

黄杨木中的两个新黄杨生物碱*

杜江** 邱明华 聂瑞麟***

(中国科学院昆明植物研究所植物化学开放研究室, 昆明 650204)

吕扬 吴楠 郑启泰

(中国医学科学院中国协和医科大学药物研究所, 北京 100050)

摘要 从黄杨木(*Buxus microphylla* Sieb. et Zucc.)中分离了5个化合物,据其理化常数和光谱数据(IR、MS、¹H-NMR和¹³C-NMR)分别鉴定为:环黄杨酰胺()、黄杨木定A()、黄杨它因M()、异东莨菪香豆素()和表-羽扇豆醇()。其中化合物 和 为新黄杨生物碱。

关键词 黄杨木;黄杨生物碱;环黄杨酰胺;黄杨木定A

TWO NEW *BUXUS* ALKALOIDS FROM *BUXUS MICROPHYLLA* SIEB. ET ZUCC.

Du Jiang, Qiu Ming-hua and Nie Rui-lin

(Laboratory Phytochemistry, Kunming Institute of Botany, Academia Sinica, Kunming 650204)

Lü Yang, Wu Nan and Zheng Qi-tai

(Institute of Materia, Peking Union Medical College and Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050)

Abstract Five compounds were isolated from *Buxus microphylla* Sieb. et Zucc. Based on the physico-chemical constants and spectral analysis (IR, MS, ¹H-NMR and ¹³C-NMR), they were identified as cycloprotobuxinamine (), buxmicrophylline A (), buxtauine M (), isoscopoletin () and epi-lupeol (). () and () were new compounds. The structure of buxmicrophylline () was confirmed by X-ray crystallographic analysis.

Key words *Buxus microphylla*; *Buxus* alkaloid; Cycloprotobuxinamine; Buxmicrophylline A

黄杨木(*Buxus microphylla* Sieb. et Zucc.) (又名千年矮)是黄杨科黄杨属(*Buxus*)的一种灌木。民间用以治疗疟疾、梅毒、风湿、皮炎和狂犬病^[1]。黄杨木粉是治疗“心血管病”的有效药物^[2]。前人曾对黄杨木的化学成分作过报道^[3,4]。为进一步开发利用黄杨木植物资源,我们对昆明植物园栽培的黄杨木进行了化学成分研究,从其茎叶分离到5个化合物,据其理化常数和光谱数据,分别鉴定为环黄杨酰胺()、黄杨木定A()、黄杨它因M()、异东莨菪香豆素()和表-羽扇豆醇()。其中,环黄杨酰胺()和黄杨木定A()是新黄杨生物碱。

收稿日期: 1994-12-21 接受日期: 1995-07-06

植物样品由中国科学院昆明植物研究所分类室冯国楣研究员鉴定,特此致谢。

* 中国科学院“八五”重大项目资助。

** 中国科学院昆明植物研究所 92 届硕士研究生。

*** 通讯联系人。 Author for correspondence.

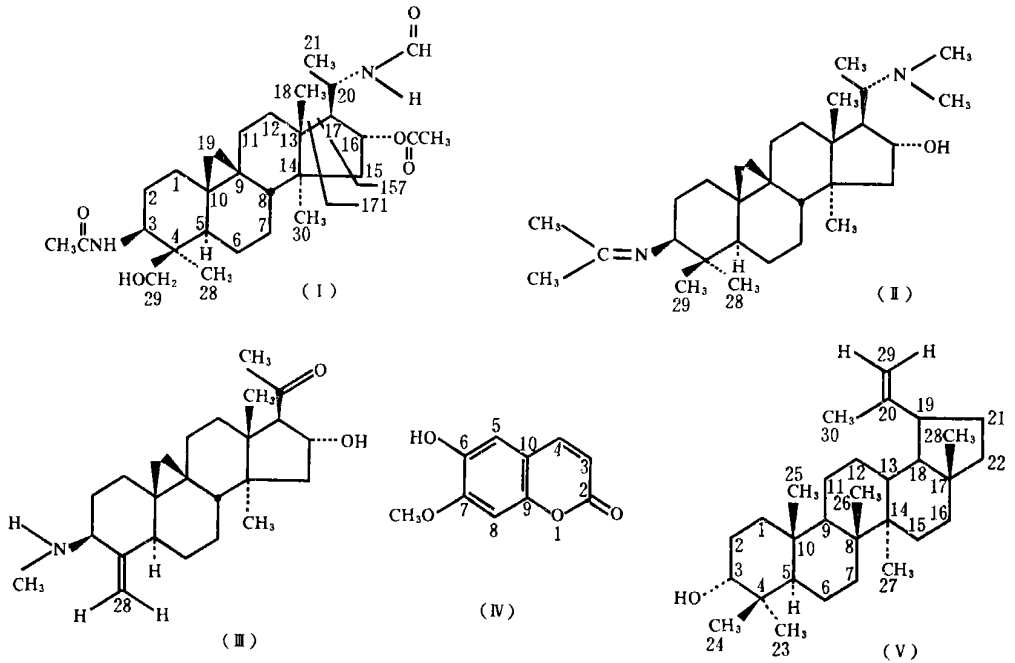


图 1 化合物 1 的化学结构
Fig. 1 Chemical structure of compound 1

环黄杨酰胺() 无色针晶, mp 273 ~ 275 , 由 HRMS 得到分子式 $C_{29}H_{46}N_2O_5$ (502.3406, 计算值 502.3503), 将() 的 1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 谱值与文献[5] 比较, 其骨架与黄杨生物碱相似。IR 显示酯基(1733, 1235, 1032 cm^{-1})、酰胺基(3400, 1540 cm^{-1}) 和甲酰胺(1650 cm^{-1}) 吸收, 在 2780 cm^{-1} 处还有一中强吸收峰, 初步判断有甲酰胺基存在。 ^{13}C -NMR DEPT 谱 δ 165.19 处示为 CH 信号, 进一步证明甲酰胺基的存在。 1H -NMR 谱在 δ 7.636, 7.485 分别有两组双峰, 是 20 位酰胺氮上的质子峰。这种一个质子出现两组峰的情况是由于氮上基团的立体异构引起的^[6]。一般地, $NR_1R_2R_3$ 类异构体由于氮上基团翻转速度为 $10^3 \sim 10^5$ 次/s, 故无法分离, 但在液相中共存。在高场 δ 0.567 和 0.324 处出现 C-19 黄杨生物碱特征的三员环质子信号。从 ^{13}C -NMR 谱中看到有 3 个羰基碳信号, 化学位移值分别为 δ 171.29, 169.28 和 165.19。据此类化合物特征, 分别将其归属为 3 位接乙酰胺基、16 位接酯羰基和 20 位接甲酰胺羰基。其中 16 位的乙酯基也有可能是接在 29 位上, 但 MS 中有 m/z 157, 171 碎片, 因而可以断定有图 1 所示的裂解, 同时也证明乙酯基是接在 16 位上。IR 中的 ν_{C-O} 为 1060 cm^{-1} 也证明了伯醇的存在, 而不是仲醇(ν_{C-O} 1100 cm^{-1})。3 位上的乙酰胺和 20 位上的甲酰胺位置也有可能互换, 但从 MS 碎片中有 71 这一丰度较高碎片存在, 结合此类化合物裂解规律^[7], 3 位上的碳连同取代基易断裂成具有 $CH_3CON=CH^+$ 结构的碎片。故而断定 3 位所接基团为乙酰胺而非甲酰胺。另外, 根据 C-1 和 C-5 的化学位移值分别是 δ 31.66 和 47.99, 确定 3 位取代基是 β 构型。若为 α 构型, C-1 和 C-5 值分别在 δ 26, 45 左右^[8]。从 1H -NMR 谱上得知, 16-H 在 δ 4.062 处被裂分成七重峰, 且 $J = 2.8, 7.2, 10.0$ Hz, 这一情况符合黄杨生物碱系列 16 位 β 质子裂分

规律^[9]。由以上分析推断, () 具有如图 1 所示结构, 将其命名为环黄杨酰胺(cycloprotobuxinamine)。

黄杨木定 A () 无色针晶, mp 215 ~ 217 °C, $[\alpha]_D^{22} + 53.06$ (c 0.735, CHCl₃)。根据 EIMS 和 FABMS 得到分子离子峰 442。又根据元素分析, 得到分子式 C₂₉H₅₀N₂O (C 78.37%, N 5.87%, H 11.60%) (计算值: C 78.73%, N 6.33%, H 11.31%)。从红外光谱看, 有羟基吸收峰(3400, 1100 cm⁻¹), 在 1655 cm⁻¹处有一强吸收峰, 可能为酰胺或亚胺吸收峰。将此化合物¹³C-NMR 谱值与黄杨生物碱对比, 得知其骨架与黄杨生物碱相似。¹H-NMR 谱中, 在最低场有一个七重峰 δ 4.032 (J = 2.8, 7.2, 10.0 Hz), 是 16 位上质子峰, 由于一个质子被羟基取代, 化学位移在较低场。其裂分规律符合黄杨生物碱系列 16 位 β 质子裂分规律。 δ 2.998 处有一组双二重峰 J = 4.0 Hz 是 3 位碳上的质子信号。在高场出现 C-19 黄杨生物碱三员环质子特征信号 δ 0.566 (d, J = 4.3 Hz), 0.325 (d, J = 4.3 Hz)。¹³C-NMR 谱中在最低场有一季碳 (δ 163.67), 由于分子中只有 1 个氧原子, 从 IR、¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 谱中推断此氧原子是 16 位羟基上的氧原子, 因而¹³C-NMR 谱中这一季碳只能是亚胺上的碳了。从 COLOC 谱中看到 δ 163.67 与 1.967 (3H, s) 和 1.812 (3H, s) 相关。说明此两个甲基与亚胺相连。又根据¹³C-¹H COSY 谱, 知这两个甲基¹³C-NMR 谱值分别为 δ 29.38 和 17.83。从¹³C-¹H COSY 谱上, 还可发现 29-CH₃ (δ 25.99) 的质子在较高场 δ 0.637 处, 这是因为此甲基处于亚胺的屏蔽区所致。根据以上分析, 推断此化合物结构如图 1 所示。将其命名为黄杨木定 A^① (buxmicrophylline A)。此结果已得到 X-衍射结果证明: 结晶为无色透明状, 属单斜晶系, 空间群为 P2₁, 晶胞参数: a = 6.265 (2), b = 32.742 (9), c = 7.198 (1) Å。 β = 113.24 (2) °; 晶胞内分子数 Z = 2, 晶胞体积 V = 1356.7 (5) Å³。

用 Enraf-Nonius CAD-4 四圆衍射仪收集强度数据, 石墨单色器 MoK α 辐射, 2 θ / ω 扫描, 2 θ_{max} = 46 °; 独立衍射点为 1585 个, 可观察点 (|F| \geq 3 σ |F|) 为 1057 个。

应用直接法 (SHELXS-86) 解析晶体结构, 得到 26 个非氢原子位置, 经最小二乘法及差值 Fourier 法交迭计算获得全部碳、氮、氧原子坐标, 再经最小二乘法修正非氢原子坐标参数及各向异性热参数, 由差值 Fourier 法及几何计算法得到除 NH₂、OH 外的全部氢原子位置, 最终可靠因子 R_f = 0.062, R_w = 0.063。(ρ)_{max} = 0.126, (ρ)_{min} = 0.210 e/Å³, (ρ)_{min} = -0.170 e/Å³, 计算晶体密度 D_x = 1.076 g · cm⁻³。X 衍射数据未列出。

结果表明: 该分子属甾体生物碱类, 分子骨架由六员环 A (椅式)、B (扭船式)、C (扭船式)、五员环 D (信封式) 和三员环 E (β) 组成, A-B、C-D 呈反式连接, B-C 呈顺式连接, 正确分子式 C₂₉H₅₀N₂O。C₂₅ 位上的 N₁ 与 C₂₆ 原子存在着部分无序性质, 且晶态下分子存在着氢键联系, 可示为 N₂...OH, 键长为 2.860 Å。

实 验 部 分

熔点用四川大学科学仪器厂 WC-1 型显微熔点仪测定 (温度未校正)。比旋光度用 Jasco DIP-370 型数字旋光仪测定。IR 用 Perkin-Elmer 577 分光光度计测定, KBr 压片; ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 谱用 Bruker AM-400 超导核磁共振仪测定, 内标 TMS, 溶剂 CDCl₃; MS 用 VG-AOT OSPEC-3000 型质谱仪测定。

提取分离

称取晾干黄杨木(*Buxus microphylla* Sieb. et Zucc.) 茎叶样品 13.0 kg, 用 95% 乙醇回流提取 3 次, 过滤后回收溶剂得浸膏 2440 g。用 5% 的醋酸 2000 mL 溶解, 过滤。滤液用浓氨水碱化至 pH 10, 用 CHCl_3 萃取, 得总生物碱 137 g。水液再用乙酸乙酯萃取, 得乙酸乙酯部分 80 g。粗碱部分经硅胶柱反复层析, 用环己烷-二乙胺(9:1) 洗脱, 得到化合物 (27 mg)、(135 mg) 和 (46 mg)。酯溶部分用乙酸乙酯-丙酮梯度洗脱, 得化合物 (121 mg) 和 (35 mg)。

结构鉴定

环黄杨酰胺() $\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{N}_2\text{O}_5$, 无色针晶(丙酮), mp 273 ~ 275 。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$: 3200 ~ 3500(w), 2916, 2860, 2780, 1722, 1650, 1540, 1500, 1370, 1235, 1060, 1032。HRMS 得分子量 502.3406 (计算值 502.3503)。EIMS m/z (%): 503($\text{M}^+ + 1$, 46), 488($\text{M}^+ - \text{CH}_3$, 20), 458(27), 171(31), 157(32), 105(base peak, 100), 71(50), 43(58)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) (CDCl_3): δ 7.636, 7.485(1H, d, CHO), 5.618, 5.41(1H, d, 20-NH), 5.234(1H, d, J = 10.0 Hz, 3-NH), 4.098(1H, m, 3-H), 4.062(1H, septet, J = 2.8, 7.2, 10.0 Hz, 16-H), 3.718(2H, q, J = 11.5 Hz, 29-H), 2.653(1H, m, 17-H), 2.063(3H, s, 3-COCH₃), 2.003(3H, s, 16-COCH₃), 1.117(3H, s, 28-CH₃), 0.969(3H, s, 18-CH₃), 0.868(3H, d, J = 6.6 Hz, 21-CH₃), 0.567(1H, d, J = 3.7 Hz, 19- β H), 0.324(1H, d, J = 3.7 Hz, 19- α H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据见表 1。

黄杨木定 A() $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}$, 无色针晶(丙酮), mp 215 ~ 217 。 $[\alpha]_{\text{D}}^{22.9} + 53.06$ (c 0.735, CHCl_3)。元素分析实测值: $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}$ (C 78.37%, N 5.87%, H 11.60%) (计算值: C 78.73%, N 6.33%, H 11.31%)。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$: 3400, 2960, 2820, 1655, 1380, 1100。EIMS m/z (%): 442(M^+ , 45), 427($\text{M}^+ - \text{CH}_3$, 37), 398(47), 355(43), 341(8), 286(15), 109(base peak, 100), 44(87)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) (CDCl_3): δ 4.032(septet, J = 2.8, 7.2, 10.0 Hz, 16-H), 2.998(1H, q, J = 4.0 Hz, 3-H), 2.612(1H, m, 17-H), 1.967(3H, s, = C-CH₃, trans), 1.815(3H, s, = C-CH₃, cis), 1.103(3H, s, 30-CH₃), 0.947(3H, s, 18-CH₃), 0.921(3H, s, 28-CH₃), 0.844(3H, d, J = 6.6 Hz, 21-CH₃), 0.637(3H, s, 29-CH₃), 0.566(1H, d, J = 4.3 Hz, 19- β H), 0.325(1H, d, J = 4.3 Hz, 19- α H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据见表 1。

黄杨它因 M() $\text{C}_{24}\text{H}_{37}\text{NO}_2$, 无色针晶(丙酮), mp 177 ~ 179 (文献值 178 ~ 181^[10])。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$: 3575, 3380, 3285, 2920, 2850, 1685, 1620, 1445, 1375, 1100。EIMS m/z (%): 372($\text{M}^+ + 1$, 81), 371(M^+ , 58), 328($\text{M}^+ - \text{COCH}_3$, 63), 285(33), 271(31), 217(46), 41(base peak, 100)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) (CDCl_3): δ 4.853(septet, J = 2.8, 7.2, 10.0 Hz, 16-H), 4.771(1H, s, 28-H), 4.585(1H, s, 28-H), 3.000(1H, d, J = 6.6 Hz, 17-H), 2.873(1H, m, 3-H), 2.453(3H, s, N-CH₃), 2.138(3H, s, 21-CH₃), 1.190(3H, s, 18-CH₃), 1.017(3H, s, 30-CH₃), 0.262(1H, d, J = 3.6 Hz, 19- β H), 0.032(1H, d, J = 3.6 Hz, 19- α H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据见表 1, 此化合物与文献[10]报道相符。

异东茛菪香豆素() $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_4$, 淡黄色片晶(丙酮), mp 189 ~ 191 (文献值 189 ~ 190^[3])。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$: 3200 ~ 3500(w), 3100, 3050, 2980, 2940, 1700, 1640, 1600, 1560, 1500, 1430, 1285, 1260, 1140, 1050, 920, 860。EIMS m/z (%): 193($\text{M}^+ + 1$, base peak,

100), 178($M^+ - CH_3$, 87), 164(77), 150(75), 81(93), 50(67)。 ^1H-NMR (400 MHz) ($CDCl_3$): δ 7.857(1H, d, J= 9.4 Hz, 4-H), 6.178(1H, d, J= 9.4 Hz, 3-H), 7.160(1H, s, 5-H), 6.754(1H, s, 8-H), 3.795(3H, s, O- CH_3), $^{13}C-NMR$ 数据见表 1, 此化合物数据符合文献值[3]。

表 1 化合物 ~ 的 $^{13}C-NMR$ 谱数据
Table 1 $^{13}C-NMR$ spectrum chemical shifts of compounds ~ (δ)

C					C			
1	31.66(CH ₂)	31.25(CH ₂)	31.44(CH ₂)		18	18.99(CH ₃)	18.74(CH ₃)	20.57(CH ₃)
2	28.40(CH ₂)	28.19(CH ₂)	31.63(CH ₂)	160.83(C)	19	30.18(CH ₂)	30.34(CH ₂)	27.62(CH ₂)
3	50.59(CH)	68.49(CH)	63.63(CH)	109.64(CH)	20	57.13(CH)	56.98(CH)	209.32(C)
4	41.95(C)	39.90(C)	153.65(C)	144.35(CH)	21	9.71(CH ₃)	9.44(CH ₃)	31.16(CH ₃)
5	47.94(CH)	47.96(CH)	47.12(CH)	111.56(CH)	28	11.41(CH ₃)	15.56(CH ₃)	101.04(CH ₂)
6	21.10(CH ₂)	20.92(CH ₂)	23.57(CH ₂)	145.25(C)	29	65.53(CH ₂)	25.99(CH ₃)	
7	25.78(CH ₂)	25.99(CH ₂)	25.39(CH ₂)	151.8(C)	30	20.01(CH ₃)	20.93(CH ₃)	20.57(CH ₃)
8	42.22(CH)	48.17(CH)	44.20(CH)	102.73(CH)	3-COCH ₃	171.29(C)		
9	20.92(C)	19.24(C)	22.70(C)	149.51(C)		21.10(CH ₃)		
10	25.68(C)	26.61(C)	32.40(C)	110.51(C)	16-COCH ₃	169.28(C)		
11	25.78(CH ₂)	25.99(CH ₂)	26.76(CH ₂)			23.54(CH ₃)		
12	32.77(CH ₂)	32.41(CH ₂)	34.47(CH ₂)		20-NCOH	165.19(C)		
13	44.84(C)	44.74(C)	47.65(C)		N=C(CH ₃) ₂		163.67(C)	
14	47.34(C)	47.79(C)	48.36(C)				17.83(CH ₃)	
15	44.33(CH ₂)	44.52(CH ₂)	45.86(CH ₂)				29.38(CH ₃)	
16	78.64(CH)	78.82(CH)	71.83(CH)		N-CH ₃			34.47(CH ₃)
17	62.66(CH)	62.34(CH)	70.55(CH)					

表羽扇豆醇() $C_{30}H_{50}O$, mp 199 ~ 201 (文献值 202.5^[11])。IR $\nu_{max}^{KBr} cm^{-1}$: 3300, 3060, 2940, 2850, 1630, 1445, 1340, 970, 875。EIMS m/z (%): 427($M^+ + 1$, base peak, 100), 411($M^+ - CH_3$, 51), 396(33), 315(44), 218(80), 122(56), 81(92), 41(41)。 ^1H-NMR (400 MHz) ($CDCl_3$): δ 4.663, 4.541(2H, dd, J= 2.4 Hz, 29-H), 3.166(1H, m, 3-H), 2.362(1H, m, 19-H), 1.656(3H, s, 30- CH_3), 1.004(3H, s, 28- CH_3), 0.962(3H, s, 26- CH_3), 0.803(3H, s, 27- CH_3), 0.762(3H, s, 23- CH_3), 0.736(3H, s, 24- CH_3)。 $^{13}C-NMR$ 值与文献[5]相符。

参 考 文 献

- 1 邱明华, 聂瑞麟. 黄杨生物碱及其植物资源. 天然产物研究与开发, 1992, 4(4): 41
- 2 李进喜, 郑道声, 陈曙霞等. 黄杨宁双盲法治疗冠心病的疗效观察. 中成药研究, 1984, (5): 15
- 3 Nakano T, Terao T, Saeki Y *et al.* *Buxus* alkaloids. Part VIII. The isolation and constitution of a new alkaloid, cycloclor eanine-B, from *Buxus koreana* Nak ai, and the conversion of cyclomikuramine into cyclovirobuxine-A. *J Chem Soc*, 1966, (20): 1805 ~ 1810
- 4 Nakano T, Hasegawa M. *Buxus* alkaloids V I. The constitution of cyclomicrobuxine, cyclomicrobuximine and alk-

- loid L. *J Chem Soc*, 1965. (Dec): 6688 ~ 6694
- 5 龚运淮. 天然有机化学的¹³C 核磁共振化学位移. 昆明: 云南科技出版社, 1986. 120, 373
- 6 Iqbal Choudhary M, Atta-ur-Rahman, Maurice Shamma. (+)-N-formylharappamien and (+)-N-formylpapili-cine, two new steroidal alkaloids from *Buxus papilosa*. *Phytochemistry*, 1988. **27**: 1561 ~ 1562
- 7 Iqbal Choudhary M, Atta-ur-Tahman, Alan Freyer J *et al.* Five new steroidal alkaloids from *Buxus papilosa*. *Tetrahedron*, 1986. **42**: 5747 ~ 5752
- 8 邱明华, 李忠荣, 曹德勇等. 大叶清香桂中甾体生物碱的分离与鉴定. *植物学报*, 1993. **35**: 885 ~ 890
- 9 Nakano T, Terao S. *Buxus* alkaloids. Part . Isolation and structure elucidation of eight new alkaloids, cyclomicrophylline-A, -B and -C, dihydrocyclomicrophylline-A and -F, cyclomicrophyllidine-A, dihydrocyclomicrophyllidine-A, and cyclomicrobuxine from *Buxus microphylla* Sieb. et Zucc. var. *suffruticosa* Makino. *J Chem Soc*, 1965. (Dec): 4512 ~ 4533
- 10 Voticky Z, Tomko J. Alkaloids from *Buxus sempervirens* V. Configuration of buxataine and buxpiine. *Tetra Lett*, 1965. **40**: 3579 ~ 3584
- 11 Glasby J S. *Encyclopaedia of Gerpenoids*. New York: John Wiley and Son, 1982. 1579