

平滑钩藤化学成分研究

王志伟, 闫慧娇, 陈跃*, 高红梅, 林云良

山东省分析测试中心 山东省中药质量控制技术重点实验室, 济南 250014

摘要: 采用硅胶、MCI、RP-18 等色谱技术, 对平滑钩藤 (*Uncaria laevigata*) 茎皮中的化学成分进行了较为系统的研究, 共分离得到 7 个化合物, 通过 NMR、MS 等波谱方法将其结构鉴定为: roxburghine B (1)、roxburghine C (2)、roxburghine D (3)、roxburghine X (4)、Uncarine C-N (4)-oxide (5)、(+)-lyoniresinol 3 α -O- β -D-glucoside (6)、(-)-lyoniresinol-3 α -O- β -D-glucoside (7)。化合物 5 首次从该属植物中分离得到, 其余化合物为首次从该植物中分离得到。

关键词: 平滑钩藤; 钩藤属; 生物碱; 木脂素; 化学成分

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2016.S.002

Chemical Constituents of *Uncaria laevigata*

WANG Zhi-wei, YAN Hui-jiao, CHEN Yue*, GAO Hong-mei, LIN Yun-liang

Key Laboratory of TCM Quality Control Technology, Shandong Analysis and Test Center,
Shandong Academy of Sciences, Jinan 250014, China

Abstract: Seven compounds were isolated from the stem barks of *Uncaria laevigata* by repeated column chromatography over silica gel, MCI and RP-18. On the basis of NMR and MS spectroscopic analysis, their structures were identified as roxburghine B (1), roxburghine C (2), roxburghine D (3), roxburghine X (4), Uncarine C-N (4)-oxide (5), (+)-lyoniresinol 3 α -O- β -D-glucoside (6), (-)-lyoniresinol 3 α -O- β -D-glucoside (7), respectively. Compound 5 was obtained from this genus for the first time and all the other compounds were isolated from this plant for the first time.

Key words: *Uncaria laevigata*; *Uncaria*; alkaloids; lignans; chemical constituents

平滑钩藤 *Uncaria laevigata* 为茜草科钩藤属植物, 广泛分布于我国南方各省, 具有清热平肝, 息风镇惊等功效, 为地方常用中药。钩藤属植物的化学成分主要为单萜吲哚生物碱及三萜类成分^[1-2]。现代研究表明, 钩藤提取物及某些单体成分具有降血糖^[3]、降压^[4]、抗炎^[5]、抗肿瘤^[6]等药理活性。目前, 国内外对平滑钩藤的化学成分研究较少, 为更好的阐明其药效物质基础促进资源的合理开发利用, 我们对平滑钩藤茎皮中的化学成分进行研究, 从 95% 乙醇提取物的二氯甲烷及正丁醇部位分离鉴定了 7 个化合物。

1 仪器与材料

NMR 谱用 Bruker Avance III 400 NMR 型核磁共振仪测定; ESI-MS 用 Agilent Technology 6520 Ac-

curate-Mass Q-TOF 型质谱仪测定; 分析型高效液相采用 Agilent 1100 型高效液相色谱仪; 分析色谱柱用 Thermo Acclaim™ 120 C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μ m); 岛津 LC-6AD 制备液相色谱仪, 制备色谱柱用 shim-park RP-C₁₈ column (20 × 200 mm)。

柱色谱所用硅胶及高效薄层板为青岛海洋化工厂产品和 Merck 公司产品; ODS-C₁₈ 为 Pharmacia 公司产品; MCI 为三菱化学树脂产品。色谱级甲醇为天津市科密欧化学试剂有限公司产品。

平滑钩藤 (*Uncaria laevigata*) 采自云南省西双版纳州, 由中国科学院西双版纳热带植物园张顺成采集鉴定, 样本存放于山东省分析测试中心食药与环境分析研究室。

2 提取与分离

平滑钩藤茎皮 5 kg, 粉碎, 用 95% 乙醇加热回流提取 3 次, 合并提取液, 减压浓缩得总浸膏, 加水混悬, 依次用二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇萃取, 分别得 130、195、71 g 浸膏。

收稿日期: 2016-01-11

接受日期: 2016-03-23

基金项目: 山东省科学院青年科学基金 (2014QN005); 山东省自然科学基金三院联合基金 (ZR2015YL012)

* 通讯作者 Tel: 86-531-82605340; E-mail: chenyyuesdatc@163.com

将二氯甲烷部位 130 g 进行硅胶柱层析,石油醚:乙酸乙酯(30:1,15:1,7:1,3:1,1:1,1:2)梯度洗脱,得到 5 个部分(Fr. 1 ~ Fr. 5)。Fr. 4 部位经 ODS-C₁₈ 柱层析,以甲醇/水(35% ~ 100%)梯度洗脱后得到 4 个部位(Fr. 4.1 ~ Fr. 4.4),其中 Fr. 4.3 经制备液相色谱,以 50% 甲醇-水洗脱,得到化合物 5。Fr. 5 部位经 MCI 柱层析,以 20% ~ 100% 甲醇-水梯度洗脱,得 7 个部位(Fr. 5.1 ~ Fr. 5.7),其中 Fr. 5.2 经制备液相色谱,以 60% 甲醇-水洗脱,得化合物 1 和 2。Fr. 5.7 经制备液相色谱,以 55% 乙腈-水洗脱,得化合物 3 和 4。

将正丁醇部位 71 g 经硅胶柱层析,二氯甲烷:甲醇(50:0 ~ 0:50)梯度洗脱,得到 2 个部位(Fr. 1 ~ Fr. 2),Fr. 2 经 ODS-C₁₈ 柱层析,用甲醇:水(10:100 ~ 100:0)梯度洗脱后,得 4 个部位(Fr. 2.1 ~ Fr. 2.4),其中 Fr. 2.2 经制备液相色谱,以 20% 乙腈-水洗脱,得到化合物 6 和 7。

3 结构鉴定

化合物 1 淡红色无定形粉末;易溶于氯仿、丙酮等;碘化铋钾反应阳性,提示为生物碱类化合物。ESI-MS 显示准分子离子峰为 m/z 491 [M-H]⁻。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 谱显示有 2 个与氮相连的氢信号 δ_{H} 8.40 (1H, s, NH), 8.19 (1H, s, NH); 8 个吲哚环上的芳香氢信号 δ_{H} 7.44 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-9), 7.41 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-9'), 7.26 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-12), 7.26 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-12'), 7.13—7.04 (4H, m, H-10, H-11, H-10', H-11'); 1 个烯氢信号 7.39 (1H, s, H-17); 1 个甲氧基信号 δ_{H} 3.62 (3H, s, OMe-23); 1 个角甲基信号 δ_{H} 1.65 (3H, s, Me-18)。¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) 谱显示有 1 个酯羰基信号 C 168.2 (C-22); 18 个烯碳信号 δ_{C} 148.9 (C-17), 137.9 (C-2'), 136.3 (C-13), 135.9 (C-13'), 134.9 (C-2), 127.5 (C-8), 127.5 (C-8'), 122.2 (C-11'), 121.5 (C-11), 119.8 (C-10'), 119.5 (C-10), 118.2 (C-9'), 118.1 (C-9), 111.5 (C-12'), 111.1 (C-12), 108.1 (C-7), 107.1 (C-7'), 101.6 (C-16); 6 个连氧或氮原子的碳信号 δ_{C} 57.0 (C-19), 55.4 (C-3), 53.6 (C-5), 52.3 (C-21), 51.0 (OMe-23), 46.5 (C-5')。与文献^[7]对照,将其结构鉴定为 roxburghine B。

化合物 2 淡红色无定形粉末;易溶于氯仿、丙酮等;碘化铋钾反应阳性,提示为生物碱类化合物。

ESI-MS 显示准分子离子峰为 m/z 493 [M + H]⁺。¹H NMR (acetone-*d*₆, 400 MHz) 谱显示有 1 个与氮相连的氢信号 δ_{H} 10.09 (1H, s, NH); 8 个吲哚环上的芳香氢信号 δ_{H} 7.48 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.39 (2H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.34 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.10 (1H, t, $J = 7.0$ Hz), 7.03 (2H, t, $J = 8.0$ Hz), 6.97 (1H, t, $J = 7.0$ Hz); 1 个烯氢信号 7.57 (1H, s, H-17); 1 个甲氧基信号 δ_{H} 3.65 (3H, s, OMe-23); 1 个角甲基信号 δ_{H} 1.65 (3H, s, Me-18)。¹³C NMR (acetone-*d*₆, 100 MHz) 谱显示有 1 个酯羰基信号 δ_{C} 168.9 (C-22); 18 个烯碳信号 δ_{C} 146.6 (C-17), 138.2 (C-13), 138.0 (C-2), 137.2 (C-13'), 137.1 (C-2'), 128.8 (C-8), 128.3 (C-8'), 122.8 (C-11), 121.9 (C-11'), 120.5 (C-10), 119.9 (C-10'), 119.4 (C-9), 118.9 (C-9'), 112.8 (C-12), 112.4 (C-12'), 109.7 (C-7), 108.7 (C-7'), 97.5 (C-16); 6 个连氧或氮原子的碳信号 δ_{C} 61.9 (C-3), 61.2 (C-19), 57.6 (C-21), 54.7 (C-5), 51.6 (C-5'), 50.8 (OMe-23)。与文献^[7]对照,将其结构鉴定为 roxburghine C。

化合物 3 淡红色无定形粉末;易溶于氯仿、丙酮等;碘化铋钾反应阳性,提示其为生物碱类化合物。ESI-MS 显示准分子离子峰为 m/z 491 [M-H]⁻。¹H NMR (acetone-*d*₆, 400 MHz) 谱显示有 2 个与氮相连的氢信号 δ_{H} 10.19, 9.78 (each 1H, s, NH); 8 个吲哚环上的芳香氢信号 δ_{H} 7.49, 7.46, 7.42, 7.35 (each 1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-9, H-12, H-9', H-12'), 7.12—6.98 (4H, m, H-10, H-11, H-10', H-11'); 1 个烯氢信号 7.56 (1H, s, H-17); 1 个甲氧基信号 δ_{H} 3.65 (3H, s, OMe-23); 1 个角甲基信号 δ_{H} 1.22 (3H, s, Me-18)。¹³C NMR (acetone-*d*₆, 100 MHz) 谱显示有 1 个酯羰基信号 δ_{C} 168.0 (C-22); 18 个烯碳信号 δ_{C} 147.2 (C-17), 137.4 (C-13'), 137.2 (C-13), 135.0 (C-2'), 134.8 (C-2), 128.9 (C-8'), 127.5 (C-8), 122.3 (C-11'), 121.4 (C-11), 119.9 (C-10'), 111.9 (C-12), 119.4 (C-10), 118.9 (C-9'), 118.3 (C-9), 112.1 (C-12'), 109.9 (C-7), 107.7 (C-7'), 96.6 (C-16); 6 个连氧或氮原子的碳信号 δ_{C} 58.6 (C-19), 54.8 (C-3), 52.3 (C-5), 50.7 (C-5'), 50.3 (OMe-23), 48.8 (C-21)。与文献^[7]对照,将其结构鉴定为 roxburghine D。

化合物 4 淡红色无定形粉末;易溶于氯仿、丙酮等;碘化铋钾反应阳性,提示其为生物碱类化合

物。ESI-MS 显示准分子离子峰为 m/z 491 $[M-H]^-$ 。 1H NMR (acetone- d_6 , 400 MHz) 谱显示有 2 个与氮相连的氢信号 δ_H 10.15, 9.59 (each 1H, s, NH); 8 个吡啶环上的芳香氢信号 H 7.41-7.31 (4H, m, H-9, H-12, H-9', H-12'), 7.08—6.95 (4H, m, H-10, H-11, H-10', H-11'); 1 个烯氢信号 δ_H 7.39 (1H, s, H-17); 1 个甲氧基信号 δ_H 3.56 (3H, s, OMe-23); 1 个角甲基信号 δ_H 1.75 (3H, s, Me-18)。 ^{13}C NMR (acetone- d_6 , 100 MHz) 谱显示有 1 个酯羰基信号 δ_C 167.6 (C-22); 18 个烯碳信号 δ_C 148.5 (C-17), 137.6 (C-13'), 137.5 (C-13), 136.6 (C-2'), 136.5 (C-2), 128.3 (C-8'), 128.0 (C-8), 122.3 (C-11'), 121.4 (C-11), 119.9 (C-10'), 111.9 (C-12), 119.4 (C-10), 118.6 (C-9'), 118.3 (C-9), 112.3 (C-12'), 109.4 (C-7), 108.0 (C-7'), 106.6 (C-16); 6 个连氧或氮原子的碳信号 δ_C 60.9 (C-3), 58.2 (C-19), 57.8 (C-21), 54.2 (C-5), 50.5 (C-5'), 50.1 (OMe-23)。与文献^[7]对照, 将其结构鉴定 roxburghine X。

化合物 5 白色无定形粉末; 易溶于氯仿、甲醇等; 碘化铋钾反应阳性, 提示其为生物碱类化合物。ESI-MS 显示准分子离子峰为 m/z 385 $[M+H]^+$ 。 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) 显示有 4 个吡啶环上的芳香氢信号 δ_H 7.34 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-9), 7.20 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-11), 7.04 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-10), 6.96 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-12); 1 个烯氢信号 δ_H 7.54 (1H, s, H-17); 1 个甲氧基信号 δ_H 3.59 (3H, s, OMe-23); 1 个双峰甲基信号 δ_H 1.49 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, Me-18)。 ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) 显示有 2 个羰基碳信号 δ_C 178.1 (C-2), 167.6 (C-22); 8 个烯碳信号 156.6 (C-17), 141.7 (C-13), 132.2 (C-8), 129.5 (C-11), 123.5 (C-10), 122.7 (C-9), 111.1 (C-12), 107.6 (C-16); 5 个连氧或氮原子的碳信号 δ_C 81.5 (C-3), 73.6 (C-19), 67.3 (C-5), 63.4 (C-21), 51.3 (C-23)。将其 1D NMR 数据与文献^[8]对照, 发现该化合物为 N-4 位的氮氧化合物, 将其结构确定为 Uncarine C-N (4)-oxide。

化合物 6 灰色粉末; 易溶于甲醇、丙酮等。ESI-MS 显示准分子离子峰为 m/z 600 $[M+NH_4]^+$ 。 1H NMR (methanol- d_4 , 400 MHz) 显示有 3 个芳香氢信号 δ_H 6.57 (1H, s, H-8), 6.42 (2H, s, H-2', H-6'); 4 个甲氧基信号 δ_H 3.85 (3H, s, OMe),

3.74 (6H, s, 2 × OMe), 3.34 (3H, s, OMe); ^{13}C NMR (methanol- d_4 , 100 MHz) 显示有 12 个芳香碳信号 δ_C 149.1 (C-3', 5'), 148.8 (C-7), 147.7 (C-5), 139.5 (C-4'), 139.0 (C-6), 134.7 (C-1'), 130.4 (C-9), 126.5 (C-10), 108.1 (C-8), 107.2 (C-2', 6'); 6 个连氧碳信号 δ_C 71.8 (C-3 α), 66.4 (C-2 α), 60.3 (5-OMe), 57.0 (3', 5'-OMe), 56.8 (7-OMe); 1 组葡萄糖上的特征碳信号 δ_C 104.9 (C-1''), 78.4 (C-3''), 78.1 (C-5''), 75.3 (C-2''), 71.8 (C-4''), 63.0 (C-6'')。与文献^[9]对照, 将其结构鉴定为 (+)-lyoniresinol 3 α -O- β -D-glucoside。

化合物 7 灰色粉末; 易溶于甲醇、丙酮等。ESI-MS 显示准分子离子峰为 m/z 600 $[M+NH_4]^+$ 。 1H NMR (methanol- d_4 , 400 MHz) 显示有 3 个芳香氢信号 δ_H 6.56 (1H, s, H-8), 6.39 (2H, s, H-2', H-6'); 4 个甲氧基信号 δ_H 3.86 (3H, s, OMe), 3.73 (6H, s, 2 × OMe), 3.31 (3H, s, OMe); ^{13}C NMR (methanol- d_4 , 100 MHz) 显示有 12 个芳香碳信号 δ_C 149.1 (C-3', 5'), 148.8 (C-7), 147.7 (C-5), 139.5 (C-6), 139.0 (C-4'), 134.8 (C-1'), 130.3 (C-9), 126.3 (C-10), 108.0 (C-8), 107.3 (C-2', 6'); 6 个连氧碳信号 δ_C 72.2 (C-3 α), 66.4 (C-2 α), 60.2 (5-OMe), 57.1 (3', 5'-OMe), 56.7 (7-OMe); 1 组葡萄糖上的特征碳信号 δ_C 104.4 (C-1''), 78.3 (C-3''), 78.1 (C-5''), 75.2 (C-2''), 71.7 (C-4''), 62.9 (C-6'')。与文献^[9]对照, 将其结构鉴定为 (-)-lyoniresinol 3 α -O- β -D-glucoside。

参考文献

- 1 Heitzman ME, Neto CC, Winiarz E, et al. Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of *Uncaria* (Rubiaceae). *Phytochemistry*, 2005, 66: 5-29.
- 2 Wang K, Zhou XY, Wang YY, et al. Macrophyllionium and macrophyllines A and B, oxindole alkaloids from *Uncaria macrophylla*. *J Nat Prod*, 2011, 74 (1): 12-15.
- 3 Domingues A, Sartori A, Golim MA, et al. Prevention of experimental diabetes by *Uncaria tomentosa* extract: Th2 polarization, regulatory T cell preservation or both? *J Ethnopharmacol*, 2011, 137: 635-642.
- 4 Zhu M, Bowery NG, Greengrass PM, et al. Application of radioligand receptor binding assays in the search for CNS active principles from Chinese medicinal plants. *J Ethnopharmacol*, 1996, 54: 153-164.