

化合物V: 白色粉末 (MeOH), mp 237°C~ 238°C。ESI-MS m/z 1 636. 7 [2M]⁺、901. 6 [M+ AcOH + Na]⁺、841. 2 [M+ Na]⁺、877. 4 [M+ AcO]⁺、816. 3 [M- 2H]⁻、653. 1 [M- glc- 2H]⁻、491. 2 [M- 2glc- 2H]⁻。¹H NMR (C₅D₅N) δ 0. 79, 0. 90, 1. 10, 1. 26, 1. 39, 1. 45, 1. 57, 1. 61(各 3 H, s, 8个角甲基), 3. 25(1H, dd, J= 11. 5, 4. 2 Hz, H-3), 3. 76(1H, brd, J= 9. 5 Hz, H-24), 3. 95(1H, m, H-12), 4. 92(1H, d, J= 7. 5 Hz, 3-glc内侧 H-1'), 5. 37(1H, d, J= 7. 7 Hz, 3-glc内侧 H-1'')。 ¹³C NMR谱数据见表 1。

化合物VIII: 白色粉末 (BuOH-EtAc), mp 194°C~ 196°C。 ¹H NMR ¹³C NMR数据与文献^[8]基本一致, 确定VIII为人参皂苷-Rg₁ (ginsenoside-Rg₁)。

化合物IX: 白色针晶 (EtOH), mp 187°C~ 189°C。 ¹H NMR ¹³C NMR数据与文献^[8]基本一致, 确定XI为人参皂苷-Rg₂ (ginsenoside-Rg₂)。

参 考 文 献

- 1 刘铁成主编. 中国西洋参. 北京: 人民卫生出版社, 1995: 1
- 2 陈 霞, 杨世杰, 陈 立, 等. 中国中药杂志, 1994, 19(10): 617
- 3 Mochizuki M, Yoo Y C, Matsuzama, *et al.* Biol Pharm Bull, 1995, 18(9): 1197
- 4 Tode T, Kikuchi-Y, Kita-T, *et al.* Cancer Res Clin Oncol, 1993, 120(1- 2): 24
- 5 Nguyen M D, Minh Duc, Ryoji Kasai Kazuhiro Ohtani, *et al.* Chem Pharm Bull, 1994, 42(3): 634
- 6 李平亚, 李 锐, 郝秀华, 等. 中草药, 1991, 30(8): 563
- 7 魏均娴, 王菊芬, 李增荣, 等. 中草药, 1983, 14(9): 5
- 8 王本祥主编. 人参研究进展. 天津: 天津科学技术出版社, 1991: 29

(1999-09-24收稿)

金铁锁中的四个环二肽[△]

云南大学化学系 (昆明 650091)

申涛*

中国科学院昆明植物研究所植物化学开放实验室

周 俊 谭宁华

摘 要 从石竹科植物金铁锁 *Psammosilene tunicoides* 中分离得到 2个环二肽及由 2个环二肽组成的混合物。它们的结构经光谱鉴定为环(丙-丙)(I)、环(丙-缬)(II)、环(丙-亮)(III)和环(丙-异亮)(IV)。它们均为新的天然产物。

关键词 金铁锁 石竹科 环二肽

Cyclic Dipeptides from the Root of *Psammosilene tunicoides*

Department of Chemistry, Yunnan University (Kunming 650091) Ding Zhongtao

Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences Zhou Jun and Tan Ninghua

Abstract From the root of *Psammosilene tunicoides* W. C. Wu et C. Y. Wu, two cyclic dipeptides (I, II) and a mixture of other two cyclic dipeptides (III, IV) were obtained. Their structures were elucidated as cyclo Ala-Ala (I), cyclo Ala-Val (II), cyclo Ala-Leu (III), and cyclo Ala-Ile (IV), by spectroscopic means respectively. All of them are new natural products.

Key words *Psammosilene tunicoides* W. C. Wu et C. Y. Wu *Caryophyllaceae* cyclic dipeptide

金铁锁 *Psammosilene tunicoides* W. C. Wu et C. Y. Wu 是石竹科单种属植物, 主要分布于云南、四川、贵州等省区。它是云南省著名的民间药用植物, 具有散瘀止痛、消痈排毒的功能, 主要用于跌打损伤、筋骨疼痛等症^[1]。其根主要含皂苷成分^[2~4]。作为石竹科植物环肽系列研究的一部分^[5~11], 我们

研究了该植物的环肽成分, 已从中分离鉴定了 2个新的、微量的环八肽^[10]。经进一步研究, 我们又分离得到 2个环二肽 [环(丙-丙)(I)、环(丙-缬)(II)], 以及由 2个环二肽 [环(丙-亮)(III)和环(丙-异亮)(IV)] 组成的混合物。本文主要报道这些环二肽的提取分离和结构鉴定。

* Address: Di Zhongtao, Chemical Department of Yunnan University, Kunming

丁中涛 男, 1968年 12月生, 云南人。1993年 7月硕士毕业于云南大学化学系分析化学专业, 并留校任教。1996年 3月至 1999年 1月在中国科学院昆明植物研究所攻读博士学位, 师从于周俊院士。1999年 1月获博士学位。现为云南大学化学系副教授。主要从事天然产物化学研究。

△云南省教委资助课题 (9911143)

化合物I 和II 均为无色针状结晶,对茚三酮反应呈阴性,但经 6 mol/L 的 HCl 水解后,则对茚三酮反应呈阳性。它们的红外光谱均在 3 300 和 1 650 cm^{-1} 处分别有 NH 和 C=O 的吸收峰。

化合物I 的高分辨质谱 (HREI-MS) 显示其分子式为 $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$ ($[\text{M}^+]$ m/z 142. 073 3, 计算值: 142. 074 2), 其中 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱分别显示有 2 个具有相同化学位移的酰胺质子 (δ 9. 34, br. s) 和羰基碳信号 (δ 170. 2), 这表明该化合物是一个由 2 个相同的氨基酸残基构成的对称的环二肽。进一步仔细分析其 DEPT 谱, 发现除上述 δ 170. 2 羰基碳信号外, 仅还有 δ 51. 2 的 CH 信号和 δ 19. 1 的 CH_3 信号, 分别对应 ^1H NMR 谱中的 δ 4. 28 (q, $J = 8. 0$ Hz) 和 δ 1. 63 (d, $J = 8. 0$) 的氢信号。这表明构成该环二肽的氨基酸基是丙氨酸残基, 故化合物I 为环(丙丙)。

化合物II 的高分辨质谱 (HREI-MS) 显示其分子离子峰在 m/z 170. 106 8 处, 由此推断出其分子式为 $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ (计算值: 170. 105 5)。其中 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱分别显示有 2 个酰胺质子 (δ 9. 25 和 8. 98) 和 2 个羰基碳信号 (δ 171. 5 和 167. 5), 这表明该化合物是一个环二肽。经对其 ^1H NMR ^{13}C NMR 以及 DEPT 谱的仔细分析, 证明该化合物是由一个丙氨酸残基和一个缬氨酸残基构成的环二肽, 即环(丙缬)。

混合物为白色粉末, 由于量少 (8 mg) 未进一步分离。它同样对茚三酮反应呈阴性, 但经 6 mol/L 的 HCl 水解后, 也对茚三酮反应呈阳性。其快原子轰击质谱 (FAB-MS) 显示 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 峰在 m/z 185 处。其 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱分别显示有 4 个酰胺质子 (δ 9. 26, 9. 25, 9. 16 和 8. 95) 和 4 个羰基碳信号 (δ 170. 0, 169. 7, 169. 6 和 167. 8), 这表明该混合物是由 2 个分子量相同的环二肽组成的。进一步分析该混合物的 DEPT $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY 和 $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ COSY 谱, 表明有 2 个丙氨酸、一个亮氨酸以及一个异亮氨酸残基的存在。HMBC 谱显示 NH 与 C=O 以及 NH 与亮氨酸和异亮氨酸有相关性。由此可推断组成这一混合物的 2 个环二肽是环(丙亮) (III) 和环(丙异亮) (IV)。

以上推断证实这 4 个环二肽的结构如图 1 所示, 其 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据如后所列。

1 仪器和试剂

熔点由显微熔点仪测定, 温度未校正; 红外光谱用 Bio-Rad FTS-135 型红外分光光度计测定 (KBr

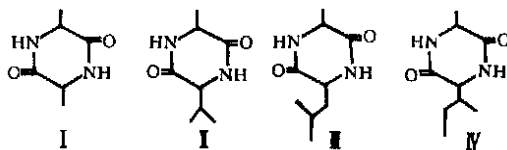


图 1 化合物I ~ IV 的化学结构式

压片); 质谱由 VG Auto Spec-3000 型质谱仪测定; 核磁共振谱用 Bruker Am-400 型和 DRX-500 型核磁共振仪测定, 以 TMS 为内标, 氘代吡啶为溶剂。薄层层析用硅胶 G 高效板, 柱层析用硅胶 (200~300 目和 300~400 目) 均为青岛海洋化工厂生产。金铁锁样品购于云南白药厂。

2 提取和分离

金铁锁样品 (25 kg) 经粉碎后, 以工业乙醇 (90%) 回流提取 3 次, 每次 4 h 减压浓缩后, 浸于丙酮中, 搅溶, 过滤得丙酮溶解部分, 减压浓缩后得浸膏 166 g。将丙酮溶解部分进行硅胶柱层析, 以 CHCl_3 -MeOH (99: 1 → 70: 30) 梯度洗脱, 得 I ~ IV 共 4 个组分, 其中组分 II 再进一步经硅胶 H 柱层析多次分离 (分别以 CHCl_3 -MeOH = 95: 5 和 EtOAc-MeOH = 98: 2 洗脱), 得到化合物 I (17 mg) 和 II (12 mg), 以及由化合物 III 和 IV 组成的混合物 (8 mg)。

3 结构鉴定

化合物I: 无色针状结晶 (甲醇), $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$, mp 206 $^{\circ}\text{C}$ ~ 208 $^{\circ}\text{C}$; IR (KBr) ν_{max} cm^{-1} : 3 300, 1 650; EI-MS m/z (%): 142 ($[\text{M}]^+$, 65), 114 (16), 99 (100), 84 (5), 71 (67), 56 (65); HREI-MS m/z 142. 073 3 ($[\text{M}]^+$) (计算值: 142. 074 2); ^1H NMR (400 MHz, 氘代吡啶) δ 9. 30 (2H, br. s, NH), 4. 28 (2H, q, $J = 8. 0$ Hz, α -H_{Ala}), 1. 63 (6H, d, $J = 8. 0$ Hz, β -H_{Ala})。 ^{13}C NMR (100 MHz, 氘代吡啶) δ 170. 5 (CO_{Ala}), 51. 2 (CH, α -C_{Ala}), 19. 1 (CH₃, β -C_{Ala})。如前所述鉴定为环(丙丙)。

化合物II: 无色针状结晶 (甲醇), $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$, mp 177 $^{\circ}\text{C}$ ~ 179 $^{\circ}\text{C}$; IR (KBr) ν_{max} cm^{-1} : 3 300, 1 650; EI-MS m/z (%): 170 ($[\text{M}]^+$, 1), 128 (100), 113 (35), 99 (45), 87 (17), 72 (47), 56 (22); HREI-MS m/z 170. 106 8 ($[\text{M}]^+$) (计算值: 170. 105 5); ^1H NMR (400 MHz, 氘代吡啶) δ 9. 25 (1H, br. s, NH), 8. 98 (1H, br. s, NH), 4. 35 (1H, m), 4. 13 (1H, m), 2. 67 (1H, m, β -H_{Val}), 1. 66 (3H, d, $J = 4. 0$ Hz, β -H_{Ala}), 1. 14 (3H, d, $J = 8. 0$ Hz, γ -H_{Val}), 1. 07 (3H, d, $J = 8. 0$ Hz, γ -H_{Val})。 ^{13}C NMR (100 MHz, 氘代吡啶) δ 171. 5 (CO), 165. 5 (CO), 60. 9 (CH),

51. 2 (CH), 32. 2 (CH, β - γ Al), 20. 9 (CH, γ -C_{Ala}), 19. 1 (CH, γ -C_{Vla}), 17. 1 (CH, β -C_{Ala}) 如前所述鉴定为环(丙-缬)。

化合物III: 混合物中的一个组分, C₉H₁₆N₂O₂, FAB-MS m/z 185 ([M+H]⁺)。 ¹H NMR (400 MHz, 氘代吡啶) δ 9. 25 (1H, br. s, NH_{Ala}), 9. 16 (1H, br. s, NH_{Leu}), 4. 34 (1H, ca. α -H_{Ala}), 4. 27 (1H, m, α -H_{Leu}), 2. 12 (1H, ca. β -H_{Leu}), 1. 96 (1H, m, β -H_{Leu}), 2. 12 (1H, ca. γ -H_{Leu}), 1. 66 (3H, d, J= 6. 5 Hz, β -H_{Ala}), 0. 925 (3H, d, J= 6. 0 Hz, δ -H_{Leu}), 0. 919 (3H, d, J= 6. 4 Hz, δ -H_{Leu})。 ¹³C NMR (100 MHz, 氘代吡啶) δ 169. 7 (CO_{Leu}), 169. 6 (CO_{Ala}), 54. 1 (CH, α -C_{Leu}), 51. 4 (CH, α -C_{Ala}), 43. 9 (CH, β -C_{Leu}), 24. 7 (CH, γ -C_{Leu}), 23. 4 (CH, δ -C_{Leu}), 21. 9 (CH, δ -C_{Leu}), 20. 8 (CH, β -C_{Ala})。 如前所述鉴定为环(丙-亮)。

化合物IV: 混合物中的另一个组分, C₉H₁₆N₂O₂, FAB-MS m/z 185 ([M+H]⁺)。 ¹H NMR (400 MHz, 氘代吡啶) δ 9. 26 (1H, br. s, NH_{Ala}), 8. 95 (1H, br. s, NH_{Leu}), 4. 34 (1H, ca. α -H_{Ala}), 4. 19 (1H, m, α -H_{Leu}), 2. 34 (1H, m, β -H_{Leu}), 2. 06 (1H, m, γ -H_{Leu}), 1. 74 (1H, m, γ -H_{Leu}), 1. 68 (3H, d, J= 6. 5 Hz,

β -H_{Ala}), 1. 14 (3H, d, J= 7. 2 Hz, γ -H_{Leu}), 0. 887 (3H, t, J= 7. 5 Hz, δ -H_{Leu})。 ¹³C NMR (100 MHz, 氘代吡啶) δ 170. 0 (CO_{Ala}), 167. 8 (CO_{Leu}), 60. 4 (CH, α -C_{Leu}), 51. 1 (CH, α -C_{Ala}), 39. 2 (CH, β -C_{Leu}), 24. 9 (CH, γ -C_{Leu}), 20. 4 (CH, β -C_{Ala}), 15. 6 (CH₃, γ -C_{Leu}), 12. 2 (CH, δ -C_{Ala})。 如前所述鉴定为环(丙-异亮)。

致谢: 中国科学院昆明植物研究所植物化学开放实验室仪器分析组测定所有光谱, 感谢云南省教委给予科研经费资助。

参考文献

- 1 吴征镒. 新华本草纲要. 第三册. 上海: 上海科技出版社, 1990: 47
- 2 浦相渝, 杨崇仁, 周俊. 云南植物研究, 1984, 6(4): 463
- 3 浦相渝, 周俊. 云南植物研究, 1987, 9(3): 369
- 4 浦相渝, 周俊. 云南植物研究, 1989, 11(2): 198
- 5 Tan N H, Zhou J, Chen C X, *et al.* Phytochemistry, 1993, 32: 1327
- 6 Zhao Y R, Zhou J, Wang X K, *et al.* Phytochemistry, 1995, 40: 1453
- 7 Zhao Y R, Zhou J, Wang X K, *et al.* Chinese Journal of Chemistry, 1995, 13(6): 552
- 8 张荣平, Zou C, He Y N, 等. 云南植物研究, 1997, 19(3): 304
- 9 Wang Y C, Tan N H, Zhou J, *et al.* Phytochemistry, 1998, 49: 1453
- 10 Ding Z T, Wang Y C, Zhou J, *et al.* Chinese Chemical Letters, 1999, 10: 1037
- 11 Ding Z T, Zhou J, Tan N H, *et al.* Plant Medica, 2000, 66: 386 (1999-12-06收稿)

长春花内生真菌的分离及其发酵产生药用成分的初步研究[△]

云南大学生物系(昆明 650091) 张玲琪* 郭波 李海燕 曾松荣
云南省微生物研究所 邵华 谷苏 魏蓉城

摘要 首次报道从长春花 *Catharanthus roseus* (L.) G. Don 茎的韧皮部中分离出尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum*, 为该植物的一种内生真菌, 并用 TLC 和 HPLC 对该菌的 97CG₃ 菌株培养物进行了分析, 初步结果表明该真菌能产生抗癌药长春新碱成分。

关键词 长春花 内生真菌 尖孢镰刀菌 长春新碱

Preliminary Study on the Isolation of Endophytic Fungus of *Catharanthus roseus* and Its Fermentation to Produce Products of Therapeutic Value

Department of Biology, Yunnan University (Kunming 650091) Zhang Lingqi, Guo Bo, Li Haiyan and Zeng Songrong
Yunnan Institute of Microbiology Shao Hua, Gu Su and Wei Rongcheng

Abstract An endophytic fungus, *Fusarium oxysporum*, (97CG₃) was isolated from the phloem (inner bark) of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don for the first time. Metabolic products of cultured 97CG₃ have been analysed by TLC and HPLC. It was shown that the fungus can produce vincristine which has an

* Address: Zhang Lingqi, Biology Department of Yunnan University, Kunming

张玲琪 女, 57岁, 1964年毕业于云南大学。现任生物系教授, 硕士生导师。长期从事基础微生物学及应用微生物学的教学和科研工作, 先后主持和参与国家和省自然科学基金以及有关部门委托的纵向课题 10余项, 在内生真菌、菌根菌以及环保和食品微生物等方面均完成了较多的工作, 获得过部、省级科技进步奖, 已发表有关论文 40余篇, 并合著出版著作 2本。

[△]国家自然科学基金资助项目 (No 39860005); 云南省应用基础研究基金资助项目 (No 96C009M)