\text{IR} \nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$: 3425 (OH), 1610, 1519, 1465 (芳香核), 1269, 1141, 1027, 854, 810 和 760。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 3.09 (2 H, m, $\text{C}_{1,5}\text{-H}$), 4.74 (2 H, d, $J=4.3\text{Hz}$, $\text{C}_{2,6}\text{-H}$), 4.23 (2 H, dd, $J=8.8, 2.2\text{Hz}$, $\text{C}_{4\text{ax}, 8\text{ax}}\text{-H}$), 3.84 (2 H, dd, $J=8.8, 2.2\text{Hz}$, $\text{C}_{4\text{eq}, 8\text{eq}}\text{-H}$), 3.89 (6 H, s, $\text{C}_{3', 3''}\text{-OCH}_3$), 3.85 (3 H, s, $\text{C}_{4'}\text{-OCH}_3$), 5.62

(1 H, s, C_{4''}-OH, 加 D₂O 后消失) 和 6.75~7.50 (6 H, m, C_{2',2''}-H; C_{5',5''}-H; C_{6',6''}-H)。¹³CNMR (100.53MHz, CDCl₃) δ: 54.2 (C_{1,5}), 85.8 (C₂), 85.9 (C₆), 71.7 (C₄), 71.8 (C₈), 56.0 (OCH₃ × 3), 132.9 (C_{1'}), 133.6 (C_{1''}), 108.6 (C_{2'}), 109.3 (C_{2''}), 118.3 (C_{6'}), 119.0 (C_{6''}), 111.1 (C_{5'}), 114.3 (C_{5''}), 146.7 (C_{4'}), 145.3 (C_{4''}), 148.9 (C_{3'}) 和 149.2 (C_{3''})。EIMS (m/z, %) : 372 (M⁺, 100), 355 (M-17, 20), 341 (10), 235 (10), 219 (10), 205 (15), 189 (10), 178 (15), 166 (20), 151 (40) 和 137 (20)。按常用法用 CH₂N₂ 处理可获得完全甲基化合物——(+)桉脂素(VI), mp 107℃~108℃; [α]_D²⁵ + 51.8° (c, 2.1, 丙酮)。¹HNMR (400MHz, CDCl₃) δ: 3.11 (2 H, m, C_{1,5}-H), 4.75 (2 H, d, J=4.4Hz, C_{2,6}-H), 4.25 (2 H, dd, J=7.2, 2.8Hz, C_{4ax,8ax}-H), 3.82 (2 H, dd, J=7.2, 2.8Hz, C_{4eq,8eq}-H), 3.87 (6 H, s, OCH₃ × 2), 3.89 (6 H, s, OCH₃ × 2), 6.90 (2 H, s, C_{2',2''}-H) 和 6.8 (4 H, dd, J=4.7, 1.8Hz, C_{5',5''}-H, C_{6',6''}-H)。¹³CNMR (100.53MHz, CDCl₃) δ: 54.2 (C_{1,5}), 85.9 (C_{2,6}), 71.7 (C_{4,8}), 133.5 (C_{1',1''}), 109.3 (C_{2',2''}), 148.5 (C_{3',3''}), 148.9 (C_{4',4''}), 111.1 (C_{5',5''}), 118.3 (C_{6',6''}), 55.9 (C_{4',4''}, OCH₃) 及 56.0 (C_{3',3''}, OCH₃)。EIMS (m/z, %) : 386 (M⁺, 60), 355 (10), 235 (10), 219 (25), 205 (15), 195 (15), 194 (12), 189 (20), 178 (95), 166 (100), 165 (40), 151 (98) 和 138 (22), 此结果与文献报道相符^[3]。

(+)松脂素(V): 白色针状结晶(稀乙醇), mp 118℃~120℃。[α]_D²⁵ + 55.4° (c, 1.2, CHCl₃); UV λ_{max}^{MeOH} nm (log ε): 201 (log ε 4.26), 232 (log ε 4.24) 和 282 (log ε 3.70)。IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3450 (OH), 1610, 1520, 1465 (芳香核), 1270, 1160, 1030, 850, 815 和 750。¹HNMR (400MHz, CDCl₃) δ: 3.09 (2 H, m, C_{1,5}-H), 4.72 (2 H, d, J=40Hz, C_{2,6}-H), 4.24 (2 H, dd, J=6.9, 2.2Hz, C_{4ax,8ax}-H), 3.87

(2 H, dd, J=6.9, 2.9Hz, C_{4eq,8eq}-H), 3.89 (6 H, s, OCH₃ × 2), 5.65 (2 H, s, OH × 2, 加 D₂O 后消失), 6.86 (2 H, s, C_{2',2''}-H), 6.81 (2 H, dd, J=8.0, 1.5Hz, C_{5',5''}-H) 和 6.88 (2 H, d, J=1.5Hz, C_{6',6''}-H)。¹³CNMR (100.53MHz, CDCl₃) δ: 54.2 (C_{1,5}), 56.0 (C_{3',3''}, OCH₃ × 2), 85.95 (C_{2,6}), 71.7 (C_{4,8}), 132.9 (C_{1',1''}), 108.6 (C_{2',2''}), 145.3 (C_{3',3''}), 114.3 (C_{5',5''}), 119.0 (C_{6',6''}) 和 146.78 (C_{4',4''})。EIMS (m/z, %) : 358 (M⁺, 100), 341 (M⁺-17, 15), 327 (M⁺-31, 12), 235 (6), 221 (6), 205 (15), 190 (7), 176 (7), 164 (20), 152 (55) 和 137 (45), 上述数据与文献报道相符^[3,4]。按常用法用 CH₂N₂ 处理可获得完全甲基化合物(+)桉脂素(VI), 其氢谱, 碳谱及质谱数据与前述相同, TLC 的 R_f 值亦同。

4 DNA 多聚酶 β 的生物测定

首先从小牛血清中制备活性 DNA, 然后取样品与生测液 [62.5mmol/L 二氨基-2-甲基-1,3-丙二醇, pH 8.6 10mmol/L MgCl₂, 1mmol/L-硫苏糖醇 (DTT), 1mg/mL 牛血清蛋白 (BSA), 6.25μmol/L 脱氧核苷三磷酸 (dNTP'S) (含³H 胸苷三磷酸), 0.25mg/mL 活性 DNA] 混合后, 再加入人体 DNA 多聚酶 β 于 37℃ 培养 60min, 然后转到冰浴中加入 10% 三氯醋酸-0.1mmol/L 焦磷酸钠 (PPi), 放置 10min, 通过硝化纤维膜过滤, 依次用 10% 三氯醋酸-0.1mmol/L 焦磷酸钠及 95% 乙醇洗涤, 滤膜干燥, 然后用同位数计数, 计算结果 (与空白作对照)。

致谢: 福建省中医药研究院林仕榕副研究员鉴定长叶榧品种, 魏可雄同志参加过部分工作。

参考文献

- 1 方圣鼎, 等. 植物学报, 1989, 31(5): 382
- 2 Macrac WD, et al. Phytochemistry, 1984, 23(6): 1207
- 3 Pelter A, et al. J Chem Soc, Perkin I, 1982: 175
- 4 Chen C L, et al. Phytochemistry, 1976, 15: 1789
- 5 Chang M S. J Biol Chem, 1973, 248: 3789

(1996-10-22 收稿)

Isolation and identification of cicosanol (I), β -sitosterol (II), trans-communic acid (III), (+) pinoresinol monomethyl ether (IV) and (+) pinoresinol (V) from the leave of *Torreyia jackii* are reported. Compound III showed strong inhibition of both human DNA polymerase β and P₃₈₈ leukemia cell in vitro.

弯锥香茶菜化学成分的研究

中国药科大学天然药物化学教研室(南京 210009) 黄浩* 赵守训 王明时
中国科学院昆明植物研究所 孙汉董

摘 要 从弯锥香茶菜 *Isodon loxothyrsa* 地上部分首次分得 9 个化合物,根据理化性质和光谱数据鉴定为:正三十三烷(tritriacontane, I),正三十四烷酸(tetratriacontanoic acid, II),正三十烷酸(triacontanoic acid, III),正二十七烷酸(heptacosanoic acid, IV),乌发醇(uvaol, V), β -谷甾醇(VI),紫云英甙(astragalin, VII),阿福豆甙(afzelin, VIII)和异槲皮素甙(queracetin-3-O-glucoside, IX)。

关键词 弯锥香茶菜 地上部分 化学成分

弯锥香茶菜 *Isodon loxothyrsa* 为唇形科香茶菜属植物,灌木,高 1.0~1.6 m,生长在海拔 1400~3300 m 的林下、沟边、草坡或灌丛中,产于我国川、藏、滇一带。

孙汉董等人曾报道从云南丽江产弯锥香茶菜中得到 3 个对映-贝壳杉烯(entkaurene)型二萜化合物,弯锥香茶菜甲素(rabdoloxin A),弯锥香茶乙素(rabdoloxin A)和弯锥甲素(loxothylin A)^[1,2]。其中弯锥甲素显示明显细胞毒活性。作为对香茶菜属植物化学成分研究的一部分,我们对采自不同地区,云南洱源县罗平山清源洞(海拔 2400 m)的弯锥香茶菜进行了化学研究,分离得到了 9 个化合物,分别鉴定为正三十三烷(tritriacontane, I),正三十四烷酸(tetratriacontanoic acid, II),正三十烷酸(triacontanoic acid, III),正二十七烷酸(heptacosanoic acid, IV),乌发醇(uvaol, V), β -谷甾醇(VI),紫云英甙(astragalin, VII),阿福豆

甙(afzelin, VIII)和异槲皮素甙(queracetin-3-O-glucoside, IX),这些化合物均为首次从植物中分离得到。

1 仪器和材料

熔点用 XRC-1 型显微熔点测定仪,未校正。紫外光谱用 UV-210A 型紫外分光光度计。红外光谱用 PE-577 型红外光谱仪(KBr 压片)。核磁共振谱用 Bruker-AM-400 型核磁共振仪。质谱用 JEOL-FX-102 型和 Finnigan-450 型质谱仪。薄层层析用硅胶 H,柱层析用硅胶(200~300 目)均为青岛海洋化工厂生产,层析用溶剂均为 AR 级。

弯锥香茶菜地上部分 1993-09 采自云南洱源县罗平山清源洞。

2 提取和分离

干燥粉碎的弯锥香茶菜地上部分 2.4 kg,用工业乙醇回流提取 4 次,醇提物用适量水溶解后,依次用石油醚,乙酸乙酯,正丁醇反复萃取,得石油醚萃取物 80 g,乙酸乙酯

* Address: Huang Hao, Department of Phytochemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing

黄浩,女,1986-07 月毕业于南京大学化学系本科,1989-07 月在中科院昆明植物研究所植化室获硕士学位,1995-07 月在中国药科大学中药学院获博士学位,现在南京大学生物科学与技术系做博士后,主要从事天然药物的植化研究,已在国内外核心期刊发表 10 余篇论文,其中 9 篇 SCI。共发现新化合物 23 个。