

· 化学成分 ·

四川江油生附子强心成分的研究

徐瞰海, 赵洪峰, 徐雅娟*, 谢生旭, 司云珊, 韩 冬, 徐东铭*

(吉林省中医中药研究院, 吉林 长春 130021)

摘 要: 目的 研究生附子 *Aconitum cammichaeli* Debx. 强心作用的有效成分。方法 用水提取, 色谱分离纯化, 通过各种光谱分析鉴定结构。结果 从水溶性部分分得强心作用成分——附子苷, 从乙醚提取物中分离鉴定了 6 种已知的二萜生物碱: 乌头碱、中乌头碱、尿嘧啶、苯甲酰中乌头原碱、附子灵和次乌头碱。结论 附子苷为一新化合物, 具有明显的强心作用。

关键词: 生附子; 附子苷; 强心作用

中图分类号: R 284. 1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)09-0964-03

Cardiotonic constituents of *Aconitum cammichaeli*

XU Tun-hai, ZHAO Hong-feng, XU Ya-juan, XIE Sheng-xu, SI Yun-shan, HAN Dong, XU Dongming

(Academy of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica of Jilin Province, Changchun 130021, China)

Abstract: **Object** To isolate and identify the cardiotonic constituents in *Aconitum cammichaeli* Debx.

Methods The active constituents were isolated in water soluble part, purified by chromatographic methods, and their structures were identified by physicochemical properties and spectral data. **Results** A new component, fuzinoside, was obtained from the aqueous extract and identified as glycerol-2-O- β D-galactofuranosyl-1 $\rightarrow$ 3 β D-galactofuranoside. Six compounds: aconitine, mesaconitine, uracil, benzoylmesaconitine, fuziline, and hyaconitine were obtained. **Conclusion** Fuzinoside is a new cardiotonic component from *A. cammichaeli*.

Key words: *Aconitum cammichaeli* Debx.; fuzinoside; cardiotonic action

四川江油生附子为毛茛科乌头属植物卡氏乌头 *Aconitum cammichaeli* Debx. 的子根, 为栽培品, 是我国传统医学临床常用的“回阳救逆”要药, 有抗寒和强心作用, 临床用于治疗风寒湿痹及心力衰竭等。多年来, 国内外学者对附子的强心活性成分颇为关注, Kosuge 等^[1]从日本附子 *A. japonicum* Thunb. 中分得去甲乌药碱(higenamine)。Konno 等^[2]从日本产附子 *A. cammichaeli* 中分得的氯化甲基多巴胺(coryneine chloride)。黄龙珍等^[3]合成了去甲乌药碱, 并进行了深入的药理学研究, 表明去甲乌药碱可明显增加离体蛙心、在位兔心和豚鼠衰竭心脏的心肌收缩力, 临床观察也证实去甲乌药碱对缓慢型心率失常有明显的治疗作用^[4]。20 世纪 80 年代陈迪华等^[5]从云南丽江产的附子中分离得到微量成分去甲猪毛菜碱(salsoline), 具有弱的强心活性, 但是未

分得去甲乌药碱。其后多位学者对国产附子进行了深入的化学成分研究^[8-10], 但均未见分得去甲乌药碱的报道。韩公羽等^[6]报道从四川江油生附片中分得尿嘧啶, 具有弱的增强心肌收缩作用。作者发现四川江油生附子的水提取液, 除去生物碱、皂苷和尿嘧啶后, 仍具有明显的强心作用, 从中分得一新的强心成分——附子苷, 附子苷在整体和离体动物实验中均显示有明显的强心作用。本文报道了附子苷和几个已知成分的分离和结构鉴定。

1 材料与仪器

生附子购自四川省江油药材加工厂, 经长春中医药大学邓明鲁教授鉴定为 *A. cammichaeli* Debx.。

熔点用 WC-1 型显微熔点测定仪测定; 红外光谱用 FTS-35 型红外光谱仪测定, KBr 压片; 核磁共振谱用 AM-500 型和 Varian-Unity 400 型

* 收稿日期: 2004-04-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30271583)

作者简介: 徐瞰海(1970-), 男, 长春人, 博士, 主要从事中药和天然药物化学研究。E-mail: thxu@sohu.com

* 通讯作者 Tel: (0431)6816849 E-mail: yajuanxu@yahoo.com

仪测定, TMS 为内标, CDCl_3 或 $\text{C}_6\text{D}_6\text{N}$ 为溶剂; 质谱用 LCQ - 1700 型电喷雾质谱仪测定 (美国 Finnigan MAT LCQ 公司) 和 LDI - 1700 型激光解析飞行时间质谱仪 (美国); 高效液相色谱仪用 Waters E - 600 型色谱仪; 柱色谱和薄层色谱用硅胶均为青岛海洋化工厂产品; 大孔吸附树脂为天津制胶厂产 D - 101 或 AB - 8 型树脂; 试剂均为分析纯。

2 提取与纯化

生附子 (20 kg 干品, 四川江油栽培) 用热水提取, 减压浓缩, 浓缩液用 65% 乙醇沉淀, 滤过除去滤渣, 回收乙醇, 加 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 沉淀, 滤过, 滤液用 Na_2CO_3 调至 $\text{pH} = 10$, 依次用乙醚和氯仿萃取除去生物碱, 水层调至 $\text{pH} = 6$, 用水饱和正丁醇萃取 6 次, 剩下的水溶液过大孔树脂柱, 经硅胶柱色谱分离和 HL - 20 分离, 再经半制备型 HPLC 分离, 用 ODS 柱, 以 CHCl_3 - MeOH 梯度洗脱得到化合物 I (100 mg)。 n -BuOH 萃取所得浸膏经反复的硅胶柱色谱分离, 用 CHCl_3 - CH_3OH (6 : 1, 5 : 1, 2 : 1) 梯度洗脱, 得 A_2 、 B_2 、 C_2 部分, A_2 部分再经硅胶柱色谱分离得化合物 II (60 mg)。乙醚和氯仿萃取部分合并, 用 2% 盐酸处理, 得酸水溶物 A 部分, 酸水液以氯仿萃取得 B 部分, 酸水液中加入 Na_2CO_3 至碱性 ($\text{pH} = 10$), 以氯仿萃取得 C 部分, 水溶液蒸干得 D 部分。A 部分过中性 AlO_3 短柱, 先用石油醚脱脂后, 再用乙醚和甲醇-乙醚 (1 : 50 和 1 : 10) 洗脱分别得 a、b、c 部分, a 和 b 部分合并, 经 AlO_3 短柱色谱分离, 以氯仿洗脱得混合结晶, 再经 HPLC 分离得化合物 III (60 mg)、IV (85 mg)、V (160 mg)。B 部分经中性 AlO_3 柱色谱分离和 HPLC 分离得化合物 VI (160 mg)。C 部分经中性 AlO_3 柱色谱分离和 HPLC 分离得化合物 VII (110 mg)。

3 结构鉴定

化合物 I: 淡黄色粉末, 飞行时间质谱出现 439.1 峰为 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 峰, 表明相对分子质量为 416, 化合物 I 的 ^{13}C -NMR 谱中有 15 个碳信号, DEPT 谱中出现 4 个仲碳信号 (δ 68.0、69.1、63.9、62.6) 和 11 个叔碳信号。在 ^{13}C -NMR 谱中的 δ 108.6、82.3、85.4、83.7、74.8、63.9 可归属为 β 呋喃半乳糖的峰^[7]。 δ 108.9、82.7、78.0、83.1、73.5、62.6 可归属为另一个 β 呋喃半乳糖峰^[7] (表 1), δ 67.9、80.6 和 67.3 为丙三醇的 3 个碳^[7]。化合物 I 的 ^1H -NMR 谱中 δ 5.0 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), 和 5.05 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), 是两个糖的端基质子, ^{13}C -NMR 谱中 δ 108.9、108.6 为 2 个糖的端基碳信号, 说明有 2 个糖

取代, 化合物 I 用 H_2SO_4 封闭水解可以检出 β 半乳糖。丙三醇 C_2 的 ^{13}C -NMR 化学位移原为 76.4, 在化合物 I 中向低场位移至 80.7, 表明 C_2 与 β 半乳糖相连, 发生苷化位移所致, 在化合物 I 的 HMBC 谱中可以看到端基质子 (H_1 , δ 5.00) 与丙三醇的第二个碳 C_2 (δ 80.7) 相关。表明一个呋喃半乳糖连于 C_2 位。另外一个端基质子 (H_2 , δ 5.05) 与呋喃半乳糖的 C_3' (δ 85.4) 有相关, 表明末端糖连接在第一呋喃半乳糖的 C_3' 上。从 2 个端基质子的偶和常数 [$5.0 (J = 7.5 \text{ Hz})$ 和 $5.05 (J = 7.5 \text{ Hz})$] 推测 2 个 β 呋喃半乳糖均为 β 构型, 综上推定化合物 I 为丙三醇 2-O- β -D-呋喃半乳糖 (1 $\rightarrow$ 3)- β -D-呋喃半乳糖苷。命名为附子苷, 化学结构式见图 1。

表 1 化合物 I 的 ^{13}C -NMR 光谱数据

Table 1 ^{13}C -NMR spectral data of compound I

碳位	I	β 甲基-D-呋喃半乳糖苷 ^[7]	β 甲基-D-呋喃半乳糖苷 ^[7]	丙三醇 ^[7]
1	67.9 (CH_2)			66.9
2	80.7 (CH_2)			76.4
3	67.2 (CH)			66.9
1'	108.6 (CH)	109.2		
2'	82.3 (CH)	81.9		
3'	85.4 (CH)	77.8		
4'	83.7 (CH)	84.0		
5'	74.8 (CH)	72.0		
6'	63.9 (CH_2)	63.9		
1''	108.9 (CH)		109.2	
2''	82.7 (CH)		81.9	
3''	78.0 (CH)		77.8	
4''	83.1 (CH)		84.0	
5''	73.5 (CH)		72.0	
6''	62.6 (CH_2)		63.9	
Me		56.1	56.1	

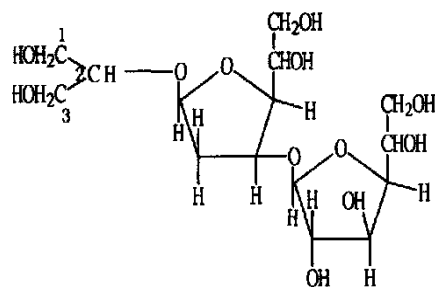


图 1 化合物 I 的化学结构

Fig. 1 Structure of compound I

化合物 II: 白色针状结晶, mp 336~ 338 $^{\circ}\text{C}$ 。MS m/z : 112 (M^+ , 100), ^1H -NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 5.37 (1H, d, $J = 10.4$ Hz), 7.13 (1H, d, $J = 10.4$ Hz) 和 ^{13}C -NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 100.37、142.31、151.16、164.48, 以上数据与文献尿嘧啶的基本一致^[8]。II 的 TLC 的 R_f 值和 HPLC 的保留值与对照品对照也一

致, 确定结晶 II 为尿嘧啶。

化合物 III: 白色结晶, mp 198~ 200 (无水乙醇), ESI-MS m/z : 正离子峰 646.6 ($M+H$), 显示相对分子质量为 645, 与乌头碱 (aconitine) 对照品对比, III 的 R_f 值、IR、ESI-MS 完全一致, 确定 III 为乌头碱。

化合物 IV: 白色粒状结晶, mp 205~ 208。ESI-MS m/z : 正离子峰 632.2 ($M+H$), 显示相对分子质量为 631。IV 的 R_f 值、IR、ESI-MS 和 ^{13}C -NMR (表 2) 与中乌头碱 (mesaconitine) 已知对照品的一致, 确定 IV 为中乌头碱。

化合物 V: 白色粒状结晶, mp 185~ 186。ESI-MS m/z : 正离子峰 616.9 ($M+H$), 显示相对分子质量为 615。V 和次乌头碱 (hypoconitine) 对照品对比, 它们的 R_f 值、IR、ESI-MS 和 ^{13}C -NMR (表 2) 完全一致, 确定 V 为次乌头碱。

表 2 生附子中二萜生物碱的 ^{13}C -NMR

Table 2 ^{13}C -NMR spectral data of diterpene alkaloids of *A. camichaeli*

碳位	III	IV	VI	V	VII
C-1	83.4	85.1	83.3	85.0	72.3
C-2	36.0	26.4	36.0	26.3	29.5
C-3	70.4	34.9	71.2	34.8	30.2
C-4	43.2	39.3	43.6	39.2	38.1
C-5	46.6	48.2	82.5	48.0	44.3
C-6	82.3	83.2	82.5	83.0	84.5
C-7	44.8	44.6	44.4	44.4	48.5
C-8	92.0	92.0	92.0	74.1	79.2
C-9	44.2	43.9	43.9	43.7	46.8
C-10	40.8	41.1	41.0	41.0	40.9
C-11	49.8	50.0	50.1	49.8	49.5
C-12	34.0	36.5	34.2	36.2	30.7
C-13	74.0	74.2	74.2	74.0	43.5
C-14	78.9	79.0	79.0	78.9	85.6
C-15	78.9	79.0	79.0	78.9	78.9
C-16	90.1	90.2	90.2	90.0	90.5
C-17	61.0	62.0	62.3	92.1	62.6
C-18	75.6	80.2	76.4	80.1	80.1
C-19	48.8	56.0	49.6	55.9	57.0
C-1'	55.7	56.6	56.4	56.6	
C-6'	57.9	58.0	58.0	57.9	57.6
C-16'	60.7	61.0	61.1	60.9	58.5
C-18'	58.9	59.1	59.2	59.0	59.1
N-Me (或 C_2H_5)	46.9	42.6	42.5	42.6	48.0
	13.3				13.1
CH_3CO	172.2	172.4	172.5		
	21.3	21.4	21.5		
$C_{65}CO$	165.9	166.1	166.2	166.1	
	129.8	129.9	129.9	129.7	
	129.6 × 2	129.6 × 2	129.7 × 2	129.5 × 2	
	128.6 × 2	128.6 × 2	128.7 × 2	128.7 × 2	
	133.2	133.3	133.4	133.2	

化合物 VI: 无定形粉末, 常法制得盐酸盐, mp 250~ 251.5 (乙醚-甲醇)。IR、 1H -NMR 光谱数据与文献^[9]报道的苯甲酰中乌头原碱的基本一致。VI 的 ^{13}C -NMR 与文献报道的中乌头碱^[11]比较, 除无乙酰基的羰基碳信号 (172.5) 和甲基碳信号 (21.5) 以及 C_8 的化学位移因脱去乙酰基向高场位移外, 与中乌头碱的 ^{13}C -NMR 基本一致 (^{13}C -NMR 见表 2), 推定 VI 为苯甲酰中乌头原碱。

化合物 VII: 白色粉末, mp 208~ 209。IR $\frac{KB}{max}$ cm^{-1} : 3 541 (尖), 3 460 (尖), 3 262 (宽, OH), 1 090, 1 110 (C-O-C)。 1H -NMR 谱 δ 1.18 (3H, t, $J = 7$ Hz, $N-CH_2CH_3$), 3.45, 6.48, 3.57 (各 3H, s, $3 \times OCH_3$), 3.69 (1H, m, C (1)- βH), 4.29 [1H, t, $J = 4.5$ Hz, C (14)- βH], 4.56 [1H, d, $J = 7$ Hz, $C_{15}-\beta H$], 电喷雾质谱 m/z : 454 (M^+)。以上数据与文献^[10]报道附子灵的基本一致, ^{13}C -NMR 与文献^[9]报道附子灵的基本一致 (表 2), 推定 VII 为附子灵。

References

- [1] Kosuge T, Yokora M. Cardioactive principle of *Aconitum japonicum* Thunb. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1976, 24: 176.
- [2] Konno C, Shirasaki M, Hikino H, et al. Cardioactive principle of *Aconitum camichaeli* roots [J]. *Planta Med*, 1979, 35: 150-155.
- [3] Huang L Z, Zhang D Y, Wang C Y, et al. Synthesis of Higenamine [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1981, 16 (12): 931-933.
- [4] Zhou Y P. The pharmacologic effects and toxicity of FU-ZI (*Aconitum camichaeli* Debx.) and its major constituents [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1983, 18(3): 394-397.
- [5] Chen D H, Liang X T. Studies on the constituents of blateral from *Aconitum camichaeli* Debx. (FUZI) I. Isolation and structural determination of salsolinol [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1982, 17(10): 792-794.
- [6] Han G Y, Liang H Q, Zhang W D, et al. Studies on the alkaloids and a new cardiac principle isolated from JIANGYOU FU-ZI (*Aconitum camichaeli* Debx.) [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 1997, 9(3): 30-33.
- [7] Gong Y H. ^{13}C -NMR of Natural Organic Compounds (天然有机化合物的 ^{13}C -NMR 核磁共振化学位移) [M]. Kunming: Yunnan Science and Technology Press, 1986.
- [8] Zhang W D, Han G Y, Liang H Q, et al. Studies on the alkaloid constituents of JIANGYOU FU-ZI (*Aconitum camichaeli*) from Sichuan [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1992, 27(9): 670-673.
- [9] Cheng D H, Li H Y, Song W L, et al. Studies on the active constituents of *Aconitum camichaeli* II. Chemical constituents of processed *A. camichaeli* (Baifupian) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1982, 13(11): 1-4.
- [10] Wang J Z, Han G Y. Studies on alkaloids isolated from JIANGYOU FU-ZI (*Aconitum camichaeli* Debx.) [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1985, 20(1): 71-73.
- [11] Wanf X K, Zhao T F, Lai S, et al. Alkaloids of cultivated *Aconitum camichaeli* I [J]. *Chin Pharm J* (中国药杂志), 1995, 30(12): 716-719.