

珙桐枝皮中的生物碱甙成分研究

刘 荣, 王从周, 欧阳明安*

(华侨大学 生物工程与技术系, 福建 泉州 362021)

摘 要: 从珙桐枝皮甲醇提取物的水溶性部分得到 3 个配糖体化合物, 经核磁共振和质谱等光谱分析鉴定为 1 个喹啉类生物碱甙-pumiloside(1) 和 2 个吲哚类生物碱甙-vincosamide(2), strictosidinic acid(3), 其中 pumiloside 是抗肿瘤物质喜树碱的一种生物合成前体, 这 3 个化合物均为首次从该植物中分得。

关键词: 珙桐; pumiloside; vincosamide; strictosidinic acid

中图分类号: Q946 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2007)02-0277-04

Studies on the alkaloid glycoside constituents from branch-bark of *Davidia involucrata*

LIU Rong, WANG Cong-Zhou, OUYANG Ming-An*

(Department of Bio-engineering & Technology, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China)

Abstract: Three glycosides were isolated from the branch-bark of *Davidia involucrata*. NMR and MS methods were used to elucidate their chemical structures. The three compounds were determined as one quinoline alkaloid glycoside-pumiloside (1) and two indole alkaloid glycosides-vincosamide (2), strictosidinic acid (3). All these compounds were isolated from *D. involucrata* for the first time.

Key words: *Davidia involucrata*; pumiloside; vincosamide; strictosidinic acid

珙桐(*Davidia involucrata* Baill.)为我国特有的珙桐科单型属植物,亦称水梨子或鸽子树,是我国特有的珍稀濒危植物,也是世界著名的珍贵稀有观赏植物,属国家一级保护植物(中国科学院植物研究所,1985;朱利君等,2006;胡进耀等,2003;贺金生等,1995)。其根和果皮可入药,味苦、性凉,有清热解毒、收敛止血、止泻等功效。珙桐科植物分喜树属(*Camptotheca* Decne.)、兰果树属(*Nyssa* Gronov ex L.)和珙桐属(*Davidia* Baill.)10余种植物,大部分为我国所特有,本科植物的化学成分研究,除喜树(*Camptotheca acuminata* Decne.)外,其它植物成分少有报道(李立源等,2001)。本文对珙桐枝皮的甲醇提取物水溶性成分进行研究,分离得到3个配糖体化合物(图1),它们分别是喹啉类生物碱甙-pumiloside(1)和吲哚类生物碱甙-vincosamide(2), strictosidinic acid(3)。

本文所分 pumiloside 是喜树碱(Camptothecin)的生物合成前体物质,喜树碱作为喜树中具有抗癌活性的生物碱,具有强的细胞毒性,对抗胃癌、肝癌、结肠、直肠癌、膀胱癌及白血病等恶性肿瘤均有效,此外,作为发现最早的植物天然拓扑异构酶 I 抑制剂,喜树碱还具有抗艾滋病毒的功效。但由于毒性过大,它也会引起骨髓抑制、呕吐、严重出血等副作用(郭舜民,1994)。珙桐与喜树系同科,故预测本处所得生物碱甙同样具有抗癌等生物活性,具体工作有待进一步探索。

1 仪器、试剂与材料

¹H NMR 和 ¹³C NMR 用 Bruker AM-400 型和 DRX-500 型核磁共振仪测定, TMS 为内标; FAB-

收稿日期:2005-05-11 修回日期:2006-03-07

基金项目: 国务院侨办基金(2001)[Supported by Office of Overseas Chinese Affairs under State Council(2001)]

作者简介: 刘荣(1980-),男,四川成都人,硕士研究生,从事天然产物化学研究。

* 通讯作者(Author for correspondence)

MS 采用 VG Autospec 3000 型质谱仪(负离子快原子轰击质谱,底物甘油);UV 采用 UV 2401-PC 紫外分光光度计(Shimadzu, Japan);IR 采用 Perkin-Elmer 1750 红外光谱仪(KBr 压片);X4 型显微熔点仪(温度温度计未校正);层析材料为:RP-8(40~60 μm , Merck), 硅胶(160~200 mesh and 10~40 μm ,

青岛海洋化工厂), Sephadex LH-20(25~100 μm , Pharmacia Fine Chemical Co., Ltd.) 和 MCI-gel CHP20P(75~150 μm , Mitsubishi Chemical Industries, Ltd.);薄层层析显色用 5% H_2SO_4 加热显色。珙桐枝皮 1995 年 6 月采自云南贡山县,由中国科学院昆明植物所植物分类室杨永平先生鉴定。

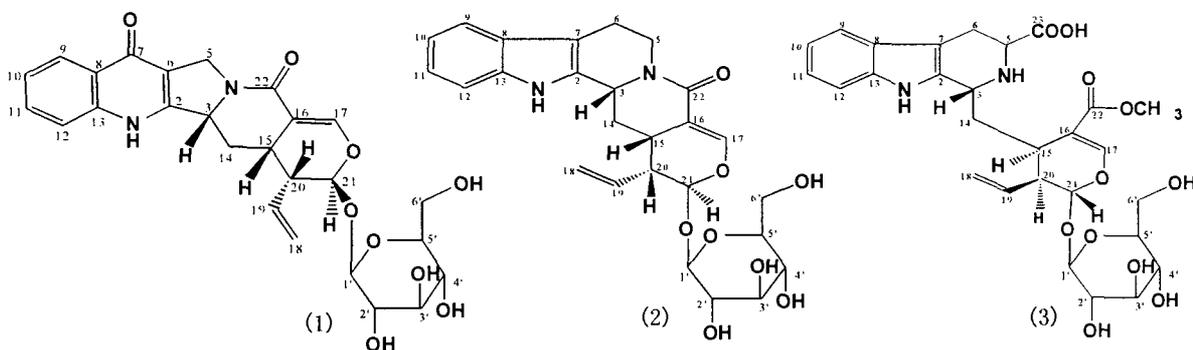


图 1 化合物 1~3 的结构

Fig. 1 The structure of compounds 1~3

2 提取和分离

珙桐侧枝树皮干重 7 kg 用 MeOH 浸提 3 次,合并甲醇提取液减压蒸馏得浸膏,经水溶解,过滤,水溶解部分通过 D_{101} 柱,先用水洗脱,除去糖、无机盐和氨基酸等,后用甲醇洗脱,蒸干甲醇洗脱物得到 149 g 棕黑色水溶性浸膏,浸膏经 Sephadex LH-20 柱流动相甲醇-水(5%~40%)和 MCI-gel 柱流动相甲醇-水(10%~50%)洗脱,再经硅胶柱流动相氯仿:甲醇:水(100:10:1~80:20:1)和 RP-18 硅胶柱流动相甲醇-水(10%~70%)纯化,最后得到配糖体化合物 1(80 mg),2(60 mg),3(50 mg)。化合物 1~3 的结构见图 1。

酸水解:化合物(10mg)溶解在含有 5% H_2SO_4 的溶液中(乙醇:水=1:1),加热回流 10 h,反应混合物用水稀释,然后用 2% 的 NaOH 中和,真空干燥,残渣用吡啶提取后,通过 HPTLC 分析确定糖的种类,确定均为葡萄糖。

3 结构鉴定

Pumiloside(1):无色无定型粉末,mp 285~300 $^{\circ}\text{C}$,负离子 FAB-MS m/z : 511[M-H]⁻, 349[M-H-162]⁻, 高分辨 HRFAB-MS m/z : 511.1821[M-

H]⁻, 分子式 $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_9$ 。UV(MeOH) λ_{max} : 244 nm(log ϵ 4.09), 316 nm(log ϵ 3.31), 328 nm(log ϵ 3.58),显示化合物至少有 4 个或 5 个共轭双键。IR(KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3345(-OH,-NH), 1655(C=O), 1633(C=C), 1606(苯环骨架), 1418, 1341, 1256, 1216, 1186, 1145, 1076, 1054。¹H NMR($\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$) δ : 7.96(s, H-1), 4.73(m, H-3), 4.74(d, $J=18.0$ Hz, H-5 β), 5.47(1H, d, $J=18.0$ Hz, H-5 α), 8.73(dd, $J=1.5, 10.0$ Hz, H-9), 7.37(m, H-10), 7.55(m, H-11), 7.78(dd, $J=1.5, 10.0$ Hz, H-12), 1.50(m, H-14 β), 2.53(m, H-14 α), 3.24(m, H-15), 7.96(s, H-17), 4.97(dd, $J=1.8, 16.7$ Hz, H-18 β), 5.09(dd, $J=1.8, 10.4$ Hz, H-18 α), 5.48(overlapped, H-19), 2.61(m, H-20), 5.77(d, $J=1.6$ Hz, H-21), 5.32(d, $J=7.6$ Hz, H-1'), 4.09(m, H-2'), 4.30(m, H-3'), 4.31(m, H-4'), 3.99(m, H-5'), 4.43(m, H-6' β), 4.53(br d, $J=12.0$ Hz, H-6' α)。 ¹³C NMR($\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$)数据见表 1。以上 NMR 数据与文献(Zhang 等, 2001)报道一致。

DEPT 谱显示 Pumiloside 有 26 个碳信号,其中 4 个亚甲基,15 个次甲基和 7 个季碳(其中 2 个羰基碳信号)。酸水解该化合物,水解液用高分辨薄层色谱并与标准糖比较得出化合物中糖为葡萄糖。HMBC 谱显示如下相关关系:C-7 和 H-9、H-12, C-8 和 H-9、H-10, C-9 和 H-10、H-12, C-10 和 H-9、H-

11、H-12, C-11 和 H-9、H-12, C-13 和 H-12 均有较强的相关关系, 根据它们的化学位移以及 DEPT 信息(C-9, C-10, C-11, C-12 为叔碳; C-8, C-13 为季碳) 可推出 Pumiloside 有一个二取代苯环。再从 COSY 谱中 H-12 与 H-11, H-9 与 H-10, H-10 与 H-11 之间的相关关系, 可推知此苯环为邻二取代苯环。在 HMBC 谱中仲碳 C-18 和 H-19 有相关信号峰, 再结

合它们的化学位移显示它们构成一个端基双键。此外, C-21 的化学位移 δ_c 97.0, 且在 HMBC 谱中 C-21 与糖端基碳上的氢 H-1' 相关, 可以推出 C-21 与氧甙上的氧相连。NOESY 谱显示 H-3 和 H-15, H-15 和 H-20 有强的 NOE 效应, 说明 H-3, H-15 和 H-20 在环的同侧; 而 H-15 和 H-21 无 NOE 效应, 故 H-21 与 H-3, H-15, H-20 分布于环的异侧。

表 1 化合物 1~3 的 ^{13}C NMR 数据 (溶剂: 氘代吡啶)
Table 1 ^{13}C NMR data of the compounds 1~3 in $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$

编号 No.	(1)		(2)		(3)		编号 No.	(1)		(2)		(3)	
	δ_c	DEPT	δ_c	DEPT	δ_c	DEPT		δ_c	DEPT	δ_c	DEPT	δ_c	DEPT
2	149.9	C	134.9	C	136.9	C	17	148.2	CH	147.8	CH	154.4	CH
3	61.5	CH	53.4	CH	51.7	CH	18	120.1	CH ₂	119.6	CH ₂	118.5	CH ₂
5	49.3	CH ₂	39.9	CH ₂	57.8	CH	19	133.2	CH	133.5	CH	135.4	CH
6	114.5	C	21.6	CH ₂	26.2	CH ₂	20	44.0	CH	43.8	CH	44.9	CH
7	175.0	C	108.8	C	108.2	C	21	97.0	CH	96.8	CH	96.7	CH
8	126.6	C	127.7	C	128.1	C	22	163.0	C	163.3	C	168.5	C
9	126.0	CH	118.7	CH	118.4	CH	23	—	—	—	—	175.4	-COOH
10	123.8	CH	119.6	CH	119.4	CH		—	—	—	—	51.7	-OCH ₃
11	131.9	CH	122.0	CH	121.5	CH	glu-1'	100.5	CH	100.5	CH	100.7	CH
12	119.2	CH	111.8	CH	111.8	CH	2'	75.0	CH	75.1	CH	74.7	CH
13	141.9	C	137.8	C	137.7	C	3'	78.4	CH	78.9	CH	79.2	CH
14	30.0	CH ₂	32.1	CH ₂	38.2	CH ₂	4'	71.5	CH	71.5	CH	71.6	CH
15	28.9	CH	26.8	CH	30.0	CH	5'	78.9	CH	78.5	CH	78.4	CH
16	107.9	C	108.6	C	110.0	C	6'	62.6	CH ₂	62.6	CH ₂	62.8	CH ₂

Vincosamide(2): 黄色无定型粉末, mp 202~204 °C, 负离子 FAB-MS m/z : 497[M-H]⁻, 335[M-H-162]⁻, 高分辨 HRFAB-MS m/z : 498.5320[M-H]⁻, 分子式 $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_8$ 。IR(KBr) ν_{max} (cm⁻¹): 3387(-OH, -NH), 1655(C=O), 1646(C=C), 1571(苯环骨架), 1439, 1298, 1194, 1081, 1016, 884。¹H NMR($\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$) δ : 11.69(s, H-1), 4.52(t, $J=12.1$ Hz, H-3), 5.44(m, H-5), 2.81(m, H-6 β), 2.88(o-verlapped, H-6 α), 7.65(d, $J=7.1$ Hz, H-9), 7.26(m, H-10), 7.26(m, H-11), 7.48(d, $J=7.1$ Hz, H-12), 1.57(dd, $J=12.0, 13.2$ Hz, H-14 β), 2.43(br d, $J=12.6$ Hz, H-14 α), 3.12(br d, $J=13.2$ Hz, H-15), 7.96(s, H-17), 4.83(dd, $J=1.0, 17.0$ Hz, H-18 β), 4.97(dd, $J=1.0, 10.0$ Hz, H-18 α), 5.44(m, H-19), 2.58(dd, $J=6.0, 9.3$ Hz, H-20), 5.77(br s, H-21), 5.34(d, $J=8.0$ Hz, H-1'), 4.10(t, $J=8.2$ Hz, H-2'), 3.98(m, H-3'), 4.32(t, $J=9.3$ Hz, H-4'), 4.27(t, $J=8.8$ Hz, H-5'), 4.43(dd, $J=5.0, 11.6$ Hz, H-6' β), 4.55(br d, $J=12.1$ Hz, H-6' α)。¹³C NMR($\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$) 数据见表 1。以上 NMR 数据与文献(Atsuko 等, 1995)报道一致。

¹³C NMR 谱显示 Vincosamide 有 26 个碳信号, 其中 5 个亚甲基, 15 个次甲基和 6 个季碳。酸水解该化合物, 水解液用高分辨薄层色谱并与标准糖比较得出化合物中糖为葡萄糖。与 Pumiloside 类似, 结合 DEPT、HMBC 的信息和 C-8, C-9, C-10, C-11, C-12, C-13 的化学位移推知此化合物含有一邻二取代苯环。同样也可推知 C-18 和 C-19 构成一端基双键。HMBC 谱中, -NH 质子与 C-2, C-8, C-7, C-13, H-5 σ 与 C-2, C-7 的强相关关系可推知 N 原子与 C-2, C-8, C-7, C-13 构成一个五元环, 因此, 可确定此化合物是一含吡啶结构的生物碱甙。此外, HMBC 示 H-1' 与 C-21 有强相关, 同时糖端基质子 H-1' 的耦合常数是 8.0 Hz, 可知一分子葡萄糖是以 β 方式与 C-21 相连。NOESY 谱示 H-3 和 H-15, H-15 和 H-20 有强 NOE 效应, 而 H-15 与 H-21 无此效应, 因此, 可判断 C-3, C-15, C-20, C-21 这四个手性碳原子的相对构效关系为 3 β -H, 15 β -H, 20 β -H, 21 α -H。

Strictosidinic acid (3): 淡黄色无定型粉末, 负离子 FAB-MS m/z : 574 [M-H]⁻, 412 [M-H-

162]⁻, 分子式 C₂₈ H₃₄ N₂ O₁₁。IR (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹): 3392 (-OH, -NH), 1624 (C=O), 1442, 1389, 1312, 1067。¹H NMR(C₅H₅N) δ : 12.00(s, H-1), 4.48(br d, J=10.4 Hz, H-3), 4.07(dd, J=3.3, 11.0 Hz, H-5), 3.37(br d, J=12.6 Hz, H-6 β), 3.62(dd, J=3.3, 14.8 Hz, H-6 α), 7.73(d, J=8.3 Hz, H-9), 7.26(m, H-10), 7.26(m, H-11), 7.51(d, J=8.2 Hz, H-12), 2.15(t, J=9.0 Hz, H-14 β), 2.35(t, J=9.6 Hz, H-14 α), 3.31(m, H-15), 7.61(s, H-17), 4.95(d, J=10.5 Hz, H-18 β), 5.18(d, J=17.0 Hz, H-18 α), 5.72(m, H-19), 2.58(dd, J=6.3, 9.4 Hz, H-20), 5.77(d, J=8.8 Hz, H-21), 5.21(d, J=7.7 Hz, H-1'), 4.00(t, J=8.5 Hz, H-2'), 3.97(dd, J=7.1, 9.3 Hz, H-3'), 4.14(t, J=9.3 Hz, H-4'), 4.26(t, J=9.3 Hz, H-5'), 4.35(dd, J=6.1, 12.5 Hz, H-6' β), 4.56(br d, J=10.4 Hz, H-6' α)。¹³C NMR(C₅H₅N) 数据见表 1。以上 NMR 数据与文献(Kitajima 等, 2000)报道一致。

DEPT 谱显示 strictosidinic acid 有 28 个碳信号, 其中 1 个甲基, 4 个亚甲基, 16 个次甲基和 7 个季碳。酸水解该化合物, 水解液用高分辨薄层色谱并与标准糖比较得出化合物中糖为葡萄糖。与 Vincosamide 相同, 通过 DEPT, HMBC 和 COSY 谱可确定化合物 strictosidinic acid 也是一含吲哚结构的生物碱甙, 其结构与 Vincosamide 的主要不同之处在于 N-4, C-3, C-14, C-15, C-16, C-22 不再形成六元环, C-22 与 N-4 断开而与 -OCH₃ 形成酯。NOE-SY 谱显示 H-3 和 H-5, H-15 和 H-20 有强 NOE 效应, 而 H-15 与 H-21 无 NOE 效应。

本研究得到了国务院侨办 2001 基金的资助, 中

国科学院昆明植物所植物化学国家重点实验室代测 NMR 谱和 MS 谱, 在此一并表示感谢。

参考文献:

- 中国科学院植物研究所. 1985. 中国高等植物图鉴[M]. 北京: 科学出版社: 587
- 郭舜民. 1994. 喜树碱类似物的研究进展[J]. 国外医学药学分册, 21(5): 270-273
- Atsuko I, Takao T, Naotaka N. 1995. Five tetrahydroisoquinoline-monoterpene glucosides and a tetrahydro- μ -carboline-monoterpene glucoside from *Alangium lamarckii*[J]. *J Nat Products*, 58(8): 1 228-1 239
- Hu JY(胡进耀), Su ZX(苏智先), Li YX(黎云祥). 2003. Research advance on dove tree biology(珙桐生物学研究进展)[J]. *Chin Wild Plant Res*(中国野生植物资源), 22(4): 15-19
- He JS(贺金生), Lin H(林浩), Chen WL(陈伟烈). 1995. The current status of endemic and endangered species *Davidia involucrata* and the preserving strategies(我国珍稀特有植物珙桐的现状及其保护)[J]. *Chinese Biodiversity*(生物多样性), 3(4): 213-221
- Kitajima, Mariko, Hashimoto, et al. 2000. A new gluco indole alkaloid, 3, 4-dehydro-5-carboxystrictosidine, from peruvian *Una de Gato*(*Uncaria tomentosa*)[J]. *Chem Pharm Bull*, 48(10): 1 410-1 412
- Li LY(李立源), Zhang DY(张东艳), Bai FW(白凤武). 2001. Research on camptothecin (CPT) and its derivative(喜树碱及其衍生物的研究进展)[J]. *J Dalian Nationalities Univ*(大连民族学院学报), 3(2): 17-22
- Zhang ZZ, Hala NE, Melissa RJ, et al. 2001. New indole alkaloids from the bark of *Nauclea orientalis*[J]. *J Nat Products*, 64(8): 1 001-1 005
- Zhu LJ(朱利君), Su ZX(苏智先), Hu JY(胡进耀), et al.. 2006. Studies on the relationship of species in *Davidia involucrata* community(珙桐群落种间关系的研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), 26(1): 32-37