



石松生物碱化学成分的研究

刘慧杰, 汪冶*

(贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵州 贵阳 550002)

[摘要] 目的:研究石松 *Lycopodium japonicum* 生物碱化学成分。方法:采用硅胶柱色谱, RP-C₁₈ 反相柱色谱, Sephadex LH-20 柱色谱, Waters 半制备液相色谱等方法分离纯化, 根据理化性质和波谱数据鉴定化合物的结构。结果:从石松中分离并鉴定了9个生物碱化学成分, 分别为 lycodoline(1), lucidioline(2), α -obscurine(3), lycopodine(4), lycoposerramine-L(5), lycoposerramine-M(6), 11 α -O-acetyl-lycopodine(7), des-N-methyl- α -obscurine(8), clavolonine(9), 其中化合物4~9为首次报道从石松中分离得到。

[关键词] 石松属; 石松; 生物碱; 化学成分

石松 *Lycopodium japonicum* Thunb 为石松科石松属植物, 亦名伸筋草, 又名过山龙(《滇南本草》)、宽筋藤(《生草药性备要》)、火炭葛(《本草求原》)等, 多年生草本。性温, 味苦、辛。具有祛风除湿、舒筋活络、止咳、解毒、消肿等作用。主治风寒湿痹、关节酸痛、四肢麻木、跌打损伤等症^[1]。石杉碱甲的发现以及大量临床研究发现其对阿尔茨海默病、血管性痴呆等症具有一定的治疗作用^[2], 引起了国内外植物学家对石松生物碱化学成分和胆碱酯酶抑制活性等方面的浓厚兴趣, 推动了石松科和石杉科以及近缘植物化学成分和药理活性的研究。目前, 国内外对于石松 *L. japonicum* 的生物碱化学成分报道相对较少, 作者已经对石松乙醇提取物的生物碱氯仿萃取部分进行了分离和纯化, 并鉴定了9个生物碱化学成分, 其中化合物4~9为首次报道从石松中分离得到。

1 仪器与试剂

美国 HP 公司 GC-MS5973 型气相色谱-质谱联用仪; 美国瓦里安公司 INOVA-400 MHz 超导核磁共振波谱仪, 四甲基硅烷(TMS)为内标; Bruker Tensor 27 FT-IR 红外光谱仪, 以溴化钾(KBr)压片。

薄层色谱硅胶(GF254)为青岛谱科材料有限公

司生产; 柱色谱用硅胶 H(40~80目, 200~300目)为青岛海洋化工有限公司生产; 反相色谱硅胶(RP-C₁₈)为德国 Merck 公司生产; 葡聚糖凝胶(Sephadex LH-20)为 Amersham Pharmacia Biotech 公司生产。

石松干燥全草购买于贵州省贵阳市万东桥药材市场, 经贵阳中医学院陈德媛教授鉴定为石松科石松属植物石松 *L. japonicum*, 样品保存在贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室。

2 提取分离

石松干燥全草(40 kg)粉碎后, 用95%乙醇回流提取3次, 提取时间分别为4, 3, 3 h, 合并3次滤液, 减压回收乙醇, 得粗浸膏。浸膏加适量水混悬, 依次用石油醚、氯仿萃取, 得氯仿层浸膏100 g。氯仿层浸膏加适量甲醇、氯仿等有机溶剂进行溶解并硅胶经硅胶柱色谱, 石油醚-二乙胺(20:0~0:1)梯度洗脱, TLC检测后合并得4部分。Fr. 1经过反复 Sephadex LH-20(氯仿-甲醇1:1)凝胶柱色谱, 并使用加压和减压方法进行正相硅胶柱色谱(硅胶200~300目和硅胶H为固定相, 甲醇-氯仿、甲醇-丙酮为洗脱剂)以及 RP-C₁₈柱色谱和半制备高效液相色谱法(pre-HPLC, 甲醇-水70:30, ODS柱)进行分离纯化, 分别得到化合物1(100 mg), 3(1.4 g)和4(596 mg), 碘化铯钾显示均为橙红色。Fr. 2经 Sephadex LH-20(氯仿-甲醇1:1)凝胶柱色谱及正相硅胶柱色谱, 得到化合物2(40 mg), 碘化铯钾显示为橙红色。Fr. 3经 Sephadex LH-20(氯仿-甲醇1:1)凝胶柱色谱、RP-C₁₈柱色谱(甲醇-水)和常压正相硅胶柱色谱(硅胶200~300目为固定相, 甲醇-氯

[稿件编号] 20110617022

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30860344)

[通信作者] *汪冶, 副研究员, Tel: (0851)3809439, E-mail: gzcnp_wy@hotmail.com

[作者简介] 刘慧杰, 硕士研究生, 主要从事天然产物和有机合成药物化学研究, E-mail: Liuhuijie0217@gmail.com



仿、甲醇-丙酮为洗脱剂)分离纯化,得到化合物**5**(39 mg),**6**(300 mg)和**7**(30 mg),碘化铯钾显示均为橙红色。Fr. 4经Sephadex LH-20(氯仿-甲醇1:1)凝胶柱色谱进行分段后,合并相同组分后采用正相硅胶进行不同洗脱剂进行分离纯化,得到化合物白色粉末**8**(20 mg),**9**(195 mg),碘化铯钾显示为橙红色。

3 结构鉴定

化合物1 无色粉末。C₁₆H₂₅NO₂, ESI-MS m/z 264 [M + H]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ: 3.27 (2H, m, H-1, 9), 3.03 (1H, m, OH), 0.88 (3H, d, J = 5.6 Hz, H-16); ¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ: 212.5 (C-5), 69.5 (C-12), 61.4 (C-13), 46.1 (C-9), 46.0 (C-1), 44.2 (C-6), 43.1 (C-4), 40.6 (C-7), 35.8 (C-14), 35.6 (C-8), 30.1 (C-11), 24.2 (C-15), 22.5 (C-16), 20.6 (C-10), 19.5 (C-3), 17.6 (C-2)。以上数据与文献[3]中 lycodoline 数据对比基本一致。

化合物2 无色粉末。C₁₆H₂₅NO₂, ESI-MS m/z 264 [M + H]⁺。¹H-NMR (CDCl₃ + methanol-*d*₄, 400 MHz) δ: 5.50 (1H, t, H-11), 2.22 (2H, m, H-7), 1.90 (2H, m, H-4), 3.70 (1H, s, H-6), 0.87 (3H, d, J = 6.0 Hz, H-16); ¹³C-NMR (CDCl₃ + methanol-*d*₄, 100 MHz) δ: 142.9 (C-12), 116.4 (C-11), 77.4 (C-6), 72.7 (C-5), 56.4 (C-13), 47.8 (C-1), 47.2 (C-7), 44.4 (C-9), 41.9 (C-4), 39.6 (C-8), 35.2 (C-14), 25.6 (C-10), 23.9 (C-2), 22.8 (C-16), 22.7 (C-3), 21.9 (C-15)。以上数据与文献[4]中 lucidioline 数据对比基本一致。

化合物3 无色粉末。ESI-MS m/z 275 [M + H]⁺。¹H-NMR (C₅D₅N, 400 MHz) δ: 8.05 (1H, s, NH), 2.76 (2H, m, H-9), 2.49 (7H, m, H-17, 2, 3), 0.87 (3H, d, J = 2.0 Hz, H-16); ¹³C-NMR (C₅D₅N, 100 MHz) δ: 171.9 (C-1), 130.5 (C-5), 114.0 (C-4), 58.8 (C-13), 51.3 (C-9), 43.5 (C-14), 42.7 (C-8), 35.9 (N-CH₃), 35.2 (C-12), 33.5 (C-7), 31.3 (C-6), 30.0 (C-2), 27.1 (C-15), 26.4 (C-11), 22.3 (C-16), 19.5 (C-10), 19.2 (C-3)。以上数据与文献[5]中 α-obscurine 数据对比基本一致。

化合物4 无色粉末。C₁₆H₂₅NO, ESI-MS m/z 248 [M + H]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ: 4.41 (1H, s, H-1), 3.41 (1H, m, H-9), 3.19 (1H, m, H-9), 2.90 (1H, m, H-4), 2.65 ~ 0.90 (18H, m), 0.87

(3H, d, J = 6.0 Hz, H-16); ¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ: 212.9 (C-5), 59.2 (C-13), 46.6 (C-9), 46.0 (C-1), 44.3 (C-12), 42.5 (C-6), 42.3 (C-4), 42.2 (C-14), 41.8 (C-8), 36.1 (C-7), 25.5 (C-10), 24.7 (C-15), 24.5 (C-11), 22.3 (C-16), 18.9 (C-3), 18.2 (C-2)。以上数据与文献[6]中 lycopodine 数据对比基本一致。

化合物5 无色粉末。ESI-MS m/z 264 [M + H]⁺。¹H-NMR (CDCl₃ + methanol-*d*₄, 400 MHz) δ: 3.86 (1H, s, H-6), 3.36 (1H, d, J = 11.9 Hz, H-4), 3.30 (1H, m, H-1), 2.51 (1H, m, H-1), 2.18 (1H, d, J = 4.0 Hz, H-7), 1.90 (1H, m, H-2), 1.60 (3H, m, H-10, 11, 12), 1.40 (1H, m, H-2), 1.30 (1H, m, H-15), 0.90 (1H, m, H-14), 0.86 (3H, d, J = 5.2 Hz, H-16); ¹³C-NMR (CDCl₃ + methanol-*d*₄, 100 MHz) δ: 213.6 (C-5), 78.1 (C-6), 61.2 (C-13), 47.9 (C-9), 46.7 (C-1), 45.1 (C-12), 43.0 (C-7), 42.7 (C-14), 39.9 (C-4, 8), 26.7 (C-10), 26.6 (C-11), 26.5 (C-15), 23.4 (C-16), 19.0 (C-3), 18.8 (C-2)。以上数据与文献[7]中 lycoposerramine-L 数据对比,各数据信号归属基本一致。

化合物6 无色粉末。ESI-MS m/z 264 [M + H]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 4.21 (1H, d, J = 2.8 Hz, H-11), 3.57 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-9), 3.53 (1H, m, H-4), 3.39 (1H, d, J = 3.7 Hz, H-1), 3.36 (1H, m, H-6), 2.65 (1H, dd, J = 4.0, 12.8 Hz, H-14), 2.58 (1H, dd, J = 4.4, 14.2 Hz, H-1), 2.48 (1H, m, H-9), 2.33 (1H, m, H-7), 2.18 (1H, s, H-6), 2.07 (2H, m, H-3, 10), 1.94 (1H, m, H-2), 1.8 (1H, m, H-10), 1.73 (1H, m, H-8), 1.58 (3H, m, H-3, 12, 15), 1.47 (1H, m, H-2), 1.30 (1H, m, H-8), 0.86 (3H, m, H-16), 0.80 (1H, s, H-14); ¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ: 216.1 (C-5), 69.5 (C-11), 59.1 (C-13), 47.4 (C-12), 47.0 (C-1), 45.7 (C-4), 44.8 (C-6), 44.0 (C-8), 43.4 (C-14), 41.4 (C-9), 35.9 (C-7), 35.2 (C-10), 25.4 (C-15), 22.7 (C-16), 19.7 (C-3), 19.2 (C-2)。以上数据与文献[7]中 lycoposerramine-M 数据对比一致。

化合物7 无色粉末。ESI-MS m/z 305 [M + H]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ: 5.31 (1H, d, J = 2.8 Hz, H-11), 2.10 (3H, s, -OCH₃), 0.92 (3H, d, J = 10.8 Hz, H-15); ¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz)



δ : 209.3 (C-5), 169.5 (-COO-), 70.0 (C-11), 62.3 (C-13), 46.7 (C-4), 46.0 (C-1), 44.6 (C-12), 43.6 (C-6), 42.8 (C-9), 42.3 (C-14), 40.0 (C-8), 34.5 (C-7), 28.3 (C-10), 25.4 (C-15), 22.0 (C-16), 21.7 (-OCOCH₃), 19.7 (C-2), 19.2 (C-3)。以上数据与文献[6]中 11 α -O-Acetyllycopodine 数据对比基本一致。

化合物 8 无色粉末。ESI-MS m/z 261 [M + H]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 8.09 (1H, s, NH), 2.83 (1H, m, H-9a), 1.48 (3H, m, H-11, 10, 14), 1.20 (1H, m, H-11), 1.17 (1H, m, H-8), 1.11 (1H, m, H-14), 0.86 (3H, d, J = 6.4 Hz, H-16); ¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ : 171.8 (C-1), 131.2 (C-5), 112.2 (C-4), 55.4 (C-13), 46.2 (C-9), 44.5 (C-12), 43.4 (C-8), 42.6 (C-14), 33.4 (C-7), 31.2 (C-6), 29.9 (C-3), 27.3 (C-15), 26.5 (C-11), 25.9 (C-10), 21.9 (C-16), 18.7 (C-2)。以上数据与文献[3]中 Des-N-methyl- α -obscurine 数据对比基本一致。

化合物 9 白色粉末。C₁₆H₂₅NO₂, ESI-MS m/z 264 [M + H]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 3.41 (1H, dd, J = 4.4, 10 Hz, H-8), 3.17 (1H, td, J = 12.8, 3.2 Hz, H-1 β), 2.90 (1H, d, J = 12 Hz, H-1 α), 1.38 (1H, m, H-15), 1.30 (1H, m, H-14), 0.99 (3H, d, J = 6.4 Hz, H-16), 2.90 (1H, d, J = 12

Hz, H-1 α), 0.99 (3H, d, J = 6.4 Hz, H-16); ¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ : 213.2 (C-5), 78.8 (C-8), 59.6 (C-13), 47.1 (C-9), 47.0 (C-1), 43.8 (C-12), 42.9 (C-4), 42.7 (C-7), 41.7 (C-14), 36.4 (C-6), 32.8 (C-15), 26.0 (C-11), 24.9 (C-10), 19.2 (C-2, 16), 18.5 (C-3)。以上数据与文献[5]中 clavolonine 数据对比基本一致。

[参考文献]

- [1] 罗迎春, 赵能武, 赵俊华, 等. 黔产石杉科·石松科药用蕨类植物的种类和分布研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(29): 12729.
- [2] 郭微, 麦俊华, 孙文强, 等. 中药有效成分石杉碱甲的多靶点作用研究进展[J]. 中国医药生物技术, 2008, 3(5): 384.
- [3] 谭昌恒. 蛇足石杉中生物碱化学成分的研究[D]. 上海: 中国科学院上海药物研究所, 2001.
- [4] Lin L J, Lin L Z, Cordell G A, et al. NMR assignments of huperzine A, serratinine and lucidioline[J]. Phytochemistry, 1993, 34(5): 1425.
- [5] Nakashima T T, Singer P P, Browne L M, et al. Carbon-13 nuclear magnetic resonance studies of some *Lycopodium* alkaloids [J]. Can J Chem, 1975, 53: 1936.
- [6] 吴兴德. 蛇足石杉及其两种近缘亲属植物的化学成分的研究[D]. 昆明: 昆明医学院, 2009.
- [7] Takayama H, Katakawa K, Kitajima M, et al. Ten new lycopodium alkaloids having the lycopodane skeleton isolated from *Lycopodium serratum* Thunb. [J]. Chem Pharm Bull, 2003, 51(10): 1163.

Study on chemical constituents of *Lycopodium* alkaloids

LIU Huijie, WANG Ye*

(The Key Laboratory for Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China)

[Abstract] **Objective:** To study the alkaloid chemical constituents of *Lycopodium japonicum*. **Method:** Compounds were isolated and purified by such methods as silica gel column chromatography, RP-C₁₈ reversed phase column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography and Waters semi-preparative liquid chromatogram, and their structures were identified based on physico-chemical property and spectrum data. **Result:** Nine known alkaloid chemical constituents were isolated and identified, they were lycodoline (1), lucidioline (2), α -obscurine (3), lycopodine (4), lycoposerramine-L (5), lycoposerramine-M (6), 11 α -O-acetyl-lycopodine (7), des-N-methyl- α -obscurine (8), clavolonine (9). **Conclusion:** Compounds 4-9 were obtained from *L. japonicum* for the first time.

[Key words] *Lycopodium* genus; *Lycopodium japonicum*; alkaloid; chemical constituents

doi:10.4268/cjmm20120413