

钩藤化学成分分析

吴伟明^{1,2}, 李志峰^{1,2}, 欧阳辉^{2*}, 许燕³, 何明珍², 陈杰^{1*}, 冯育林², 杨世林²

(1. 江西中医药大学, 南昌 330004; 2. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 南昌 330006;
3. 江西制药有限责任公司, 南昌 330052)

[摘要] 目的:研究茜草科植物钩藤的化学成分。方法:利用硅胶柱色谱,羟丙基葡聚糖凝胶,ODS,制备高效液相色谱法等方法对钩藤的乙醇提取物进行分离纯化,根据其理化性质与波谱数据对所分得的化合物进行结构鉴定。结果:从钩藤的乙醇提取物中分离得到14个化合物,分别鉴定为 β -谷甾醇(β -sitosterol, **1**), 胡萝卜苷(daucosterol, **2**), 5-O-咖啡酰基奎宁酸(chlorogenic acid, **3**), 柯诺辛碱(corynoxine, **4**), 去氢钩藤碱(corynoxine, **5**), 异去氢钩藤碱(isocorynoxine, **6**), 钩藤碱(rhynchophylline, **7**), 异钩藤碱(isorhynchophylline, **8**), 普鲁托品(protopine, **9**), 卡丹宾碱(cadambine, **10**), 二氢卡丹宾碱(3 α -dihydrocadambine, **11**), 喜果苷(vincoside lactam, **12**), 异长春花苷内酰胺(strictosamide, **13**), 金丝桃苷(hyperoside, **14**)。结论:化合物**9**为首次从该属植物中分离得到,化合物**3, 13, 14**为首次从该植物中分离得到。

[关键词] 茜草科; 钩藤; 吲哚类生物碱; 异长春花苷内酰胺

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)18-0056-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2015180056

Chemical Constituents of Uncariae Ramulus Cum Uncis WU Wei-ming^{1,2}, LI Zhi-feng^{1,2}, OUYANG Hui^{2*}, XU Yan³, HE Ming-zhen², CHEN Jie^{1*}, FENG Yu-lin², YANG Shi-lin² (1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Nanchang 330004, China; 2. National Engineering Research Center for Solid Preparation Manufacturing Technology of TCM, Nanchang 330006, China; 3. Jiangxi Pharmaceutical Co. Ltd., Nanchang 330052, China)

[Abstract] **Objective:** To study the Chemical Constituents of Uncariae Ramulus Cum Uncis. **Method:** The compounds were obtained and purified by column chromatography on silica gel column, Sephadex LH-20, ODS and preparative HPLC, the structures of these compounds were identified according to their physicochemical properties and spectral data. **Result:** Fourteen compounds were obtained from the ethanol extract of Uncariae Ramulus Cum Uncis, their structures were elucidated as β -sitosterol (**1**), daucosterol (**2**), chlorogenic acid (**3**), corynoxine (**4**), corynoxine (**5**), isocorynoxine (**6**), rhynchophylline (**7**), isorhynchophylline (**8**), protopine (**9**), cadambine (**10**), 3 α -dihydrocadambine (**11**), vincoside lactam (**12**), strictosamide (**13**), hyperoside (**14**). **Conclusion:** Compound **9** was obtained from this genus for the first time. Compounds **3, 13** and **14** were obtained from the plant for the first time.

[Key words] Rubiaceae; Uncariae Ramulus Cum Uncis; indole alkaloids; strictosamide

钩藤为茜草科植物钩藤、华钩藤、大叶钩藤、毛钩藤、无柄果钩藤的干燥带钩茎枝^[1]。在我国南方诸省分布广泛,为中医传统用药,具有清热平肝、息风定惊的作用。现代药理研究表明,钩藤中的生物

碱类成分具有兴奋呼吸中枢、扩张周围血管,以及良好的降血压作用^[2]。钩藤中所含化学成分主要有生物碱类、三萜类、黄酮类、香豆素类、喹啉酸皂苷类、酚类及有机酸等^[3],迄今钩藤属植物中已经发

[收稿日期] 20141117(019)

[基金项目] 江西省青年科学家培养对象项目(20142BCB23022);江西省卫生厅中医药科研计划(普通)课题(2013A004);江西中医药大学校级课题(ZX1004)

[第一作者] 吴伟明,在读硕士,从事天然产物活性成分研究,E-mail:527693226@qq.com

[通讯作者] * 欧阳辉,博士,讲师,从事中药药效物质与药物代谢研究,Tel:0791-87119632,E-mail:huiouyang@163.com;

* 陈杰,硕士,讲师,从事中药药效物质及作用机制研究,Tel:0791-87118993,E-mail:813680107@qq.com

现一百多个吲哚类生物碱成分^[4]。为明确钩藤药理作用的物质基础以及进一步开发其药用价值,本实验对钩藤的提取物进行了系统研究,通过硅胶柱色谱,羟丙基葡聚糖凝胶,ODS,制备高效液相色谱法等方法分离得到 14 个单体化合物,分别鉴定为 β -谷甾醇(β -sitosterol,**1**),胡萝卜苷(daucosterol,**2**),5-*O*-咖啡酰基奎宁酸(chlorogenic acid,**3**),柯诺辛碱(corynoxine,**4**),去氢钩藤碱(corynoxine,**5**),异去氢钩藤碱(isocorynoxine,**6**),钩藤碱(rhynchophylline,**7**),异钩藤碱(isorhynchophylline,**8**),普鲁托品(protopine,**9**),卡丹宾碱(cadambine,**10**),二氢卡丹宾碱(3 α -dihydrocadambine,**11**),喜果苷(vincoside lactam,**12**),异长春花苷内酰胺(strictosamide,**13**),金丝桃苷(hyperoside,**14**),其中化合物**9**为首次从该属植物中分离得到,其中化合物**3,13,14**为首次从该种植物中分离得到。

1 材料

N-1000 型旋转蒸发器(日本 EYELA 公司),KQ-250 型超声波清洗仪(昆山市超声仪器公司),LCQ-Fleet 型离子阱质谱仪(Thermo 公司),400 MHz Advance 核磁共振波谱仪(瑞士 Bruker 公司),Dr Flash-s 型中压制备液相(苏州利穗科技)。柱色谱硅胶(青岛海洋化工),羟丙基葡聚糖凝胶(Pharmacia biotech),反相硅胶 ODS(Merk 公司,50 μ m),1100 系列分析型高效液相色谱仪(美国安捷伦),LC-300 型制备液相色谱仪(Waters),甲醇,二氯甲烷分析纯。钩藤药材购自江西樟树,药材经南昌市食品药品检验所吴蓓主管药师鉴定为茜草科植物钩藤 *Uncaria rhynchophylla* 的干燥带钩茎枝。

2 提取与分离

取钩藤 25 kg,以 75% 乙醇回流提取 3 次,每次 2 h,合并提取液,减压浓缩得提取物,分别用石油醚,乙酸乙酯,正丁醇萃取 3 次,合并萃取液,减压浓缩得各部分浸膏,石油醚层浸膏以石油醚-丙酮硅胶柱色谱梯度洗脱以及重结晶方法得化合物**1**(100 mg),**2**(50 mg),**3**(20 mg)。乙酸乙酯层浸膏采用硅胶柱色谱法,以二氯甲烷-甲醇(19:1~0:1)梯度洗脱,经薄层分析后合并为流分 I, II, III。流分 I, II, III 再经减压硅胶柱,羟丙基葡聚糖凝胶柱,ODS 反相柱色谱以及制备高效液相色谱等方法分离得化合物**4**(10 mg),**5**(5 mg),**6**(5 mg),**7**(20 mg),**8**(18 mg),**9**(6 mg)。正丁醇层浸膏上样于 AB-8 大孔树脂,分别以 30%,60%,90% 乙醇梯度洗脱,再经硅胶柱色谱,MCI,ODS,制备型 HPLC 等分离手段分离

得化合物**10**(7 mg),**11**(12 mg),**12**(63 mg),**13**(25 mg),**14**(20 mg)。

3 结构鉴定

化合物**1** 白色针晶,与 β -谷甾醇对照品共薄层,Rf 值一致且混合熔点不降低,故鉴定为 β -谷甾醇。

化合物**2** 白色粉末,与胡萝卜苷对照品共薄层,Rf 值一致且混合熔点不降低,故鉴定为胡萝卜苷。

化合物**3** 白色粉末,¹H-NMR(500 MHz, CD₃OD) δ : 7.56(1H, d, J = 15.5 Hz, H-7'), 7.06(1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.96(1H, m, H-6'), 6.79(1H, d, J = 8.5 Hz, H-5'), 6.26(1H, d, J = 16.0 Hz, H-8'), 5.33(1H, m, H-5), 4.17(1H, m, H-3), 3.73(1H, dd, J = 8.5, 3.0 Hz, H-4), 2.02~2.26(4H, m, H-2, 6); ¹³C-NMR(150 MHz, CD₃OD) δ : 175.6(C-7), 167.3(C-9'), 148.2(C-4'), 145.7(C-7'), 145.4(C-3'), 126.4(C-1'), 121.6(C-6'), 115.1(C-5'), 113.9(C-2'), 113.8(C-8'), 74.8(C-1), 72.1(C-4), 70.6(C-5), 69.9(C-3), 37.4(C-6), 36.8(C-2)。其碳氢核磁数据与文献[5]报道的 5-*O*-咖啡酰基奎宁酸(chlorogenic acid)基本一致,故鉴定该化合物为 5-*O*-咖啡酰基奎宁酸。

化合物**4** 白色针晶,ESI-MS m/z 385.2[M + H]⁺。其碳氢核磁数据与文献[6]报道的柯诺辛碱(corynoxine)基本一致,故鉴定该化合物为柯诺辛碱。

化合物**5** 白色粉末,ESI-MS m/z 383.2[M + H]⁺。其碳氢核磁数据与文献[7]报道的去氢钩藤碱(corynoxine)基本一致,鉴定该化合物为去氢钩藤碱。

化合物**6,7,8** 分别与异去氢钩藤碱,钩藤碱,异钩藤碱对照品共薄层,Rf 值一致且混合熔点不降低,故鉴定化合物**6,7,8**分别为异去氢钩藤碱(isocorynoxine),钩藤碱(rhynchophylline)及异钩藤碱(isorhynchophylline)。

化合物**9** 白色粒状结晶,ESI-MS m/z 354[M + H]⁺。¹H-NMR(DMSO, 600 MHz) δ : 1.82(3H, s, N-CH₃), 2.51(2H, m, H-6), 3.28(2H, m, H-5), 3.59(2H, m, H-8), 3.77(2H, m, H-13), 5.96(2H, s, -OCH₂O-), 5.99(2H, s, -OCH₂O-), 6.68(1H, d, J = 7.8 Hz, H-11), 6.71(1H, d, J = 7.8 Hz, H-11), 6.80(1H, s, H-4), 6.96(1H, s, H-1)。¹³C-NMR(150 MHz, DMSO) δ : 194.6(C-14), 147.7(C-3), 146.2

(C-2), 145.7 (C-9), 145.6 (C-10), 136.4 (C-4a), 133.1 (C-14a), 130.0 (C-12a), 125.4 (C-12), 118.7 (C-8a), 110.8 (C-4), 107.8 (C-1), 106.7 (C-11), 101.5 (C₂, C₃, -OCH₂O-), 101.1 (C₉, C₁₀, -OCH₂O-), 57.8 (C-6), 51.1 (C-8), 46.4 (C-13), 41.5 (-NCH₃), 30.9 (C-5)。其碳氢核磁数据与文献[8]报道的普鲁托品 (protopine) 基本一致, 故鉴定该化合物为普鲁托品。

化合物 10 黄色针状结晶, ESI-MS m/z 545 [M + H]⁺。其碳氢核磁数据与文献[9]报道的卡丹宾碱 (cadambine) 基本一致, 故鉴定该化合物为卡丹宾碱。

化合物 11 黄色粉末, ESI-MS m/z 547 [M + H]⁺。其碳氢核磁数据与文献[10]报道的二氢卡丹宾碱 (3 α -dihydrocadambine) 基本一致, 故鉴定该化合物为二氢卡丹宾碱。

化合物 12 白色粉末, ESI-MS m/z 499 [M + H]⁺。其质谱数据, 碳氢核磁数据与文献[11]报道的喜果苷 (vincoside lactam) 基本一致, 故鉴定该化合物为喜果苷。

化合物 13 棕色固体, ESI-MS m/z 499 [M + H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.35 (1H, d, J = 7.2 Hz, H-9), 7.23 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-17), 7.32 (1H, s, H-12), 7.06 (1H, t, J = 7.0 Hz, H-11), 6.99 (1H, t, J = 7.0 Hz, H-10), 5.62 (1H, m, H-19), 5.36 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-21), 5.33 (1H, m, H-18a), 5.29 (1H, dd, J = 10.2, 1.8 Hz, H-18b), 4.98 (1H, d, J = 3.8 Hz, H-3), 4.91 (1H, m, H-5), 4.56 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-1'), 3.41 ~ 3.65 (1H, m, H-6'), 2.79 (1H, m, H-2'), 2.94 ~ 3.07 (3H, m, H-3', 4', 5'), 3.66 ~ 3.41 (1H, m, H-6), 2.75 ~ 2.79 (1H, m, H-6a), 2.61 ~ 2.70 (3H, m, H-6b, H-15, H-20), 2.45 (1H, m, H-14a), 1.98 (1H, m, H-14b)。¹³C-NMR (CD₃OD, 150 MHz) δ : C165.7 (C-22), 147.7 (C-17), 136.3 (C-13), 133.4 (C-19), 132.9 (C-2), 127.3 (C-8), 121.1 (C-11), 119.2 (C-18), 118.8 (C-10), 117.3 (C-9), 110.9 (C-12), 108.9 (C-7), 107.8 (C-16), 99.1 (C-1'), 96.7 (C-21), 76.7 (C-3'), 76.5 (C-5'), 72.9 (C-2'), 69.9 (C-4'), 61.2 (C-6'), 53.6 (C-3), 43.3 (C-5), 43.2 (C-20), 25.9 (C-14), 23.5 (C-15), 20.7 (C-6)。其质谱数据, 碳氢核磁数据与文献[12]报道的异长春花苷内酰胺 (strictosamide) 基本一致, 故鉴定该化合物为异长春花苷内酰胺。

化合物 14 黄色粉末, ESI-MS m/z 465 [M + H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.65 (1H, m, H-6'), 7.52 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2'), 6.80 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 6.40 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-8), 6.20 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-6), 5.36 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-1")。¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 178.0 (C-4), 164.6 (C-7), 161.7 (C-5), 156.8 (C-2), 156.7 (C-8a), 148.9 (C-4'), 145.3 (C-3'), 134.2 (C-3), 122.5 (C-6'), 121.6 (C-1'), 116.4 (C-2'), 115.7 (C-5'), 104.4 (C-4a), 102.3 (C-1"), 99.1 (C-6), 96.0 (C-8), 76.3 (C-5"), 73.7 (C-3"), 71.2 (C-2"), 68.4 (C-4"), 60.6 (C-6")。其碳氢核磁数据与文献[13]报道的金丝桃苷 (hyperoside) 基本一致, 故鉴定该化合物为金丝桃苷。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 240.
- [2] 唐庆, 马晓芳, 赵桂香, 等. 天麻钩藤降压胶囊降压及镇静作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(17): 241-243.
- [3] Heitzman M, Neto C, Winiarz E, et al. Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of *Uncaria* (Rubiaceae) [J]. *Phytochemistry*, 2005, 66(1): 5-29.
- [4] 王义祥, 侍媛媛, 解双陆, 等. 钩藤吡啶类生物碱分析方法研究进展[J]. *药学进展*, 2013, 37(6): 257-263.
- [5] 杨凤英, 苏艳芳, 王怀松. 红三七的化学成分研究[J]. *中草药*, 2010, 41(8): 1236-1239.
- [6] 郑嘉宁, 王定勇. 大叶钩藤生物碱类化学成分研究[J]. *中医药导报*, 2009, 15(1): 81-86.
- [7] 焦扬, 王模强, 华丹, 等. 中药钩藤化学成分研究[J]. *天津医科大学学报*, 2013, 19(2): 107-109.
- [8] 徐蔚, 宋启示, 王培, 等. 对叶榕叶和细枝的化学成分研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2010, 22(6): 1003-1005.
- [9] 辛文波, 俞桂新, 王峥涛, 等. 钩藤生物碱类成分研究[J]. *中草药*, 2009, 40(2): 204-207.
- [10] Endo K, Oshima Y, Kikuchi H, et al. Hypotensive principles of *Uncaria hooks* [J]. *Planta Med*, 1983, 49(11): 188-190.
- [11] 汪冰, 袁丹, 马斌, 等. 钩藤叶化学成分的研究[J]. *中国药物化学杂志*, 2006, 16(6): 369-372.
- [12] 宣伟东, 卞俊, 陈海生, 等. 胆木生物碱成分研究[J]. *中草药*, 2007, 38(2): 170-173.
- [13] 付晓丽, 张立伟, 林文翰, 等. 满山红化学成分的研究[J]. *中草药*, 2010, 41(5): 704-707.

[责任编辑 顾雪竹]