

## 钩吻枝叶乙醇提取物的化学成分

白媛媛<sup>1,①</sup>, 张会敏<sup>1</sup>, 王变利<sup>1</sup>, 王志伟<sup>2,①</sup>

[1. 山东省中医药研究院, 山东 济南 250014; 2. 山东第一医科大学(山东省医学科学院)药学院(药物研究所)  
国家卫健委生物技术药物重点实验室 山东省罕见病重点实验室, 山东 济南 250117]

**摘要:** 从钩吻(*Gelsemium elegans* (Gardn. et Champ.) Benth.)枝叶乙醇提取物中共分离鉴定出6个化合物,分别为熊果酸、27-O-对-(E)-香豆酰基-乌索酸、27-O-对-(Z)-香豆酰基-乌索酸、16-表伏康树卡平碱、(Z)-阿枯米定碱、N(a)-去甲基嘌呤。其中,16-表伏康树卡平碱首次从钩吻中分离获得,其余5个化合物首次从钩吻属(*Gelsemium* Juss.)中分离获得。

**关键词:** 钩吻; 枝叶; 乙醇提取物; 化学成分

中图分类号: Q946.8; R284; S567.9 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2024)04-0119-03

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2024.04.15

**Chemical constituents of ethanol extract from branches and leaves of *Gelsemium elegans*** BAI Yuanyuan<sup>1,①</sup>, ZHANG Huimin<sup>1</sup>, WANG Bianli<sup>1</sup>, WANG Zhiwei<sup>2,①</sup> (1. Shandong Academy of Chinese Medicine, Jinan 250014, China; 2. Key Laboratory for Biotechnology Drugs of National Health Commission, Key Lab for Rare & Uncommon Diseases of Shandong Province, School of Pharmaceutical Sciences & Institute of Materia Medica, Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250117, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2024, 33(4): 119-121

**Abstract:** Six compounds were isolated and identified from the ethanol extract from branches and leaves of *Gelsemium elegans* (Gardn. et Champ.) Benth., including ursolic acid, 27-O-p-(E)-coumaroyl-ursolic acid, 27-O-p-(Z)-coumaroyl-ursolic acid, 16-epi-voacarpine, 19-(Z)-akuammidine, N(a)-demethylaccedine. In which, 16-epi-voacarpine is isolated from *G. elegans* for the first time, and the other five compounds are isolated from *Gelsemium* Juss. for the first time.

**Key words:** *Gelsemium elegans* (Gardn. et Champ.) Benth.; branch and leaf; ethanol extract; chemical constituent

钩吻(*Gelsemium elegans* (Gardn. et Champ.) Benth.)为马钱科(Loganiaceae)钩吻属(*Gelsemium* Juss.)常绿木质藤本植物,主要分布于广东、广西、云南、贵州、福建、浙江、湖南、海南及台湾等省(自治区)<sup>[1-2]</sup>。钩吻的根、茎、叶均可供药用,具有消肿止痛、拔毒杀虫的功效<sup>[3-4]</sup>;该种还能用作兽药,具有杀虫、健胃、杀痒止痒、拔毒生肌和止喘的效果<sup>[5]</sup>。研究发现,钩吻的主要化学成分有生物碱、三萜和甾体类化合物<sup>[6-10]</sup>,其总生物碱具有镇痛、抗炎、抗肿瘤、降低心率、促免疫等作用<sup>[11]</sup>。明确钩吻的化学成分组成对于开发其药用价值至关重要,为此,本研究对钩吻枝叶乙醇提取物的化学成分进行了分离和鉴定,为钩吻的进一步开发利用提供基础数据。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

于2019年10月,在广西壮族自治区贵港市平南县采集钩

吻野生植株的健康枝叶,由王志伟副教授鉴定。将采集的枝叶晒干后存放于山东省中医药研究院中药分析研究所,样品编号20191009-003。

#### 1.2 主要仪器和试剂

实验使用的主要仪器有Agilent 1100型高效液相色谱仪(美国Agilent公司)、Bruker Avance III 400 NMR型核磁共振仪(德国Bruker公司)、Agilent Technology 6520 Accurate-Mass Q-TOF型质谱仪(美国Agilent公司)、清博华制备液相色谱仪(北京清博华科技有限公司);使用的主要试剂有分析级甲醇(天津市科密欧化学试剂有限公司,生产批号20191204)、色谱级甲醇(瑞典欧森巴克化学公司,生产批号17110609G104)、分析级二氯甲烷(天津市科密欧化学试剂有限公司,生产批号20190513)、体积分数95%乙醇(国药集团化学试剂有限公司,生产批号20190120)。

#### 1.3 方法

取钩吻枝叶干燥样品20 kg,粉碎后,按照料液比1:10的

收稿日期: 2024-01-17

基金项目: 山东省中医药科技项目(M-2023024); 山东第一医科大学学术提升计划项目(2019LJ003); 国家中医药管理局中药分析重点学科项目(zyyzdxk-2023121)

作者简介: 白媛媛(1987—),女,山东济南人,硕士,实习研究员,主要从事天然药物化学方面的研究。

①通信作者 E-mail: bai15866707266@163.com; wzwcpu@126.com

引用格式: 白媛媛, 张会敏, 王变利, 等. 钩吻枝叶乙醇提取物的化学成分[J]. 植物资源与环境学报, 2024, 33(4): 119-121.

比例,使用体积分数 95%乙醇连续回流提取 3 次,每次 2 h;合并提取液,减压蒸馏除去有机溶剂,得到粗提物浸膏。用去离子水溶解粗提物浸膏,加入质量分数 10%的 HCl 溶液调节酸碱度至 pH 3.0;用等体积的二氯甲烷反复萃取至二氯甲烷层近无色,用浓度  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaOH 溶液将水层酸碱度调至 pH 10.0,用等体积二氯甲烷再次萃取 5 次;取二氯甲烷层,减压蒸馏除去有机溶剂,得到生物碱部分 100 g。

将生物碱部分进行硅胶柱层析,用二氯甲烷-甲醇溶液(体积比 1:0~1:1)进行梯度洗脱。用 Agilent 1100 型高效液相色谱仪检测后合并相同组分,共得到 13 个部分,依次编号 Fr.Ga 至 Fr.Gm。Fr.Ga (100 mg) 即化合物 1; Fr.Gd (100 mg) 用体积分数 66.5% 甲醇进行制备液相色谱洗脱(流速  $10 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ), 得到化合物 2 (16 mg) 和化合物 3 (13 mg); Fr.Ge (200 mg) 用体积分数 55.0% 甲醇进行制备液相色谱洗脱(流速  $10 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ), 得到化合物 4 (20 mg) 和化合物 5 (10 mg); Fr.Gg (800 mg) 用体积分数 43.0% 甲醇进行制备液相色谱洗脱, 得到化合物 6 (18 mg)。

将分离到的 6 个化合物进行高分辨质谱及一维核磁共振波谱分析,并结合相关文献比对确定其结构。

## 2 结果和分析

化合物 1: 白色无定形粉末, ESI-MS (negative)  $m/z$ : 455 [M-H]<sup>-</sup>, 分子式为  $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$ , 相对分子质量为 456。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ )  $\delta$ : 5.29 (1H, overlapped, H-12), 1.05 (3H, s, H-27), 1.03 (2H, m, H-15), 0.86 (3H, d,  $J=6.8 \text{ Hz}$ , H-30), 0.82 (3H, s, H-23), 0.81 (3H, s, H-25), 0.79 (3H, d,  $J=5.9 \text{ Hz}$ , H-29), 0.76 (3H, s, H-26), 0.74 (3H, s, H-24), 0.69 (1H, s, H-5); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ )  $\delta$ : 178.2 (C-28), 138.1 (C-13), 124.5 (C-12), 76.8 (C-3), 54.7 (C-5), 52.3 (C-18), 47.0 (C-9), 46.8 (C-16), 41.6 (C-14), 39.0 (C-8), 38.4 (C-20), 38.4 (C-19), 38.3 (C-4), 38.2 (C-1), 36.5 (C-10), 36.2 (C-22), 32.6 (C-15), 30.7 (C-7), 28.2 (C-23), 27.5 (C-21), 26.7 (C-2), 23.8 (C-11), 23.2 (C-27), 22.8 (C-16), 21.1 (C-30), 17.9 (C-6), 16.9 (C-29), 16.9 (C-24), 16.0 (C-25), 15.1 (C-26)。上述 NMR 数据与文献[12]基本一致,故确定化合物 1 为熊果酸(ursolic acid)。

化合物 2: 淡黄色无定形粉末, ESI-MS (negative)  $m/z$ : 617 [M-H]<sup>-</sup>, 分子式为  $\text{C}_{39}\text{H}_{54}\text{O}_6$ , 相对分子质量为 618。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.57 (1H, d,  $J=16.0 \text{ Hz}$ , H-7'), 7.42 (2H, d,  $J=8.0 \text{ Hz}$ , H-2', 6'), 6.82 (2H, d,  $J=8.4 \text{ Hz}$ , H-3', 5'), 6.25 (1H, m, H-8'), 5.56 (1H, overlapped, H-12); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 180.0 (C-28), 167.5 (C-9'), 160.0 (C-4'), 145.1 (C-7'), 133.4 (C-13), 130.0 (C-12), 129.7 (C-2', 6'), 125.6 (C-1'), 115.5 (C-3', 5'), 114.0 (C-8'), 78.2 (C-3), 65.6 (C-27), 55.4 (C-5), 52.7 (C-18), 48.4 (C-9), 47.7

(C-17), 45.6 (C-14), 40.0 (C-8), 39.2 (C-20), 36.9 (C-1), 36.7 (C-4), 33.5 (C-7), 30.1 (C-21), 27.3 (C-23), 26.4 (C-2), 24.1 (C-15), 23.4 (C-11), 20.1 (C-30), 18.0 (C-29), 17.5 (C-26), 16.8 (C-25), 15.0 (C-24)。上述 NMR 数据与文献[13]基本一致,故确定化合物 2 为 27-O-对-(E)-香豆酰基-乌索酸[27-O-p-(E)-coumaroyl-ursolic acid]。

化合物 3: 淡黄色无定形粉末, ESI-MS (negative)  $m/z$ : 617 [M-H]<sup>-</sup>, 分子式为  $\text{C}_{39}\text{H}_{54}\text{O}_6$ , 相对分子质量为 618。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.63 (2H, d,  $J=8.0 \text{ Hz}$ , H-2', 6'), 6.84 (1H, d,  $J=12.4 \text{ Hz}$ , H-7'), 6.75 (2H, d,  $J=8.4 \text{ Hz}$ , H-3', 5'), 5.71 (1H, m, H-8'), 5.51 (1H, m, H-12); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 180.8 (C-28), 166.9 (C-9'), 158.7 (C-4'), 143.1 (C-7'), 133.2 (C-13), 132.2 (C-2', 6'), 130.1 (C-12), 126.2 (C-1'), 115.4 (C-8'), 114.5 (C-3', 5'), 78.0 (C-3), 65.3 (C-27), 55.2 (C-5), 52.6 (C-18), 48.3 (C-9), 47.5 (C-17), 45.4 (C-14), 40.0 (C-8), 39.1 (C-20), 36.8 (C-1), 36.7 (C-4), 33.4 (C-7), 30.0 (C-21), 27.2 (C-23), 26.4 (C-2), 24.0 (C-15), 23.3 (C-11), 20.1 (C-30), 18.0 (C-29), 17.4 (C-26), 16.7 (C-25), 14.9 (C-24)。上述 NMR 数据与文献[13]基本一致,故确定化合物 3 为 27-O-对-(Z)-香豆酰基-乌索酸[27-O-p-(Z)-coumaroyl-ursolic acid]。

化合物 4: 白色无定形粉末, ESI-MS (positive)  $m/z$ : 369 [M+H]<sup>+</sup>, 分子式为  $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4$ , 相对分子质量为 368。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.38 (1H, d,  $J=8.0 \text{ Hz}$ , H-11), 7.31 (1H, d,  $J=8.0 \text{ Hz}$ , H-10), 7.06 (1H, t,  $J=7.2 \text{ Hz}$ , H-12), 6.96 (1H, t,  $J=7.2 \text{ Hz}$ , H-9), 5.25 (1H, m, H-19), 3.66 (3H, s,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 1.62 (3H, d,  $J=6.8 \text{ Hz}$ , H-18); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 175.80 (C=O), 137.6 (C-2), 137.1 (C-13), 136.3 (C-20), 125.9 (C-8), 121.1 (C-11), 118.4 (C-9), 118.0 (C-19), 114.8 (C-10), 110.8 (C-12), 106.7 (C-7), 80.1 (C-3), 63.0 (C-17), 57.9 (C-5), 53.4 (C-16), 50.9 (-OCH<sub>3</sub>), 47.8 (C-21), 36.5 (C-14), 34.2 (C-15), 21.4 (C-6), 11.7 (C-18)。上述 NMR 数据与文献[14]基本一致,故确定化合物 4 为 16-表伏康树卡平碱(16-epi-voacarpine)。

化合物 5: 白色无定形粉末, ESI-MS (positive)  $m/z$ : 369 [M+H]<sup>+</sup>, 分子式为  $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4$ , 相对分子质量为 368。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.36 (1H, d,  $J=8.0 \text{ Hz}$ , H-11), 7.25 (1H, d,  $J=8.0 \text{ Hz}$ , H-10), 7.03 (1H, t,  $J=7.2 \text{ Hz}$ , H-12), 6.95 (1H, t,  $J=7.2 \text{ Hz}$ , H-9), 5.44 (1H, m, H-19), 3.71 (3H, s,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 1.62 (3H, d,  $J=6.8 \text{ Hz}$ , H-18); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 173.2 (C=O), 137.5 (C-2), 137.3 (C-13), 137.0 (C-20), 126.5 (C-8), 120.6 (C-11), 118.2 (C-9), 117.1 (C-19), 116.8 (C-10), 110.5 (C-12), 104.4 (C-7), 67.4 (C-17), 57.8 (C-5), 52.4 (C-21), 51.6 (C-16), 50.2 (C-3), 50.1 (-OCH<sub>3</sub>), 35.6 (C-15), 29.8 (C-14), 23.5 (C-6), 11.1 (C-18)。上述 NMR 数据与文献[15]基本一致,故确定化合物 5 为 19-(Z)-

阿枯米定碱[19-(*Z*)-akuammidine]。

化合物6:白色无定形粉末,ESI-MS(positive)  $m/z$ :311 [M+H]<sup>+</sup>,分子式为C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,相对分子质量为310。<sup>1</sup>H-NMR(400 MHz,CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ :7.34(1H,m,H-11),7.31(1H,m,H-10),7.05(1H,d, $J$ =7.5 Hz,H-12),6.95(1H,d, $J$ =7.5 Hz,H-9),5.33(1H,m,H-19),1.59(3H,d, $J$ =7.0 Hz,H-18);<sup>13</sup>C-NMR(100 MHz,CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ :141.3(C-20),137.7(C-2),137.1(C-13),125.7(C-8),121.1(C-11),118.4(C-10),117.8(C-9),112.9(C-19),110.8(C-12),106.8(C-7),81.0(C-3),59.8(C-17),56.5(C-5),47.2(C-21),46.3(C-16),42.3(C-14),36.9(C-15),21.6(C-6),11.1(C-18)。上述NMR数据与文献[16]基本一致,故确定化合物6为*N*(*a*)-去甲基喋呤[*N*(*a*)-demethylaccedine]。

### 3 讨论

本研究在钩吻枝叶乙醇提取物中共分离鉴定出6个化合物,其中,熊果酸、27-*O*-对-(*E*)-香豆酰基-乌索酸、27-*O*-对-(*Z*)-香豆酰基-乌索酸为天然三萜羧酸类化合物;而(*Z*)-阿枯米定碱是钩吻的代表性生物碱之一<sup>[17]</sup>。现代药理研究表明:钩吻中的三萜类化合物及生物碱等不但具有抗菌、抗炎、保肝等药理活性,而且对肿瘤具有明显的抑制作用,同时还对神经具有较强的镇痛作用<sup>[18-20]</sup>,在临床上具有较大的开发应用价值。然而,钩吻的毒性较强,在临床应用上受到较大限制。后续应开展钩吻药理及毒理机制方面的研究,以实现其临床应用价值。

另外,值得一提的是,熊果酸、27-*O*-对-(*E*)-香豆酰基-乌索酸、27-*O*-对-(*Z*)-香豆酰基-乌索酸、19-(*Z*)-阿枯米定碱、*N*(*a*)-去甲基喋呤均首次从钩吻属植物中分离获得,16-表伏康树卡平碱首次从钩吻中分离获得。

#### 参考文献:

- [1] ZHANG W, ZHANG S Y, WANG G Y, et al. Five new koumine-type alkaloids from the roots of *Gelsemium elegans* [J]. *Fitoterapia*, 2017, 118: 112-117.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第六十一卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1992: 251.
- [3] SUN M X, CUI Y, LI Y, et al. Indole alkaloids from *Gelsemium elegans* [J]. *Phytochemistry*, 2019, 162: 232-240.
- [4] ZHANG B F, ZHANG Q P, LIU H, et al. Iridoids from leaves of

- [5] 林东祥. 畜禽驱虫常用中草药 [J]. 福建农业, 1999(9): 20.
- [6] OUYANG S, WANG L, ZHANG Q W, et al. Six new monoterpene indole alkaloids from the aerial part of *Gelsemium elegans* [J]. *Tetrahedron*, 2011, 67: 4807-4813.
- [7] SUN M X, GAO H H, ZHAO J, et al. New oxindole alkaloids from *Gelsemium elegans* [J]. *Tetrahedron Letters*, 2015, 56: 6194-6197.
- [8] WU H R, HE X F, JIN X J, et al. New nor-ursane type triterpenoids from *Gelsemium elegans* [J]. *Fitoterapia*, 2015, 106: 175-183.
- [9] ROSALES P F, BORDIN G S, GOWER A E, et al. Indole alkaloids: 2012 until now, highlighting the new chemical structures and biological activities [J]. *Fitoterapia*, 2020, 143: 104558.
- [10] ZHANG Z, ZHANG Y, WANG Y H, et al. Three novel  $\beta$ -carboline alkaloids from *Gelsemium elegans* [J]. *Fitoterapia*, 2012, 83: 704-708.
- [11] JIN G L, SU Y P, LIU M, et al. Medicinal plants of the genus *Gelsemium* (Gelsemiaceae, Gentianales): a review of their phytochemistry, pharmacology, toxicology and traditional use [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014, 152: 33-52.
- [12] SILVA M G V, VIEIRA Í G P, MENDES F N P, et al. Variation of ursolic acid content in eight *Ocimum* species from Northeastern Brazil [J]. *Molecules*, 2008, 13: 2482-2487.
- [13] 姚志容, 李军, 周思祥, 等. 钩吻叶中的三萜类成分 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(8): 999-1001.
- [14] 王琳, 孙琳, 刘慧颖, 等. 钩吻的化学成分研究 [J]. 中草药, 2017, 48(10): 2028-2032.
- [15] 张桢, 刘光明, 肖怀, 等. 钩吻吲哚生物碱化学成分研究 [J]. 中草药, 2011, 42(2): 222-225.
- [16] MARTÍNEZ J A, VELEZ H, SANTANA T. An alkaloid from two *Rauwolfia* spp. [J]. *Phytochemistry*, 1989, 28: 961-962.
- [17] 袁志航, 邬静, 孙志良. 钩吻研究进展 [J]. 中兽医医药杂志, 2015, 34(3): 26-28.
- [18] 陈燕, 何沙, 陈春林. 熊果酸药理作用研究进展 [J]. 宜春学院学报, 2023, 45(9): 21-26.
- [19] 安飞云, 陈翠梅, 梁维君. 钩吻 B2 组分对 HeLa 细胞增殖和细胞周期的影响 [J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2008, 5(4): 20-23, 27.
- [20] 孙铭学, 徐庆强, 孟文琪, 等. 钩吻药理及毒理机制研究进展 [J]. 毒理学杂志, 2020, 34(4): 336-341.

(责任编辑: 佟金凤)