

蛇足石杉中一个新的 Phlegmariurine 型生物碱

袁珊琴, 赵毅民*

(军事医学科学院 毒物药物研究所, 北京, 100850)

摘要: 目的 研究石杉科植物蛇足石杉 *Huperzia serrata* (Thunb.) Trev. 的生物碱成分。方法 应用各种色谱技术进行分离纯化, 经衍生物制备和光谱数据分析鉴定其结构。结果 从蛇足石杉中分离得到 1 个新生物碱。结论 该化合物为一新的 phlegmariurine 型生物碱, 命名为 8 β -羟基马尾杉碱乙(8 β -hydroxy phlegmariurine B)。

关键词: 蛇足石杉; 8 β -hydroxy phlegmariurine B; phlegmariurine 型生物碱

中图分类号: R284.1; R284.2 文献标识码: A 文章编号: 0513 - 4870(2003)08 - 0596 - 03

A novel phlegmariurine type alkaloid from *Huperzia serrata* (Thunb.) Trev

YUAN Shan-qin, ZHAO Yi-min*

(Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

Abstract: **Aim** To study the alkaloid constituents of *Huperzia serrata* (Thunb.) Trev.. **Methods** Chromatographic methods were used for the isolation and purification. Structure was elucidated on the basis of chemical analysis and spectroscopic data. **Results** An alkaloid constituent was isolated from *H. serrata* (Thunb.) Trev.. **Conclusion** The compound was found to be a novel phlegmariurine type alkaloid, named 8 β -hydroxy phlegmariurine B.

Key words: *Huperzia serrata* (Thunb.) Trev.; 8 β -hydroxy phlegmariurine B; phlegmariurine type alkaloid

蛇足石杉 *Huperzia serrata* (Thunb.) Trev. 为石杉科石杉属植物, 又名蛇足草, 千层塔。主产于福建、江西和广东等地。20 世纪 80 年代初作者曾从该植物和同科植物华南马尾杉中分得 1 个很强的胆碱酯酶抑制剂福定碱即石杉碱甲^[1], 该药已上市, 用于治疗老年痴呆症。为充分利用石杉碱资源, 作者相继又从蛇足石杉中分得十几个生物碱成分, 其中 3 个为新成分^[2-4], 另 3 个有较好的胆碱酯酶抑制作用^[5-7]。在继续寻找新成分和生物活性成分中, 作者又分得 1 个生物碱单体(I), 经光谱数据鉴定, I 为一个新的 phlegmariurine 型生物碱, 命名为 8 β -羟基马尾杉碱乙(8 β -hydroxy phlegmariurine B)。本文报告 I

的结构鉴定。

化合物 I 无色针状结晶(EtOH), HRMS 测得分子式 $C_{16}H_{23}NO_3$ (计算值 277.167 8), 实测值 277.167 4, $[\alpha]_D^{25} - 205^\circ$ (c 0.20, EtOH)。其红外光谱证明分子中有羟基(3 395 cm^{-1}), α, β -不饱和酮(1 689 cm^{-1} , 1 603 cm^{-1}) 和酰胺(1 629 cm^{-1})。紫外光谱在 258 nm ($\log \epsilon$ 3.89) 有吸收。¹H NMR 显示 23 个氢, 其中 δ 1.18 (3H, d, $J = 7$) 为叔甲基氢。 δ 4.0 以下无吸收, 提示双键为四取代。¹³C NMR 测得 16 个碳, 其中 δ 206.29 为羰基碳, δ 171.54 为酰胺碳, δ 173.61 和 δ 142.41 为与羰基共轭的烯烃碳, 其余为 sp^3 碳, 结合 HRMS 给出其不饱和度为 6, 推定该分子为三环结构。HRMS 测得其分子离子和主要碎片离子峰 (m/z): 277 (M^+ , $C_{16}H_{23}NO_3$, 96), 249 (6), 179 (54), 178 (100), 150 (32), 123 (8), 122 (35), 根据主要碎片离子 178, 150, 123 及 122,

收稿日期: 2002-11-05.

* 通讯作者 Tel: 86 - 10 - 66931648, Fax: 86 - 10 - 68211656, E-mail: Zhaoyan@nic.bmi.ac.cn

并综合以上光谱数据中显示的三环结构、 α, β 不饱和酮、酰胺以及四取代双键等特征,推断其结构与 phlegmariurine B(II) 类似^[8,9],将 I 的¹³C NMR 中 SP² 碳与 II 对照,两者完全一致,进一步支持了 I 基本骨架的推断。根据 I 的分子量为 272,分子中含 3 个氧,而 II 的分子量为 261 并含 2 个氧,结合 IR 中显示羟基(3 395, s)信号推定, I 比 II 多 1 个羟基。据文献^[9]报道,石松中与 I 基本骨架相似的 serratinine(III) 型生物碱的羟基一般取代在 8、13 及 15 位,从 I 的¹H NMR 中显示连氧氢(δ 3.90)信号推测,羟基的取代位置可能在 8 位。

gCOSY(H-H COSY) 谱、HMBC 谱和 NOE 差谱的测定证实了 I 羟基的取代位置和各化学位移的归属,并确定了该羟基的立体构型。在 gCOSY 谱中显示,位于 δ 3.90 的连氧氢信号与 7-H 质子(δ 2.99)相关,而此质子又分别与 δ 1.95 及 δ 2.40(6-H) 信号相关,表明 δ 3.90 为 8-H 质子,即羟基取代位置为 8 位;由 HMBC 谱可见,8-H 信号(δ 3.90)与 C-6(δ 37.90), C-7(δ 48.15), C-14(δ 31.71), C-15(δ 30.92) 及 C-16(δ 24.01) 信号相关。gCOSY 谱及 HMBC 谱中还显示出其他质子的相关信号(表 1)。

化合物 I 中 8-OH 的立体构型可由与其同碳的 8-H 与已知构型的 7-H α 及 16-H α 的 NOE 效应来确定^[10,11]。如果 8-H 同 7-H α 及 16-CH₃ 有 NOE 效应,则为 8-H α , 否则为 8-H β 。NOE 差谱中显示,当照射位于 δ 3.90 的 8-H 时,7-H α (δ 2.99) 及 16-CH₃(δ 1.18) 呈现明显的增益,由此表明 8-H 为 α 构型,即 8-OH 为 β 构型,NOE 差谱中还显示出 8-H 与位于 δ 1.95 的 6-H 有明显的增益,表明该氢为 α 构型。至此可确定 I 为又一个新的 phlegmariurine 型生物碱,其化学结构如图 1 所示。

用¹H-¹³C COSY 谱进行¹H,¹³C 信号归属,与推定的结构相符。

实验部分

熔点用 MP-53 型微量熔点测定器测定,温度未校正。比旋光度用 PE-243 B 旋光计测定,紫外光谱用岛津 HP-8453 型紫外可见光谱仪测定,无水乙醇为溶剂。红外光谱用 Nicolet SDX 型仪测定, KBr 压片。核磁共振用 JNM-GX400 型及 INOVA-600 型仪测定, CDCl₃ 为溶剂, TMS 为内标。质谱用 MAT-711 型仪测定。柱色谱和薄层色谱硅胶均为青岛海洋化工厂生产。

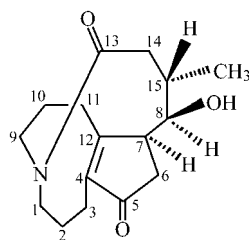


Figure 1 Structure of compound I

Table 1 NMR data of 8 β -OH phlegmariurine B

No	¹³ C NMR	¹ H NMR	HMBC
1	* 50.97(t)	3.94(1H, ddd, J = 3, 13 Hz) 3.14(1H, dd, J = 5, 15 Hz)	25.71 (2), 30.92 (3), 173.61(4)
2	25.71(t)	2.73(1H, m), 1.87(1H, m)	50.97 (1), 30.92 (3), 142.41(12), 171.54(13)
3	30.92(t)	3.40(1H, ddd, J = 4, 14 Hz) 2.70(1H, m)	50.97 (1), 25.71 (2), 48.15(7), 142.41(12)
4	173.61(s)		
5	206.29(s)		
6	37.90(t)	2.40(1H, d, J = 3 Hz, 6-H β) 1.95(1H, dd, J = 2, 19 Hz, 6-H α)	173.61 (4), 206.29 (5), 48.15(7), 79.60(8)
7	48.15(d)	2.99(1H, m)	79.60(8), 142.41 (12), 30.92(15)
8	79.60(d)	3.90(1H, d, J = 4 Hz)	37.90 (6), 48.15 (7), 31.71 (14), 30.92 (15) 24.01(16)
9	* 50.97(t)	4.08(1H, dd, J = 4, 12 Hz) 2.83(1H, ddd, J = 4, 13 Hz)	22.56(11), 19.16(10), 171.54(13)
10	19.16(t)	2.42(1H, m), 1.39(1H, m)	50.97 (9), 22.56 (11) 142.41(12), 171.54(13)
11	22.56(t)	2.57(1H, m), 2.45(1H, m)	50.97 (9), 19.16 (10), 142.41(12), 171.54(13)
12	142.41(s)		
13	171.54(s)		
14	31.71(t)	3.16(1H, d, J = 15 Hz) 1.48(1H, d, J = 15 Hz)	79.60(8), 171.54(13), 30.92(15), 24.01(16)
15	30.92(d)	2.37(1H, m)	31.71(14), 20.01(16)
16	24.01(d)	1.18(3H, d, J = 7 Hz)	31.71 (14), 30.92 (15) 48.15(7), 79.60(8)
OH		1.84(1H, br s, 8-OH)	

* overlap

蛇足石杉(*Huperzia serrata* (Thunb.) Trev) 全草购于福建、广东等地,经本所马其云高级实验师鉴定,标本存放于本所标本室。

1 提取分离

生药粗粉用 2% HCl 渗滤,滤出液用阳离子交换树脂交换,所得总碱以硅胶(粒度 10 ~ 40 μ) 为固定相, EtOH-冰醋酸(100:7) 为流动相低压洗脱,按色带接收,分成 5 部分。取第 1 部分以环己烷-异丙醇-水(20:80:2) 为洗脱剂,用上述硅胶进行色谱分离,按色带定性合并成 4 组份,从第 2 组份中得到一单体,

以无水乙醇重结晶,得白色针晶(I)。

2 结构鉴定

化合物 I 无色针状结晶(EtOH), mp 281 ~ 283 °C, $[\alpha]_D^{25} - 205$ (c, 0.20, EtOH)。UV λ_{\max} nm 205.0 (Log ϵ 3.80), 258.0 (Log ϵ 3.89)。IR(KBr) cm^{-1} : 3 395 (s), 2 971 (s), 2 925 (s), 1 689 (s), 1 629 (s), 1 603 (s), 1 486 (m), 1 424 (m), 1 339 (m), 1 239 (m), 1 076 (m), 872 (m)。HREI-MS m/z (%): 277.167 4 (M^+ , $C_{16}H_{23}NO_3$, 96), (计算值, 277.167 8), 249 (6), 179 (54), 178(100), 161(23), 150(31), 148(10), 123(8), 122(35), 105(9)。

$^1\text{H NMR}$, $^{13}\text{C NMR}$ 及 HMBIC 谱数据及归属见表 1。

致谢: 旋光、核磁和质谱由本院仪器中心代测; 红外和紫外光谱由本所任凤芝、王亚萍代测。

References:

- [1] Xu ZL, Chu BM, Luan XH, *et al.* Structural identification of fordine [J]. *Med J PLA* (解放军医学杂志), 1985, **10** (4): 263 - 264.
- [2] Yuan SQ, Wei TT. Studies on the alkaloids of *Huperzia serrata* (Thunb.) Trev [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1988, **23**(7): 516 - 520.
- [3] Yuan SQ, Zhao YM, Feng R. Studies on the alkaloids of *Huperzia Serrata* (Thunb.) Trev. (V) [J]. *Bull Acad Mil Med Sci* (军事医学科学院院刊), 2001, **25**(1): 57 - 58.
- [4] Yuan SQ, Zhao YM, Feng R. Structural identification of neohupezinine [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2002, **37**(12): 946 - 949.
- [5] Yuan SQ, Zhao YM, Yang ZS. Study on the trace alkaloids of *Huperzia serrata* (Thunb.) Trev [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, **Z30**(增刊): 60 - 61.
- [6] Yuan SQ, Zhao YM. Studies on the alkaloids of *Huperzia serrata* (Thunb.) Trev. (IV) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, **31**(7): 498 - 499.
- [7] Yang SQ, Zhao YM. Studies on the alkaloids of *Huperzia serrata* (Thunb) Trev. (VI) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, **34**(7).
- [8] Tong SH, Xian GQ. Studies on the alkaloids of *Phalegmanurus fordii* (Baker) Ching [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1984, **26**(4): 411 - 415.
- [9] Yuan SQ, Feng R, Gur GM. Studies on the alkaloids of *Huperzia serrata* (Thunb.) Trev. (II) Chin [J]. *Tradit Herb Drugs* (中草药), 1994, **25**(9): 453 - 454.
- [10] Douglas B, Raffauf RF, Weisbach JA, *et al.* The alkaloids of lycopodium alopecuroides [J]. *Can J Chem*, 1968, **46**: 15 - 20.
- [11] Inubushi Y, Ishii H, Yasui B, *et al.* The structures of two lycopodium alkaloids, lycothunine and lycophlegmarine, and the configuration of the C_5-C_4 bond of fawcettimine and fawcettidine [J]. *Chem pharm Bull*, 1981, **29**(11): 3418 - 3421.