

中药金铁锁中一个新的环七肽

黄建华^{1,2}, 肖建青¹, 刘锡葵^{1*}

(1. 中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 昆明 650201;
2. 中国科学院大学, 北京 100049)

[摘要] 目的: 研究中药金铁锁中的化学成分。方法: 利用葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20、硅胶、RP-18 反相柱、中压等色谱方法进行化合物的分离纯化, 根据化合物的理化性质、光谱数据进行结构鉴定。结果: 从中药金铁锁中分离得到两个环七肽成分, tunicyclin C (1) 和 tunicyclin K (2)。结论: Tunicyclin K 为一个新的天然产物。

[关键词] 环七肽; 金铁锁; 结构鉴定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)22-0120-04

[doi] 10.11653/syfy2013220120

A New Cycloheptapeptide from *Psammosilene tunicoides*

HUANG Jian-hua^{1,2}, XIAO Jian-qing¹, LIU Xi-kui^{1*}

(1. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China;
2. University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

[Abstract] Objective: To study the chemical constituents of the roots of *Psammosilene tunicoides*.

Method: The chemical constituents were isolated and purified via silica gel, Sephadex LH-20 column

[收稿日期] 20130320(001)

[第一作者] 黄建华, 在读硕士, 从事天然药物化学研究, Tel/Fax: 86-0871-5215967, E-mail: huangjianhua@mail.kib.ac.cn

[通讯作者] * 刘锡葵, 副研究员, 硕士研究生导师, 从事药用植物与食用植物资源化学和持续利用研究, Tel/Fax: 86-0871-5215967, E-mail: liuxikui@mail.kib.ac.cn

多种生物活性, 因此挥发油在生物医药和生物源农药等方面越来越得到重视^[7-8], 但是对于梅花挥发油及其中单体化合物的生物活性作用研究很少, 故需要以后进一步深入研究。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 292.
[2] 江苏新医学院. 中药大辞典. 上册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1997: 7351.
[3] Matsuda H, Morikawa T, Ishiwada T, et al. Medicinal flowers VIII Radical Scavenging constituents from the flowers of *Prunus mume*: Structure of prunose III [J]. Chem Pharm Bull, 2003, 51(4): 440.
[4] Masayuki Yoshikawa, Toshiyuki Muradami, Tomoko

Ishiwada, et al. New flavonol oligoglycosides and polyacylated sucroses with inhibitory effects on aldose reductase and platelet aggregation from the flowers of *Prunus mume* [J]. Nat Prod, 2002, 65(8): 1151.

[5] 张清华, 张玲, 尚立霞, 等. 白梅花的化学成分研究 [J]. 中药材, 2008, 31(11): 1666.
[6] 宁侠, 毛丽军, 周绍华. 花类药在精神疾病中的应用 [J]. 北京中医药, 2012, 31(6): 461.
[7] Maffei M E, Gertsch J, Appendino G. Plant volatiles: production, function and pharmacology [J]. Nat Prod Rep, 2011, 28(8): 1359.
[8] Dudareva N, Negre F, Nagegowda D A, et al. Plant volatiles: recent advances and future perspectives [J]. Crit Rev Plant Sci, 2006, 25(5): 417.

[责任编辑] 顾雪竹

chromatography, RP-18 column and MPLC. Their structures were identified on basis of spectral data and chemical methods. **Result:** Two cycloheptapeptides were isolated from the roots of *P. tunicoides*, tunicyclin C (**1**) and tunicyclin K (**2**). **Conclusion:** Tunicyclin K was a new natural product.

[**Key words**] cycloheptapeptide; *Psammosilene tunicoides*; structure identification

金铁锁是分布于我国西南地区特有的单属单种植物,其根部入药,是我国西南地区民间用于抗炎、止痛的传统中药,也是多种知名中成药的主要成分之一,如云南白药系列、云南红药胶囊、贵州金骨莲胶囊、福建痛血康胶囊等^[1-3]。化学研究表明,金铁锁中主要的化学成分为三萜皂苷、环肽和有机酸^[4-6]。有报道金铁锁中的7个环肽成分, tunicyclins A~G,其中, tuncyclin D 显示出明显的抗菌活性^[7-10]。本实验室研究发现金铁锁根部乙酸乙酯和正丁醇提取物均具有明显的抗氧化活性^[11],通过进一步对金铁锁活性部位正丁醇提取物的化学成分研究,笔者从中分离得到了2个环肽成分,其中1个为新的环七肽,命名为 tunicyclin K, 1个为已知的环肽 tunicyclin C。

1 材料

JASCO P-1020 型全自动数字旋光仪, Bruker Tensor 27 FT-IR spectrometer 型红外光谱仪 (KBr 压片), Shimadzu UV2401PC spectrometer 型紫外光谱仪, AutoSpec Premier P776 质谱仪, Bruker AV-400 MHz, DRX-500 MHz and AVANCE III 600 MHz 核磁共振谱仪, 柱色谱和薄层色谱硅胶 (青岛海洋化工厂), 高效薄层板 (德国 Merk 公司), Sephadex LH-20 (Pharmacia 公司)。除 HPLC 分析用色谱纯甲醇和

乙腈外,其他试剂均为重蒸的工业溶剂。金铁锁原料于2010年10月购自云南白药集团,经刘锡葵副研究员鉴定为金铁锁 *Psammosilene tunicoides* W. C. Wu et C. Y. Wu 的根。凭证标本 (No. KIB-L 2010103) 保存在中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室。

2 提取与分离

取金铁锁干燥根 5 kg, 粉碎, 用 30 L 的 80% 乙醇溶液在室温下浸提 6 次, 每次浸提 12 h, 提取液减压浓缩后所得浸膏, 依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取, 减压回收溶剂, 分别得到浸膏石油醚部位 5.6 g, 乙酸乙酯部位 28 g, 正丁醇部位 257 g。正丁醇部位经正反相硅胶柱反复柱色谱 (氯仿-甲醇, 甲醇-水, 氯仿-甲醇-水等溶剂系统梯度洗脱), 利用 Sephadex LH-20, 重结晶等技术进行纯化, 最终得到化合物 **1** (13 mg), **2** (5 mg)。

3 结构鉴定

3.1 化合物 1 白色无定形粉末 (甲醇), 用盐酸水解后与茚三酮反应呈阳性。ESI-MS: m/z 712, ¹H-和 ¹³C-NMR 数据见表 1, 由表中数据可以得知化合物 **1** 与已知化合物 tunicyclin C 的数据^[8] 基本一致, 故确定为 tunicyclin C。

表 1 化合物 1 和 2 的 ¹H 和 ¹³C NMR 数据 (500 和 125 MHz, 吡啶)^a

残基	δ_H		δ_C		残基	δ_H		δ_C	
	1	2	1	2		1	2	1	2
Pro					7' CH	7.83 (d, 7.9)	7.82 (d, 7.9)	112.0	112.0
CO			172.0	171.4	7a' C			137.6	137.5
α	4.87 (dd, 8.0, 4.3)	4.94 (dd, 7.5, 4.3)	60.5	60.2	Leu				
β_a	2.29 (m)	2.34 (m)	27.2	27.1	CO			175.7	175.0
β_b	1.87 (m)	1.81 (m)			NH	7.96 (d, 6.9)	8.17 (d, 8.0)		
γ_a	1.73 (m)	1.78 (m)	25.3	25.3	α	4.99 (m)	5.01 (m)	52.2	51.9
γ_b	1.55 (m)	1.54 (m)			β_a	1.75 (m)	1.86 (m)	40.8	41.0
δ_a	3.48 (m)	3.44 (dt, 10.0, 6.0)	47.3	47.2	β_b	1.67 (m)	1.71 (m)		
δ_b	3.36 (d, 8.3)	3.36 (dt, 9.0, 7.0)			γ	1.80 (m)	1.93 (m)	24.6	24.6
Ser					δ_a	0.70 (3H, d, 6.0)	0.73 (3H, d, 6.2)	22.0	22.2
CO			171.5	171.4	δ_b	0.81 (3H, d, 6.0)	0.85 (3H, d, 6.4)	22.8	22.7
NH	8.52 (d, 7.5)	8.65 (d, 7.2)			Thr				
α	5.01 (m)	5.03 (m)	55.1	55.8	CO			174.1	173.8

续表 1

残基	δ_H		δ_C		残基	δ_H		δ_C	
	1	2	1	2		1	2	1	2
β_a	4.43 (dd, 5.1, 4.3)	4.32 (dd, 5.5, 4.5)	62.3	62.2	NH	8.51 (d, 7.5)	10.43 (s)		
β_b	4.24 (dd, 5.0, 4.5)	4.28 (d, 10.0)			a	5.38 (d, 7.1)	4.39 (dd, 7.0, 7.0)	56.8	51.7
Trp					β	4.43 (m)	4.42 (m)	68.9	68.8
CO			172.7	172.5	γ	1.42 (3H, d, 5.3)	1.48 (3H, d, 7.1)	19.9	16.6
NH	9.07 (d, 5.6)	9.02 (d, 6.5)			Gly				
a	4.97 (m)	4.99 (m)	57.1	57.4	CO			169.6	169.6
β_a	3.83 (dd, 14.8, 8.5)	3.86 (dd, 12.0, 6.0)	27.7	27.1	NH	10.47 (br)	10.25 (dd, 5.5, 5.0)		
β_b	3.71 (dd, 14.8, 5.5)	3.76 (dd, 6.0, 6.0)			a_a	4.82 (dd, 17.0, 7.8)	4.84 (dd, 17.0, 7.7)	43.8	43.7
1' NH	11.98 (s)	11.94 (s)			a_b	3.96 (dd, 17.0, 4.3)	3.91 (dd, 17.1, 4.7)		
2' CH	7.60 (d, 1.8)	7.62 (d, 1.5)	124.6	124.5	Ala				
3' C			110.7	111.2	CO			170.7	170.6
3a' C			128.3	128.3	NH	10.45 (br)	8.61 (d, 9.7)		
4' CH	7.51 (d, 8.1)	7.51 (d, 8.0)	119.1	119.0	a	4.70 (br)	5.38 (dd, 9.7, 3.0)	51.4	57.0
5' CH	7.07 (t, 7.4)	7.07 (t, 7.4)	119.3	119.3	β	1.47 (3H, d, 6.2)	1.50 (3H, d, 6.4)	16.7	20.0
6' CH	7.22 (t, 7.6)	7.21 (d, 7.6)	121.9	121.8					

注: ^a 除特别标注外,表中的质子信号均为 1H。

3.2 化合物 2 白色无定形粉末(甲醇),用盐酸水解后与茚三酮反应呈阳性。ESI-MS: m/z 712; ($[a]_D^{20}$ -27.5, c 0.001 5, MeOH); UV λ_{max}^{MeOH} : 281.0, 220.20, 202.20。IR ν_{max}^{KBr} : 3 388, 3 064, 2 957, 2 933, 2 874, 1 639, 1 539, 1 436, 1 236, 747, 535 cm^{-1} ;由高分辨质谱 HR-EI-MS ($[M]^+$ peak at m/z 721.356 7; calcd. 712.354 4) 和 ¹³C-NMR 谱确定分子式为 C₃₄H₄₈N₈O₉, 从 ¹³C-NMR 谱中可以观察到有 7 个羰基 C 信号 [$\delta(C)$ 175.0, 173.8, 172.5, 171.4, 171.4, 170.6, 169.6], 以及 7 个 N 原子取代的 C 信号 [$\delta(C)$ 60.2, 57.4, 57.0, 55.8, 51.9, 51.7, 43.7], 从 ¹H-NMR 谱中可以观察到 7 个 N 原

子上的氢质子信号 [$\delta(H)$ 11.94, 10.43, 10.25, 9.02, 8.65, 8.61, 8.17] (表 1), 由此可以推知化合物 2 可能是一个环七肽。与化合物 1 的氢谱和碳谱数据进行比较后可以推断,化合物 2 与 1 含有相同的氨基酸残基(Pro, Ser, Trp, Leu, Thr, Gly, Ala) (图 1)。由 ¹H-¹H COSY and ¹H-¹H TOCSY 谱可以得知化合物 2 中 3 个氢质子信号 [$\delta(H)$ 8.61, 5.38, 1.50] 来自丙氨酸(Ala), 4 个氢质子信号 [$\delta(H)$ 10.43, 4.39, 4.42, 1.48] 来自苏氨酸(Thr) (图 2)。由以上可以得知化合物 2 和 1 的主要差异在于苏氨酸上 α -H 和 C 以及丙氨酸上 α -H 和 C 的化学位移值。化合物 2 和化合物 1 中苏氨酸上 α -H

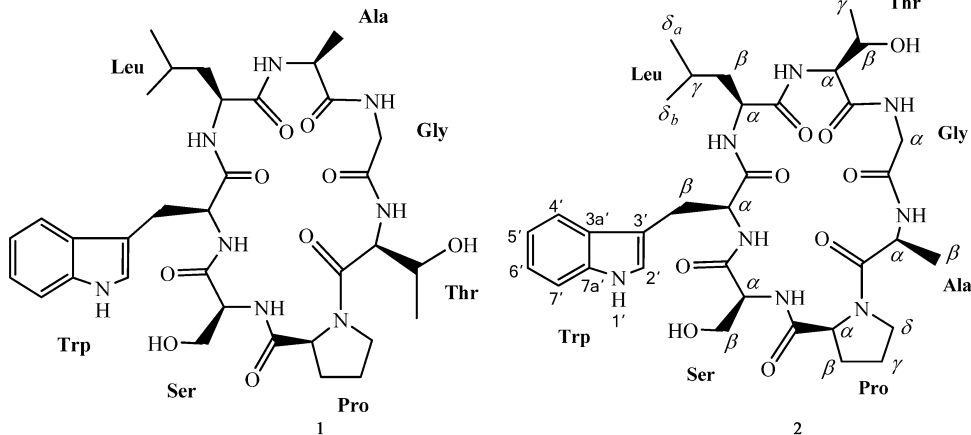


图 1 化合物 1 和 2 的结构

和 C 的化学位移值分别为 δ (4.39, 51.7) 和 δ (5.38, 56.8), 丙氨酸上 α -H 和 C 的化学位移值分别为 δ (5.38, 57.0) 和 δ (4.70, 51.4)。而且从 HMBC 谱可以观察到 Thr-NH/CO-Leu, Gly-NH/CO-Thr, 和 Ala-NH/CO-Gly 的氨基酸连接信号,至此,化合物 **2** 的氨基酸连接顺序可以推断为 cyclo-(Pro¹-Ser²-Trp³-Leu⁴-Thr⁵-Gly⁶-Ala⁷)。另外,化合物

2 的结构还可以由远程相关谱 ROESY 得到进一步确认(图 3),强烈的丙氨酸(Ala)上的 α -H 与脯氨酸(Pro)上的 δ_a H 和 δ_b H 的相关信号说明丙氨酸(Ala)和脯氨酸(Pro)通过反式酰胺键相连。通过脯氨酸(Pro)上的 β -和 γ -C 的化学位移值分别为 27.1, 25.3,这也进一步证实了化合物 **2** 中的脯氨酸(Pro)为反式结构^[8,12]。

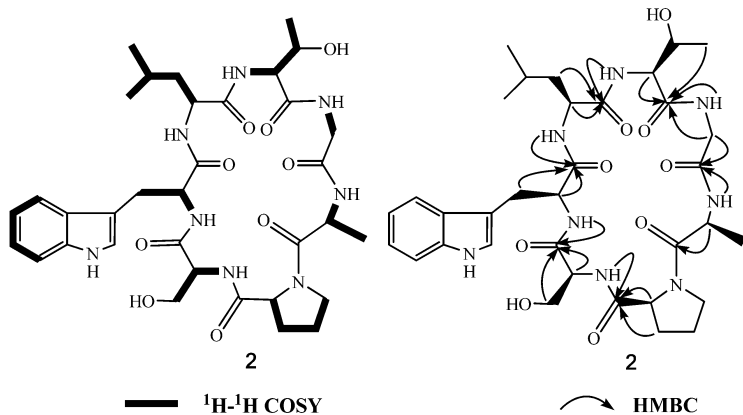


图 2 化合物 **2** 的 ^1H - ^1H 和 ^1H - ^{13}C 相关

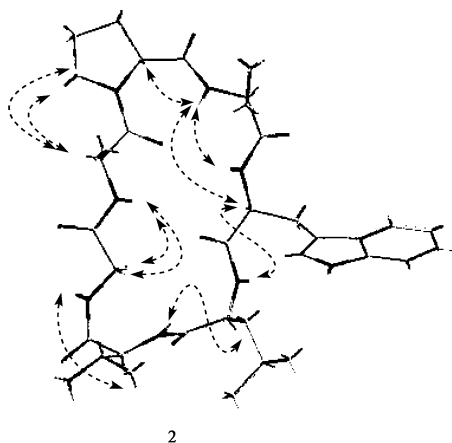


图 3 化合物 **2** 的 ROESY 远程相关

由于目前从高等植物中得到所有已知的天然氨基酸的构型均为_L型,结合与已知化合物 **1** 的立体结构的比较^[8,12],于是将化合物 **2** 的绝对构型定为

cyclo-(_L-Pro¹-_L-Ser²-_L-Trp³-_L-Leu⁴-_L-Thr⁵-Gly⁶-_L-Ala⁷),并命名为 tunicyclin K。

【致谢】中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室分析测试中心的老师们为化合物数据测定提供帮助。

【参考文献】

- [1] 王学勇,邱德文,蒋朝晖. 苗族药物金铁锁研究进展[J]. 中国中医基础医学杂志,2002,8(11):77.
- [2] 王学勇,张元,许建阳,等. 金铁锁总皂苷抗类风湿性关节炎作用及其作用机制研究[J]. 中国中药杂志,

2006,31(5):419.

- [3] 张庆滢,刘小焯,毛常丽. 药用植物金铁锁的研究进展[J]. 云南农业大学学报,2009,24(1):139.
- [4] 赵军,王伟,高嵘. 金铁锁化学成分和药理研究进展[J]. 安徽农业科学,2009,37(24):11526.
- [5] 丁中涛,汪有初,周俊,等. 金铁锁根中的环肽成分[J]. 云南植物研究,2000,22(3):331.
- [6] 钟惠民,倪伟,华燕,等. 金铁锁的新三萜皂甙[J]. 云南植物研究,2002,24(6):781.
- [7] Tian J M, Shen Y H, Yang X W, et al. Tunicyclin A, the first plant tricyclic ring cycloheptapeptide from *Psammosilene tunicooides* [J]. Org Lett, 2009, 11(5):1131.
- [8] Tian J M, Shen Y H, Yang X W, et al. Antifungal cyclic peptides from *Psammosilene tunicooides* [J]. J Nat Prod, 2010, 73(12):1987.
- [9] Tian J M, Ou-Yang S S, Zhang X, et al. Experimental and computational insights into the conformations of tunicyclin E, a new cycloheptapeptide from *Psammosilene tunicooides* [J]. RSC Adv, 2012, 2:1126.
- [10] Tian J M, Gao J M, Lu L, et al. Two new cycloheptapeptides from *Psammosilene tunicooides* [J]. Helvetica Chimica Acta, 2012, 95:929.
- [11] 黄建华,肖建青,刘锡葵. 野生与栽培金铁锁抗氧化活性比较[J]. 中国医药指南,2013,11(2):60.
- [12] Tan N H, Zhou J. Plant cyclopeptides[J]. Chem Rev, 2006,106(3):840.

[责任编辑 邹晓翠]