

藤石松的生物碱类成分研究

陈烨琪¹, 潘亚茹¹, 卓越¹, 张一帆^{2,3*}, 顾继洪^{1*}

1. 广州中医药大学科技创新中心, 广东 广州 510405

2. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405

3. 广东省中医临床研究院, 广东 广州 510405

摘要: 目的 研究藤石松 *Lycopodium casuarinoides* 的生物碱类成分。方法 利用多种色谱方法对藤石松总生物碱部位进行分离纯化。通过多种波谱技术以及单晶 X-射线衍射鉴定化合物的结构。结果 从藤石松全株植物中分离到 11 个化合物, 分别鉴定为 6-羟基-β-玉柏碱 (1)、去-N-甲基-β-玉柏碱 (2)、casuarine B (3)、石杉碱乙 (4)、casuarinine B (5)、β-玉柏碱 (6)、蛇足石杉碱 (7)、N-demethylhuperzine (8)、石杉碱丙 (9)、8,15-dihydrohuperzine (10)、casuarinine I (11)。结论 化合物 1 为新的石松碱类化合物。

关键词: 藤石松; 石松碱; 6-羟基-β-玉柏碱; 去-N-甲基-β-玉柏碱; 石杉碱乙; 蛇足石杉碱

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2024)05-1460-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.05.005

Study on alkaloids of *Lycopodium casuarinoides*

CHEN Yeqi¹, PAN Yaru¹, ZHUO Yue¹, ZHANG Yifan^{2,3}, GU Jihong¹

1. Science and technology innovation center, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China

2. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China

3. Guangdong Clinical Research Academy of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China

Abstract: **Objective** To study the alkaloids from Tengshisong [*Lycopodium casuarinoides* (Spring) Holub]. **Methods** The total alkaloid fraction of *L. casuarinoides* was separated and purified by various chromatographic techniques. The chemical structures were identified by comprehensive spectroscopy analysis and single crystal X-ray diffraction. **Results** A total of eleven compounds were isolated from the total alkaloid fraction of *L. casuarinoides*, and the structures were identified as 6-hydroxy-β-obscurine (1), des-N-methyl-β-obscurine (2), casuarine B (3), huperzine B (4), casuarinine B (5), β-obscurine (6), huperzine (7), N-demethylhuperzine (8), huperzine C (9), 8,15-dihydrohuperzine (10), and casuarinine I (11). **Conclusion** Compound 1 is a new *Lycopodium* alkaloid. **Key words:** *Lycopodium casuarinoides* (Spring) Holub; *Lycopodium* alkaloid; 6-hydroxy-β-obscurine; des-N-methyl-β-obscurine; huperzine B; huperzine

藤石松 *Lycopodium casuarinoides* (Spring) Holub 又名“舒筋草”, 为石松科藤石松属的单种植物, 生于海拔 100~3 100 m 的林下、林缘、灌丛下或沟边, 主要分布于热带与亚热带地区, 在我国华东、华南、华中及西南大部分省区广泛分布, 能祛风除湿、舒筋活血, 主治跌打损伤、风湿关节痛、月经不调等^[1-2]。石松碱类化合物是从石松科、石杉

科及其近缘亲属植物中分离得到的一类具有生源相同、结构相似且骨架丰富多样的生物碱, 其基本骨架结构一般由 16 个碳原子的吡啶环或吡啶酮环构成^[3]。近年来, 石松生物碱因其具有奇特的化学结构和丰富多样的生物活性 (如乙酰胆碱酯酶抑制活性、细胞毒性和神经保护活性等) 而受到众多化学家和药理学家们的广泛关注^[4-12]。其中, 石杉碱甲作为

收稿日期: 2023-12-19

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82104014); 广州市基础与应用基础研究项目 (2023A04J2478)

作者简介: 陈烨琪 (2000—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药学。E-mail: 20221111011@stu.gzucm.edu.cn

*通信作者: 顾继洪 (1991—), 男, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向为中药及天然药物活性成分。E-mail: gujh@gzucm.edu.cn

张一帆 (1991—), 男, 博士, 研究方向为中药药理学。E-mail: zhangyifan@gzucm.edu.cn

石松碱家族的明星分子, 具有强效、可逆的乙酰胆碱酯酶抑制活性, 已被美国食品药品监督管理局批准为改善记忆力的膳食补充剂, 在国内则用于重症肌无力和中轻度阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 患者的临床治疗, 是目前较有前景的 AD 治疗药物^[3]。为了进一步阐明藤石松的生物碱类成分, 本课题组对该植物的总生物碱部位进行研究, 从中分离得到 11 个石松碱类化合物, 分别鉴定为 6-羟基- β -玉柏碱 (6-hydroxy- β -obscurine, **1**)、去-*N*-甲基- β -玉柏碱 (des-*N*-methyl- β -obscurine, **2**)、casuarine B (**3**)、石杉碱乙 (huperzine B, **4**)、casuarinine B (**5**)、 β -玉柏碱 (β -obscurine, **6**)、蛇足石杉碱 (huperzine, **7**)、*N*-demethylhuperzine (**8**)、石杉碱丙 (huperzine C, **9**)、8,15-dihydrohuperzine (**10**)、casuarinine I (**11**)。其中, 化合物 **1** 为新化合物, 结构式见图 1。

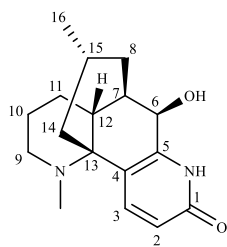


图 1 化合物 **1** 的结构

Fig. 1 Chemical structures of compound **1**

1 仪器与材料

Ascend 400 型核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司); JASCO V-550 型紫外/可见光谱仪 (北京佳斯科仪器有限公司); JASCO FT/IR-4600 Plus Fourier Transform IR 光谱仪 (北京佳斯科仪器有限公司); N-1300 旋转蒸发仪 (上海爱朗仪器有限公司); LC-2030C 分析型高效液相 (日本 Shimadzu 公司); G1361A 1200 型半制备型高效液相 (美国安捷伦科技有限公司); 5600 LC-MS 质谱仪 (美国安捷伦科技有限公司); Agilent Gemini S 单晶衍射仪 (美国安捷伦科技有限公司); JASCO P-1020 旋光仪 (北京佳斯科仪器有限公司); 柱色谱硅胶 (青岛海洋化工有限公司); HSGF254 型 TLC 用硅胶 GF₂₅₄ 高效预制板 (烟台化学工业研究所); 柱色谱用 Sephadex LH-20 填料 (Amersham Biosciences 公司); Xbridge BEH C₁₈ 制备柱 (250 mm×10 mm, 5 μ m, 美国 Waters 公司); 核磁用氘代试剂 (美国 CIL 公司); 乙醇、石油醚、醋酸乙酯、二氯甲烷等均为分析纯

(天津富宇公司和山东禹王公司); 乙腈、甲醇为色谱纯 (北京迈瑞达科技有限公司)。

实验用藤石松样品于 2020 年 11 月购买自广东省揭阳市, 经广州中医药大学科技创新中心王文彩博士鉴定为藤石松 *L. casuarinoides* (Spring) Holub, 凭证标本 (2020100201) 存放于广州中医药大学科技创新中心。

2 提取与分离

将藤石松的地上部分 (50.0 kg) 干燥后粉碎, 并在室温下用 95%乙醇 (140 L) 提取 3 次, 每次 72 h。乙醇提取物 (7.55 kg) 加水混悬, 用 10%盐酸酸化至 pH 3, 并用二氯甲烷萃取除去中性组分。酸水层用 NH₃·H₂O 调节至 pH 9~10 后, 用二氯甲烷萃取, 减压浓缩以获得总生物碱部位 (54.63 g)。总生物碱部位经硅胶柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (100:0→0:100) 梯度洗脱, 经薄层色谱检测合并相同部分, 得到 10 个流分 (Fr. 1~10)。

Fr. 1 (7.35 g) 经 ODS 柱, 甲醇-水 (10:90→100:0) 溶剂系统进行梯度洗脱, 得到 5 个组分 (Fr. 1-1~1-5)。Fr. 1-2 (0.24 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (甲醇) 纯化, 得到 3 个流分 Fr. 1-2-1~1-2-3。Fr. 1-2-2 以乙腈-碱水 (77:23, 碱水为 0.02%二乙胺水溶液) 为流动相, 经半制备 HPLC 分离得到化合物 **1** (3.56 mg, *t_R*=39.5 min)、**11** (8.31 mg, *t_R*=40.1 min)。Fr. 1-2-3 以乙腈-碱水 (75:25) 为流动相, 经半制备 HPLC 分离得到化合物 **4** (3.74 mg, *t_R*=15.7 min)。Fr. 1-3 以乙腈-碱水 (70:30) 为流动相, 经半制备 HPLC 分离得到化合物 **10** (5.93 mg, *t_R*=30.4 min)。

Fr. 2 (1.5 g) 经 ODS 柱, 甲醇-水 (10:90→100:0) 溶剂系统进行梯度洗脱, 得到 3 个组分 Fr. 2-1~2-3。Fr. 2-1 (0.13 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离, 甲醇洗脱得到 3 个流分 Fr. 2-1-1~2-1-3。Fr. 2-1-1 以乙腈-碱水 (70:30) 为流动相, 经半制备 HPLC 分离得到化合物 **6** (4.30 mg, *t_R*=36.0 min)。Fr. 2-2 (0.16 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇 1:1) 和半制备 HPLC (乙腈-碱水 75:25) 分离得到化合物 **9** (43.33 mg, *t_R*=9.9 min)。

Fr. 3 (1.23 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离, 以甲醇为溶剂进行洗脱, 得到 3 个流分 Fr. 3-1~3-3。Fr. 3-1 (0.31 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇 1:1) 和半制备 HPLC (乙腈-碱水 75:25) 分离得到化合物 **2** (4.17 mg, *t_R*=10.9

min)。Fr. 3-2 (0.29 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (甲醇) 和半制备 HPLC (乙腈-碱水 75:25) 分离得到化合物 **3** (9.79 mg, $t_R=12.8$ min)、**5** (5.17 mg, $t_R=22.3$ min)、**7** (9.79 mg, $t_R=22.0$ min)、**8** (2.9 mg, $t_R=24.3$ min)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 无色针晶 (甲醇)。 $[\alpha]_D^{25} +78.0$ (c 0.10, CH₃CN); mp 269~270 °C。HR-ESI-MS 谱给出准分子离子峰 m/z : 289.190 1 $[M+H]^+$ (计算值 289.191 1), 确定化合物 **1** 的分子式为 C₁₇H₂₄N₂O₂, 计算其不饱和度为 7。紫外光谱 (UV) 显示在 232、318 nm 处有特征性吸收。红外光谱 (IR) 显示其结构中存在羟基 (3 411 cm⁻¹)、羰基 (1 667 cm⁻¹) 和双键 (1 607 cm⁻¹) 等特征信号峰。

化合物 **1** 的 ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) 谱显示 2 个烯烃质子信号 δ_H 7.85 (1H, d, $J=9.4$ Hz, H-3), 6.46 (1H, d, $J=9.4$ Hz, H-2); 1 个连氧次甲基氢信号 δ_H 4.75 (1H, d, $J=6.0$ Hz, H-6) 和 2 个甲基氢信号 δ_H 2.59 (3H, s, N-Me), 0.84 (3H, d, $J=6.3$ Hz, H-16)。¹³C-NMR 结合 DEPT-135 谱显示出 17 个碳信号, 包括 4 个季碳信号 (δ_C 59.9, 146.1, 121.7, 165.1)、6 个次甲基碳信号 (δ_C 27.6, 38.1, 41.7, 66.5, 119.5, 142.2)、5 个亚甲基碳信号 (δ_C 20.3, 27.3, 36.3, 47.5, 51.6) 和 2 个甲基碳信号 (δ_C 22.5, 36.3)。化合物 **1** 的碳氢信号归属见表 1。

将化合物 **1** 与 β -玉柏碱^[13]的 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据进行对比, 发现两者的化学位移相似, 不同之处在于化合物 **1** 的 C-6 位化学位移明显向低场移动 (δ_C 66.5), 提示其 C-6 位连有氧原子。¹H-¹H COSY 谱显示化合物 **1** 的结构中存在如图 2 所示的两组自旋体系。在 HMBC 谱中, H-2 与 C-1/C-4, H-3 与 C-1/C-5/C-13, H-6 与 C-4/C-5/C-8/C-12, H-16 与 C-8/C-14/C-15, N-CH₃ 与 C-9/C-13 之间分别有远程相关 (图 2), 证实了上述推论, 从而建立了化合物 **1** 的平面结构。

为了确定化合物 **1** 的绝对构型, 在其甲醇溶液中培养出单晶, 并通过单晶 X-射线衍射实验获得了其单晶结构 (图 3)。由于其 Flack 常数为 0.05(10), 因此确定化合物的绝对构型为 6*R*, 7*R*, 12*R*, 13*R*, 15*R* 命名为 6-羟基- β -玉柏碱 (6-hydroxy- β -obscurine)。

化合物 **1** 的晶体学数据存于在英国剑桥晶体学数据中心 (Cambridge Crystallographic Data Centre, CCDC), 该数据可通过 CCDC 网站 www.ccdc.cam。

表 1 化合物 **1** 的 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据 (400/100 MHz, CD₃OD)

Table 1 ¹H-NMR and ¹³C-NMR data of compound **1** (400/100 MHz, CD₃OD)

碳位	δ_C	δ_H
1	165.1	
2	119.5	6.46 (1H, d, $J=9.4$ Hz)
3	142.2	7.85 (1H, d, $J=9.4$ Hz)
4	121.7	
5	146.1	
6	66.5	4.75 (1H, d, $J=6.0$ Hz)
7	38.1	2.11 (1H, m)
8	36.3	2.16 (1H, m), 1.00 (1H, td, $J=13.7, 4.3$ Hz)
9	51.6	2.68 (1H, brd, $J=12.8$ Hz), 2.62 (1H, m)
10	20.3	1.84 (1H, m), 1.18 (1H, m)
11	27.3	1.58 (1H, m), 1.34 (1H, m)
12	41.7	2.14 (1H, m)
13	59.9	
14	47.5	1.43 (1H, q, $J=12.0$ Hz), 1.37 (1H, m)
15	27.6	1.29 (1H, m)
16	22.5	0.84 (3H, d, $J=6.3$ Hz)
N-Me	36.3	2.59 (3H, s)

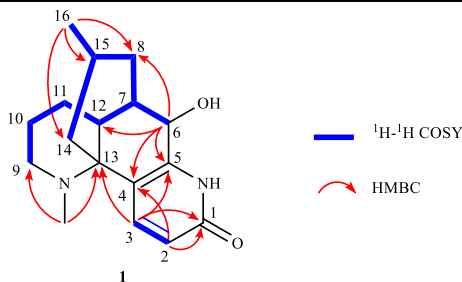


图 2 化合物 **1** 的关键 ¹H-¹H COSY 和 HMBC 相关信号
Fig. 2 Key ¹H-¹H COSY and HMBC correlations of compound **1**

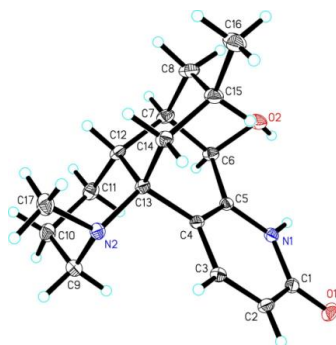


图 3 化合物 **1** 的单晶 ORTEP 图
Fig. 3 X-ray ORTEP drawing of compound **1**

ac.uk 进行索取,发表号为 CCDC-2315044。化合物 1 的晶体学参数: 分子式 $C_{17}H_{24}N_2O_2$, 相对分子质量 $M_r=288.38$, 斜方晶系, $P2_12_12_1$ 空间群; 晶胞参数 $a=7.770\,80(10)\text{ nm}$, $b=12.859\,0(2)\text{ nm}$, $c=14.565\,8(2)\text{ nm}$, $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$; $V=1\,455.48(4)\text{ nm}^3$, $T=149.99(10)\text{ K}$, 晶胞内分子数 $Z=4$, 计算单晶密度 (ρ_{calc}) $=1.316\text{ g/cm}^3$, $F(000)=624$ 。收集的衍射点数为 11 403 ($9.17^\circ\leq\theta\leq147.89^\circ$), 可观测的衍射点数为 2 822 [$I>2\sigma(I)$]。可观测的衍射点的 R 为 0.031 5, 可观测的衍射点的最终 R 指数 (R_w) 为 0.082 7, 拟合优度 (S) 为 1.060, Flack 常数是 0.05(10)。

化合物 2: 白色粉末。HR-ESI-MS m/z : 259.181 3 $[M+H]^+$ (计算值 259.180 5), 分子式为 $C_{16}H_{22}N_2O$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.64 (1H, d, $J=9.4\text{ Hz}$, H-3), 6.43 (1H, d, $J=9.4\text{ Hz}$, H-2), 2.88 (1H, dd, $J=19.0, 7.1\text{ Hz}$, H-6a), 2.80 (1H, m, H-9a), 2.49 (1H, m, H-9b), 2.35 (1H, d, $J=19.0\text{ Hz}$, H-6b), 2.08 (1H, m, H-7), 1.76 (1H, brd, $J=9.0\text{ Hz}$, H-8a), 1.70~1.51 (5H, overlapped, H-10a, 10b, 12, 14a, 15), 1.36~1.20 (4H, overlapped, H-8b, 11a, 11b, 14b), 0.86 (3H, d, $J=5.8\text{ Hz}$, H-16); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 165.2 (C-1), 118.4 (C-2), 140.9 (C-3), 118.5 (C-4), 146.6 (C-5), 30.6 (C-6), 34.2 (C-7), 44.1 (C-8), 42.0 (C-9), 26.9 (C-10), 26.5 (C-11), 44.2 (C-12), 56.8 (C-13), 49.4 (C-14), 27.0 (C-15), 22.2 (C-16)。以上数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 2 为去-*N*-甲基- β -玉柏碱。

化合物 3: 白色粉末。HR-ESI-MS m/z : 287.176 3 $[M+H]^+$ (计算值 287.175 4), 分子式为 $C_{17}H_{22}N_2O_2$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.83 (1H, d, $J=9.4\text{ Hz}$, H-3), 6.32 (1H, d, $J=9.4\text{ Hz}$, H-2), 5.41 (1H, brd, $J=4.9\text{ Hz}$, H-8), 3.34 (1H, td, $J=10.9, 5.1\text{ Hz}$, H-11), 2.91 (1H, overlapped, H-7), 2.87 (1H, overlapped, H-6a), 2.62 (1H, m, H-9a), 2.59 (1H, overlapped, H-14a), 2.57 (3H, s, *N*-Me), 2.49 (1H, m, H-9b), 2.27 (1H, d, $J=16.7\text{ Hz}$, H-6b), 1.79 (1H, dd, $J=10.4, 3.3\text{ Hz}$, H-12), 1.70 (1H, m, H-14b), 1.67 (1H, m, H-10b), 1.49 (3H, s, H-16), 1.43 (1H, m, H-10a); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 165.7 (C-1), 118.2 (C-2), 142.8 (C-3), 122.6 (C-4), 144.5 (C-5), 30.0 (C-6), 30.7 (C-7), 125.5 (C-8), 50.3 (C-9), 29.9 (C-10), 68.6 (C-11), 41.3 (C-12), 59.3 (C-13), 44.1 (C-14), 133.8 (C-15), 23.2 (C-16), 37.7 (*N*-Me)。以上数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 3 为 casuarine B。

化合物 4: 白色粉末。HR-ESI-MS m/z : 257.164 9 $[M+H]^+$ (计算值 257.164 8), 分子式为 $C_{16}H_{20}N_2O$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.70 (1H, d, $J=9.4\text{ Hz}$, H-3), 6.45 (1H, d, $J=9.4\text{ Hz}$, H-2), 5.45 (1H, brd, $J=5.5\text{ Hz}$, H-8), 2.86 (1H, dd, $J=17.8, 5.5\text{ Hz}$, H-6a), 2.76 (1H, d, $J=13.3\text{ Hz}$, H-9b), 2.44 (1H, d, $J=17.8\text{ Hz}$, H-6b), 2.34 (1H, m, H-7), 2.30 (1H, dd, $J=13.0, 3.3\text{ Hz}$, H-9a), 2.05 (1H, d, $J=16.9\text{ Hz}$, H-14b), 1.85 (1H, d, $J=16.9\text{ Hz}$, H-14a), 1.69 (1H, dt, $J=12.4, 3.8\text{ Hz}$, H-12), 1.61~1.54 (2H, overlapped, H-10a, 11b), 1.52 (3H, s, H-16), 1.45 (1H, m, H-10b), 1.24 (1H, m, H-11a); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 165.5 (C-1), 117.8 (C-2), 140.6 (C-3), 118.2 (C-4), 143.5 (C-5), 29.4 (C-6), 34.3 (C-7), 126.1 (C-8), 47.8 (C-9), 25.2 (C-10), 27.9 (C-11), 40.4 (C-12), 53.3 (C-13), 41.7 (C-14), 132.3 (C-15), 23.0 (C-16)。以上数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 4 为石杉碱乙。

化合物 5: 淡黄色粉末。HR-ESI-MS m/z : 301.191 8 $[M+H]^+$ (计算值 301.191 1), 分子式为 $C_{18}H_{24}N_2O_2$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 13.17 (1H, s, *N*-H), 7.82 (1H, d, $J=9.4\text{ Hz}$, H-3), 6.42 (1H, d, $J=9.4\text{ Hz}$, H-2), 5.41 (1H, brd, $J=4.8\text{ Hz}$, H-8), 3.33 (3H, s, *O*-Me), 3.04 (1H, td, $J=10.7, 4.8\text{ Hz}$, H-11), 2.95 (1H, m, H-7), 2.93 (1H, m, H-6a), 2.70 (1H, m, H-9a), 2.60 (3H, s, *N*-Me), 2.59 (1H, overlapped, H-14a), 2.58 (1H, overlapped, H-9b), 2.45 (1H, d, $J=17.2\text{ Hz}$, H-6b), 1.88 (1H, dd, $J=10.6, 3.4\text{ Hz}$, H-12), 1.71 (2H, overlapped, H-10a, 14b), 1.58 (1H, td, $J=12.3, 3.4\text{ Hz}$, H-10b), 1.53 (3H, s, H-16); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 165.5 (C-1), 117.8 (C-2), 141.3 (C-3), 121.0 (C-4), 143.2 (C-5), 30.3 (C-6), 30.8 (C-7), 124.7 (C-8), 49.1 (C-9), 24.1 (C-10), 77.4 (C-11), 38.5 (C-12), 58.1 (C-13), 43.3 (C-14), 132.3 (C-15), 23.2 (C-16), 37.5 (*N*-Me), 56.1 (*O*-Me)。以上数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 5 为 casuarinine B。

化合物 6: 白色粉末。HR-ESI-MS m/z : 273.195 3 $[M+H]^+$ (计算值 273.196 1), 分子式为 $C_{17}H_{24}N_2O$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 13.12 (1H, s, *N*-H), 7.81 (1H, d, $J=9.3\text{ Hz}$, H-3), 6.43 (1H, d, $J=9.3\text{ Hz}$, H-2), 2.95 (1H, dd, $J=18.6, 6.9\text{ Hz}$, H-6a), 2.69 (1H, t, $J=13.4\text{ Hz}$, H-9a), 2.56 (1H, overlapped, H-9b), 2.56 (3H, s, *N*-Me), 2.40 (1H, d, $J=18.6\text{ Hz}$, H-6b), 2.01 (1H, brs, H-7), 1.84 (2H, m, H-8), 1.78 (1H, m, H-10a),

1.67 (1H, d, $J = 12.8$ Hz, H-14a), 1.47~1.10 (6H, overlapped, H-10b, 11a, 11b, 12, 14b, 15), 0.81 (3H, d, $J = 5.2$ Hz, H-16); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 165.1 (C-1), 117.3 (C-2), 141.2 (C-3), 120.0 (C-4), 144.4 (C-5), 29.8 (C-6), 33.4 (C-7), 34.6 (C-8), 50.5 (C-9), 19.4 (C-10), 26.6 (C-11), 46.5 (C-12), 58.1 (C-13), 43.3 (C-14), 26.6 (C-15), 22.3 (C-16), 36.3 (*N*-Me)。化合物结构与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 **6** 为 β -玉柏碱。

化合物 **7**: 白色针晶 (甲醇)。HR-ESI-MS m/z : 271.180 6 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (计算值 271.180 5), 分子式为 $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 13.28 (1H, s, N-H), 7.64 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-3), 6.43 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-2), 5.93 (1H, dt, $J = 17.0, 10.1$ Hz, H-11), 5.33 (1H, brd, $J = 5.4$ Hz, H-8), 5.17 (1H, dd, $J = 17.0, 2.0$ Hz, H-10a), 5.02 (1H, dd, $J = 10.1, 2.0$ Hz, H-10b), 2.95 (1H, dd, $J = 17.7, 5.2$ Hz, H-6a), 2.83 (1H, dd, $J = 10.1, 4.0$ Hz, H-12), 2.76 (1H, d, $J = 17.3$ Hz, H-14b), 2.39 (6H, s, 2*N*-Me), 2.41~2.36 (2H, overlapped, H-6b, 7), 1.59 (1H, d, $J = 17.3$ Hz, H-14a), 1.51 (3H, s, H-16); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 165.3 (C-1), 117.6 (C-2), 140.3 (C-3), 118.8 (C-4), 143.0 (C-5), 29.2 (C-6), 38.8 (C-7), 124.6 (C-8), 116.4 (C-10), 142.5 (C-11), 45.9 (C-12), 59.9 (C-13), 44.5 (C-14), 134.3 (C-15), 23.0 (C-16), 39.6 (2*N*-Me)。以上数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 **7** 为蛇足石杉碱。

化合物 **8**: 淡黄色粉末。HR-ESI-MS m/z : 257.165 1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (计算值 257.164 8), 分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.78 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3), 6.38 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-2), 5.81 (1H, ddd, $J = 17.0, 10.3, 9.4$ Hz, H-11), 5.47 (1H, brd, $J = 5.3$ Hz, H-8), 5.34 (1H, dd, $J = 17.0, 2.0$ Hz, H-10a), 5.20 (1H, dd, $J = 10.3, 2.0$ Hz, H-10b), 2.83 (1H, dd, $J = 17.8, 5.4$ Hz, H-6a), 2.76 (1H, dd, $J = 9.4, 4.2$ Hz, H-12), 2.65 (1H, d, $J = 17.1$ Hz, H-14a), 2.55 (1H, m, H-7), 2.36 (3H, s, *N*-Me), 2.31 (1H, d, $J = 17.8$ Hz, H-6b), 1.69 (1H, d, $J = 17.1$ Hz, H-14b), 1.57 (3H, s, H-16); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 165.5 (C-1), 118.6 (C-2), 142.2 (C-3), 119.4 (C-4), 144.4 (C-5), 30.2 (C-6), 38.2 (C-7), 126.1 (C-8), 118.6 (C-10), 138.2 (C-11), 45.5 (C-12), 57.1 (C-13), 42.6 (C-14), 134.5 (C-15), 22.9 (C-16), 28.5 (*N*-Me)。以上数据与文献报道

一致^[18], 故鉴定化合物 **8** 为 *N*-demethylhyperzine。

化合物 **9**: 白色粉末。HR-ESI-MS m/z : 243.150 1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (计算值 243.149 2), 分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.79 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-3), 6.36 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-2), 5.69 (1H, dt, $J = 16.9, 9.9$ Hz, H-11), 5.48 (1H, br d, $J = 5.5$ Hz, H-8), 5.27 (1H, dd, $J = 16.9, 2.2$ Hz, H-10a), 5.17 (1H, dd, $J = 10.2, 2.2$ Hz, H-10b), 2.83 (1H, dd, $J = 17.9, 5.3$ Hz, H-6a), 2.52 (1H, m, H-7), 2.45 (1H, dd, $J = 9.4, 4.0$ Hz, H-12), 2.30 (1H, d, $J = 17.9$ Hz, H-6b), 2.25 (1H, d, $J = 17.1$ Hz, H-14a), 1.96 (1H, d, $J = 17.1$ Hz, H-14b), 1.53 (3H, s, Me-16); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 165.6 (C-1), 120.0 (C-2), 142.5 (C-3), 122.2 (C-4), 143.5 (C-5), 30.2 (C-6), 37.3 (C-7), 126.6 (C-8), 118.4 (C-10), 137.8 (C-11), 50.8 (C-12), 52.3 (C-13), 48.2 (C-14), 134.3 (C-15), 22.9 (C-16)。以上数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 **9** 为石杉碱丙。

化合物 **10**: 白色粉末。HR-ESI-MS m/z : 273.195 2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (计算值 273.196 1), 分子式为 $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 13.18 (1H, s, N-H), 7.64 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-3), 6.45 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-2), 5.94 (1H, dt, $J = 17.0, 10.0$ Hz, H-11), 5.16 (1H, dd, $J = 17.0, 2.0$ Hz, H-10a), 4.95 (1H, dd, $J = 10.0, 2.0$ Hz, H-10b), 3.05 (1H, dd, $J = 18.5, 6.6$ Hz, H-6a), 2.73 (1H, dd, $J = 10.0, 3.2$ Hz, H-12), 2.41 (6H, s, 2*N*-Me), 2.26 (1H, d, $J = 18.5$ Hz, H-6b), 2.05 (1H, m, H-7), 1.65 (1H, m, H-8b), 1.57 (1H, m, H-14a), 1.33~1.29 (1H, m, H-14b), 1.28~1.16 (2H, overlapped, H-8a, 15), 0.81 (3H, d, $J = 5.9$ Hz, Me-16); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 164.9 (C-1), 117.4 (C-2), 142.0 (C-3), 118.9 (C-4), 144.7 (C-5), 29.8 (C-6), 37.9 (C-7), 42.5 (C-8), 115.2 (C-10), 141.6 (C-11), 47.8 (C-12), 61.1 (C-13), 47.5 (C-14), 27.3 (C-15), 22.2 (C-16), 39.7 (2*N*-Me)。以上数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 **10** 为 8,15-dihydrohyperzine。

化合物 **11**: 淡黄色粉末。HR-ESI-MS m/z : 271.181 1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (计算值 271.180 5), 提示其分子式为 $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.68 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-3), 6.36 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-2), 5.53 (1H, m, H-8), 2.90 (1H, dd, $J = 9.6, 8.2$ Hz, H-9a), 2.80 (1H, dd, $J = 17.6, 5.1$ Hz, H-6a), 2.71 (1H, m, H-7), 2.62 (3H, s, *N*-Me), 2.47 (1H, d, $J = 16.4$ Hz, H-14a), 2.36 (1H, d, $J = 17.9$ Hz, H-6b), 2.33 (1H, dd,

$J=9.4, 7.5$ Hz, H-9b), 2.13 (1H, d, $J=16.4$ Hz, H-14b), 1.89 (1H, m, H-11), 1.64 (1H, overlapped, H-12), 1.64 (3H, s, Me-16), 1.07 (1H, d, $J=6.5$ Hz, H-10); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 165.6 (C-1), 117.8 (C-2), 144.0 (C-3), 121.9 (C-4), 142.4 (C-5), 29.3 (C-6), 31.5 (C-7), 126.5 (C-8), 63.5 (C-9), 17.7 (C-10), 33.0 (C-11), 52.6 (C-12), 64.0 (C-13), 42.8 (C-14), 135.6 (C-15), 23.4 (C-16), 38.5 (N-Me)。以上数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 **11** 为 casuarinine I。

4 讨论

本研究综合运用多种色谱和波谱技术, 对藤石松总生物碱部位进行了化学成分研究, 共分离鉴定了 11 个化合物, 均为石松生物碱类化合物。其中, 化合物 **1** 为新化合物, 命名为 6-羟基- β -玉柏碱。现代药理研究表明, 石杉碱甲具有高效低毒、可逆并选择性抑制乙酰胆碱酯酶的活性^[3], 这类生物碱已引起了国内外科学家注意。据文献报道, 石松生物碱类成分表现出良好的抗胆碱酯酶活性^[19], casuarine B (**3**)、*N*-demethylhuperzine (**8**) 和 casuarinine I (**11**) 对乙酰胆碱酯酶表现出一定的抑制作用, IC_{50} 值分别为 46.40^[15]、15.0、12.1 $\mu\text{mol/L}$ ^[12]; 石杉碱丙(**9**)和石杉碱甲两者在抗胆碱酯酶作用方面可能有一定的交互协同作用^[20]。以上研究结果进一步丰富了藤石松的化学成分内涵, 对阐明其药效物质提供了数据支持, 也为其后续的开发应用提供了科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第一卷-总论) [M]. 北京: 科学出版社, 2004.
- [2] 江苏新医学院. 中药大词典(上册) [M]. 缩印本. 上海: 上海科学技术出版社, 1986: 2406.
- [3] 谢振, 郑东昆, 王强, 等. 石松生物碱化学成分和生物活性研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(15): 4862-4874.
- [4] Haley H M S, Payer S E, Papidocha S M, et al. Bioinspired diversification approach toward the total synthesis of lycodine-type alkaloids [J]. *J Am Chem Soc*, 2021, 143(12): 4732-4740.
- [5] Zhong L R, Huang B B, Yang X L, et al. Concise unified access to (-)-8-deoxy-13-dehydroserratinine, (+)-fawcettimine, (+)-fawcettidine, and (-)-8-deoxyserratinine using a direct intramolecular reductive coupling [J]. *Org Lett*, 2021, 23(9): 3578-3583.
- [6] Wang X, Wang F Q, Wu J, et al. Japonisine A, a fawcettimine-type *Lycopodium* alkaloid with an unusual skeleton from *Lycopodium japonicum* Thunb [J]. *Fitoterapia*, 2022, 156: 105069.
- [7] Zhu X L, Xia D, Zhou Z B, et al. Lycosquarrines A-R, *Lycopodium* alkaloids from *Phlegmariurus squarrosus* [J]. *J Nat Prod*, 2020, 83(10): 2831-2843.
- [8] Wu X D, Li X N, Peng L Y, et al. Huperzerrines A and B, two macrocyclic *Lycopodium* alkaloids with an unusual skeleton from *Huperzia serrata* [J]. *J Org Chem*, 2020, 85(10): 6803-6807.
- [9] Zhang H B, Hu J, Li J X, et al. Cytotoxic lycodine alkaloids from the aerial parts of *Lycopodiastrum casuarinoides* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2020, 22(3): 217-224.
- [10] Zhang Z J, Zhu Q F, Wu X D, et al. Phlegmadines B and C, two *Lycopodium* alkaloids with 6/5/5/5/7 pentacyclic skeleton from *Phlegmariurus phlegmaria* [J]. *Tetrahedron Lett*, 2020, 61(2): 151381.
- [11] 蒋梅香, 姚晓长, 刘阳, 等. 藤石松化学成分的研究 [J]. 中成药, 2022, 44(3): 821-824.
- [12] Tang Y, Fu Y, Xiong J, et al. Casuarinines A-J, lycodine-type alkaloids from *Lycopodiastrum casuarinoides* [J]. *J Nat Prod*, 2013, 76(8): 1475-1484.
- [13] Fu J G, Xu G Q, Ding R, et al. Asymmetric total synthesis of *Lycopodium* alkaloids α -obscurine, *N*-desmethyl- α -obscurine, β -obscurine and *N*-desmethyl- β -obscurine¹ [J]. *Org Chem Front*, 2016, 3(1): 62-65.
- [14] Ayer W A, Kasitu G C. Some new *Lycopodium* alkaloids [J]. *Can J Chem*, 1989, 67(6): 1077-1086.
- [15] Liu F, Wu X D, He J, et al. Casuarines A and B, *Lycopodium* alkaloids from *Lycopodium casuarinoides* [J]. *Tetrahedron Lett*, 2013, 54(34): 4555-4557.
- [16] Liu J S, Zhu Y L, Yu C M, et al. The structures of huperzine A and B, two new alkaloids exhibiting marked anticholinesterase activity [J]. *Can J Chem*, 1986, 64(4): 837-839.
- [17] Yin S, Fan C Q, Wang X N, et al. Lycodine-type alkaloids from *Lycopodium casuarinoides* [J]. *Helv Chim Acta*, 2006, 89(1): 138-143.
- [18] Shen Y C, Chen C H. Alkaloids from *Lycopodium casuarinoides* [J]. *J Nat Prod*, 1994, 57(6): 824-826.
- [19] 牛艳芬, 崔圆圆, 杨光忠, 等. 石松生物碱成分的研究 [J]. 中草药, 2015, 46(9): 1269-1276.
- [20] 谢家骏, 谢德隆. 石杉碱甲与石杉碱乙组合对乙酰胆碱酯酶抑制活性的增效减毒作用 [J]. 中国新药与临床杂志, 2014, 33(2): 142-145.

[责任编辑 王文倩]