

钩吻生物碱的研究

I. 钩吻素己的结构

杜秀宝* 戴韵华 张常麟 卢树林 刘助国

(中国人民解放军药物化学研究所, 北京)

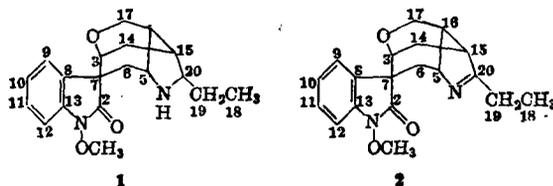
从国产钩吻 (*Gelsemium elegans* Benth.) 中分得两种新生物碱, 分别定名为钩吻素己 (gelsenicine) 和钩吻素庚 (gelsenidine). 钩吻素己的结构经测定证明为 **2**. 此外还获得六种已知生物碱: 钩吻素子、卵、甲、丁、戊和 N_1 -甲氧基钩吻素甲, 后者首次从国产钩吻中获得. 钩吻素丁的分子式修正为 $C_{21}H_{24}N_2O_3$, m. p. 252~254°C (分解).

用小鼠腹腔注射测定各生物碱的毒性, 结果表明钩吻素己是迄今为止国产钩吻中毒性最大的生物碱, $LD_{50}=185 \mu\text{g}/\text{kg}$.

钩吻 (*Gelsemium elegans* Benth.) 别名胡蔓草、大茶药、断肠草、毒根等, 系马钱科胡蔓藤属植物. 据“本草纲目”记载, 钩吻性剧毒, 误食少许即死, 捣汁入膏中可治恶疮、四肢痉挛等疾病. 近年报道钩吻根粉及总生物碱对肝癌具有一定的疗效^[1].

对国产钩吻国内外曾作过一些研究, 先后从不同产地的钩吻根、茎、叶中共分得八种生物碱^[2~4]. 我们从广西产钩吻全株中获得六种已知物: 钩吻素子 (koumine)、钩吻素卵 (kouminidine)、钩吻素甲 (gelsemine)、钩吻素丁 (koumicine)、钩吻素戊 (koumidine) 和 N_1 -甲氧基钩吻素甲 (N_1 -methoxygelsemine)^[5], 后者最初自美洲钩吻 (*Gelsemium sempervirens* Ait.) 中获得. 我们修正钩吻素丁的分子式为 $C_{21}H_{24}N_2O_3$, m. p. 252~254°C (分解). 此外还分得两种新生物碱, 分别定名为钩吻素己 (gelsenicine) 和钩吻素庚 (gelsenidine).

钩吻素己的紫外光谱与钩吻定 (gelsedine, **1**) 的完全相同, 表明两者具有相同的发色团^[6]. 它的红外光谱、 ^1H , ^{13}C 核磁共振谱、质谱表明: 它与 **1** 的芳杂环部分的结构完全相同, 差别仅在于脂环部分.



钩吻素己的质谱分子离子峰为 326, 基峰为 150; 通过高分辨质谱测得基峰的元素组成为 $C_9H_{12}NO$, 与 **1** 的基峰 (152, $C_9H_{14}NO$) 只差两个氢, 表明它与 **1** 的脂环部分可能具

1981年5月28日收到.

* 通讯联系人.

有类似结构。

钩吻素己的红外光谱在指纹区与 **1** 非常相似；在特征区则无 NH 吸收峰，而在 1640 cm^{-1} 处有一中等强度的 C=N 的特征峰。钩吻素己用硼氢化钠在 -10°C 左右还原，得到的主要产物为 **1**。钩吻素己与 **1** 在结构上只差两个氢。由 **1** 的结构可知钩吻素己的 C=N 键或是在 C_5 位，或是在 C_{20} 位。

钩吻素己的 ^1H 核磁共振谱在 $\delta 1.29$ 处的一个三质子三重峰是乙基侧链的甲基质子，次甲基质子在 $\delta 2.11$ 以上，和其它质子重合在一起，而 **1** 中的 C_{18} 甲基和 C_{19} 次甲基质子的化学位移分别为 $\delta 1.00$ 和 1.72 。钩吻素己的乙基质子的 δ 值向低场位移是由于邻近 C=N 双键的去屏蔽作用所引起。因此，C=N 键应在 C_{20} 位，而不在 C_5 位。

钩吻素己的 ^{13}C 核磁共振谱和 ^{13}C 偏共振谱亦说明 C=N 键在 C_{20} 位。和 **1** 相比，由于此双键的影响，使 C_{19} 和 C_{15} 的化学位移分别向低场移 5.7 和 4.8 ppm ，而 C_6 和 C_{16} 的化学位移变化不大。同时钩吻素己和 **1** 的 C_5 的化学位移相差较小，相差较大的是 C_{20} 。从而确定钩吻素己的结构为 **2**。

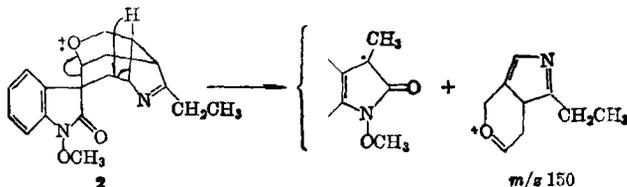
1 和 **2** 的 ^{13}C 核磁共振谱化学位移见表 1。

表 1 钩吻素己(**2**)和钩吻定(**1**)的 ^{13}C NMR δ 值

	2	1 *
C-2	184.2 (s)	175.1 (s)
C-3	74.9 (d)	75.0 (d)
C-5	72.5 (d)	66.0 (d)
C-6	37.7 (t)	34.4 (t)
C-7	55.8 (s)	53.4 (s)
C-8	132.3 (s)	132.4 (s)
C-9	124.7 (d)	125.9 (d)
C-10	123.3 (d)	124.1 (d)
C-11	128.0 (d)	128.5 (d)
C-12	106.5 (d)	107.6 (d)
C-13	138.1 (s)	138.7 (s)
C-14	27.0 (t)	21.9 (t)
C-15	39.8 (d)	35.2 (d)
C-16	42.5 (d)	42.4 (d)
C-17	62.1 (t)	64.3 (t)
C-18	10.0 (q)	12.4 (q)
C-19	25.6 (t)	19.9 (t)
C-20	171.3 (s)	60.0 (s)
OCH ₃	63.2 (q)	63.8 (q)

* 文献值^[7]。 $\delta_{\text{TMS}} = 192.8 - \delta_{\text{OCH}_3}$ 。

2 的质谱裂解方式可解释如下：



钩吻素庚的结构正在测定中。

用小鼠腹腔注射测定除钩吻素卵之外的其余七种生物碱,其毒性表明:钩吻素己是迄今为止国产钩吻中毒性最大的生物碱,其 LD_{50} 为 $185 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。钩吻素庚的毒性亦较强,其氢碘酸盐的 $LD_{50} = 2.83 \text{ mg}/\text{kg}$ 。

实 验

熔点用显微熔点仪测定,温度计未经校正。比旋用国产 301 型圆盘旋光仪测定。紫外光谱用日立 556 型双波长分光光度计测定,除注明者外以 $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ 为溶剂,括号内数值为 $\log \epsilon$ 。红外光谱用 Unicam SP-200 分光光度计测定。 ^1H , ^{13}C 核磁共振谱用 WH 型仪 (90 MHz) 测定,以 ODCl_3 为溶剂,四甲基硅作内标, δ 的单位为 ppm, J 的单位为 Hz。质谱用 JMS-300 型仪测定。

一、总碱的提取及已知物的分离

10 kg 广西产钩吻全株的粉末用 3~4% 盐酸渗漉,渗漉液通过 732* H 型阳离子交换树脂柱,交换完后用蒸馏水洗至中性。树脂于室温晾干,用浓氨水碱化,而后依次用乙醚、氯仿和乙醇提取,分别得 66 g 乙醚提取的总生物碱,少量氯仿及乙醇提取物。

乙醚提取的总碱用中性氧化铝柱层分离,用不同比例的石油醚-氯仿洗脱,最初洗脱下来的为一混合物,然后依次得钩吻素子、甲、丁和戊的粗品,再经丙酮重结晶得纯品。其中钩吻素丁的分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$ 。MS(m/z): 352(M^+ , 100), 321(45), 293(20), 249(52), 182(13), 169(60), 168(44), 156(13), 143(10), 115(10), 77(10)。

此外,从氯仿提取物中获得了钩吻素卵^[4]。

二、 N_1 -甲氧基钩吻素甲、钩吻素己和钩吻素庚的分离

将上述柱层析最初洗脱下来的混合物用硅胶 GF_{254} 进行制备性薄层层析,展开剂为 5:2:2:0.8 石油醚-苯-乙酸乙酯-二乙胺,用 2537 Å 紫外荧光仪检测。收集 A, B, C, D, E, F 六个组分,它们的 R_f 值分别为 0.76, 0.62, 0.53, 0.42, 0.32, 0.17。其中 A 和 B 得量极少,未能结晶。组分 F 为钩吻素子。

1. N_1 -甲氧基钩吻素甲 糖浆状组分 D 用少量丙酮溶解,滴加氢碘酸,调至 pH 3 左右,析出淡黄色固体。滤出固体,用甲醇重结晶三次,得淡黄色 N_1 -甲氧基钩吻素甲的氢碘酸盐针晶, m. p. 258~260.5°C(分解), $[\alpha]_D^{25} - 32^\circ$ (c. 0.74, CH_3OH)。

[分析] $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3 \cdot \text{HI}$ 计算值: C, 52.51; H, 5.25; N, 5.83。实测值: C, 52.83; H, 5.32; N, 5.54。

UV(1N HCl): 209(4.49), 255(3.82), 280(3.28, sh) nm.

IR(KBr): 2650, 2600(N^+H), 1705($\text{C}=\text{O}$), 1610, 1590, 1475(Ar) cm^{-1} 。

MS(m/z): 352(M^+ , 35), 321(45), 309(24), 291(12), 278(14), 254(10), 134(14), 132(10), 128(45, HI^+), 108(100), 72(12)。

用上述方法又制备了它的高氯酸盐, m. p. 257~259°C(分解)。

曾将上述两种盐转化成游离碱,但未获结晶。

2. 钩吻素己(2) 棕色固体组分 E 用丙酮重结晶三次,得无色方棱形结晶 2, m. p.

171~173°C, $[\alpha]_D^{25} - 117^\circ$ (c, 0.576, CH₃Cl).

[分析] C₁₉H₂₃N₂O₃ 计算值: C, 69.91; H, 6.79; N, 8.57. 实测值: C, 70.17; H, 6.86; N, 8.42.

UV: 210(4.28), 257(3.69), 280(3.20, sh)nm.

IR(CH₃Cl): 1720(C=O), 1640(C=N), 1620, 1600, 1490~1480(Ar)cm⁻¹.

MS(*m/z*): 326(M⁺, 60), 295(90), 150(100), 146(16), 130(15), 122(42), 95(21), 82(20), 68(25).

¹H NMR δ 值: 7.54 (1H, dd, *J* = 7.6, 1.17, 9-H), 7.27 (1H, ddd, *J* = 7.6, 1.17, 10-H), 7.06 (1H, ddd, *J* = 7.6, 1.17, 11-H), 6.86 (1H, dd, *J* = 7.6, 1.17, 12-H), 3.95 (s, OCH₃), 1.29 (3H, t, *J* = 7.0, 18-H).

3. 钩吻素庚 按照上述制备 *N*₁-甲氧基钩吻素甲氢碘酸盐的方法, 把组分 C 制备成氢碘酸盐, 再经酸、碱转化处理, 丙酮重结晶, 得钩吻素庚, m. p. 143~145°C, 高分辨质谱测得分子式为 C₂₁H₂₆N₂O₃.

[分析] C₂₁H₂₆N₂O₃ 计算值: C, 71.16; H, 7.39; N, 7.91. 实测值: C, 70.90; H, 7.05; N, 7.87.

UV: 206(4.20), 252(3.57), 280(2.98, sh)nm.

IR(CH₃Cl): 1720(C=O), 1620, 1470, 1450(Ar)cm⁻¹.

MS(*m/z*): 354(M⁺, 70), 323(100), 178(14), 150(10), 136(11), 122(70), 107(15), 70(11), 40(20).

三、2 的氢化还原

1g 2 用 5 mL 甲醇溶解, 冷却到 -10°C 左右, 分次加入 100 mg NaBH₄, 至反应完毕, 然后加入几毫升丙酮. 蒸除溶剂, 残渣经酸、碱处理后用硅胶 GF₂₅₄ 制备性薄层层析, 分得 (a) 和 (b) 两种产物.

产物 (a) 用丙酮处理, 得微量结晶, M⁺ 330, IR 表明有 NH 和 OH 吸收 (3300, 3400 cm⁻¹), C=N, C=O 吸收峰消失, 为两个不饱和键同时被还原的结果.

主产物 (b) 用丙酮重结晶两次, 得片状结晶, m. p. 172~174°C. 元素分析, IR, ¹H NMR 及 MS 与 1 完全一致^[5, 6].

本工作承梁晓天和周维善教授提出宝贵意见, ¹H 核磁共振谱和紫外光谱分别由中国科学院昆明植物研究所和中国人民解放军军事医学科学院代作, 特此致谢.

参 考 文 献

- [1] 广西医学院肿瘤研究小组, 广西卫生 (3), 20(1974).
- [2] T. Q. Chou, C. Pak, H. C. Hou, J. C. Liu, *Chinese J. Physiol.* **5**, 345(1931).
- [3] T. Q. Chou, G. H. Wang, W. C. Cheng, *ibid.* **10**, 79(1936).
- [4] 刘铸晋, 陆仁荣, 朱子清, 王其源, 化学学报 **27**, 47(1961).
- [5] M. Wichtl, A. Nikiforov, S. Snoner, K. Jentzsch, *Monatsh. Chem.* **104**, 87(1973).
- [6] E. Wenkert, J. C. Orr, S. Garratt, J. H. Hansen, B. Wickberg, C. L. Leicht, *J. Org. Chem.* **27**, 4123(1962).
- [7] J. S. Bindra, in "The Alkaloids", ed. by R. H. F. Manske, Vol. 14, p. 86, New York, Academic Press, 1973.

STUDIES ON THE GELSEMIUM ALKALOIDS

I. THE STRUCTURE OF GELSENICINE

DU XIU-BAO* DAI YUN-HUA ZHANG CHANG-LIN LU SHU-LIN LIU ZHU-GUO

(Institute of Medicinal Chemistry of PLA, Beijing)

ABSTRACT

Two new alkaloids, named gelsenicine and gelsenidine respectively, have been isolated from Chinese gelsemium (*Gelsemium elegans* Benth.) by aluminum oxide column chromatography and preparative TLO on silica gel GF₂₅₄. Gelsenicine, C₁₉H₂₂N₂O₃, m. p. 171~173°C, has been identified as **2** through spectroscopic analyses (UV, IR, NMR, MS) and chemical reactions. The structure of gelsenidine, C₂₁H₂₆N₂O₃, m. p. 143~145°C, is being determined.

From this plant, we have also isolated six known alkaloids: koumine, kouminidine, koumicine, koumidine, gelsemine and N₁-methoxygelsemine. The last one was first isolated from *Gelsemium sempervirens* Ait., but its isolation from *Gelsemium elegans* Benth. has not been reported. On the basis of the high resolution mass spectral data the molecular formula of koumicine, previously reported to be C₂₆H₃₀N₂O₃, is now revised to C₂₁H₂₄N₂O₃, m. p. 252~254°C(dec.).

Besides kouminidine the toxicity of the isolated alkaloids has been determined by intraperitoneal injection on mice, it shows that gelsenicine is the most toxic alkaloid found in *Gelsemium elegans* Benth.. Its intraperitoneal LD₅₀ value is 185 μg/kg for mouse.