

云南红豆杉中紫杉烷类化合物的分离与鉴定

梁敬钰¹, 杨路¹, 程奇蕾¹, Zheng F M², 魏秀丽¹, 张颖^{1*}

(1. 中国药科大学天然药物化学教研室, 江苏南京 210009; 2. Department of Chemistry, Rutgers University, NJ 08854, USA)

摘要: 目的 为了进一步研究红豆杉中的紫杉烷二萜类化合物, 对生长在我国的云南红豆杉 *Taxus yunnanensis* 进行深入的化学研究。方法 云南红豆杉枝叶的乙醇提取物, 经萃取、硅胶柱层析、PTLC 制备 HPLC 等方法分离, 从乙醇提取物的二氯甲烷萃取部分分离得到 5 个化合物, 采用波谱解析 (UV, IR, ESI-MS, ¹HNM R, ¹³CNM R) 等方法确定了它们的结构。结果 分别为 1-acetoxy-baccatin I (I), 7-epi-taxol (II), taxchinin A (III), cepheleamine (IV) 和 taxol (V)。结论 化合物 I 为新化合物, 化合物 II、III 为首次从该植物分得。

关键词: 云南红豆杉; 1-乙酰氧基-巴卡亭 I; 7-epi-紫杉醇; taxchinin A; 三尖杉宁碱; 紫杉醇

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)04-0294-04

Isolation and structural identification of taxanes in *Taxus yunnanensis*

LIANG Jing-yu¹, YANG Lu¹, CHEN Qi-lei¹, ZHENG F M², WEI Xiu-li¹, ZHANG Ying¹

(1. Department of Phytochemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing Jiangsu 210009, China;

2. Department of Chemistry, Rutgers University, NJ 08854, USA)

Abstract Object To intensively investigate taxane diterpenes in *Taxus yunnanensis* Cheng et L. K.

Fu growing in Yunnan Province of China. **Methods** The needles and twigs of the plant were extracted with ethanol, the ethanol extract was subjected to extraction with methylene dichlorid, the methylene dichlorid extract was submitted to chromatography on silica gel column to isolate some compounds. The obtained compounds were purified by PTLC and preparative HPLC, and their structures were elucidated on the basis of spectral analysis (UV, IR, ESI-MS, ¹HNM R, ¹³CNM R). **Results** Five taxane diterpenes were isolated and identified as 1-acetoxy-baccatin I (I), 7-epi-taxol (II), taxchinin A (III), cepheleamine (IV) and taxol (V). **Conclusion** Compound I is new, II and III are isolated from *T. Yunnanensis* for the first time.

Key words *Taxus yunnanensis* Cheng et L. K. Fu; 1-acetoxy-baccatin I, 7-epi-taxol; taxchinin A, cepheleamine; taxol

红豆杉属 (*Taxus* L.) 植物为常绿乔木或灌木, 全世界共有 11 种, 分布在北半球。我国有 4 个种和 1 个变种, 都已做过化学研究。自美国化学家 Wani 等从短叶红豆杉 *T. brevifolia* Nutt. 中分离得到紫杉醇并于 1971 年鉴定了其结构以来, 紫杉醇由于其独特的化学结构和作用机制以及良好的抗癌活性而倍受世人关注, 并由此引发了人们对红豆杉属植物的研究热潮。到目前为止, 已从红豆杉属植物中分离出紫杉烷类二萜化合物 300 多个。本文报道云南红豆杉中 5 个紫杉烷类化合物的分离与结构鉴定。

化合物 I: 为无色方晶, 电喷雾质谱中水加合分子离子峰 (M+ H₂O)⁺ 出现在 712 处, 相对分子质量为 694。结合其 ¹HNM R (表 1) 和 ¹³CNM R (表 1) 推测其分子式为 C₃₄H₄₆O₁₅。它的 ¹HNM R 分别在 δ 1.66, 1.26, 2.24 和 1.26 处出现紫杉烷类化合物的 4 个特征甲基信号, 而在 ¹³CNM R 中甲基碳信号则出现在 δ 28.7, 22.1, 15.7 和 13.9 处。根据紫杉烷类化合物的 ¹HNM R, ¹³CNM R 规律, 19-CH₃ 出现在 δ 1.26 的较低场提示分子中具有三元氧环结构。δ 2.33 (J = 5.1 Hz) 和 δ 3.55 (J = 5.1 Hz) 的两个双峰及 ¹³CN-

* 收稿日期: 2001-03-11

作者简介: 梁敬钰, 男, 现任中国药科大学校中药学院副院长兼天然药化教研室主任、教授、博士生导师, 为中国药科大学校学术委员会委员、国家重点学科药物化学学科委员会秘书、“中国药科大学学报”和“药学服务与研究”杂志编委、江苏省中医药学会化学与分析专业委员会常委等。1977 年中国药科大学化学制药专业毕业, 1986 年同校药物化学 (天然药化) 研究生毕业, 理学硕士, 1983 年起从事教学和天然抗肿瘤药物 (紫杉醇、红豆杉等) 和天然抗糖尿病药物等研究, 1990 年 2 月至 1992 年 9 月在美国 VPI & SU 大学进行紫杉醇等研究, 为高级副研 (Senior Research Associate), 2001 年 3 月至 5 月在美国亚利桑那大学进行“抗肿瘤天然药复方 PC-SPEs 的研究, 为访问研究科学家 (Visiting Research Scientist), 承担多项国家级、省级科研项目及企业合作科研项目, 在国内外专业刊物发表学术论文多篇, 和美国发明专利 1 项。

M R中 δ 58.5和 50.2的信号证实化合物I 的 C-4/C-20三元氧环结构的存在 比较 C-4/C-20具有三元氧环的 abeo型紫杉烷^[1]与具 6/8/6骨架的紫杉烷的 C-20位化学位移可以发现, abeo型紫杉烷 H-20与 H-20'化学位移之差较小,约为 0.9,而 6/8/6骨架紫杉烷相应 H-20与 H-20'化学位移之差则为 δ 1.2左右。因此,化合物I 应是具有 6/8/6骨架和 C-4/C-20三元氧环结构的紫杉烷类化合物。

¹H NMR中 δ 2.00, 2.06(CH₃× 3), 2.10, 2.12, 2.23处强而尖的单峰信号及 ¹³C NMR中 δ 20.90, 21.3(CH₃× 2), 21.66(CH₃× 3), 21.90, 169.38, 169.45, 169.96, 170.09, 170.27和 170.61处的信号表明该化合物有 7个乙酰氧基,在 ¹³C NMR中 δ 80~ 50间有 9个连氧碳信号峰,其中 2个可归属为三元氧环碳信号,其余 7个则是与乙酰氧基相连 C信号。且在 ¹H NMR中未观察到游离羟基信号。IR上无 OH峰 ¹H NMR中 α -H信号出现在 δ 3.20(J 3.4)处,与之耦合的 β -H信号则在 δ 5.50(J 4.1)的低场处,故 2位有乙酰氧基取代 低场区在 δ 6.05和 6.23(J 11.0 Hz)的一对相互偶合二重峰是 δ -H和 1 α -H的特征信号。从 δ 值可知 9位和 10位均被乙酰氧基取代。由于 C-4/C-20环氧乙烷环的各向异性作用使 H-5向高场位移,根据已知的规律,当 C-5位被羟基取代时, β -H在 δ 3.00~ 3.18,而 5位羟基被乙酰化后则向低场位移至 δ 4.07~ 4.26 因此, ¹H NMR中 δ 4.23的宽单峰应为 5位 H信号,并且 C-5也应为乙酰氧基所取代, 1 α -H与 1 β -H在 δ 1.89(J 14.9, 6.7)与 δ 2.55(J 14.8, 9.7)的 2个 dd峰信号说明 14位 α, β 氢除了相互偶合外,还分别与 δ 6.10处的 1 β -H偶合(双照射去偶谱中,分别照射 δ 1.89与 δ 2.55处, δ 6.10的氢信号裂分均减少,也证实了这一点),但与 1位没有偶合关系,从而证明 β -H被取代, γ -H的四重峰出现在 δ 5.50的低场,则说明 7位也被乙酰氧基取代。至此,可确定 C-2 C-5 C-7 C-9 C-10和 C-13被 OAc取代,所以最后一个 OAc应连在 C-1位 据此我们推测化合物I 的结构如图 1

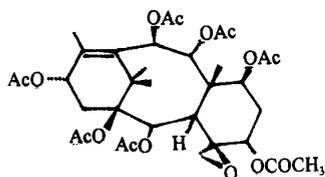


图 1 化合物I 的化学结构式

将化合物I 的 ¹³C NMR与 β -hydroxybaccatin I 的 ¹³C NMR比较,发现前者在 170.61和 21.66较后者多 2个峰(C-1位 Ac信号),且 C-1位化学位移略向低场移动,与 1-acetylbaccatinIV 的 C-1化学位移 δ 76.7相近。我们推测可能是由于 C-1羟基乙酰化后立体构象的改变,使 C-1正好处于 C-2位 OAc上 C=O的正屏蔽区,诱导效应与屏蔽效应的相互抵消,使 C-1化学位移变化不大

化合物I 核磁共振图谱数据归属如表 1

1 仪器、试剂及药材

熔点用双目镜视显微熔点测定仪测定(温度未经校正);红外用 Perkin-Elmer 983型红外光谱仪测定(KBr压片);旋光用 PE-241 MC型旋光仪测定;核磁用 Bruker ACF-250型核磁共振仪(¹H NMR 250 MHz), Bruker ACF-300(¹H NMR 300 MHz)及 Bruker ACF-500(¹H NMR 500 MHz)测定, TMS为内标; FAB, EI用 VG型质谱仪,电喷雾电离质谱用 Finnigan公司 LCQ型质谱仪测定;高效液相用岛津 10A型高效液相色谱仪。

所用薄层层析、柱层析硅胶、硅胶 GF₂₅₄及高效 GF₂₅₄薄层板均为青岛海洋化工厂生产;制备高效液相所用色谱纯甲醇为淮阴化学试剂厂生产;其余液体试剂均为分析纯

实验药材为云南红豆杉 *Taxus yunnanensis* Cheng et L. K. Fu的干燥枝叶,原植物由天津大学那平副教授鉴定。

2 提取和分离

云南红豆杉的干燥枝叶 25 kg,经乙醇提取 分步萃取,通过多次硅胶柱层析上 PE+ EtOAc/MeOH梯度洗脱,结合制备 HPLC, PTLG 离心薄层等的综合作用,共从乙醇提取物的二氯甲烷萃取部分分离得到 5个化合物。

3 结构鉴定

化合物II: 为无色针状结晶,薄层板上以浓硫酸香草醛显色斑点呈深兰色。 ¹H NMR中, δ 1.20, 1.15, 1.80和 1.67处的 4个单峰信号是紫杉烷类化合物 4个甲基的特征信号。在 δ 4.08~ 4.55(四元氧环 H-20, 20')或 δ 3.25~ 3.71(三元氧环 H-20, 20')未出现 AB四重峰信号,也未在 δ 4.98~ 5.57和 δ 4.64~ 4.96(C₄/C₂₀双键)出现两个单峰信号,而是在 δ 4.36有一个双氢宽单峰信号,这提示化合物II 可能是 7位表构化的紫杉烷类化合物,将化合物II 的 ¹H NMR与 taxol的对照,发现两者的氢谱十分相似,主要区别在于: taxol的 H-7在 δ 4.40呈多重峰,

而化合物II的 H-7则在 δ 3.70 表现为宽单峰; taxol 的 H-20, 20' 在 δ 4.19 和 δ 4.30 呈 AB 四重峰, 而化合物II 的 H-20, 20' 则在 δ 4.39 表现为一个双氢宽单峰; taxol 的 H-10 出现在 δ 6.27, 化合物II 的 H-10 则出现在 δ 6.70 的相对低场; 另外 taxol H-5 的偶合常数 (dt, 9.6, 2.3, 1) 也与化合物II (dd, 8.6, 3.8) 不同。又对比 7- ϵ -pi-10-deacetyl taxol 与 10-deacetyl taxol, 7- ϵ -pi-10-deacetylcephalomannine 与 10-deacetylcephalomannine, 可以发现它们之间的区别与 taxol 和化合物II 的区别相同, 因此, 我们推测化合物II 是已知化合物 7- ϵ -pi-taxol

将化合物II 的 $^1\text{H NMR}$ 和 IR 与文献中 7- ϵ -pi-taxol^[2] 对照一致。故将化合物II 鉴定为 7- ϵ -pi-taxol 上述结构美国学者已从短叶红豆杉 *Taxus brevifolia* 中分到过, 但在云南红豆杉成分研究中未见报道, 尚属首次发现。

表 1 化合物I 的 ^1H 和 $^{13}\text{C NMR}$ 数据 (CDCl₃, TMS)

碳位	δ_{C}	氢位	δ_{H}
1	76.38		
2	72.45	2	5.50 (d, 3.4)
3	41.60	3	3.20 (d, 3.4)
4	58.54		
5	77.97	5	4.23 (brs)
6	31.36	6	2.20 (obscure)
		6'	1.76 (obscure)
7	68.96	7	5.50 (dd, 10.4, 6.4)
8	46.88		
9	75.44	9	6.05 (d, 11.0)
10	70.98	10	6.23 (d, 11.0)
11	135.93		
12	140.61		
13	71.39	13	6.10 (m)
14	38.81	14	1.89 (dd, 14.9, 6.7)
		14'	2.55 (dd, 14.8, 9.7)
15	43.55		
16	28.70	Me-16	1.26 (s)
17	22.05	Me-17	1.66 (s)
18	15.66	Me-18	2.24 (brs)
19	13.92	Me-19	1.26 (s)
20	50.15	20a	2.33 (d, 5.1)
		20b	3.55 (d, 5.1)
OOC Me	21.90	O Ac-Me	2.00 (s)
	21.65		2.06 (s, \propto O Ac)
	21.65		2.10 (s)
	21.65		2.12 (s)
	21.12		2.23 (s)
	21.12		
	20.89		
O O C Me	170.61		
	170.27		
	170.09		
	169.96		
	169.59		
	169.45		
	169.38		

化合物III: 为无色粉末, EIMS 中没有见到分子离子峰, 而是给出了相应的碎片峰 m/z 578 [M - 2H₂O], 518 [M - H₂O - HOAc], 478, 389, 358, 261, 223, 107 [base peak], 薄层层析展开后以浓硫酸-香草醛 (3:2) 显色为墨绿色斑点。Y-L-89 的 $^1\text{H NMR}$ 十分有趣, 在同一张谱图中, 可以观察到两组完全不同峰形的 $^1\text{H NMR}$ 信号。一组峰较矮, 多为馒头峰, 分辨率极差, 难以解析, 另一组峰信号较强, 裂分清晰, 两组信号峰面积之比约为 2:5, 这提示该化合物可能为骨架 5/7/6 耦合的紫杉烷类化合物, 且分子中存在 B 环扭椅式和扭船式构象异构体 (2:5), 我们主要通过解析 B 环扭船式构象的 $^1\text{H NMR}$ 来确定化合物III 的结构。

在 $^1\text{H NMR}$ 中, B 环扭船式构象的 4 个甲基信号出现在 δ 1.08, 1.192, 2.11 和 1.03 处, 较高场 δ 3.38 处是 α -H 信号。 α -H 与 β -H 之间的偶合数为 9.02 Hz, β -H 的信号出现在 δ 6.04 的低场, 表明 α 位被酰氧基团取代; 13 位羟基取代后 1β -H 的信号出现在 δ 4.45 处, 以上信号都表明该化合物为 abeo 型紫杉烷类化合物。 δ 4.58 和 δ 5.17 的两个尖锐单峰是 C₄, C₂₀ 双键上末端烯氢的特征信号。 δ 5.99 和 δ 6.54 (J = 11.0 Hz) 组成的 AB 系统四重峰分别为 η -H 和 10α -H 的信号。从化学位移值看, 9, 10 位均被酰氧基取代。 $^1\text{H NMR}$ 中, δ 2.04, 1.99, 1.73 处 3 个强而尖锐的单峰信号, 揭示了 3 个乙酰氧基的存在。一个苯甲酰基的存在则被下列信号所证实: δ 7.85 (2H, d, J = 7.6), δ 7.53 (1H, t, J = 7.4), δ 7.41 (2H, t, J = 7.9), δ 4.35 和 4.45 处骨架氢信号提示该化合物有两个羟基取代。其中一个在 13 位, 另一个则在 α 位或 β 位。至此, 可以确定化合物III 为 $\Delta^{4(20)}$ abeo 型紫杉烷骨加上有 3 个乙酰氧基, 一个苯甲酰氧基, 两个羟基取代的化合物。根据对已知的 $\Delta^{4(20)}$ abeo 型紫杉烷类化合物的研究, 我们发现这类化合物中苯甲酰氧基多取代在 10 位, α , β 则经常为乙酰氧基取代。因此可推测化合物III 的化学结构式如图 2。



图 2 化合物III 的化学结构式

上述结构为一已知化合物。1992 年日本学者首次报道从中国红豆杉 *Taxus chinensis* (Pilgre) Rehd 中分离到, 并命名为 taxchinin A^[3]。该结构在云南红豆杉成分研究中未见报道。因此该成分在云南红豆杉中是首次发现。化合物III 与 taxchinin A 的

¹HNM R数据,完全一致。因此,化合物III应为 tax-chinin A

化合物IV:为无色结晶。薄层板上展开后以浓硫酸-香草醛显色呈兰色斑点。Rf值与 taxol非常相近,用高效液相将它与 taxol分离而得到。将其¹HNM R图谱与紫杉醇对照发现在低场区缺少一个苯环的氢信号,同时在高场区 δ 1.78和 1.70增加了两个裂分的甲基信号,而在低场区 δ 6.41处增加了一个烯氢的信号,另外,边链上 β -H及 N上 H信号均向高场位移。我们推测化合物IV为 cephalomannine,将化合物IV的¹HNM R与文献^[4,5]中 cephalomannine对照,两者一致。故将化合物IV鉴定为 cephalomannine

化合物V:为无色针晶,mp 213℃~214℃,薄层板上以浓硫酸-香草醛显色呈现兰色斑点。通过文献^[6-9]数据对照,化合物V的¹HNM R数据与 taxol一致,与紫杉醇标准品对照,化合物V的 TLC斑点Rf值及显色行为,IR与 taxol完全一致,与 taxol标

准品混合熔点不下降,鉴定V为 taxol

参考文献:

- [1] Zhang S X, Lee C T L, Chen K, et al. Structure and stereochemistry of taxuchin A: a new 11(15 \rightarrow 1) abeo-taxane type diterpene from *Taxus chinensis* [J]. J Chem Soc Chem Commun, 1994(13): 1561-1562
- [2] Huang O C H, Kingston D G I, Magri N F, et al. New taxanes from *Taxus brevifolia* [J]. J Nat Prod, 1986, 49(4): 665-669.
- [3] Fuj K, Tanaka K, and Li B. Taxchinin A: a diterpenoid from *Taxus ohinensis* [J]. Tetrahedron Letts, 1992, 33(51): 7915-7916.
- [4] Zhang J Z, Fang Q C, Liang X T, et al. Taxoids from the barks of *Taxus wallichiana* [J]. Phytochemistry, 1995, 40(3): 881-884.
- [5] 张沿军,王林,李锐,等.东北红豆杉化学成分研究[J].中国药学杂志,1992,27(10): 634.
- [6] 陈末名,张佩玲,吴斌,等.云南红豆杉抗肿瘤活性成分的研究[J].药学报,1991,26(10): 747-754.
- [7] Chen W M, Zhang P L, Wu B, et al. Studies on the chemical constituents of *Taxus yunnanensis* [J]. Chin Chem Letts, 1991, 2(6): 441-442.
- [8] Zhang H J, Sun H D. Four new taxanes from the roots of *Taxus yunnanensis* [J]. J Nat Prod, 1995, 58(8): 1153-1159.

长茎金耳环脂溶性化学成分的研究

张树祥¹, 蔡忠人², 山路诚², 高小丽¹, 王璇¹, 蔡少青¹, 赵玉英^{1*}

(1. 北京大学药学院天然药物学系, 北京 100083; 2. 富山医科药科大学和汉药研究所, 日本 富山 9300194)

摘要:目的 对长茎金耳环根及根茎的化学成分进行研究。方法 采用溶剂法和色谱法分离化合物,波谱法鉴定化合物的结构。结果 从长茎金耳环根及根茎的乙醇提取物中分离得到9个化合物,经波谱分析确定它们分别是:(2E, 6Z, 8E)-N-异丁基-2,6,8-三烯十酰胺(spilanthol, I)、magnosalin(II)、heterotropan(III)、N-异丁基-3,4-二甲氧基肉桂酰胺(N-isobutyl-3,4-methylenedioxy cinnamide, IV)、马兜铃内酰胺I(aristololactam I, V)、胡萝卜苷(daucosterol, VI)、7-甲氧基马兜铃内酰胺IV(7-methoxyaristololactam IV, VII)、马兜铃酸I(aristolochic acid I, VIII)和香草酸(vanillic acid, IX)。结论 这些化合物均为首次从长茎金耳环中分离得到,其中I和II为首次从细辛属植物中分离得到。

关键词:长茎金耳环;细辛属;化学成分

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2002)04-0297-03

Studies on chemical constituents from radix and rhizome of *Asarum longerhizomatosum*

ZHANG Shu-xiang¹, TANI Tadato², YAMAJI Seiichi², GAO Xiao-li¹, WANG XU AN¹, CAI Shao-qing¹, ZHAO Yu-ying¹

(1. Department of Natural Medicines, School of Pharmaceutical Sciences, Beijing University, Beijing 100083, China;

2. Institute of Natural Medicines, Toyama Medical and Pharmaceutical University, Toyama 9300194, Japan)

Abstract Object To study the chemical constituents in the radix and rhizome of *Asarum longerhizomatosum* C. F. Liang et C. S. Yang. **Methods** Chromatography and spectral analysis were used to isolate the chemical constituents and elucidate their structures. **Results** Nine compounds were isolated from ethanol extract of the radix and rhizome of *A. longerhizomatosum*. On the basis of spectra data, they were

* 收稿日期: 2001-11-26

作者简介: 张树祥,男,北京大学药学院99级生药专业博士生,2000-1~2001-10赴日本富山医科大学学习,主要从事天然产物的化学成分和生物活性研究。

* 联系人 北京大学药学院生药学研究组,100083 Tel (010)62091693 Fax: (010)62091693