

落叶松和水杉针叶的聚戊烯醇*

王成章** 沈兆邦 陈祥

(中国林业科学研究院林产化学工业研究所, 南京 210037)

摘要 从落叶松(*Larix gmelinii* (Rupr.) Rupr.)和水杉(*Metasequoia glyptostroboides* Hu et Cheng)针叶中首次分离出聚戊烯乙酸酯,其结构由¹HNMR和¹³CNMR鉴定为桦木聚戊烯醇型(betulaprenol),其异戊烯基结构单元数(n)与HPLC的logtr线性关系研究确定n在10~24间。

关键词 落叶松;水杉;桦木聚戊烯醇;聚戊烯醇

Polyprenols from *Larix gmelinii* (Rupr.) Rupr. and *Metasequoia glyptostroboides* Hu et Cheng needles Wang Cheng-Zhang, Shen Zhao-Bang and Chen Xiang (Research Institute of Chemical Processing and Utilization of Forest Products, CAF, Nanjing 210037), *J. Plant Resour. & Environ.* 1996, 5(4): 21~25

Polyprenol acetates were isolated from two needles of *Larix gmelinii* (Rupr.) Rupr. and *Metasequoia glyptostroboides* Hu et Cheng for the first time. Structures of polyprenols were identified as betulaprenol type by ¹HNMR and ¹³CNMR. The number of isopentene units (n) was from 10~24 by the linear relation between unit number of isopentene groups and the HPLC logtr.

Key words *Larix gmelinii* (Rupr.) Rupr.; *Metasequoia glyptostroboides* Hu et Cheng; betulaprenol; polyprenol

前文^[1-3]报道了银杏叶和马尾松等针叶中聚戊烯醇的化学结构及HPLC含量测定方法。它们均为桦木聚戊烯醇型(betulaprenol)结构^[1,2],与多萜醇(dolichol)结构相似。多萜醇具有促进有机体造血功能,治疗再生障碍性贫血、肝脏疾病、糖尿病等有显著作用,桦木聚戊烯醇可以化学合成和自身细胞代谢成多萜醇^[4,5]。目前拉脱维亚医科院对聚戊烯醇的毒、药理进行了研究,并制备了“ROPREN”系列药物,用于治疗老年性糖尿病,进入临床阶段。

落叶松(*Larix gmelinii* (Rupr.) Rupr.)和水杉(*Metasequoia glyptostroboides* Hu et Cheng)针叶中聚戊烯醇的化学研究在国内外未见报道,它们异戊烯基结构单元数向低链延伸,其HPLC为双峰性分布(见图1),其中落叶松中异戊烯基单元数n为12(L2)和17(L7)时,峰面积高;水杉中异戊烯基单元数n为17(M4)和21(M8)时,峰面积高。落叶松和水杉中聚戊烯醇为两组同系物,差别在于异戊烯基结构的单元数。所以选用L2, L7, M4和M8 4个纯样通过¹HNMR, ¹³CNMR和HPLC的保留时间(tr)来确定其结构和异戊烯基结构单元数。L7和M4经水解为L7A和M4A,以上样品¹HNMR(如表1)除积分高度不同外基本一致。 α 终端单元的伯醇中亚甲基信号在M4A, L7A中于 δ 4.10 ppm处显双峰,而L2, L7, M4和M8在 δ 4.55 ppm显双峰,这是一COCH₃引起向低场位移,表明M4A, L7A以醇式存在, L2, L7,

* 国家自然科学基金资助项目

** 通讯联系人

收稿日期 1996-06-10

M4 和 M8 则以酯的形式存在,从¹HNMR 的质子积分值(表 2)可确定 L2 等化合物均含有二个反式(-*trans*)异戊烯基中间单元。在¹³CNMR 中(见表 3),L2, L7, M4 和 M8 等在 δ20.9 ppm 和 δ170.7 ppm 处出现乙酰基信号,其 4-α 和 2-α 碳信号由于酯化而向低场位移,相应于 δ61.0 ppm 和 δ142.3 ppm;在 L7A 和 M4A 中其 4-α 和 2-α 碳信号相应于 δ59.1 ppm 和 δ139.7 ppm,此外 L2 和 M4 等化合物¹³CNMR 均出现 δ32.0 ppm 和 δ32.3 ppm 信号,表明分子中存在 *trans-cis* 和 *cis-cis* 连接,δ39.78 ppm 的信号为 *trans-trans* 和 *ω-trans* 连接中反式构型的一 CH₂—信号。在 δ39.9 ppm 和 δ40.0 ppm 处无信号,表明分子中无 *cis-trans* 和 *cis-trans*(α) 的连接结构。此外在 δ131.1 ppm 处有信号,而在 δ131.5~δ131.6 ppm 处无信号,进一步表明分子中存在 *ω-trans* 而无 *ω-cis* 连接结构^[6],由¹HNMR 和¹³CNMR 证明 L2, L7, M4 和 M8 的结构为(ω)—(*trans*)₂—(*cis*)_n—(α)的桉木聚戊烯醇型结构,并且以乙酸酯的形式存在。

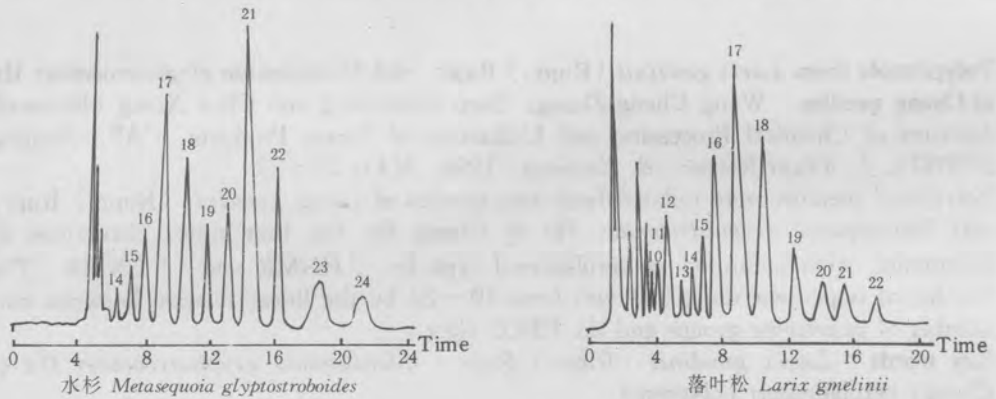


图 1 水杉和落叶松针叶提取物中聚戊烯醇级分的 HPLC

Fig 1 HPLC of polyphenol fraction from needles of *Metasequoia glyptostroboides* and *Larix gmelinii* extractives

表 1 落叶松(L)和水杉(M)针叶中聚戊烯乙酸酯化合物¹HNMR 化学位移和归属

Tab 1 ¹HNMR chemical shift and assignment of polyphenol acetate compounds of *Larix gmelinii* and *Metasequoia glyptostroboides* needles

化合物 Compounds	$\text{=CH-CH}_2\text{OR}$	=CH	$\text{-CH}_2\text{OR}$	$\text{-CH}_2\text{-}$	-CH_3 (顺式 <i>cis</i>) α-终端单元 α-Terminal	-CH_3 (顺式) <i>cis</i>	-CH_3 (反式) <i>trans</i>
L2	5.43(t)	5.11	4.51 4.58 (d)	2.03 2.06	1.75	1.68	1.60
L7	5.43(t)	5.12	4.51 4.58 (d)	2.03 2.07	1.75	1.68	1.59
M4	5.43(t)	5.11	4.50 4.58 (d)	2.02 2.07	1.75	1.67	1.60
M8	5.43(t)	5.11	4.50 4.58 (d)	2.02 2.06	1.74	1.68	1.60
L7A	5.43(t)	5.13	4.08 4.10 (d)	2.03 2.06	1.74	1.68	1.60
M4A	5.43(t)	5.12	4.08 4.10 (d)	2.02 2.06	1.74	1.68	1.60

异戊烯基单元数(n)利用¹HNMR 质子积分值和已知结构相同的聚戊烯醇的 HPLC 保留时

间来确定。以 G3 为标准品对照,由落叶松和水杉的 HPLC 各峰的保留时间 $\log t_r$ (见表 4),与 n 的直线关系确定落叶松中聚戊烯乙酸酯的异戊烯基单元数为 10~22,水杉中异戊烯基单元数为 14~24。

表 2 落叶松(L)和水杉(M)针叶中聚戊烯乙酸酯化合物¹HNMR 信号相对积分值

Tab 2 The relative intensities of ¹HNMR signals of polyprenal acetate compounds of *Larix gmelinii* and *Metasequoia glyptostroboides* needles

δ ppm	归属 Assignment	L2	L7	M4	M8	L7A	M4A	G3
1.60	—CH ₃ 反式 <i>trans</i> ω (反式 <i>trans</i>)	3.02 (3)	2.94 (3)	3.05 (3)	3.03 (3)	3.0 (3)	3.03 (3)	3.0 (3)
1.68	—CH ₃ 顺式 <i>cis</i> ω (顺式 <i>cis</i>)	9.16 (9)	14.11 (14)	14.01 (14)	17.94 (18)	14.07 (14)	14.1 (14)	13.99 (14)
1.75	α (顺式 <i>cis</i>)	0.93 (1)	1.04 (1)	0.97 (1)	1.02 (1)	1.09 (1)	1.03 (1)	1.05 (1)
4.50	—CH ₂ OAC	1.09 (1)	1.12 (1)	0.95 (1)	0.97 (1)	—	—	1.01 (1)
4.58								
4.08	—CH ₂ OH	—	—	—	—	1.03 (1)	0.96 (1)	—
4.10								
5.12	—CH	11.15 (11)	16.01 (16)	16.09 (16)	19.98 (20)	15.93 (16)	16.17 (16)	16.01 (16)
5.43	—CHCH ₂ OR	1.03 (1)	1.04 (1)	0.97 (1)	0.99 (1)	1.04 (1)	0.97 (1)	0.98 (1)
2.03	—CH ₂	22.17 (22)	32.08 (32)	32.14 (32)	39.87 (40)	32.16 (32)	32.19 (32)	32.2 (32)
2.06								
积分值计算异戊烯基单元数 Number of isopentene units by relative intensities ¹ HNMR signal		12.18 (12)	17.05 (17)	17.06 (17)	20.97 (21)	17.07 (17)	17.13 (17)	16.99 (17)

1. 实 验 部 分

核磁共振谱用 FX-90Q, UV 光谱:Perkin-Elmer 仪, IR 光谱:岛津公司 IR-430 仪, HPLC 为岛津 LC-3A, 制备柱为 Spherisorb C18 5 μ (10 \times 150 mm), 示差检测 Range 16; 分析柱为 Spherisorb C18 5 μ (4 \times 250 mm), Range 8, 柱子均为大连化学物理研究所提供。流动相为丙酮和甲醇混合溶剂。标准样品 G3 为异戊烯基单元数 17 的聚戊烯乙酸酯, G3A 为 G3 的醇式结构, 均为中国林科院林化所制备。

水杉针叶于 1993 年 8 月在南京林化所采集, 晾干, 粉碎, 含水量为 10.27%。落叶松针叶于 1994 年秋在内蒙古大兴安岭采集, 晾干, 粉碎, 含水量为 10.82%。

1.1 聚戊烯醇类化合物的提取

取落叶松(L)、水杉(M)针叶各 1kg, 提取剂为石油醚(30~60 $^{\circ}$ C), 固液比(kg/l)为 1:8~1:10, 回流提取 15 h, 真空浓缩, 得到墨绿色油脂状物, 提取率(占干叶)分别为 9.7% 和 3.6%。

1.2 聚戊烯乙酸酯的分离及制备

取上述落叶松的提取物 50 g, 水杉的提取物 30 g, 分别溶于 100 ml 石油醚, 进行硅胶柱(Φ 5.5 \times 90cm)分离, 洗脱剂为溶剂 A:石油醚-乙醚 = 19:1(v/v), B:石油醚-乙醚 = 17:3(v/v)。TLC 检测, 碘显色, 聚戊烯醇同系物 R_f = 0.256, 归并, HPLC 再分析, 得到落叶松和水杉针叶

中聚戊烯醇类化合物的级分,采用 HPLC 半制备柱制备聚戊烯醇各纯样。流动相为丙酮-甲醇 = 85:15(v/v),流速 2.0 ml/min,示差 Range 16;从落叶松针叶中分离制备 10 个纯样(L1~L10),从水杉中分离制备 10 个纯样(M1~M10)。所得纯样再经 HPLC 分析柱检测为单峰。

1.3 聚戊烯醇纯样的制备

聚戊烯乙酸酯的纯样 L7 和 M4 各 150 mg,溶于适量丙酮,转移到小试管中,加入 2 ml 60% KOH 水溶液,2 ml 5% 焦性没食子酸甲醇溶液和 1 ml 苯,密封试管口,于 100℃ 水浴 1 h,得到水解产物。用乙醚-正己烷(v/v=1:1)萃取 5 次,合并萃取层,用等体积水洗涤 3 次后,无水 Na₂SO₄干燥有机层,过滤,低温减压浓缩,得到油状水解产物,经硅胶柱(Φ 1×15 cm)处理,先后用 3% 和 10% 乙醚正己烷溶液洗脱,收集 10% 乙醚正己烷洗脱液,分别得到 L7A 和 M4A。

表 3 落叶松(L)和水杉(M)针叶中聚戊烯乙酸酯化合物的¹³CNMR 化学位移和基团归属关系

Tab 3 ¹³CNMR chemical shift and assignment of polyprenol acetate compounds of *Larix gmelinii* and *Metasequoia glyptostroboides* needles

构型 Configuration	基团 Groups	¹³ CNMR δ (ppm)							
		L2	L7	M4	M8	G3	L7A	M4A	G3A
5- <i>trans</i>	—CH ₃	16.05	15.91	15.91	15.85	16.0	15.90	16.0	16.0
5- ω	—CH ₃	17.71	17.56	17.57	17.52	17.7	17.56	17.57	17.6
5- <i>cis</i> , 5- α	—CH ₃	23.46	23.32	23.32	23.26	23.4	23.32	23.32	23.4
—	—COCH ₃	20.98	20.83	20.89	20.89	20.9	—	—	—
1- ω	—CH ₃	25.66	25.56	25.54	25.50	25.6	25.56	25.56	25.6
4- <i>cis</i>	—CH ₂ —	26.54	26.49	26.48	26.41	26.4	26.44	26.48	26.4
4- <i>trans</i>	—CH ₂ —	26.78	26.68	26.66	26.78	26.7	26.7	26.66	26.7
4- ω	—CH ₂ —	26.92	26.83	26.84	26.90	26.9	26.8	26.85	26.9
1- <i>trans-cis</i>	—CH ₂ —	32.09	32.0	32.0	31.97	32.02	32.0	32.0	32.0
1- <i>cis-cis</i>	—CH ₂ —	32.24	32.24	32.22	32.21	32.20	32.24	32.22	32.2
1- <i>trans-trans</i>	—CH ₂ —	39.8	39.75	39.79	39.79	39.8	39.78	39.78	39.8
1- ω - <i>trans</i>									
4- α	—CH ₂ OAC	61.1	60.91	60.94	60.82	61.0	59.4	59.3	59.1
3- ω , 3- α	=CH	119.46	119.57	119.49	119.55	119.34	124.29	124.3	124.3
3- <i>trans</i>		124.29	124.29	124.26	124.25	124.26	124.54	124.57	124.6
		124.38	124.34	124.31	123.34	124.34	124.7	124.7	124.7
		124.54	124.49	124.49	124.44	124.48			
3- <i>cis</i>	=CH	125.07	125.07	125.05	125.05	125.1	125.1	125.08	125.1
2- ω - <i>trans</i>	—C ω CH ₃	131.12	130.78	130.86	130.94	131.07	131.00	131.07	131.1
2- <i>trans-trans</i>	CH ₃ transC=	134.9	134.68	134.75	134.62	134.8	134.75	134.75	134.8
2- <i>cis</i>	—C=	135.2	134.97	135.06	134.96	135.1	135.1	135.1	135.1
2- <i>trans-cis</i>	—C=	135.85	135.7	135.6	135.6	135.8	135.8	135.8	136.0
2- α	—C—CHCH ₂ OAC	142.33	141.95	142.1	141.85	142.3	139.6	139.7	139.7
—	—COOCH ₃	170.3	172.2	172.6	170.2	170.2	—	—	—

1.4 结构鉴定

L2, L7 和 M4, M8 分别代表落叶松和水杉针叶中两组聚戊烯醇同系物中含量高的组分(见图 1), 选用光谱鉴定, UV: λ_{max} (CHCl_3) 199 处有最大吸收, 与链长大小无关, 表明 L2, L7, M4, M8 结构相同, IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3080, (—C—H) 2950, 1750 (—CO—), 1455, 1385, 1240 (乙酰基中 C—O 单链联接)。M4A 和 L7A 的 IR 与 M4 和 L7 的 IR 相比, 在 1750 cm^{-1} 和 1240 cm^{-1} 没有明显吸收, 表明 M4A 和 L7A 中无乙酰基存在, 在 3330 cm^{-1} 和 1000 cm^{-1} 有明显吸收, 进一步表明 M4 和 L7 水解产物 M4A 和 L7A 为聚戊烯醇, 与 G3A IR 一致^[1]。

¹HNMR: L2, L7, M4, M8, L7A, M4A 的¹HNMR 化学位移与归属见表 1, 其质子积分值见表 2。L2, L7; M4, M8 等¹³CNMR 化学位移和基团归属见表 3。

落叶松和水杉针叶聚戊烯乙酸酯的 HPLC 中, 其异戊烯基结构单元数(n)与各峰保留时间(tr)关系如表 4, 并且 Logtr 与 n 成直线关系(直线斜率为 0.05105)。以 G3 为标准对照, 确定落叶松与水杉中异戊烯基单元数与¹HNMR 积分值计算异戊烯基单元数结果一致。

表 4 落叶松和水杉针叶异戊烯基单元数(n)与保留时间(tr)对应关系

Tab 4 The relation between unit number of isopentene group and retention time (tr) of *Larix gmelinii* and *Metasequoia glyptostroboides* needles

异戊烯基单元数(n) Unit number of isopentene group	落叶松 <i>Larix gmelinii</i>				水杉 <i>Metasequoia glyptostroboides</i>			
	tr	logtr	Δlogtr	$\overline{\Delta\text{logtr}}$	tr	logtr	Δlogtr	$\overline{\Delta\text{logtr}}$
10	4.14	0.617		0.052	—	—		0.051
11	4.68	0.670	0.053		—	—		
12	5.25	0.720	0.050		—	—		
13	5.95	0.774	0.054		—	—		
14	6.68	0.825	0.051		6.7	0.826		
15	7.48	0.874	0.049		7.51	0.876	0.050	
16	8.41	0.925	0.051		8.45	0.927	0.051	
17	9.47	0.976	0.051		9.52	0.979	0.052	
18	10.67	1.028	0.052		10.72	1.030	0.051	
19	12.09	1.082	0.054		12.20	1.086	0.056	
20	13.52	1.131	0.049		13.64	1.134	0.048	
21	15.20	1.182	0.051		15.35	1.186	0.052	
22	17.17	1.235	0.053		17.31	1.238	0.052	
23	—	—	—		19.40	1.288	0.050	
24	—	—	—		21.74	1.337	0.049	

参 考 文 献

- 1 王成章, 沈兆邦, 陈 祥. 1992: 林产化学与工业 12(4): 279~286.
- 2 王成章, 沈兆邦, 陈 祥. 1994: 林产化学与工业 14(3): 1~8.
- 3 沈兆邦, 王成章, 陈 祥. 1994: 林产化工通讯 28(6): 3~7.
- 4 田中康之. 日本专利, 昭 58-83643.
- 5 Ibata K, Y Tanaka. 1983: *Tetrahedron Lett.* 24: 5103.
- 6 Tanaka Y, H Sato, A Kageyu. 1982: *Polymer* 23: 1087.