

钩吻吲哚生物碱化学成分研究

张 桢¹, 刘光明¹, 肖 怀¹, 张 振², 何红平², 郝小江²

1. 大理学院药学院, 云南 大理 671000

2. 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, 云南 昆明 650204

摘要: 目的 为了寻找钩吻 *Gelsemium elegans* 的活性成分, 对其化学成分进行研究。方法 运用正反相柱色谱、葡聚糖凝胶等分离技术, 根据化合物的波谱数据鉴定化合物的化学结构。结果 从乙醇提取物的氯仿萃取部分分得 8 个化合物, 分别鉴定为 gelsemoxonmine II (1)、koumine (2)、gelsemine I (3)、胡蔓藤碱 IV (4)、19-(Z)-koumidine (5)、19-(Z)-akuammidine (6)、4-(R)-gelsemine-N-oxide (7) 和 4-(S)-gelsemine-N-oxide (8)。结论 化合物 1~7 是首次从采自西双版纳的钩吻地上部分分离得到的钩吻类吲哚生物碱, 化合物 8 为新天然产物。

关键词: 天然产物; 吲哚生物碱; 钩吻; 4-(R)-gelsemine-N-oxide; 4-(S)-gelsemine-N-oxide

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)02-0222-04

Chemical constituents from *Gelsemium elegans*

ZHANG Zhen¹, LIU Guang-ming¹, XIAO Huai¹, ZHANG Zhen², HE Hong-ping², HAO Xiao-jiang²

1. College of Pharmaceutical Sciences, Dali University, Dali 671000, China

2. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resource in West China, Kunming Institute of Botany, Kunming 650204, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from *Gelsemium elegans* aiming at searching for bioactive natural products. **Methods** Column chromatography techniques were used for separation and purification of the compounds and extensive spectral analysis spectrum were employed for structural elucidation. **Results** Eight compounds were isolated from the aerial part of *G. elegans* and their structures were identified as gelsemoxonmine II (1), koumine (2), gelsemine I (3), humantenine IV (4), 19-(Z)-koumidine (5), 19-(Z)-akuammidine (6), 4-(R)-gelsemine-N-oxide (7), and 4-(S)-gelsemine-N-oxide (8). **Conclusion** Compounds 1—7 are isolated from the aerial part of this plant. Compound 8 is isolated for the first time as natural substance.

Key words: natural product; indole alkaloid; *Gelsemium elegans* (Gardn. et Champ.) Benth.; 4-(R)-gelsemine-N-oxide; 4-(S)-gelsemine-N-oxide

钩吻 *Gelsemium elegans* (Gardn. et Champ.) Benth. 是马钱科胡蔓藤属 2 个种中的亚洲种 (另一种产于美洲), 别名胡蔓藤、断肠草、秦钩吻、野葛、胡蔓草、大茶药、山砒霜等。木质藤本, 叶全缘; 花黄色, 排成腋生的花束或顶生, 种子有翅。我国见于云南至福建, 有剧毒^[1]。根、茎、叶含多种钩吻素生物碱。全草可入药, 味苦, 性温; 有祛风、攻毒、消肿、止痛功能; 用于疥癣、湿疥、瘰癧、疔疮、跌打损伤、风湿痹痛、神经痛的治疗^[2]。生物碱以其独特的生物活性在药物研究中占有重要的地位, 为进一步探讨钩吻药用成分, 本实验对采自西双版纳的钩吻地上部分氯仿萃取物进行了化学成

分研究, 从中分得 8 个化合物, 通过各种光谱数据的分析, 分别鉴定为 gelsemoxonmine II (1)、koumine (2)、gelsemine I (3)、胡蔓藤碱 IV (4)、19-(Z)-koumidine (5)、19-(Z)-akuammidine (6)、4-(R)-gelsemine-N-oxide (7)、4-(S)-gelsemine-N-oxide (8), 化合物 8 为一新天然产物。

1 仪器与材料

Brucker AM—400 spectrometer 核磁共振仪; Brucker DRX—500 核磁共振仪, TMS 内标。ESI-MS 在 VG Autospec—3000 上测量。薄层色谱板和各种规格的柱色谱硅胶均来自于青岛海洋化工厂, C₁₈ 反相硅胶 (60 μm) 来自于德国 Merk Darmstadt 公司, Sephadex

收稿日期: 2010-05-06

基金项目: 云南省自然科学基金 (2003C0061M)

作者简介: 张 桢 (1976—), 男, 彝族, 大理学院药学院副教授, 主要从事天然药物化学成分的分离鉴定、教学工作。E-mail: zz2999@sina.com.cn

LH-20 来自于瑞士 Amersham Biosciences 公司。

植物样品于 2006 年 8 月采自云南西双版纳地区。该植物样品由中科院昆明植物所刘恩德博士鉴定为马钱科胡蔓藤属钩吻 *Gelsemium elegans* (Gardn. et Champ.) Benth., 标本存放于中国科学院昆明植物研究所标本馆。

2 提取和分离

采集于云南西双版纳马钱科胡蔓藤属钩吻地上部分 10 kg, 粉碎后用 95%乙醇回流提取 3 次 (10 L/次), 减压浓缩得到浸膏 300 g。浸膏加水悬浮, 用 2%盐酸溶液调节 pH 2~3, 醋酸乙酯萃取 3 次, 得到非生物碱部分; 然后母液用浓氨水调节 pH 9~10, 再用氯仿萃取 3 次, 得到生物碱 30 g。氯仿萃取物 (生物碱部分) 用硅胶柱色谱分离, 用氯仿-甲醇梯度洗脱 (9:1→8:2→7:3→5:5, 每一梯度 5 L), 最后用甲醇洗脱, 薄层色谱检测, 合并相同流份, 得 A~E 5 个组分, 再经正反相柱色谱和 Sephadex LH-20 柱色谱共分离得 8 个化合物。

3 结构鉴定

化合物 1: 无色粉末, 易溶于氯仿。C₁₉H₂₂N₂O₅, ESI-MS m/z : 359 [M+H]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 4.19 (1H, br s, H-3), 3.82 (1H, m, H-5), 2.43 (1H, d, J = 15.6 Hz, H-6a), 2.29 (1H, dd, J = 15.6, 4.6 Hz, H-6e), 7.55 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-9), 7.17 (1H, t, J = 7.6 Hz, H-10), 7.35 (1H, t, J = 7.6 Hz, H-11), 7.04 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-12), 5.03 (1H, br s, H-14), 3.37 (1H, m, H-16), 4.45 (1H, dd, J = 11.3, 3.7 Hz, H-17a), 4.16 (1H, d, J = 11.3, 3.7 Hz, H-17e), 1.13 (3H, t, J = 7.3 Hz, H-18), 2.81 (1H, dq, J = 18, 7.3 Hz, H-19a), 2.55 (1H, dq, J = 18, 7.3 Hz, H-19e), 4.06 (3H, s, *N*-OCH₃)。 ¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ : 173.4 (C-2), 78.5 (C-3), 56.1 (C-5), 34.6 (C-6), 55.5 (C-7), 131 (C-8), 125.2 (C-9), 124.1 (C-10), 130.3 (C-11), 107.5 (C-12), 138 (C-13), 68.6 (C-14), 67.2 (C-15), 33.6 (C-16), 64.2 (C-17), 7.0 (C-18), 28.7 (C-19), 211.0 (C-20), 63.7 (*N*-OCH₃)。以上数据与文献对照相符^[3], 故鉴定化合物 1 为 gelsemoxonmine II。

化合物 2: 无色结晶, 易溶于氯仿。ESI-MS m/z : 307 [M+H]⁺, C₂₀H₂₂N₂O。 ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 5.00 (1H, br s, H-3), 7.54 (1H, d, J = 9 Hz, H-9), 7.24 (1H, d, J = 9.0 Hz, H-10), 7.38 (1H, d, J = 9 Hz, H-11), 7.68 (1H, d, J = 9 Hz, H-12), 4.27 (1H, dd, J = 11.9 Hz, H-17a), 3.59 (1H, J = 11.9 Hz,

H-17b), 2.61 (3H, *N*-CH₃)。 ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ : 185.4 (C-2), 70.1 (C-3), 56.7 (C-5), 28.5 (C-6), 57.9 (C-7), 143.5 (C-8), 128 (C-9), 125.9 (C-10), 122.9 (C-11), 120 (C-12), 154.7 (C-13), 25.1 (C-14), 32.9 (C-15), 38.7 (C-16), 61.2 (C-17), 115.2 (C-18), 137.2 (C-19), 45.1 (C-20), 57.6 (C-21), 42.5 (*N*-CH₃)。以上数据与文献对照相符^[4], 故鉴定化合物 2 为 koumine。

化合物 3: 黄色油状物, 易溶于氯仿, C₂₀H₂₂N₂O₂; EI-MS m/z : 322 [M]⁺。 ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 3.94 (1H, s, H-3), 3.62 (1H, s, H-5), 2.04 (1H, s, H-6), 7.38 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-9), 7.01 (1H, ddd, J = 7.6, 0.7 Hz, H-10), 7.21 (1H, ddd, J = 7.6, 7.6, 0.7 Hz, H-11), 6.84 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-12), 2.84 (1H, dd, J = 14.2, 3.0 Hz, H-14a), 2.04 (1H, br s, H-14b), 2.48 (1H, br s, H-15), 2.40 (1H, br s, H-16), 4.09 (1H, dd, J = 9.8, 2.0 Hz, H-17a), 4.11 (1H, dd, J = 9.8, 2.0 Hz, H-17e), 4.97 (1H, dd, J = 18, 1.1 Hz, H-18a), 5.11 (1H, dd, J = 12, 1.1 Hz, H-18e), 6.21 (1H, dd, J = 18, 12 Hz, H-19), 2.80 (1H, br s, H-21a), 2.34 (1H, br s, H-21e), 2.20 (3H, s, *N*-CH₃)。 ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ : 178.7 (C-2), 69.3 (C-3), 72.2 (C-5), 48.9 (C-6), 53.9 (C-7), 131.1 (C-8), 127.6 (C-9), 121.8 (C-10), 128.3 (C-11), 109.4 (C-12), 140.7 (C-13), 22.5 (C-14), 35.1 (C-15), 38.5 (C-16), 61.0 (C-17), 113 (C-18), 137.2 (C-19), 53.5 (C-20), 65.3 (C-21), 40.9 (*N*-CH₃)。以上数据与文献对照相符^[5], 故鉴定化合物 3 为 gelsemine I。

化合物 4: 黄色油状物, 易溶于氯仿。C₂₁H₂₆N₂O₃; EI-MS m/z : 355 [M+H]⁺。 ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 3.37 (1H, m, H-3), 3.61 (1H, m, H-5), 7.38 (1H, d, J = 8 Hz, H-9), 7.04 (1H, ddd, J = 8, 8, 0.6 Hz, H-10), 7.26 (1H, ddd, J = 8, 8, 0.6 Hz, H-11), 6.99 (1H, d, J = 8 Hz, H-12), 4.05 (1H, dd, J = 11, 5.2 Hz, H-17a), 4.18 (1H, dd, J = 11, 1 Hz, H-17e), 1.62 (3H, br s, H-18), 5.37 (1H, q, J = 6 Hz, H-19), 3.37 (2H, br s, H-21), 2.35 (s, *N*-CH₃), 3.97 (s, *N*-OCH₃)。 ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ : 174.3 (C-2), 72.1 (C-3), 63.4 (C-5), 28.1 (C-6), 55.3 (C-7), 129 (C-8), 125.8 (C-9), 122.9 (C-10), 128.1 (C-11), 107.3 (C-12), 139.8 (C-13), 27 (C-14), 35.5 (C-15), 38.4 (C-16), 66.9 (C-17), 12.8 (C-18), 123 (C-19), 138.8 (C-20), 45.5 (C-21), 42.5 (*N*-CH₃), 63.4 (*N*-OCH₃)。以上数据

与文献对照相符^[6], 故鉴定化合物 **4** 为胡蔓藤碱 IV。

化合物 **5**: 黄色粉末, 易溶于丙酮与甲醇混合溶液 (1 : 1), $C_{19}H_{22}N_2O$; ESI-MS m/z : 295 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR ($CD_3COCD_3+CD_3OD$, 500 MHz) δ : 4.18 (1H, d, $J = 8$ Hz, H-3), 7.39 (1H, d, $J = 8$ Hz, H-9), 7.31 (1H, t, $J = 8$ Hz, H-10), 7.02 (1H, t, $J = 8$ Hz, H-11), 6.96 (1H, d, $J = 8$ Hz, H-12), 2.75 (1H, br s, H-15), 3.58 (1H, br s, H-17a), 1.50 (3H, br s, H-18), 5.25 (1H, br s, H-19)。¹³C-NMR ($CD_3COCD_3 + CD_3OD$, 100 MHz) δ : 139.5 (C-2), 51.0 (C-3), 60.6 (C-5), 27.6 (C-6), 104.1 (C-7), 128.5 (C-8), 119.4 (C-9), 118.5 (C-10), 121.5 (C-11), 111.8 (C-12), 142.7 (C-13), 29.6 (C-14), 30.1 (C-15), 53.8 (C-16), 69.0 (C-17), 12.5 (C-18), 118.6 (C-19), 56.5 (C-20)。以上数据与文献对照相符^[7], 故推定化合物 **5** 为 19-(Z)-koumidine。

化合物 **6**: 白色晶体, 易溶于氯仿与甲醇混合溶液 (8 : 2)。ESI-MS m/z : 353 $[M+H]^+$, $C_{21}H_{24}N_2O_3$ 。¹H-NMR ($CDCl_3+CD_3OD$, 500 MHz) δ : 4.09 (1H, d, $J = 10$ Hz, H-3), 7.30 (1H, d, $J = 8$ Hz, H-9), 7.18 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-10), 6.98 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-11), 6.92 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-12), 2.75 (1H, br s, H-15), 3.65 (1H, br s, H-17a), 3.62 (1H, br s, H-17e), 1.50 (3H, br s, H-18), 5.30 (1H, br s, H-19), 2.88 (s, $-COOCH_3$)。¹³C-NMR ($CDCl_3+CD_3OD$, 125 MHz) δ : 136.9 (C-2), 50.1 (C-3), 57.9 (C-5), 24.0 (C-6), 104.7 (C-7), 126.4 (C-8), 118.6 (C-9), 117.4 (C-10), 120.9 (C-11), 110.8 (C-12), 136.6 (C-13), 29.8 (C-14), 35.5 (C-15), 51.3 (C-16), 67.9 (C-17), 12.1 (C-18), 117.2 (C-19), 136.6 (C-20), 57.3 (C-21), 173.9 ($-COOCH_3$), 50.1 ($-COOCH_3$)。以上数据与文献对照相符^[7], 故推定化合物 **6** 为 19-(Z)-akuammidine。

化合物 **7**: 黄色粉末, 易溶于氯仿与甲醇混合溶液 (8 : 2), $C_{20}H_{22}N_3O_3$; ESI-MS m/z : 339 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR ($CDCl_3+CD_3OD$, 500 MHz) δ : 3.86 (1H, br s, H-3), 4.15 (1H, m, H-5), 3.29 (1H, br s, H-6), 7.18 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-9), 7.10 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-10), 6.86 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-11), 6.76 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-12), 2.77 (1H, br s, H-14a), 2.42 (1H, br s, H-14e), 2.55 (1H, br s, H-15), 4.01 (1H, dd, $J = 11.3, 1.8$ Hz, H-16a), 2.51 (1H, m, H-16e), 4.03 (1H, dd, $J = 11.3, 2.4$ Hz, H-17), 5.11 (1H, d, $J = 11$ Hz, H-18a), 4.91 (1H, d, $J = 17$ Hz, H-18e), 6.07 (1H,

dd, $J = 17.7, 11$ Hz, H-19), 3.78 (1H, br s, H-21a), 3.26 (1H, br s, H-21a), 3.31 (3H, s, $N-CH_3$)。¹³C-NMR ($CDCl_3+CD_3OD$, 100 MHz) δ : 177.5 (C-2), 68.0 (C-3), 85.0 (C-5), 52.6 (C-6), 53.0 (C-7), 128.8 (C-8), 129.9 (C-9), 121.5 (C-10), 127.9 (C-11), 109.5 (C-12), 140.7 (C-13), 22.2 (C-14), 34.4 (C-15), 37.1 (C-16), 60.2 (C-17), 114.6 (C-18), 134.8 (C-19), 52.0 (C-20), 79.3 (C-21), 50.9 ($N-OCH_3$)。以上数据与文献对照相符^[8], 故推定化合物 **7** 为 4-(R)-gelsemine-N-oxide。

化合物 **8**: 黄色粉末, 易溶于氯仿与甲醇混合溶液 (8 : 2), 样品用薄层板检测, 在 254 nm 有紫外吸收, 碘显色。KBiI₄ 显黄色斑点, 提示可能是生物碱类化合物。ESI-MS 显示其分子离子峰为 m/z : 339 $[M+H]^+$, 提示分子中可能含有偶数个氮。结合 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 推出分子式为 $C_{20}H_{22}N_2O_3$ 。¹H-NMR ($CDCl_3+CD_3OD$, 500 MHz) δ : 3.80 (1H, br s, H-3), 4.15 (1H, m, H-5), 2.31 (1H, br s, H-6), 7.31 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-9), 7.20 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-10), 7.00 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-11), 6.98 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-12), 2.77 (1H, br s, H-14a), 2.31 (1H, br s, H-14e), 2.58 (1H, br s, H-15), 4.20 (1H, dd, $J = 11.3, 1.8$ Hz, H-16a), 4.01 (1H, dd, $J = 11.6, 2.0$ Hz, H-17a), 4.13 (1H, br s, H-17e), 4.98 (1H, d, $J = 17.7$ Hz, H-18a), 5.15 (1H, d, $J = 17$ Hz, H-18e), 6.13 (1H, dd, $J = 17.7, 11$ Hz, H-19), 3.78 (1H, br s, H-21a), 3.24 (1H, br s, H-21a)。¹³C-NMR ($CDCl_3+CD_3OD$, 100 MHz) δ : 177.3 (C-2), 68.8 (C-3), 84.0 (C-5), 53.6 (C-6), 53.6 (C-7), 129.7 (C-8), 128.8 (C-9), 122.3 (C-10), 127.9 (C-11), 109.7 (C-12), 140.6 (C-13), 22.3 (C-14), 34.2 (C-15), 37.1 (C-16), 60.6 (C-17), 115.4 (C-18), 134.0 (C-19), 52.8 (C-20), 78.5 (C-21), 50.4 ($N-OCH_3$)。

分析化合物 **8** 的碳谱和 DEPT 谱发现, 化合物与 gelsemine 相比较除了在 C-21 和 C-5 化学位移不同以外, 其他 C 化学位移基本相同; 有 1 个甲基化学位移 (δ 50.9) 介于氮氧甲基 (δ_C 63.4) 和氮甲基 (δ_C 42.5) 之间, 且化合物的 C-21 和 C-5 分别都比 gelsemine 的 C-21 和 C-5 大 δ 10~14。因此, 推断 C-21 和 C-5 之间的氮被氧化。由文献报道, gelsemine 用 MCPBA 氧化, 可得到 R 和 S 构型 gelsemine-N-oxides^[7]。通过氢谱差异, 可判断 R 和 S 构型, 见表 1。

因为化合物 **8** 其特征吸收 δ_H 2.31 (1H, br s, H-6)

表1 钩吻吲哚生物碱 gelsemine 型 H-6 与 H-16 化学位移
Table 1 Gelsemine H-6 and H-16 chemical shifts of indole alkaloid from *Gelsemium elegans*

位置	gelsemine- <i>N</i> -oxides		gelsemine (I)
	<i>R</i>	<i>S</i>	
H-6	3.41	2.28	1.98
H-16	2.59	4.26	2.30

和 4.20 (1H, dd, $J = 11.3, 1.8$ Hz, H-16a) 与文献值比较接近^[8], 所以化合物是 *S* 构型。故鉴定化合物 **8** 为 4-(*S*)-gelsemine-*N*-oxide, 是首次从植物中分离到的天然产物。

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仪器组的全体工作人员在波谱测定方面所给予的帮助。

参考文献

- [1] 侯宽昭. 中国种子植物科属电子小词典 [M]. 第二版. 北京: 科学出版社, 1998.
- [2] 吴征镒. 新华本草纲要 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1988.

- [3] Kitajima M, Kogure N, Yamaguchi K, *et al.* Structure reinvestigation of gelsemoxonine, a constituent of *Gelsemium elegans*, reveals a novel, azetidine-containing indole alkaloid [J]. *Org Lett*, 2003, 5(12): 2075-2078.
- [4] Liu C T, Wang Q W. Structure of koumine [J]. *J Am Chem Soc*, 1981, 103: 4634-4635.
- [5] Schun Y, Cordell G A. Studies the NMR spectroscopic properties of gelsemine: revisions and refinements [J]. *J Nat Prod*, 1985, 48(6): 969-971.
- [6] Lin L Z, Cordell G A. New humantenine-type alkaloid from *Gelsemium elegans* [J]. *J Nat Prod*, 1989, 52(3): 588-594.
- [7] Hiromitsu T, Sinichiro S. Chemical conversion of gardnerine into koumidine by inverting the ethylidene side chain with palladium catalyst [J]. *Chem Pharm Bull*, 1989, 37(8): 2256-2257.
- [8] Ponglax D, Wongserripipatana S, subhadhirasakul S, *et al.* Studies on indole alkoids of gelsemium (Thailand): Structrue elucidation and proposal of biogenetic route [J]. *Tetrahedron*, 1988, 44(16): 5075-5094.

封面照片——东北红豆杉



常绿乔木, 高 17~20 m, 胸径 10~30 cm。生于海拔 500~1 600 m 的湿润肥沃的河岸、谷地、漫岗, 常成群或散生针阔混交林内。分布于我国长白山地区的安图、长白、临江、汪清、抚松、靖宇、通化、集安、敦化、和龙、汪清、柳河、辉南、江源等市县, 以及朝鲜、日本、俄罗斯 (远东地区)。有利尿, 通经的功能, 用于肾脏病、肾炎浮肿、小便涩痛、糖尿病及高血压等。叶含紫杉宁、紫杉宁 A、紫杉宁 H、紫杉宁 K、紫杉宁 L、坡那甾酮、脱皮甾酮、金松双黄酮; 嫩枝含紫杉醇。茎皮含紫杉酚; 心材含紫杉素; 种子含东北红豆杉素 (taxacin), 欧紫杉吉酚 (taxagifine)、紫杉素、紫杉素 B、紫杉碱 II、 β -谷甾醇 (β -sitosterol)、菜油甾醇 (campesterol)、豆甾醇 (stigmasterol)。本品树皮含紫杉醇有抗白血病和抗黑色素瘤、卵巢上皮癌、输卵管癌、乳腺癌及子宫颈癌作用。本品紫杉碱对高血糖家兔 sc 或 iv 有降血糖作用。

(封面照片由通化师范学院 周 繇 教授提供)