

川乌氯仿部位的化学成分研究

杨茗¹, 万丽^{1*}, 陈斌², 王明奎²

1. 成都中医药大学, 四川 成都 611137

2. 中国科学院 成都生物研究所, 四川 成都 610041

摘要: **目的** 研究川乌氯仿部位的化学成分。**方法** 通过硅胶、碱性氧化铝柱色谱进行分离纯化, 并根据理化性质和波谱数据鉴定化合物的结构。**结果** 分离得到9个化合物, 分别鉴定为次乌头碱(1)、金色酰胺醇酯(2)、乌头碱(3)、松胞素B₂(4)、宋果灵(5)、新乌头碱(6)、多根乌头碱(7)、北乌碱(8)、附子灵(9)。**结论** 化合物2为首次从乌头属植物中分离得到, 化合物4为首次从植物界中分离得到。

关键词: 乌头; 金色酰胺醇酯; 乌头碱; 松胞素B₂

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2014)03-0223-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2014.03.002

Chemical constituents in chloroform fraction from parent roots of *Aconitum carmichaeli*

YANG Ming¹, WAN Li¹, CHEN Bin², WANG Ming-kui²

1. Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China

2. Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents in chloroform fraction from the parent root of *Aconitum carmichaeli*.

Methods The compounds were isolated by column chromatography (silica gel and alkaline alumina). Their structures were identified on the basis of physicochemical properties and spectroscopic data. **Results** Nine compounds were separated and identified as hypaconitine (1), aurantiamide acetate (2), aconitine (3), cytochalasin B₂ (4), songorine (5), mesaconitine (6), karacoline (7), beiwutine (8), and fuziline (9). **Conclusion** Compound 2 is obtained from plants of *Aconitum* L. for the first time and compound 4 is isolated from plants for the first time.

Key words: *Aconitum carmichaeli* Debx.; aurantiamide acetate; aconitine; cytochalasin B₂

川乌为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 的干燥母根, 始载于《神农本草经》。其味辛、苦, 性大热, 有大毒, 具有祛风除湿、温经止痛的功效^[1], 临床用于治疗风湿寒痹、关节疼痛、心腹冷痛、寒疝作痛及麻醉止痛, 疗效显著。现代研究表明川乌中特征成分二萜生物碱既具有显著的有抗炎、镇痛、抗癌、免疫抑制等药理作用, 也具有很强的神经毒性和心脏毒性^[2]。由于毒效二重性, 二萜生物碱一直备受关注。川乌化学成分复杂, 为了进一步研究川乌毒-效物质基础, 为临床用药提供依据, 本实验对川乌中的生物碱类化学成分进行了

的研究, 从中分离得到9个化合物, 分别鉴定为次乌头碱(1)、金色酰胺醇酯(2)、乌头碱(3)、松胞素B₂(4)、宋果灵(5)、新乌头碱(6)、多根乌头碱(7)、北乌碱(8)、附子灵(9)。化合物2为首次从乌头属植物中分离得到, 化合物4为首次从植物界中分离得到。

1 仪器与材料

Avance 600 核磁共振波谱仪(瑞士 Bruker 公司); Finnigan LCQDECA 电喷雾离子阱质谱仪(美国 Thermo Finnigan 公司); 旋转蒸发器(瑞士 Buchi 公司); FA2104 型电子天平(上海良平仪器仪表有

收稿日期: 2014-01-21

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(2009CB522804)

作者简介: 杨茗, 男, 在读硕士, 研究方向为中药有效成分分析。E-mail: yangming0910@126.com

*通信作者 万丽, 教授, 从事中药有效成分分析研究。E-mail: wanli8801@163.com

限公司); 柱色谱硅胶 (200~300 目)、薄层色谱硅胶 (GF254) 为青岛海洋化工厂生产; 柱色谱碱性氧化铝 (200~300 目) 为上海陆都化学试剂厂生产; 所用试剂均为市售 AR 级产品。

实验药材川乌由四川新荷花中药饮片有限公司提供, 经成都中医药大学中药标本实验室卢先明教授鉴定为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 的干燥母根。

2 提取与分离

川乌粉末 (25 kg) 用 95% 乙醇 (80 L) 渗漉提取, 减压浓缩得浸膏 2.2 kg, 将其分散于 pH 3 的盐酸水溶液 (5 L) 中, 用石油醚 (5 L×3) 萃取, 得石油醚部分 (155 g)。再往酸水中加入氨水调 pH 值至 11, 用氯仿 (5 L×3) 萃取, 得氯仿部位 (270 g)。氯仿部位 (270 g) 经碱性氧化铝 (9 kg) 柱色谱分离, 石油醚 - 醋酸乙酯梯度洗脱 (10:0~0:10), 得到 16 个组分 Fr. A~P。其中 Fr. B (9 g) 经过硅胶柱色谱分离, 石油醚 - 二氯甲烷 - 二乙胺 (100:1~100:10, 每 100 毫升溶剂加 1 mL 二乙胺) 梯度洗脱, 得到 7 个组分 Fr. B1~7, Fr. B3 经石油醚 - 丙酮重结晶得到化合物 1 (3.4 g), Fr. B5 产生絮状物, 经氯仿重结晶得到化合物 2 (10 mg)。Fr. D (5.5 g) 经硅胶柱色谱分离, 石油醚 - 二氯甲烷 - 二乙胺 (100:4~100:30, 每 100 毫升溶剂加 1 mL 二乙胺) 梯度洗脱得到 8 个组分 Fr. D1~8, Fr. D3 经石油醚 - 丙酮重结晶得到化合物 3 (60 mg), Fr. D8 有白色沉淀产生, 沉淀经丙酮重结晶得到化合物 4 (30 mg)。Fr. E (11.2 g) 经石油醚 - 丙酮重结晶得到化合物 5 (5 g)。Fr. G (6.3 g) 经碱性氧化铝柱色谱分离, 石油醚 - 醋酸乙酯 (10:3~10:10) 梯度洗脱得到 4 个组分 Fr. G1~4, Fr. G2 (2.8 g) 经硅胶柱色谱分离, 石油醚 - 醋酸乙酯 - 甲醇 - 二乙胺 (80:20:1:1) 洗脱, 得到化合物 6 (1.1 g)、化合物 7 (800 mg)。Fr. J (13 g) 经碱性氧化铝柱色谱分离, 石油醚 - 醋酸乙酯 (10:5~0:10) 梯度洗脱得到 11 个组分 Fr. J1~11, Fr. J11 经石油醚 - 丙酮重结晶得到化合物 8 (200 mg)。Fr. N (7.8 g) 经碱性氧化铝柱色谱分离, 醋酸乙酯 - 甲醇 (100:0~100:10) 梯度洗脱得到 6 个组分 Fr. N1~6, Fr. N6 经丙酮重结晶得到化合物 9 (700 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 白色晶体 (丙酮 - 石油醚), 分子式为 $C_{33}H_{45}NO_{10}$, ESI-MS m/z : 616 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR

(600 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.03 (2H, d, $J=7.5$ Hz, H-2'、6'), 7.56 (1H, t, $J=7.4$ Hz, H-4'), 7.44 (2H, t, $J=7.7$ Hz, H-3'、5'), 4.87 (1H, d, $J=4.9$ Hz, H-14), 3.72、3.27、3.27、3.15 (3H×4, s, 4×OCH₃), 2.33 (3H, s, N-CH₃), 1.37 (3H, s, COCH₃)。 ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 172.4、21.4 (COCH₃), 166.1、133.2、129.9、129.6、128.6 (COC₆H₅), 92.0 (C-8), 90.2 (C-16), 85.1 (C-1), 83.2 (C-6), 80.2 (C-18), 79.0 (C-14), 78.8 (C-15), 74.2 (C-13), 62.2 (C-17), 61.0 (C-16'), 59.1 (C-18'), 58.0 (C-6'), 56.6 (C-1'), 56.0 (C-19), 50.0 (C-11), 48.3 (C-5), 44.6 (C-7), 43.9 (C-9), 42.6 (C-20), 41.1 (C-10), 39.3 (C-4), 36.3 (C-12), 34.9 (C-3), 26.4 (C-2)。与文献报道^[3]对照数据基本一致, 确定化合物 1 为次乌头碱。

化合物 2: 白色羽状晶体 (氯仿), 分子式为 $C_{27}H_{28}N_2O_4$, ESI-MS m/z : 445 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.64 (2H, br d, $J=7.5$ Hz, H-2'、6'), 7.45 (1H, t, $J=7.3$ Hz, H-4'), 7.36 (2H, t, $J=7.5$ Hz, H-3'、5'), 7.25~7.12 (5H, m, H-2''、3''、4''、5''、6''), 7.07 (3H, m, H-3'''、4'''、5'''), 6.99 (2H, br d, $J=6.8$ Hz, H-2'''、6'''), 6.74 (1H, d, $J=7.4$ Hz, H-8), 6.03 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-5), 4.72 (1H, dd, $J=14.1$ 、7.8 Hz, H-7), 4.28 (1H, m, H-4), 3.86 (1H, dd, $J=11.3$ 、4.9 Hz, H-3a), 3.75 (1H, dd, $J=11.3$ 、4.2 Hz, H-3b), 3.15 (1H, dd, $J=13.6$ 、5.9 Hz, H-10a), 3.00 (1H, dd, $J=13.6$ 、8.4 Hz, H-10b), 2.68 (2H, m, H-11), 1.95 (3H, s, H-1)。 ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 170.8 (C-2), 170.3 (C-6), 167.1 (C-9), 136.7 (C-1'''), 136.6 (C-1''), 133.7 (C-1'), 131.9 (C-4'), 129.3 (C-2'''、6'''), 129.1 (C-2''、6''), 128.7 (C-3'、5'), 128.6 (C-3'''、5'''), 128.6 (C-3''、5''), 127.1 (C-4''), 127.1 (C-2'、6'), 126.7 (C-4'''), 64.6 (C-3), 55.0 (C-7), 49.4 (C-4), 38.5 (C-10), 37.4 (C-11), 20.8 (C-1)。与文献报道^[4]对照数据基本一致, 确定化合物 2 为金色酰胺醇酯, 首次从乌头属植物中分离得到。

化合物 3: 白色晶体 (丙酮 - 石油醚), 分子式为 $C_{34}H_{47}NO_{11}$, ESI-MS m/z : 646 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.05 (2H, d, $J=7.1$ Hz, H-2'、6'), 7.56 (1H, t, $J=7.4$ Hz, H-4'), 7.48 (2H, t, $J=7.7$ Hz, H-3'、5'), 4.89 (1H, d, $J=5.0$ Hz,

H-14), 4.41 (1H, d, $J=2.8$ Hz, H-15), 4.06 (1H, d, $J=6.3$ Hz, H-6), 3.77、3.32、3.28、3.18 (3H \times 4, s, 4 \times OCH₃), 1.41 (3H, s, COCH₃), 1.11 (3H, t, $J=7.1$ Hz, NCH₂CH₃)。¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 172.5、21.5 (COCH₃), 166.1、133.3、129.8、129.6、128.7 (COC₆H₅), 92.0 (C-8), 90.0 (C-16), 83.4 (C-6), 82.4 (C-1), 78.9 (C-14), 78.8 (C-15), 76.8 (C-18), 74.1 (C-13), 71.5 (C-3), 61.2 (C-17), 61.0 (C-16'), 59.1 (C-18'), 58.0 (C-6'), 56.0 (C-1'), 50.0 (C-11), 49.0 (C-20), 47.0 (C-19), 46.8 (C-5), 44.7 (C-7), 44.2 (C-9), 43.1 (C-4), 40.9 (C-10), 35.8 (C-12), 33.6 (C-2), 13.3 (C-21)。与文献报道^[3]对照数据基本一致, 确定化合物 **3** 为乌头碱。

化合物 **4**: 白色晶体 (丙酮), 分子式为 C₂₉H₃₇NO₅, ESI-MS m/z : 502 [M+Na]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.21 (2H, br t, $J=7.3$ Hz, H-3', 5'), 7.14 (1H, br t, $J=7.3$ Hz, H-4'), 7.05 (1H, dd, $J=12.1$ 、3.6 Hz, H-21), 7.03 (2H, m, H-2', 6'), 6.01 (1H, ddd, $J=15.2$ 、10.2、1.4 Hz, H-13), 5.88 (1H, dd, $J=15.7$ 、2.0 Hz, H-22), 5.12 (1H, ddd, $J=15.0$ 、10.9、3.8 Hz, H-14), 4.47 (1H, m, H-20), 3.77 (1H, br d, $J=10.0$ Hz, H-7), 3.47 (1H, s, H-4), 3.42 (1H, dd, $J=9.8$ 、5.4 Hz, H-3), 3.14 (1H, t, $J=10.1$ Hz, H-8), 2.91 (1H, dd, $J=13.0$ 、5.5 Hz, H-10a), 2.60 (1H, dd, $J=13.0$ 、9.9 Hz, H-10b), 1.99 (1H, m, H-15a), 1.86 (1H, m, H-19a), 1.65 (1H, m, H-17a), 1.57 (1H, m, H-15b), 1.54 (3H, s, H-12), 1.49 (1H, m, H-19b), 1.38 (2H, m, H-18), 1.19 (3H, s, H-11), 0.79 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H-24), 0.5 (1H, m, H-17b)。¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 173.2 (C-1), 165.0 (C-23), 153.8 (C-21), 137.4 (C-1'), 135.0 (C-14), 133.7 (C-6), 129.2 (C-2', 6'), 128.3 (C-3', 5'), 127.7 (C-13), 126.5 (C-4'), 125.3 (C-5), 118.2 (C-22), 84.4 (C-9), 70.3 (C-7), 69.3 (C-20), 59.2 (C-3), 49.0 (C-8), 47.9 (C-4), 42.7 (C-10), 42.1 (C-15), 35.5 (C-17), 33.9 (C-19), 33.3 (C-16), 19.9 (C-18), 19.4 (C-24), 16.2 (C-11), 13.3 (C-12)。与文献报道^[5]对照数据基本一致, 确定化合物 **4** 为松胞素 B₂, 首次从植物界中分离得到。

化合物 **5**: 白色晶体 (丙酮 - 石油醚), 分子式为 C₂₂H₃₁NO₃, ESI-MS m/z : 358 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 5.28 (1H, br s, H-17a),

5.18 (1H, br s, H-17b), 4.34 (1H, dt, $J=8.2$ 、2.4 Hz, H-15), 3.83 (1H, dd, $J=15.0$ 、7.7 Hz, H-1), 3.43 (1H, s, H-20), 3.31 (1H, dd, $J=17.3$ 、11.4 Hz, H-11a), 3.07 (1H, d, $J=3.7$ Hz, H-13), 2.56 (1H, m, H-21a), 2.53 (1H, m, H-19a), 2.47 (1H, m, H-6), 2.43 (1H, m, H-21b), 2.33 (1H, dd, $J=17.3$ 、7.1 Hz, H-11b), 2.25 (1H, br d, $J=11.3$ Hz, H-19b), 2.22 (1H, br d, $J=5.3$ Hz, H-7), 2.11 (1H, m, H-2a), 1.91 (1H, m, H-2b), 1.73 (1H, dd, $J=11.4$ 、7.2 Hz, H-9), 1.60 (1H, dt, $J=13.5$ 、4.4 Hz, H-3a), 1.45 (1H, dd, $J=12.5$ 、4.0 Hz, H-14), 1.38 (1H, dd, $J=14.4$ 、5.2 Hz, H-6), 1.34 (1H, m, H-3b), 1.31 (1H, m, H-5), 1.05 (3H, t, $J=7.2$ Hz, H-22), 0.75 (3H, s, H-18)。与文献^[6]对照数据基本一致, 确定化合物 **5** 为宋果灵。

化合物 **6**: 白色晶体 (氯仿 - 石油醚), 分子式为 C₃₃H₄₅NO₁₁, ESI-MS m/z : 632 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 8.04 (2H, m, H-2', 6'), 7.60 (1H, t, $J=7.4$ Hz, H-4'), 7.48 (2H, t, $J=7.7$ Hz, H-3', 5'), 4.89 (1H, d, $J=5.0$ Hz, H-14), 4.48 (1H, dd, $J=5.2$ 、3.0 Hz, H-15), 4.37 (1H, d, $J=2.9$ Hz, OH-15), 3.95 (1H, s, OH-13), 3.76、3.32、3.30、3.18 (3H \times 4, s, 4 \times OCH₃), 2.36 (3H, s, NCH₃), 1.40 (3H, s, COCH₃)。与文献报道^[3]对照数据基本一致, 确定化合物 **6** 为新乌头碱。

化合物 **7**: 白色晶体 (丙酮 - 石油醚), 分子式为 C₂₂H₃₅NO₄, ESI-MS m/z : 378 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 4.21 (1H, d, $J=2.6$ Hz, H-14), 3.70 (1H, br s, H-1), 3.36 (1H, dd, $J=11.6$ 、5.7 Hz, H-16), 3.33 (3H, s, OCH₃), 3.03 (1H, br s, OH), 2.77 (1H, br s, H-17), 2.52 (1H, m, H-20a), 2.43 (1H, m, H-20b), 1.10 (3H, t, $J=7.2$ Hz, H-21), 0.87 (3H, s, H-18)。¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 81.9 (C-16), 75.9 (C-14), 74.2 (C-8), 72.6 (C-1), 63.4 (C-17), 60.3 (C-19), 56.3 (C-16'), 48.8 (C-11), 48.4 (C-20), 46.8 (C-9), 46.7 (C-5), 45.1 (C-7), 44.1 (C-10), 42.3 (C-15), 39.9 (C-13), 32.9 (C-4), 31.4 (C-3), 29.8 (C-2), 28.3 (C-12), 27.6 (C-18), 25.2 (C-6), 13.1 (C-21)。与文献报道^[7]对照数据基本一致, 确定化合物 **7** 为多根乌头碱。

化合物 **8**: 白色晶体 (丙酮 - 石油醚), C₃₃H₄₅NO₁₂, ESI-MS m/z : 648 [M+H]⁺。¹H-NMR

(600 MHz, CDCl₃) δ : 8.06 (1H, d, $J=7.3$ Hz, H-2', 6'), 7.61 (1H, t, $J=7.4$ Hz, H-4'), 7.49 (2H, t, $J=7.7$ Hz, H-3', 5'), 5.40 (1H, d, $J=5.1$ Hz, H-14), 4.52 (1H, dd, $J=5.0, 3.0$ Hz, H-15), 4.34 (1H, d, $J=2.8$ Hz, OH-15), 4.09 (1H, s, OH-13), 3.76, 3.32, 3.31, 3.18 (3H \times 4, s, 4 \times OCH₃), 2.36 (3H, s, NCH₃), 1.42 (3H, s, COCH₃)。¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 172.4、21.3 (COCH₃), 166.2、133.4、129.7、128.7 (COC₆H₅), 89.6 (C-8), 89.4 (C-16), 83.1 (C-1), 79.7 (C-6), 78.4 (C-14), 77.2 (C-15), 76.5 (C-13), 74.6 (C-10), 71.3 (C-3), 62.7 (C-17), 61.1 (C-16'), 59.1 (C-18'), 58.1 (C-6'), 56.0 (C-11), 55.7 (C-1'), 53.8 (C-9), 49.6 (C-19), 46.6 (C-5), 43.2 (C-4), 43.1 (C-7), 42.6 (C-12), 42.1 (C-20), 33.6 (C-2)。¹H-NMR 数据与文献^[8]对照基本一致, ¹³C-NMR 数据与文献^[9]对照基本一致, 确定化合物为北乌碱。确定化合物 **8** 为北乌碱。

化合物 **9**: 白色晶体 (丙酮), 分子式为 C₂₄H₃₉NO₇, ESI-MS m/z : 454 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 4.41 (1H, dd, $J=6.2, 5.2$ Hz, H-15), 4.11 (1H, t, $J=4.2$ Hz, H-14), 3.46、3.36、3.34 (3H \times 4, s, 4 \times OCH₃), 1.12 (3H, t, $J=7.1$ Hz, H-21)。¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 90.4 (C-16), 84.4 (C-6), 80.2 (C-18), 79.1 (C-8), 75.9 (C-14), 72.2 (C-1), 62.6 (C-17), 59.2 (C-18'), 58.1 (C-16'), 57.5 (C-6'), 56.8 (C-19),

49.4 (C-11), 48.5 (C-20), 48.5 (C-7), 46.7 (C-9), 44.1 (C-5), 43.6 (C-13), 40.7 (C-10), 38.1 (C-4), 30.7 (C-12), 30.1 (C-3), 29.5 (C-2)。与文献报道^[10]对照数据基本一致, 确定化合物 **9** 为附子灵。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010: 36.
- [2] 李梦然, 曲 玮, 梁敬钰. 乌头属化学成分和药理作用研究进展 [J]. 海峡药学, 2010, 22(4): 1-6.
- [3] 陈亚玲, 袁小红, 侯大斌. 生附子中二萜生物碱化学成分及其杀虫活性的研究 [J]. 安徽农业科学, 2009, 37(10): 4536-4537.
- [4] 王 韵, 司马硕丹, 李继霞, 等. 飞机草化学成分研究 [J]. 中草药. 2012, 43(12): 2351-2355.
- [5] Kim E L, Li J L, Dang H T, *et al.* Cytotoxic cytochalasins from the endozoic fungus *Phoma sp.* of the giant jellyfish *Nemopilema nomurai* [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22(9): 3126-3129.
- [6] Csupor D, Forgo P, Csedo K, *et al.* C₁₉ and C₂₀ diterpene alkaloids from *Aconitum toxicum* R_{CHB} [J]. *Helv Chim Acta*, 2006, 89(12): 2981-2986.
- [7] 熊 江, 古 昆, 谭宁华. 黑顺片的二萜生物碱成分 [J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(3): 440-443.
- [8] 李正邦, 吕光华, 陈东林, 等. 草乌中生物碱的化学反应 [J]. 天然产物研究与开发, 1997, 9(1): 9-14.
- [9] 丁立生, 陈维新. 天然 C₁₉-二萜生物碱的核磁共振谱 (I) [J]. 天然产物研究与开发, 1989, 1(1): 6-32
- [10] 雷崎方, 孙桂波, 沈寿茂, 等. 附子的化学成分研究 [J]. 中草药, 2013, 44(6): 655-659.