

文章编号: 1006-2858(2010)11-0883-05

东北红豆杉愈伤组织中紫杉烷类化合物的分离与鉴定(2)

张琳¹, 白皎¹, 李占林¹, 华会明¹, 坂井淳一², 安东政义²

(1. 沈阳药科大学 中药学院, 辽宁 沈阳 110016 2. 日本国立新泻大学 工学部, 日本 新泻 950-2181)

摘要: 目的 进一步明确东北红豆杉(*Taxus cuspidata*)愈伤组织中的化学成分, 为开发可持续利用的红豆杉资源提供物质基础。方法 采用硅胶柱色谱、制备型高效液相色谱等手段对愈伤组织的甲醇提取物进行分离和纯化; 根据化合物的理化性质和波谱数据并结合相关文献对化合物结构进行鉴定。结果 从东北红豆杉愈伤组织甲醇提取物中分离得到 7 个紫杉烷型二萜类化合物, 分别鉴定为 taxusin (1)、2 α -acetoxytaxusin (2)、14 β -hydroxytaxusin (3)、2-deacetylaxuyunnanin C (4)、10-deacetylaxuyunnanin C (5)、7-表-紫杉醇 (7-epitaxol) (6)、cephalomannin (7)。结论 化合物 1~5 7 为首次从东北红豆杉愈伤组织中分离得到, 化合物 3~5 尚未在东北红豆杉中发现。

关键词: 东北红豆杉; 愈伤组织; 紫杉烷型二萜; 结构鉴定

中图分类号: R 284 文献标志码: A

红豆杉是红豆杉科 (Taxaceae) 红豆杉属植物, 因其含有具有显著抗癌效果的二萜类化合物-紫杉醇而倍受关注。目前, 已从红豆杉属植物中分离得到紫杉烷类二萜化合物, 倍半萜类化合物, 甾体类化合物, 木质素类化合物, 黄酮类化合物以及糖苷类化合物等多种成分^[1]。由于红豆杉属于我国二级珍稀濒危植物, 而且紫杉醇在红豆杉属植物中含量极低 (质量分数为 0.01%), 为了进一步开发可持续利用的红豆杉资源, 寻找红豆杉细胞培养物中的生物活性物质, 作者对东北红豆杉愈伤组织的化学成分进行了研究^[2]。在前期研究工作的基础上^[3], 从其甲醇提取物中又分离得到 7 个紫杉烷型二萜类化合物, 分别鉴定为 taxusin (1)、2 α -acetoxytaxusin (2)、14 β -hydroxytaxusin (3)、2-deacetylaxuyunnanin C (4)、10-deacetylaxuyunnanin C (5)、7-表-紫杉醇 (6)、cephalomannin (7) 其结构式见图 1。化合物 1~5 7 为首次从东北红豆杉愈伤组织中分离得到, 化合物 3~5 尚未在东北红豆杉中发现。

1 仪器与材料

Yanaginoto 微量熔点测定仪 (温度未校正, 日本 Yanaginoto 公司), Hitachi 270-30 型红外光

谱仪 (日本 Hitachi 公司), Horba SEPA-200 型旋光光度计 (日本 Horba 公司), Varian UNITY-PS 500 型核磁共振光谱仪 (TMS 内标, 美国 Varian 公司), Hitachi L-6000 制备型 HPLC 色谱仪 (日本 Hitachi 公司), Shimadzu-RI 示差检测器 (日本 Shimadzu 公司)。

柱色谱用硅胶 (Kieselgel 60 德国 Merck 公司), 其他所用试剂 (日本和光纯药株式会社) 规格均为分析纯。

所用的愈伤组织材料由日本产东北红豆杉 (*Taxus cuspidata* Sieb. et Zucc.) 的幼茎或幼叶诱导而来, 此后于 25 °C, 在含有 0.5 或 1.0 mg·L⁻¹ α -萘乙酸 (α -naphthalene acetic acid, NAA) 的改良 Gamborg B5 培养基 (维生素用量为普通 B5 培养基的 2 倍) 上进行暗培养, 并每隔 30~40 d 继代 1 次。收集所得到的愈伤组织, 冷冻干燥后进行提取分离。

2 提取分离

干燥的东北红豆杉愈伤组织 (752 g), 粉碎后分别用正己烷、乙酸乙酯和甲醇浸泡提取。将甲醇提取物悬浮于适量水中, 用氯仿萃取, 得到氯仿萃取物 (7.27 g)。氯仿萃取物经硅胶柱色谱分

收稿日期: 2010-04-22

基金项目: 国家教育部归国留学人员科研启动基金 (41330136)

作者简介: 张琳 (1986-), 女 (汉族), 山西忻州人, 硕士研究生, E-mail: zhanglin19861016@163.com; 白皎 (1972-), 女 (满族), 辽宁沈阳人, 副教授, 主要从事天然药物研究工作, Tel: 13840182836 E-mail: baijiao@hotmail.com。

离,以正己烷-乙酸乙酯-甲醇溶剂系统洗脱,得到 Fr.1-7 共 7 个部分。Fr.4 (386 mg) 和 Fr.5 (399 mg) 用正相 HPLC 色谱法 (正己烷-乙酸乙酯溶剂系统) 进行分离,依次得到化合物 1 (25.1 mg)、4 (8.2 mg)、2 (5.2 mg)、5 (17 mg)。

Fr.6 (708 mg) 利用反相 HPLC 色谱法 (甲醇-水-乙腈溶剂系统) 以及正相 HPLC 色谱法 (正己烷-乙酸乙酯溶剂系统) 进行反复分离与纯化,得到化合物 3 (5.7 mg)、6 (8 mg) 和 7 (2 mg) (见图 1)。

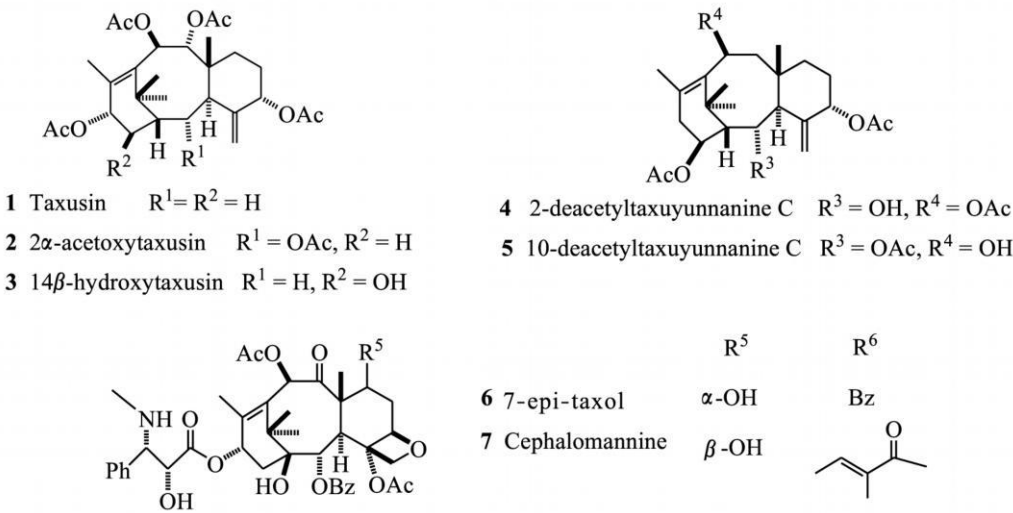


Fig 1 The structures of compounds 1-7

3 结构鉴定

化合物 1 无色结晶 (丙酮), mp 197 ~ 198 $^{\circ}C$, $[\alpha]_D^{20} + 99.80^{\circ}$ (c 0.520, MeOH), $R(CHCl_3) \nu_{max}$ 1 744 cm^{-1} 。 ^1H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 6.08 (1H, d, J = 10.7 Hz, H-10), 5.87 (1H, d, J = 10.7 Hz, H-9), 5.87 (1H, m, H-13), 5.36 (1H, t, J = 2.7 Hz, H-5), 5.21 (1H, br d, J = 1.5 Hz, H-20a), 4.85 (1H, br d, J = 1.5 Hz, H-20b), 3.00 (1H, br d, J = 6.0 Hz, H-3), 2.69 (1H, dt, J = 14.9, 9.9 Hz, H-14 α), 2.17 (3H, s, $-OCOCH_3$), 2.11 (3H, d, J = 1.5 Hz, H-18), 2.07, 2.05, 2.01 (each 3H, s, $-OCOCH_3$), 1.84 (2H, m, H-1, 6 α), 1.77 (3H, m, H-2 α , 7 α , 7 β), 1.69 (2H, m, H-2 β , 6 β), 1.62 (3H, s, H-16), 1.11 (3H, s, H-17), 1.06 (1H, br dd, J = 14.9, 8.0 Hz, H-14 β), 0.75 (3H, s, H-19); $^{13}C-NMR$ (125.7 MHz, $CDCl_3$) δ 170.4, 170.4, 170.0, 169.9 (each $-OCOCH_3$), 148.8 (C-4), 137.0 (C-12), 134.8 (C-11), 114.1 (C-20), 77.4 (C-9), 76.3 (C-5), 72.5 (C-10), 70.7 (C-13), 42.9 (C-8), 40.3 (C-1), 39.8 (C-15), 38.0 (C-3), 31.9 (C-14), 31.1 (C-16), 28.3 (C-2), 27.3 (C-6), 27.3 (C-7), 27.3 (C-17), 21.8, 21.4, 20.8, 20.0 (each $-OCOCH_3$), 17.7 (C-19), 14.8 (C-18)。 上述理化常数和波谱

数据与文献 [4] 基本一致,故该化合物鉴定为 taxusin。

化合物 2 白色粉末, mp 168 ~ 170 $^{\circ}C$, $[\alpha]_D^{20} + 33.1^{\circ}$ (c 0.431, $CHCl_3$), $R(CHCl_3) \nu_{max}$ 1 734 cm^{-1} 。 ^1H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 6.04 (1H, d, J = 10.5 Hz, H-10), 5.94 (1H, d, J = 10.5 Hz, H-9), 5.91 (1H, m, H-13), 5.48 (1H, dd, J = 7.1, 2.3 Hz, H-2), 5.34 (1H, br s, H-20a), 5.30 (1H, br t, J = 2.5 Hz, H-5), 4.78 (1H, br t, J = 1.0 Hz, H-20b), 3.28 (1H, d, J = 7.1 Hz, H-3), 2.57 (1H, dt, J = 15.2, 9.5 Hz, H-14 β), 2.23 (3H, s, $-OCOCH_3$), 2.15 (3H, d, J = 1.2 Hz, H-18), 2.10, 2.05, 2.02, 2.01 (each 3H, s, $-OCOCH_3$), 1.96 (1H, br dd, J = 9.5, 2.3 Hz, H-1), 1.89 ~ 1.78 (2H, m, H-6 β and 7 α), 1.77 (3H, s, H-16), 1.73 ~ 1.67 (1H, m, H-6 α), 1.51 (1H, br dd, J = 15.2, 8.0 Hz, H-14 α), 1.25 (1H, dd, J = 12.5, 7.0 Hz, H-7 β), 1.15 (3H, s, H-17), 0.89 (3H, s, H-19); $^{13}C-NMR$ (125.7 MHz, $CDCl_3$) δ 170.4, 170.0, 169.9, 169.9, 169.5 (each $-OCOCH_3$), 142.1 (C-4), 137.1 (C-12), 133.1 (C-11), 118.0 (C-20), 78.5 (C-5), 76.7 (C-9), 72.3 (C-10), 71.8 (C-2), 70.4 (C-13), 48.5 (C-1), 44.2 (C-3), 43.9 (C-8), 37.5 (C-15), 31.3 (C-16), 28.4 (C-6), 28.1 (C-14), 27.3 (C-7), 27.0 (C-17),

21.9 21.5 21.5 21.0 20.8 (each-OC OCH₃), 17.9(C-19)、14.9(C-18)。上述理化常数和波谱数据与文献 [4] 基本一致, 故鉴定该化合物为 2 α -acetoxytaxusin₆。

化合物 3 无色晶体 (乙酸乙酯), mp 232 ~ 235 °C, $[\alpha]_D^{20} + 85.30^\circ$ (c 0.353 CHCl₃), **R** (CHCl₃) $\nu_{\max}$ 3 460 1 734 1 648 cm⁻¹。¹H-NMR (500 MHz CDCl₃) δ 6.04(1H, d J = 10.7 Hz H-10)、5.89(1H, d J = 10.7 Hz H-9)、5.74(1H, dd J = 5.0, 1.5 Hz H-13)、5.34(1H, t J = 2.7 Hz H-5)、5.22(1H, br d J = 1.3 Hz H-20a)、4.88(1H, br d J = 1.3 Hz H-20b)、3.60(1H, d J = 5.0 Hz H-14)、2.78(1H, d J = 6.1 Hz H-3)、2.17 2.15 (each 3H, s -OC OCH₃)、2.12(3H, d J = 1.5 Hz H-18)、2.05 2.02(each 3H, s -OC OCH₃)、1.96(1H, m, H-2 α)、1.85(1H, m, H-2 β)、1.83(1H, m, H-6 α)、1.80(1H, m, H-1)、1.76~ 1.71(2H, m, H-7 α , β)、1.69(1H, m, H-6 β)、1.66(3H, s H-16)、1.21(3H, s H-17)、0.74(3H, s H-19); ¹³C-NMR (125.7 MHz CDCl₃) δ 172.2 170.2 169.7 (each-OC OCH₃)、143.2(C-4)、135.7(C-12)、133.9(C-11)、118.8(C-20)、79.1(C-5)、71.2(C-14)、70.2(C-2)、70.2(C-10)、63.4(C-1)、43.9(C-9)、43.8(C-3)、39.6(C-8)、38.2(C-13)、37.6(C-15)、34.0(C-7)、31.5(C-16)、28.9(C-6)、25.8(C-17)、22.3(C-19)、22.0 21.6 21.4 (each-OC OCH₃)、21.0(C-18)。上述理化常数和波谱数据与文献 [6] 基本一致, 故鉴定该化合物为 2-deacetylaxuyunnanin C₆。

化合物 4 无色晶体 (乙酸乙酯), mp 63 ~ 65 °C, $[\alpha]_D^{20} + 35.95^\circ$ (c 0.462 CHCl₃), **R** (CHCl₃) $\nu_{\max}$ 1 730 cm⁻¹。¹H-NMR (500 MHz CDCl₃) δ 6.04(1H, dd J = 12.2 5.9 Hz H-10)、5.79(1H, t J = 1.7 Hz H-20a)、5.31(1H, br d J = 1.7 Hz H-20b)、5.25(1H, t J = 2.8 Hz H-5)、4.85(1H, dd J = 9.5 5.6 Hz H-14)、4.09(1H, ddd J = 10.0 6.0 1.6 Hz H-2)、3.55(1H, d J = 10.0 Hz 2-OH)、2.71(1H, d J = 6.0 Hz H-3)、2.71(1H, dd J = 19.0 5.6 Hz H-13 α)、2.58(1H, dd J = 19.0 9.5 Hz H-13 β)、2.26(1H, dd J = 15.0 12.2 Hz H-9 α)、2.13(3H, s -OC OCH₃)、2.11(3H, d J = 1.0 Hz H-18)、2.09 2.05(each 3H, s -OC OCH₃)、1.97(1H, d J = 1.6

H_z, H-1)、1.92(1H, ddd J = 13.5 13.0 6.1 Hz H-7 α)、1.80(2H, m, H-6 α , β)、1.59(1H, dd J = 15.0 5.9 Hz H-9 β)、1.57(3H, s H-16)、1.21(1H, ddd J = 13.5 4.5 2.7 Hz H-7 β)、1.16(3H, s H-17)、0.89(3H, s H-19); ¹³C-NMR (125.7 MHz CDCl₃) δ 172.2 170.2 169.7 (each-OC OCH₃)、143.2(C-4)、135.7(C-12)、133.9(C-11)、118.8(C-20)、79.1(C-5)、71.2(C-14)、70.2(C-2)、70.2(C-10)、63.4(C-1)、43.9(C-9)、43.8(C-3)、39.6(C-8)、38.2(C-13)、37.6(C-15)、34.0(C-7)、31.5(C-16)、28.9(C-6)、25.8(C-17)、22.3(C-19)、22.0 21.6 21.4 (each-OC OCH₃)、21.0(C-18)。上述理化常数和波谱数据与文献 [6] 基本一致, 故鉴定该化合物为 2-deacetylaxuyunnanin C₆。

化合物 5 无色板状晶体 (乙酸乙酯), mp 178 ~ 180 °C, $[\alpha]_D^{20} + 38.8^\circ$ (c 0.500 CHCl₃), **R** (CHCl₃) $\nu_{\max}$ 3 620 1732 cm⁻¹。¹H-NMR (500 MHz CDCl₃) δ 5.36(1H, dd J = 6.4 2.2 Hz H-2)、5.28(1H, t J = 2.6 Hz H-5)、5.26(1H, br s H-20a)、5.11(1H, dd J = 11.8 5.6 Hz H-10)、4.99(1H, dd J = 9.2 4.6 Hz H-14)、4.85(1H, br s H-20b)、2.93(1H, d J = 6.4 Hz H-3)、2.80(1H, dd J = 19.0 9.2 Hz H-13 α)、2.43(1H, dd J = 19.0 4.6 Hz H-13 β)、2.35(1H, dd J = 15.0 11.8 Hz H-9 β)、2.17 2.05 2.02(each 3H, s -OC OCH₃)、1.98(3H, br s H-18)、1.91(1H, m, H-7 α)、1.88(1H, d J = 2.2 Hz, H-1)、1.82~ 1.76(2H, m, H-6 α , β)、1.72(3H, s H-16)、1.67(1H, dd J = 15.0 5.6 Hz H-9 α)、1.21(1H, m, H-7 β)、1.19(3H, s H-17)、0.84(3H, s H-19); ¹³C-NMR (125.7 MHz CDCl₃) δ 170.0 170.0 169.8 (each-OC OCH₃)、142.4(C-4)、138.6(C-11)、132.4(C-12)、116.9(C-20)、78.4(C-5)、70.7(C-2)、70.7(C-14)、67.4(C-10)、59.1(C-1)、47.1(C-9)、41.5(C-3)、39.7(C-8)、39.5(C-13)、37.4(C-15)、33.9(C-7)、32.1(C-17)、28.6(C-6)、25.4(C-16)、22.5(C-19)、21.8 21.5 21.4 (each-OC OCH₃)、21.1(C-18)。上述理化常数和波谱数据与文献 [7] 基本一致, 故鉴定该化合物为 10-deacetylaxuyunnanin C₆。

化合物 6 白色粉末, mp 168 ~ 170 °C, $[\alpha]_D^{20} - 33.1^\circ$ (c 0.321 MeOH), **R** (CHCl₃) $\nu_{\max}$

3 588 3 480 1 744 1 718 1 672 cm^{-1} 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz CDCl_3) δ 8.18 (2H, ddd $J = 8.7, 2.8, 1.3$ Hz, 2-OBz/o-Ph)、7.72 (2H, ddd $J = 8.7, 2.8, 1.3$ Hz, 3'-Ph/o-Ph)、7.62 (1H, t $J = 7.3, 1.3$ Hz, 2-OBz/p-Ph)、7.55 ~ 7.34 (10H, m, 3'-NHBz/o-, m-, p-Ph; 3'-Ph/m-, p-Ph, 2-OBz/m-Ph)、6.96 (1H, d $J = 9.0$ Hz, 3'-NH)、6.80 (1H, s H-10)、6.24 (1H, td $J = 8.9, 1.2$ Hz H-13)、5.82 (1H, dd $J = 9.0, 2.5$ Hz H-3'), 5.76 (1H, d $J = 7.8$ Hz H-2)、4.91 (1H, br dd $J = 9.0, 3.4$ Hz, H-5)、4.81 (1H, dd $J = 5.0, 2.5$ Hz H-2'), 4.67 (1H, br d $J = 11.5$ Hz, 7-OH)、4.39 (2H, br s H-20a and 20b)、3.92 (1H, d $J = 7.8$ Hz, H-3)、3.70 (1H, ddd $J = 11.5, 5.0, 2.1$ Hz, H-7)、3.43 (1H, d $J = 5.0$ Hz, 2'-OH)、2.52 (3H, s -OC OCH₃)、2.43 (1H, br dd $J = 15.4, 9.1$ Hz H-14 α)、2.39 ~ 2.25 (2H, m, H-6 α and 6 β)、2.24 (1H, dd $J = 15.9, 9.1$ Hz, H-14 β)、2.20 (3H, s -OC OCH₃)、1.79 (3H, d $J = 1.2$ Hz, H-18)、1.67 (3H, s H-19)、1.20 (3H, s H-16)、1.15 (3H, s H-17); $^{13}\text{C-NMR}$ (125.7 MHz CDCl_3) δ 207.2 (C-9)、172.8 (C-1'), 172.3 (4-OC OCH₃)、169.3 (10-OC OCH₃)、167.1 (2-OC OPh)、167.1 (3'-NHC OPh)、139.6 (C-12)、137.9 (3'-Ph/q-Ph)、133.7 (2-OBz/q-Ph)、133.7 (2-OBz/p-Ph)、133.4 (C-11)、132.0 (3'-NHBz/p-Ph)、130.3 (2-OBz/o-Ph)、129.3 (3'-NHBz/q-Ph)、129.1 (3'-NHBz/m-Ph)、128.8 (3'-Ph/p-Ph)、128.7 (3'-Ph/m-Ph)、128.3 (2-OBz/m-Ph)、127.0 (3'-NHBz/o-Ph)、126.9 (3'-Ph/b-Ph)、82.3 (C-5)、82.1 (C-4)、79.2 (C-1)、78.0 (C-10)、77.6 (C-20)、75.7 (C-7)、75.3 (C-2)、73.1 (C-2'), 72.3 (C-13)、57.6 (C-8)、54.9 (C-3'), 42.7 (C-15)、40.3 (C-3)、36.2 (C-6)、35.3 (C-14)、26.0 (C-17)、22.6 (4-OC OCH₃)、21.3 (C-16)、20.9 (10-OC OCH₃)、16.2 (C-19)、14.7 (C-18)。将其理化常数和波谱数据与文献 [8-9] 对照基本一致, 故鉴定该化合物为 7-表紫杉醇。

化合物 7 白色粉末, mp 180 ~ 182 $^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 41.0^{\circ}$ (c 0.170 M MeOH), IR (CHCl_3) ν_{max} 3 532 3 464 1 732 1 670 cm^{-1} 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz CDCl_3) δ 8.12 (2H, ddd $J = 8.5, 2.8, 1.3$ Hz, 2-OBz/o-Ph)、7.62 (1H, t $J = 7.4$

1.5 Hz, 2-OBz/p-Ph)、7.51 (2H, m, 2-OBz/m-Ph)、7.43 ~ 7.40 (4H, m, 3'-Ph/o-, m-Ph)、7.36 ~ 7.31 (1H, m, 3'-Ph/p-Ph)、6.49 (1H, d $J = 9.0$ Hz, 3'-NH)、6.43 (1H, br qd $J = 6.9, 1.5$ Hz, H-3'), 6.27 (1H, s H-10)、6.21 (1H, td $J = 9.1, 1.2$ Hz, H-13)、5.67 (1H, d $J = 7.1$ Hz, H-2)、5.61 (1H, dd $J = 9.0, 2.9$ Hz, H-3'), 4.94 (1H, br dd $J = 9.8, 2.2$ Hz, H-5)、4.71 (1H, dd $J = 5.4, 2.9$ Hz, H-2'), 4.40 (1H, ddd $J = 11.0, 6.7, 4.2$ Hz, H-7)、4.29 (1H, br d $J = 8.4$ Hz, H-20a)、4.18 (1H, br d $J = 8.4$ Hz, H-20b)、3.79 (1H, br d $J = 7.1$ Hz, H-3)、3.53 (1H, d $J = 5.4$ Hz, 2'-OH)、2.55 (1H, br ddd $J = 14.8, 9.8, 6.7$ Hz, H-6 α)、2.45 (1H, d $J = 4.2$ Hz, 7-OH)、2.36 (3H, s -OC OCH₃)、2.31 (1H, dd $J = 15.6, 9.0$ Hz, H-14 α)、2.28 ~ 2.23 (1H, m, H-14 β)、2.25 (3H, s -OC OCH₃)、1.88 (1H, br ddd $J = 14.8, 11.0, 2.2$ Hz, H-6 β)、1.81 (3H, dd $J = 1.2, 1.2$ Hz, 2''-Me)、1.80 (3H, d $J = 1.2$ Hz, H-18)、1.72 (3H, br dd $J = 6.9, 1.2$ Hz, H-4''), 1.68 (3H, s H-19)、1.26 (3H, s H-16)、1.15 (3H, s H-17); $^{13}\text{C-NMR}$ (125.7 MHz CDCl_3) δ 203.7 (C-9)、172.8 (C-1'), 171.3 (10-OC OCH₃)、170.3 (4-OC OCH₃)、169.0 (C-1''), 167.0 (2-OC OPh)、142.1 (C-12)、138.1 (C-2''), 133.7 (C-11)、133.7 (2-OBz/p-Ph)、131.9 (C-3''), 131.3 (3'-Ph/q-Ph)、130.2 (2-OBz/o-Ph)、129.1 (2-OBz/q-Ph)、129.1 (3'-Ph/p-Ph)、129.0 (2-OBz/m-Ph)、128.7 (3'-Ph/m-Ph)、127.0 (3'-Ph/o-Ph)、84.4 (C-5)、81.1 (C-4)、79.1 (C-1)、76.5 (C-20)、75.6 (C-10)、74.9 (C-2)、73.3 (C-2'), 72.3 (C-13)、72.2 (C-7)、58.6 (C-8)、54.8 (C-3'), 45.6 (C-3)、43.2 (C-15)、35.6 (C-6)、35.6 (C-14)、26.9 (C-17)、22.6 (4-OC OCH₃)、21.9 (C-16)、20.9 (10-OC OCH₃)、14.8 (C-18)、14.0 (2''-Me)、12.4 (C-4'')、9.6 (C-19)。将其理化常数和波谱数据与文献 [9-10] 对照基本一致, 故鉴定该化合物为 cephalomarin。

参考文献:

- [1] 曹聪梅, 李作平, 史清文. 东北红豆杉的化学成分和药理作用研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18: 330-342
- [2] 王俊丽, 刘海英, 杨林, 等. 红豆杉组织培养及其产

- 物紫杉醇研究进展 [J]. 生物技术, 2007, 17(3): 89–92
- [3] 白皎, 孙冬雪, 李占林, 等. 东北红豆杉愈伤组织中紫杉烷类化合物的分离与鉴定 [J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(12): 956–961.
- [4] DELLA CASA DE MARCANO D P, HALSALL T G. The isolation of seven new taxane derivatives from the heartwood of yew (*Taxus baccata* L.) [J]. Chem Commun, 1969 (10): 1282–1283.
- [5] SHI Qing-wen, ORITANI T, KYOTA H. 14 β -Hydroxytaxusin, a new taxane from *Taxus mairei* [J]. Nat Prod Lett, 1998, 12(2): 85–90.
- [6] CHENG Ke-de, FANG Wei-shuo, YANG Yu-jun et al C-14 Oxygenated taxanes from *Taxus yunnanensis* cell cultures [J]. Phytochemistry, 1996, 42(1): 73–75.
- [7] HU Shang-hui, TIAN Xu-fang, ZHU Wei-hua et al Microbial transformation of taxoids: Selective deacetylation and hydroxylation of 2 α , 5 α , 10 β , 14 β -tetraacetox-4(20), 11-taxadiene by the fungus *Cunninghamella echinulata* [J]. Tetrahedron, 1996, 52(26): 8739–8746.
- [8] HUANG CH O, KINGSTON D G, IMAGRINE et al New taxanes from *Taxus brevifolia*, 2 [J]. J Nat Prod, 1986, 49(4): 665–669.
- [9] CHMURNY G N, HILTON B D, BROBST S et al ^1H - and ^{13}C -NMR assignments for taxol, 7-epitaxol and cephalomannine [J]. J Nat Prod, 1992, 55(4): 414–423.
- [10] MILLER R W, POWELL R G, SMITH C R Jr et al Antileukemic alkaloids from *Taxus wallichiana* Zucc [J]. J Org Chem, 1981, 46: 1469–1474.

Isolation and identification of the taxoids from a callus culture of *Taxus cuspidata* (2)

ZHANG Lin¹, BAI Jiao¹, LI Zhan-lin¹, HUA Huiming¹, SAKAI Jun-ichi², ANDO Masayoshi²

(1 School of Traditional Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016 China; 2 Faculty of Engineering, Niigata University, Niigata 950-2181, Japan)

Abstract Objective To investigate the chemical constituents of the callus culture of *Taxus cuspidata*. **Methods** The compounds were isolated and purified from ethyl acetate and methanol extracts of the callus culture by silica gel column chromatography and preparative HPLC, and the structure elucidation was carried out by analyses of the physico-chemical constants and the spectral data. **Results** Seven taxoids were obtained and identified as taxusin (1), 2 α -acetoxytaxusin (2), 14 β -hydroxytaxusin (3), 2-deacetylaxuyunnanin C (4), 10-deacetylaxuyunnanin C (5), 7-epitaxol (6) and cephalomannine (7), respectively. **Conclusions** Compounds 1–5 and 7 are reported from the callus culture of *T. cuspidata* for the first time and compounds 3–5 are not found yet in the plant of this species.

Key words *Taxus cuspidata*; callus culture; taxoid; structure elucidation