

石松的化学成分研究

王海英¹, 杨继², 刘新², 张键泰², 朱国元^{2*} (1.台州市立医院, 浙江 台州 318000; 2.澳门科技大学中药质量研究国家重点实验室, 澳门 999078)

摘要: 目的 研究石松全草的化学成分。方法 石松全草采用 80% 的乙醇回流提取, 乙醇提取物经过酸溶碱沉后, 用乙酸乙酯进行萃取, 乙酸乙酯相经过硅胶柱层析、中压制备液相色谱及 HPLC 等进行分离纯化, 采用现代波谱技术结合理化性质鉴定化合物结构。结果 从石松乙醇提取物中分离并鉴定了 11 个化合物, 包括 8 个生物碱: α -异玉柏碱(1)、 α -玉柏碱(2)、去-N-甲基- α -玉柏碱(3)、石松灵碱(4)、lycoposerramine M (5)、玉柏宁碱(6)、lyconadin D(7)、石松佛利星碱(8); 2 个三萜类化合物: 石松三醇(9)、 α -芒柄花萜醇(10); 1 个酚苷类化合物: 4-glucosyloxy-3-methoxyphenyl trans-propenoic ethyl ester(11)。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为 α -异玉柏碱(α -isoobscurine)。化合物 7 和 11 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 石松; 伸筋草; 生物碱; 三萜; 酚苷

中图分类号: R284.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2018)12-1859-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.12.021

引用本文: 王海英, 杨继, 刘新, 等. 石松的化学成分研究[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(12): 1859-1864.

Chemical Constituents Study of *Lycopodium Japonicum*

WANG Haiying¹, YANG Ji², LIU Xin², ZHANG Jiantai², ZHU Guoyuan^{2*} (1.Taizhou Municipal Hospital, Taizhou 318000, China; 2.State Key Laboratory of Quality Research in Chinese Medicine, Macau University of Science and Technology, Macau 999078, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the chemical constituents from the whole plant of *Lycopodium japonicum*. **METHODS** The whole plant of *L. japonicum* was refluxed with 80% ethanol. The concentrated extract was dissolved in 1% HCl solution. The supernatant was then basified and partitioned with EtOAc. The EtOAc fraction was chromatographed on silica gel column, purified by MPLC and preparative HPLC. The structures of isolated compounds were elucidated on the basis of spectroscopic data analyses. **RESULTS** Eleven compounds were isolated from the ethanolic extract of *L. japonicum*, including eight alkaloids: α -isoobscurine (1), α -obscurine (2), des-N-methyl- α -obscurine (3), lycodoline (4), lycoposerramine M (5), obscurinine (6), lyconadin D (7), and lycoflexine (8); two triterpenoids: lycoclavanol (9), α -onocerin (10); and a phenolic glycoside: 4-glucosyloxy-3-methoxyphenyl trans-propenoic ethyl ester (11). **CONCLUSION** Compound 1 is a new compound and named α -isoobscurine. Compounds 7 and 11 were isolated from this plant for the first time.

KEYWORDS: *Lycopodium japonicum*; Shenjincao; alkaloids; triterpenoids; phenolic glycoside

石松科植物石松 (*Lycopodium japonicum* Thunb. ex Murray) 的干燥全草作为中药伸筋草应用于临床已有近千年的历史, 它具有祛风除湿、舒筋活络的功效, 主治风寒湿痹、关节疼痛、屈伸不利等症^[1]。在现代医学中常用于治疗类风湿性关节炎、颈椎病和急慢性软组织损伤等疾病, 现代药理实验研究表明石松及其活性成分具有抗炎、镇痛、免疫调节、清除自由基、抑制血小板聚集、抑制胆碱酯酶、抗肿瘤等生物活性^[1-4]。国内外学者对石松的化学成分研究表明, 石松中主要含有生物碱类、三萜类化合物, 另含有少量萜

醌类、黄酮苷类及挥发油类成分^[5-12]。其主要成分石松生物碱通常为含 16 个碳的喹诺里西啶、吡啶或吡啶酮类生物碱, 因其结构复杂多变, 生物活性较强而备受研究者关注^[13-20]。为进一步阐明石松的药理作用物质基础, 寻找具新颖结构的石松生物碱, 笔者对云南产石松全草进行了系统化学成分研究, 共分离鉴定了 11 个化合物, 见图 1。

1 仪器与试剂

Bruker Ascend 600 核磁共振波谱仪(德国布鲁克); 制备型高效液相色谱仪(美国 Waters); Buchi 中压制备液相色谱仪(瑞士步琦); Applied

基金项目: 澳门科学技术发展基金资助项目(033/2015/A1)

作者简介: 王海英, 女, 硕士, 副主任中药师 Tel: (0576)88898773
助理教授 Tel: (0853)81872429 E-mail: gyzhu@must.edu.mo

E-mail: mgy300@126.com *通信作者: 朱国元, 男, 博士,

Biosystems 3200 QTRAP 质谱仪(美国应用生物系统); Agilent 6230 高分辨质谱仪(美国 Agilent 科技); 半制备型色谱柱为 Waters XBridge C₁₈ (250 mm×10 mm, 5 μm); 45 μm 反相 ODS 材料(美国 Waters); 硅胶 H-TLC 薄层预制板(德国默克)。所用试剂均为分析纯或色谱纯(泰国 RCI Labscan)。

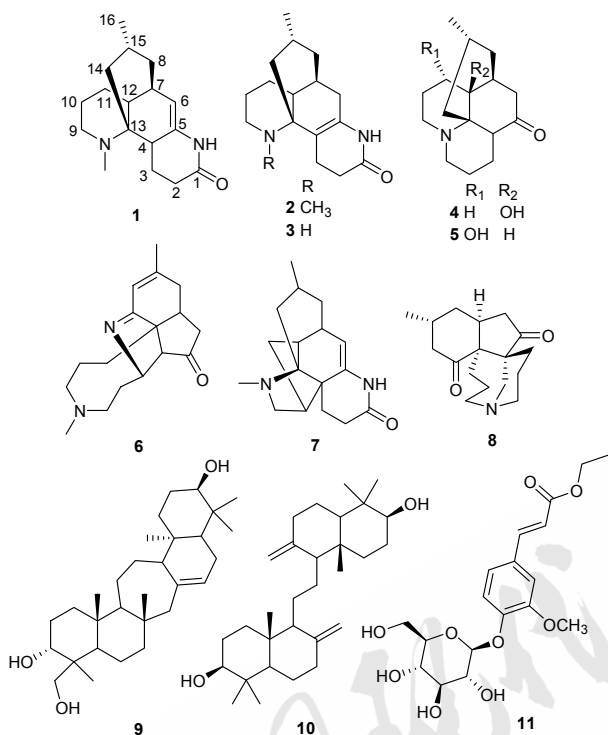


图 1 化合物 1~11 的结构
Fig. 1 Structures of compounds 1–11

石松全草购自云南省临沧县。经澳门科技大学张志峰副教授鉴定为石松科植物石松 (*Lycopodium japonicum* Thunb. ex Murray) 的干燥全草。模式标本(LJ-201610)储存于澳门科技大学中药质量研究国家重点实验室。

2 提取与分离

石松干燥全草 8.5 kg, 净选粉碎后, 用 80% 的乙醇加热回流提取 3 次, 每次 2 h, 滤过, 合并提取液, 减压浓缩回收乙醇至无醇味。提取浓缩液加水稀释至 4 L, 用 10 mol·L⁻¹ 的盐酸调节 pH 值至 1~2, 充分搅拌。将酸化后的溶液以 4 000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 取上清液, 用浓氨水调节 pH 值至 9~10, 再用等体积的乙酸乙酯萃取 3 次, 减压回收溶剂得到乙酸乙酯相浸膏 34.3 g。乙酸乙酯相浸膏经硅胶柱色谱分离, 氯仿-甲醇(100:1→1:1;

0.5%三乙胺)梯度洗脱, TLC 检视后合并为 5 个馏分(Fr.1~5)。Fr.1(9.0 g)经中压制备液相, 石油醚:丙酮(100:1→1:1)梯度洗脱, Fr.1~4 中析出白色粉末, 得化合物 10(153 mg); Fr.1~7 再经半制备 HPLC 纯化得到化合物 6(59 mg); Fr.1~10 析出晶体, 反复重结晶得到化合物 9(102 mg)。Fr.2 放置后析出晶体, 反复重结晶得到化合物 2(150 mg)。Fr.3(1.5 g)经反复正相、反相硅胶柱色谱分离和半制备 HPLC 纯化得到化合物 1(2 mg)、2(200 mg)、3(60 mg)、4(10 mg)、5(30 mg)、7(5 mg)和 8(22 mg)。Fr.4(2.4 g)经反复中压液相色谱、制备 HPLC 分离得化合物 11(128 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 白色结晶性粉末, $[\alpha]_D^{25} + 31(c 0.5, \text{甲醇})$ 。根据该化合物的高分辨质谱得到其分子式为 C₁₇H₂₆N₂O (m/z : 275.211 7 [M+H]⁺, 计算值 275.211 8)。经 TLC 检视, 碘化铋钾显色后显单一橙黄色斑点, 说明该化合物为生物碱。化合物 1 的氢谱中低场区有 1 个烯氢质子 δ_H 4.96(dd, $J=6.4, 1.5$ Hz, H-6), 高场区 δ_H 1.20~2.79 有较多亚甲基和次甲基质子信号, 还有 1 个特征性氮甲基质子单峰信号 δ_H 2.48(3H, s)和 1 个双峰甲基质子信号 δ_H 0.94(3H, d, $J=6.4$ Hz, H-16), 见表 1。化合物 1 的碳谱中有 17 个碳信号, 结合 DEPT 及 HSQC 谱可将它们归类为: 1 个内酰胺碳基碳、2 个双键碳、2 个甲基碳、7 个亚甲基碳、4 个次甲基碳和 1 个 sp³ 杂化的季碳, 见表 2。比较化合物 1 与已知化合物 α -玉柏碱(α -obscurine, 2)的碳氢谱^[9]发现两者的碳氢质子信号非常相似, 提示化合物 1 也是 1 个石松定碱类化合物。化合物 1 的碳氢谱比较后者增加了 1 个烯氢质子(δ_H 4.96)和次甲基质子(δ_H 2.79, d, $J=12.8$ Hz, H-4)以及相应的碳原子信号 δ_C 106.8(C-6)和 33.7(C-4), 而少了 1 个双键季碳和亚甲基信号, 说明化合物 1 中的双键可能位移动到了 $\Delta_{5,6}$ 位而不是 α -玉柏碱中的 $\Delta_{4,5}$ 位。化合物 1 的 ¹H-¹H COSY 谱中的 H-3/H-4、H-6/H-7 氢相关信号以及 HMBC 谱(图 2)中 H-6 与 C-4、C-12 相关, H-3 与 C-5 相关, H-8 与 C-6 相关, 进一步确定了化合物 1 中的双键位置。¹H-¹H COSY、HSQC 以及 HMBC 谱中的其他相关信号分析构建了化合物 1 的平面结构以及碳氢谱数据的全归属, 见表 1, 图 2。化合物 1 的 NOESY 谱中, H-7 与 H-11 相关,

H-12 与 H-14 相关, 表明 H-7 与 C11–C12 键同侧, 而 H-12 与 C13–C14 键同侧, 它们的相对构型与 α -玉柏碱相同, 分别为 α 和 β 构型。H-4 与 H-11 及氮甲基的 NOE 相关提示 H-4 为 β 构型。因此, 确定了化合物 **1** 的结构(图 1)。经检索发现, 化合物 **1** 为新化合物, 命名为 α -异玉柏碱(α -isoobscurine)。

表 1 化合物 **1** 的碳氢谱数据

Tab. 1 ^1H (600 MHz) and ^{13}C (150 MHz) NMR data of compound **1**

No.	1(in CD ₃ OD)		1(in CDCl ₃)	
	δ_{C}	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}	δ_{H} (J in Hz)
1	172.4		169.6	
2	32.6	2.58, ddd (17.9, 12.8, 5.2) 2.46, ddd (17.9, 5.2, 1.8)	32.2	2.56, m
3	24.1	2.14, m; 1.73, m	22.9	2.10, m; 1.72, m
4	33.7	2.79, d(12.8)	32.5	2.72, d (12.4)
5	137.1		135.5	
6	106.8	4.96, dd (6.4, 1.5)	105.2	4.80, d (6.0)
7	38.4	2.24, m	37	2.22, m
8	40.8	1.62, brd (12.8) 1.20, dt (12.8, 3.5)	39.8	1.57, brd (12.9) 1.18, dt (12.8, 2.0)
9	51.6	2.83, m; 2.71, brd (12.4)	50.5	2.72, m; 2.68, m
10	25.8	1.69, m	25.3	1.63, m
11	26.6	1.50, m; 1.37, m	25.9	1.41, m; 1.37, m
12	46.7	1.50, m	45.6	1.54, m
13	59.6		56.8	
14	43.6	2.29, dd (12.8, 3.6) 0.87, t (12.8)	43.2	2.18, dd (13.0, 3.6) 0.94, m
15	26.8	1.80, m	25.4	1.75, m
16	22.4	0.94, d (6.4)	22.2	0.92, d (6.5)
NCH ₃	39.4	2.48, s	39.2	2.47, s

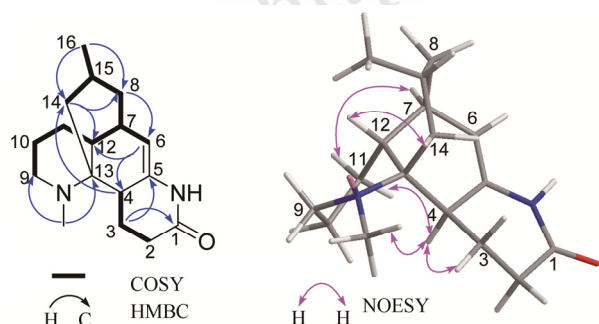


图 2 化合物 **1** 的关键 ^1H - ^1H COSY、HMBC 以及 NOESY 相关信号

Fig. 2 Key ^1H - ^1H COSY, HMBC and NOESY correlations of compound **1**

化合物 **2**: 无色针状晶体(甲醇)。ESI-MS, m/z , 275.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 结合碳氢谱和 DEPT 谱确定该化合物分子式为 $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}$ 。经薄层色谱检视, 碘化铋钾显色后显红色, 说明该化合物为生物碱。 ^1H -NMR(600 MHz, CDCl_3), δ : 2.71(1H, td, $J=4.0$, 12.0 Hz, H-9a), 2.63(1H, m, H-9b), 2.44(3H, s, NCH₃), 2.43(3H, m, H-6, H-3a), 2.38(1H, m, H-2a), 2.21(1H, m, H-10a), 1.85(1H, m, H-7), 1.75(1H, m, H-3b), 1.69(1H, m, H-12), 1.62(1H, m, H-2a), 1.60(1H, m, H-15), 1.43(1H, m, H-8a), 1.40(2H, m, H-11), 1.18(1H, m, H-10b), 1.12(1H, m, H-14b), 1.09(1H, m, H-8b), 0.87(3H, d, $J=6.6$ Hz, H-16)。 ^{13}C -NMR(150 MHz, CDCl_3) δ : 171.8(C-1), 130.5(C-5), 114.4(C-4), 59.0(C-13), 51.5(C-9), 43.7(C-14), 42.9(C-8), 36.1(C-NCH₃), 35.4(C-12), 33.7(C-7), 31.5(C-6), 30.2(C-2), 27.3(C-15), 26.6(C-11), 22.4(C-16), 19.5(C-10), 19.4(C-3)。以上数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 **2** 为 α -玉柏碱(α -obscurine)。

化合物 **3**: 无色针状晶体(甲醇)。ESI-MS, m/z , 261.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 结合碳氢谱和 DEPT 谱确定该化合物分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}$ 。经薄层色谱碘化铋钾显色后显单一橙黄色斑点, 说明该化合物为生物碱。 ^1H -NMR(600 MHz, CDCl_3), δ : 2.83(1H, dt, $J=12.2$, 2.0 Hz, H-9a), 2.48(2H, m, H-2), 2.44(1H, dt, $J=3.0$, 12.2 Hz, H-9b), 2.36(1H, m, H-6a), 2.32(1H, m, H-3a), 2.22(1H, m, H-3b), 1.89(1H, m, H-7), 1.65(4H, m, H-8a, 6b, 10a, 15), 1.50(2H, m, H-10b, 14a), 1.43(3H, m, H-11, 12), 1.23(1H, dt, $J=4.0$, 13.0 Hz, H-8b), 0.89(1H, m, H-14b), 0.87(3H, d, $J=6.6$ Hz, H-16)。 ^{13}C -NMR(150 MHz, CDCl_3), δ : 170.9(C-1), 130.9(C-5), 112.2(C-4), 55.6(C-13), 46.0(C-14), 44.5(C-12), 43.5(C-8), 42.7(C-9), 33.5(C-7), 31.2(C-2), 30.2(C-6), 27.2(C-10), 26.6(C-15), 26.0(C-11), 22.0(C-16), 18.9(C-3)。以上波谱数据与文献报道一致^[21], 故鉴定化合物 **3** 为去-N-甲基- α -玉柏碱(des-N-methyl- α -obscurine)。

化合物 **4**: 白色粉末。ESI-MS, m/z , 263.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 结合碳氢谱和 DEPT 谱确定该化合物分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{NO}_2$ 。经薄层色谱碘化铋钾显色后显单一橙黄色斑点, 说明该化合物为生物碱。 ^1H -NMR(600 MHz, CDCl_3), δ : 3.23(1H, m, H-1a),

3.21(1H, m, H-9a), 2.95(1H, dd, $J=2.0, 10.0$ Hz, H-4), 2.59(1H, dd, $J=6.0, 13.2$ Hz, H-6a), 2.57(1H, m, H-9b), 2.45(1H, dd, $J=5.3, 14.5$ Hz, H-1b), 2.33(1H, dd, $J=2.0, 16.4$ Hz, H-6b), 2.25(1H, dd, $J=4.0, 12.5$ Hz, H-14a), 2.14(1H, dt, $J=4.5, 13.6$ Hz, H-11a), 2.08(3H, m, H-7, 10a, 3a), 1.95(1H, m, H-8a), 1.89(1H, m, H-2a), 1.70(1H, m, H-10b), 1.63(1H, m, H-3b), 1.50(1H, m, H-11b), 1.43(1H, m, H-4), 1.35(2H, m, H-8b, 2b), 0.87(3H, d, $J=6.0$ Hz, H-16)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3), δ : 212.5(C-5), 69.5(C-12), 61.5(C-13), 46.2(C-9), 46.1(C-1), 44.3(C-6), 43.2(C-4), 40.7(C-7), 36.0(C-14), 35.7(C-8), 30.2(C-11), 24.3(C-15), 22.6(C-16), 20.7(C-10), 19.6(C-3), 17.7(C-2)。以上波谱数据与文献报道石松灵碱一致^[10], 故鉴定化合物 **4** 为石松灵碱 (lycodoline)。

化合物 **5**: 白色粉末。ESI-MS, m/z , 263.1[M+H]⁺, 结合碳氢谱和 DEPT 谱确定该化合物分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{NO}_2$ 。经薄层色谱碘化铯钾显色后显单一橙黄色斑点, 说明该化合物为生物碱。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3), δ : 4.20(1H, q, $J=3.0$ Hz, H-11), 3.53(2H, m, H-4, 9a), 3.34(2H, m, H-1a, 6a), 2.63(1H, dd, $J=4.3, 13.3$ Hz, H-14a), 2.55(1H, dd, $J=4.5, 14.4$ Hz, H-1b), 2.45(1H, qd, $J=4.3, 14.5$ Hz, H-9b), 2.33(1H, m, H-7), 2.15(1H, td, $J=2.0, 16.0$ Hz, H-6b), 2.05(2H, m, H-3a, 10a), 1.88(1H, m, H-2a), 1.75(1H, m, H-10b), 1.68(1H, m, H-8a), 1.51(3H, m, H-3b, 12, 15), 1.39(1H, m, H-2b), 1.27(1H, td, $J=2.0, 12.6$ Hz, H-6b), 0.87(3H, d, $J=6.0$ Hz, H-16), 0.83(1H, m, H-14b)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3), δ : 216.0(C-5), 69.7(C-11), 59.1(C-13), 47.6(C-12), 47.1(C-1), 45.8(C-4), 44.9(C-6), 44.1(C-8), 43.6(C-14), 41.5(C-9), 36.0(C-7), 35.3(C-10), 25.4(C-15), 22.8(C-16), 19.8(C-3), 19.3(C-2)。以上波谱数据与文献报道 lycoserramine M 一致^[22], 故鉴定化合物 **5** 为 lycoserramine M。

化合物 **6**: 无色晶体, ESI-MS, m/z , 273.2[M+H]⁺, 结合氢谱, 碳谱和 DEPT 谱确定该化合物分子式为 $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}$ 。经薄层色谱检视, 碘化铯钾显色后显红色, 说明该化合物为生物碱。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3), δ : 6.26(1H, brs, H-14), 4.19(1H, brs, H-3), 3.31(1H, brt, $J=0.72$ Hz, H-4), 2.66(1H, dt, $J=18.0, 0.6$ Hz, H-8), 2.54(1H, td, $J=1.2, 10.6$ Hz, H-1), 2.43(1H, m, H-7), 2.28(1H, ddd, $J=6.0, 7.2, 12.0$ Hz, H-9), 2.19(3H, s, H-NCH₃), 2.16(2H, m, H-9, 11), 2.11(1H, m, H-8), 1.94(4H, m, H-2, 6), 1.85(3H, s, H-16), 1.48(1H, m, H-11), 1.43(2H, m, H-10)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3), δ : 220.4(C-5), 175.6(C-13), 146.8(C-15), 119.3(C-14), 77.3(C-3), 61.2(C-4), 61.0(C-12), 59.0(C-9), 48.3(C-1), 44.4(C-NCH₃), 43.5(C-6), 34.7(C-11), 31.2(C-8), 30.5(C-2), 29.9(C-7), 24.2(C-10), 23.8(C-16)。以上波谱数据与文献报道玉柏宁碱一致^[20], 故鉴定化合物 **6** 为玉柏宁碱 (obscurinine)。

化合物 **7**: 白色粉末。ESI-MS, m/z , 273.2[M+H]⁺, 结合碳氢谱和 DEPT 谱确定该化合物分子式为 $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}$ 。经薄层色谱碘化铯钾显色后显单一橙黄色斑点, 说明该化合物为生物碱。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3), δ : 4.66(1H, d, $J=6.0$ Hz, H-6), 3.33(1H, td, $J=3.0, 9.4$ Hz, H-9a), 2.55(1H, qd, $J=2.5, 13.0$ Hz, H-2a), 2.35(1H, m, H-7), 2.32(3H, s, H-NCH₃), 2.31(1H, m, H-2b), 2.25(1H, d, $J=9.4$ Hz, H-9b), 2.18(2H, m, H-10, 12), 2.06(1H, m, H-3a), 1.97(1H, m, H-15), 1.70(1H, dt, $J=4.9, 14.0$ Hz, H-3b), 1.59(2H, m, H-11a, 14a), 1.51(1H, m, H-8a), 1.39(1H, dd, $J=8.0, 12.6$ Hz, H-11b), 1.18(1H, m, H-14b), 0.96(1H, dt, $J=2.0, 12.5$ Hz, H-8b), 0.89(3H, d, $J=6.0$ Hz, H-16)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3), δ : 170.0(C-1), 136.8(C-5), 103.6(C-6), 65.7(C-13), 59.6(C-9), 49.9(C-4), 42.0(C-10), 39.2(C-7), 38.7(C-12), 37.9(C-8), 35.1(C-NCH₃), 34.6(C-14), 33.9(C-11), 29.8(C-2), 24.8(C-15), 22.4(C-16), 19.7(C-3)。以上波谱数据与文献报道 lyconadin D 一致^[23], 故鉴定化合物 **7** 为 lyconadin D。

化合物 **8**: 白色粉末, ESI-MS, m/z , 276.2[M+H]⁺, 结合氢谱, 碳谱和 DEPT 谱确定该化合物分子式为 $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{NO}_2$ 。经薄层色谱检视, 碘化铯钾显色后显红色, 说明该化合物为生物碱。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3), δ : 3.15(1H, qd, $J=1.5, 14.8$ Hz, H-17a), 3.09(1H, ddd, $J=12.0, 6.0, 2.4$ Hz, H-9a), 2.94(1H, dd, $J=12.8, 4.0$ Hz, H-1a), 2.79(2H,

m, H-1b, 9b), 2.63(1H, m, H-6a), 2.37(1H, dd, $J=18.7, 8.7$ Hz, H-6b), 1.04(3H, d, $J=6.5$ Hz, H-16)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3), δ : 218.4(C-5), 213.9(C-13), 60.6(C-12), 58.3(C-4), 56.6(C-9), 55.4(C-19), 53.2(C-1), 46.7(C-14), 40.3(C-7), 40.0(C-6), 36.1(C-11), 31.2(C-8), 29.2(C-3), 28.0(C-15), 25.9(C-10), 22.3(C-16), 19.3(C-2)。以上波谱数据与文献报道石松佛利星碱一致^[9], 故鉴定化合物 **8** 为石松佛利星碱(lycoflexine)。

化合物 **9**: 白色粉末, ESI-MS, m/z , 493.5 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$, 结合氢谱, 碳谱和 DEPT 谱确定该化合物分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_3$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3), δ : 5.29(1H, s, H-15), 3.55(1H, s, H-3), 3.41(1H, dd, $J=6.0, 12.0$ Hz, H-24), 3.21(1H, brt, $J=1.5$ Hz, H-21), 3.20(1H, m, H-24), 2.21(1H, d, $J=12.6$ Hz, H-27a), 1.99(1H, m, H-11a), 1.87(1H, m, H-16a), 1.79(1H, m, H-16b), 1.78(1H, m, H-13), 1.77(2H, m, H-12a, H-20a), 1.69(1H, m, H-2a), 1.65(1H, m, H-27a), 1.44(1H, m, H-20b), 1.43(2H, m, H-19), 1.37(1H, m, H-12b), 1.36(3H, m, H-1a, H-6), 1.32(1H, m, H-5), 1.29(1H, m, H-7a), 1.27(1H, m, H-1b), 1.11(1H, m, H-7b), 1.08(1H, m, H-11b), 1.00(1H, m, H-2b), 0.87(3H, s, H-23), 0.85(1H, dd, $J=1.0, 12.0$ Hz, H-9), 0.80(3H, s, H-30), 0.81(3H, s, H-29), 0.77(3H, s, H-26), 0.72(3H, s, H-25), 0.61(3H, s, H-28)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3), δ : 138.2(C-14), 121.8(C-15), 73.8(C-21), 68.2(C-3), 64.0(C-24), 62.3(C-9), 56.5(C-13), 55.9(C-27), 49.2(C-5), 45.2(C-7), 42.8(C-4), 42.7(C-17), 37.6(C-10), 37.0(C-22), 36.9(C-8), 35.4(C-18), 33.0(C-1), 30.8(C-19), 28.0(C-29), 26.9(C-11), 26.9(C-11), 25.5(C-12), 25.4(C-20), 24.7(C-2), 23.5(C-16), 22.8(C-23), 21.7(C-30), 19.6(C-26), 18.6(C-6), 15.8(C-25), 13.3(C-28)。综合以上数据, 通过与参考文献^[24]的对比并结合二维核磁数据分析, 确定该化合物为石松三醇(lycoclavanol)。

化合物 **10**: 白色粉末, ESI-MS, m/z , 477.7 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$, 结合氢谱, 碳谱和 DEPT 谱确定该化合物分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3), δ : 4.83(2H, s, H-26, 27a), 4.56(2H, s, H-26, 27b), 3.24(2H, d, $J=3.6$ Hz, H-3, 21), 2.40(2H, ddd, $J=3.6, 6.6, 13.24$ Hz, H-7, 15),

1.74(2H, m, H-6, 16a), 1.71(2H, m, H-1, 19a), 1.68(2H, m, H-2, 20a), 1.56(4H, m, H-2, 20b, H-6, 16b), 1.50(4H, s, H-9, 13, H-11, 12a), 1.25(6H, s, H-23, 29), 1.18(2H, m, H-11, 12b), 1.09(2H, d, $J=3.6$ Hz, H-1, 19b), 1.07(2H, d, $J=3.6$ Hz, H-5, 17), 0.76(6H, s, H-24, 30), 0.64(6H, s, H-25, 28)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3), δ : 148.6(C-8, 14), 106.9(C-26, 27), 79.1(C-3, 21), 57.7(C-9, 13), 54.8(C-5, 17), 39.4(C-4, 22), 39.3(C-10, 18), 38.4(C-7, 15), 37.1(C-1, 19), 28.4(C-23, 29), 28.1(C-2, 20), 24.2(C-6, 16), 22.6(C-11, 12), 15.5(C-24, 30), 14.7(C-25, 28)。综合以上数据, 通过与参考文献^[7]的对比并结合二维核磁数据分析, 确定该化合物为 α -芒柄花萜醇(α -onocerin)。

化合物 **11**: 白色粉末, ESI-MS, m/z , 407.3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 结合氢谱, 碳谱和 DEPT 谱确定分子式为 $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_9$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3), δ : 7.63(1H, d, $J=15.6$ Hz, H-7), 7.26(1H, d, $J=2.4$ Hz, H-6), 7.17(2H, m, H-2, H-5), 6.44(1H, d, $J=15.6$ Hz, H-8), 4.96(1H, d, $J=7.8$ Hz, H-1'), 4.23(2H, q, $J=1.6$ Hz, H-10), 3.90(3H, s, H-OCH₃), 3.88(1H, dd, $J=3.0, 13.2$ Hz, H-6'a), 3.70(1H, dd, $J=6.6, 13.2$ Hz, H-6'b), 3.51(1H, m, H-2'), 3.46(1H, m, H-3'), 3.44(1H, m, H-5'), 3.40(1H, m, H-4'), 1.32(3H, t, $J=6.6$ Hz, H-11)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3), δ : 168.9(C-9), 151.0(C-3), 150.1(C-4), 145.9(C-7), 130.5(C-1), 123.5(C-2), 117.5(C-8), 117.4(C-5), 112.4(C-6), 102.2(C-1'), 78.3(C-5'), 77.9(C-3'), 74.8(C-2'), 71.3(C-4'), 63.5(C-6'), 63.5(C-6'), 61.6(C-10), 56.8(C-OCH₃), 14.6(C-11)。综合以上数据, 通过与参考文献^[25]的对比并结合二维核磁数据分析, 确定该化合物为 4-glucosyloxy-3-methoxyphenyltrans-propenoic ethylester。

4 讨论

石松生物碱因其结构复杂多变且生物活性丰富而备受天然产物化学家、有机合成化学家以及药理学家们的广泛关注^[17-20]。本实验采用现代色谱和波谱技术, 对云南产石松进行了系统化学成分研究, 共分离鉴定了 11 个化合物, 包括 1 个新的石松生物碱(**1**)、7 个已知生物碱、2 个三萜类化合物和 1 个酚苷类化合物。新化合物 α -异玉柏碱具有石松定碱型生物碱的 4 个六元环骨架, 和其同

分异构体 α -玉柏碱一样拥有六元内酰胺的结构片段, 但其双键位移到了 $\Delta_{5,6}$ 位而不是后者的 $\Delta_{4,5}$ 位。 α -异玉柏碱是自然界发现的首个具有 $\Delta_{5,6}$ 双键的石松定碱型生物碱。另外, lyconadin D 是首个从石松中分离得到的 fastigiatine-型生物碱。

REFERENCES

- [1] CAI Z, ZHOU Z, LI P, et al. Advances in studies on chemical constituents in *Lycopodium herba* and their pharmacological activities [J]. Chin Tradit Herb Drug(中草药), 2015, 46(2): 197-304.
- [2] 张建胜, 王雪梅, 高云涛, 等. 伸筋草提取物体外清除活性氧自由基及抗氧化作用研究[J]. 云南中医中药杂志, 2008, 29(3): 38-39.
- [3] ZENG Y, YE M, XU H. Experimental studies on anti-inflammation and analgesia pharmacological action of the different extracts from *Lycopodium japonicum* L [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 1999, 10(9): 641-642.
- [4] ZOU G, YOU X, LIU J, et al. Effects of extracts and active constituent from *Lycopodium* on platelet aggregation in rabbit [J]. Asia-pacific Tradit Med(亚太传统医药), 2012, 8(11): 10-11.
- [5] LI M, LIU J, ZHANG Y, et al. Chemical constituents from whole herb of *Lycopodium japonicum* [J]. Chin Tradit Herb Drug(中草药), 2015, 46(1): 33-37.
- [6] SHI L, HE Y. Serrantane Triterpenoid from *Lycopodium japonicum* [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2012, 18(9): 90-92.
- [7] 滕翠翠, 何永志, 冯金磊, 等. 伸筋草的化学成分研究[J]. 中草药, 2010, 41(12): 1960-1963.
- [8] GE Y, SUN Q, WU J, et al. Alkaloids and triterpenoids from *Lycopodium japonicum* [J]. J Hainan Norm Univ Nat Sci(海南师范大学学报-自然科学版), 2016, 29(3): 277-281.
- [9] NIU Y, CUI Y, YANG G, et al. *Lycopodium* alkaloids from *Lycopodium japonicum* [J]. Chin Tradit Herb Drug(中草药), 2015, 46(9): 1269-1276.
- [10] LIU H, WANG Y. Study on chemical constituents of *Lycopodium* alkaloids [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2012, 37(4): 475-477.
- [11] SUN Z H, LI W, TANG G H, et al. A new serratene triterpenoid from *Lycopodium japonicum* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2017, 19(3): 299-303.
- [12] ZHANG Y, YI P, CHEN Y, et al. Lycojaponicuminol A-F: cytotoxic serratene triterpenoids from *Lycopodium japonicum* [J]. Fitoterapia, 2014(96): 95-102.
- [13] YANG Q, ZHU Y, PENG W, et al. A new Lycopodium-type alkaloid from *Lycopodium japonicum* [J]. Nat Prod Res, 2016, 30(19): 2220-2224.
- [14] WU J, WANG H, MA Y, et al. Isolation of a new lycodine alkaloid from *Lycopodium japonicum* [J]. Nat Prod Res, 2015, 29(8): 735-738.
- [15] HE J, WU X D, LIU F, et al. Lycopodium-type alkaloids from *Lycopodium japonicum* [J]. Nat Prod Bioprospect, 2014, 4(4): 213-219.
- [16] WANG X J, LI L, YU S S, et al. Five new fawcettimine-related alkaloids from *Lycopodium japonicum* Thunb [J]. Fitoterapia, 2013(91): 74-81.
- [17] WANG X J, LIU Y B, LI L, et al. Lycojaponicumins D and E: two new alkaloids from *Lycopodium japonicum* [J]. Org Lett, 2012, 14(22): 5688-5691.
- [18] LI B, ZHANG W D, HE Y R, et al. New alkaloids from *Lycopodium japonicum* [J]. Chem Pharm Bull, 2012, 60(11): 1448-1452.
- [19] WANG X J, ZHANG G J, ZHUANG P Y, et al. Lycojaponicumins A-C, three alkaloids with an unprecedented skeleton from *Lycopodium japonicum* [J]. Org Lett, 2012, 14(10): 2614-2617.
- [20] HE J, CHEN X Q, LI M M, et al. Lycojapodine A, a novel alkaloid from *Lycopodium japonicum* [J]. Org Lett, 2009, 11(6): 1397-1400.
- [21] AYER W A, KASITU G C. Some new *Lycopodium* alkaloids [J]. Can J Chem, 1989, 67(6): 1077-1086.
- [22] 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): 1163-1169.
- [23] ISHIUCHI K, KUBOTA T, ISHIYAMA H, et al. Lyconadins D and E, and complanadine E, new *Lycopodium* alkaloids from *Lycopodium complanatum* [J]. Bioorg Med Chem, 2011, 19(2): 749-753.
- [24] SETO H, FURIHATA K, GUANGYI X, et al. Assignments of the ^1H - and ^{13}C -NMR spectra of four *lycopodium* triterpenoids by the application of a new two-dimensional technique, heteronuclear multiple bond connectivity(HMBC) [J]. Agr Bio Chem, 1988, 52(7): 1797-1801.
- [25] PARK H B, LEE K H, KIM K H, et al. Lignans from the roots of *Berberis amurensis* [J]. Nat Prod Sci, 2009, 15(1): 17-21.

收稿日期: 2018-02-22

(本文责编: 李艳芳)