

• 化学成分 •

高乌头中 1 个新的二萜类生物碱成分

张 娇¹, 白 玮¹, 李玉泽², 张 丽¹, 宋小妹^{1*}

1. 陕西中医药大学药学院, 陕西 咸阳 712046

2. 西北大学生命科学院, 陕西 西安 710069

摘要: 目的 研究高乌头 *Aconitum sinomontanum* 根的化学成分。方法 采用硅胶、葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20、半制备高效液相等色谱技术进行分离纯化, 根据理化性质和波谱方法进行结构鉴定。结果 从高乌头根 80%乙醇提取物中分离得到 5 个化合物, 分别鉴定为 6 β ,7 β ,8 β ,15 α -tetrahydroxy-1 α ,14 α ,16 β ,18 β -tetramethoxy-aconitan-19-en (1)、飞燕草碱 (2)、lepenine (3)、napelline (4)、kirinine B (5)。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为冉乌宁 J, 化合物 2~5 为首次从高乌头中分离得到。关键词: 高乌头; 6 β ,7 β ,8 β ,15 α -tetrahydroxy-1 α ,14 α ,16 β ,18 β -tetramethoxy-aconitan-19-en; 冉乌宁 J; 飞燕草碱; lepenine; napelline; kirinine B

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2018)15-3562-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.15.013

One new diterpenoid alkaloid from roots of *Aconitum sinomontanum*ZHANG Jiao¹, BAI Wei¹, LI Yu-ze², ZHANG Li¹, SONG Xiao-mei¹

1. School of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

2. College of Life Science, Northwest University, Xi'an 710069, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from the roots of *Aconitum sinomontanum*. **Methods** Silica gel, Sephadex LH-20 column chromatography, high performance liquid chromatography, and other chromatographic techniques were used for separation and purification. The structures were elucidated by physiochemical methods and spectral data. **Results** Five compounds were isolated from the 80% ethanol extract in the roots of *A. sinomontanum*, and their structures were identified as 6 β ,7 β ,8 β ,15 α -tetrahydroxy-1 α ,14 α ,16 β ,18 β -tetramethoxy-aconitan-19-en (1), delcosine (2), lepenine (3), napelline (4), and kirinine B (5). **Conclusion** Compound 1 is a new compound named sinomontanum J. Compounds 2—5 are isolated from *A. sinomontanum* for the first time.

Key words: *Aconitum sinomontanum* Nakai; 6 β ,7 β ,8 β ,15 α -tetrahydroxy-1 α ,14 α ,16 β ,18 β -tetramethoxy-aconitan-19-en; sinomontanum J; delcosine; lepenine; napelline; kirinine B

高乌头又名麻布七、麻布袋、麻布口袋、统天袋、碎骨还阳、口袋七、破骨七、蓑衣七等, 为毛茛科植物高乌头 *Aconitum sinomontanum* Nakai 的干燥根, 分布于青海、甘肃、四川、陕西、云南、贵州、河南、湖北、山西和河北等省, 生长于山坡的草地或林下的湿地, 具有祛风除湿、散瘀止痛的功效。其用于风湿腰腿疼痛、跌打损伤、食积腹痛、毒蛇咬伤等症, 为我国一些省市民间常用草药^[1]。早在 20 世纪 90 年代我国研究学者便已经对高乌头

进行了化学成分以及药理活性的相关研究^[2]。研究表明, 高乌头主要含有 C₁₈、C₁₉ 和 C₂₀ 二萜类生物碱^[3], 药理研究表明, C₁₈、C₁₉ 和 C₂₀ 二萜类生物碱具有抗炎、镇痛、抗癌、抗肿瘤、抗癫痫、抗寄生虫和保护心血管等作用^[4-5]。然而目前高乌头的药效物质基础不是十分明确。为进一步开发利用该植物资源, 探索其活性成分, 明确其药效物质基础, 本实验对高乌头中的化学成分进行了研究, 从中分离得到 5 个化合物 (图 1), 分别鉴定为 6 β ,7 β ,8 β ,15 α -

收稿日期: 2018-05-06

基金项目: 陕西省教育厅专项科研计划项目 (320104-203010016)

作者简介: 张 娇 (1994—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向为中草药药效物质基础研究。Tel: 15769102517 E-mail: 1240895992@qq.com

*通信作者 宋小妹, 教授, 硕士生导师, 研究方向为中草药药效物质基础研究。Tel: 13636733632 E-mail: 2051087@sntcm.edu.cn

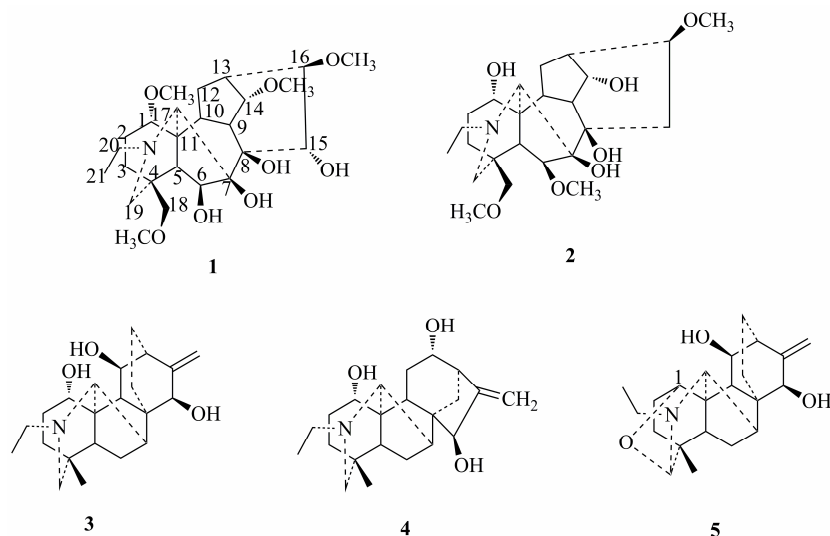


图1 化合物1~5的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—5

tetrahydroxy-1 α ,14 α ,16 β ,18 β -tetramethoxy-aconitan-19-en (1)、飞燕草碱 (delcosine, 2)、lepenine (3)、napelline (4)、kirinines B (5)。其中化合物1为新化合物,命名为冉乌宁J;化合物2~5为首次从高乌头中分离得到。

1 仪器与试剂

Bruker-AVANCE400 型核磁共振仪 (瑞士 Bruker 公司); Waters e2695 高效液相色谱仪 (美国 waters 公司); Agilent Technologies 6550Q-TOF (美国安捷伦公司); ZF-1 型三用紫外线分析仪 (上海金鹏分析仪器有限公司); Sephadex LH-20 (美国 GE 公司); YMC-Pack R&D ODS-A 半制备色谱柱 (250 mm $\times$ 10 mm, 5 μ m); 岛津 LC-6AD 型半制备液相色谱仪 (岛津紫外可见光检测器 SPD-20A, 日本岛津株式会社); 柱色谱硅胶 (100~200 目)、薄层色谱用硅胶 G (青岛海浪硅胶干燥剂有限公司); 预制硅胶板 GF₂₅₄ (青岛海洋化工厂); OB204 电子分析天平 (瑞士 Mettler Toledo 公司); HB10 Digital 型旋转蒸发器 (德国 IKA 公司); KQ-500DE 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); HH-2 型恒温水浴锅 (常州国华电器有限公司); 娃哈哈纯净水; 高效液相色谱甲醇、甲醇、二乙胺、丙酮、三氯甲烷、石油醚 (天津科密欧公司); 显色剂为碘化铋钾溶液。

高乌头药材于2016年7月采自陕西秦岭太白山等地,经陕西中医药大学王继涛高级实验师鉴定为毛茛科 (Ranunculaceae) 乌头属 *Aconitum* L. 高乌

头 *Aconitum sinomontanum* Nakai 的干燥根。标本存放于陕西中医药大学中药标本馆。

2 提取与分离

高乌头干燥根 5.0 kg 粉碎后,用 50 L 80%乙醇加热回流提取3次,每次1.5 h,合并滤液,减压浓缩得浸膏。将浸膏分散于盐酸水溶液 (pH 0.8) 中,用石油醚萃取该水溶液,萃取后水相用氨水调至 pH 10.26,再用三氯甲烷萃取碱水相,三氯甲烷萃取回收溶剂,得到总生物碱 (256 g)。

将总生物碱进行硅胶柱色谱,梯度溶剂体系 (石油醚-丙酮-二乙胺 50:1:0.1 $\rightarrow$ 1:1:0.1) 洗脱,按 500 mL 为1个流分接收,得到4个组分 Fr. 1~4,将 Fr. 4 经硅胶柱色谱分离,以石油醚-丙酮-二乙胺 (30:1:0.1 $\rightarrow$ 1:1:0.1) 洗脱,按 250 mL 为1个流分接收,得到4个组分 Fr. 4.1~4.4。将 Fr. 4.4 中结晶采用丙酮进行重结晶得化合物2 (56 mg)。Fr. 4.3 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离,按 10 mL 为1个流分接收,收集 R_f 值在 0.65~1.00 处显示黄色斑点的流分,再将所收集到的样品用半制备 HPLC 分离,得到化合物1 (18 mg, t_R =50 min) 和3 (30 mg, t_R =65 min),色谱条件为甲醇-0.1% 二乙胺水溶液 (55:45),体积流量 1.0 mL/min, 20 $^{\circ}$ C, 207 nm 紫外检测。Fr. 4.2 用半制备 HPLC 分离,得到化合物4 (22 mg, t_R =60 min) 和5 (25 mg, t_R =73 min),色谱条件为甲醇-0.1% 二乙胺水溶液 (65:35),体积流量 1.0 mL/min, 20 $^{\circ}$ C, 240 nm 紫外检测。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色无定形粉末, UV 365 nm 下有蓝色荧光, 碘化铋钾反应阳性 (红棕色), 表明该化合物可能为生物碱类化合物。HR-ESI-MS 显示 m/z 484.290 5 $[M+H]^+$, 结合 NMR 数据可知分子式为 $C_{25}H_{41}NO_8$ 。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 1.03 (3H, t, $J = 7.1$ Hz), 2.87 (1H, m), 2.89 (1H, m) 显示该化合物具有 1 个 $N-CH_2CH_3$ 基团, δ 3.40 (3H, s), 3.32 (3H, s), 3.31 (3H, s), 3.23 (3H, s) 显示该化合物具有 4 个 $-OCH_3$ 。 ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) 显示 25 个碳共振信号, 结合上述信息推断该化合物为 C_{19} 类二萜生物碱。 δ_C 55.6, 56.4, 58.1 和 59.8 可归属于 4 个甲氧基, δ_C 79.2, 80.7, 81.5 和 86.6 推断与 $-OH$ 相连, δ_C 14.7 和 51.9 归属于 $N-CH_2CH_3$ 的信号。通过

HSQC 谱数据解析, 对其图谱中 1H -NMR 及其对应的 ^{13}C -NMR 的共振信号进行了准确归属 (表 1)。

HMBC 谱中给出相关信号 (表 1), 根据 $-OCH_3$ (δ_H 3.23) 与 C-1 (δ_C 77.4) 相关, $-OCH_3$ (δ_H 3.40) 与 C-14 (δ_C 82.9) 相关, $-OCH_3$ (δ_H 3.31) 与 C-16 (δ_C 89.9) 相关, $-OCH_3$ (δ_H 3.32) 与 C-18 (δ_C 79.2) 相关推断在 1、14、16、18 位分别连有 $-OCH_3$; 根据 H-5 (δ_H 3.05) 与 C-6 (δ_C 81.5) 相关, 推测 C-6 位连有 $-OH$; 根据 H-6 (δ_H 4.34)、H-9 (δ_H 2.51)、H-17 (δ_H 2.80) 和 H-20 (δ_H 2.87) 与 C-7 (δ_C 86.6) 相关, 推测 C-7 位连有 $-OH$; H-9 (δ_H 2.51)、H-17 (δ_H 2.80) 和 H-20 (δ_H 2.87) 与 C-8 (δ_C 80.7) 相关, 推测 C-8 位连有 $-OH$; 根据 H-14 (δ_H 4.19) 和 H-16 (δ_H 3.11) 与 C-15 (δ_C 79.2) 相关, 推断 C-15 位连有 $-OH$ 。因此

表 1 化合物 **1** 的 1H -NMR、 ^{13}C -NMR 和 HMBC 数据
Table 1 1H -NMR, ^{13}C -NMR, and HMBC data of compound **1**

碳位	δ_C	δ_H	HMBC
1	77.4	3.61 (1H, t, $J = 8.6$ Hz)	C-2, C-11, C-17, 1- OCH_3
2	25.7	2.03 (1H, m), 1.93 (1H, m)	C-1, C-3, C-4
3	39.1	1.73 (1H, m), 2.89 (1H, m)	C-1, C-4, C-19
4	38.4		
5	54.3	3.05 (1H, d, $J = 4.7$ Hz)	C-1, C-4, C-6, C-10, C-18, C-19
6	81.5	4.34 (1H, s)	C-1, C-4, C-5, C-7, C-11
7	86.6		
8	80.7		
9	37.2	2.51 (1H, m)	C-7, C-8, C-9, C-10, C-11, C-12
10	49.8	1.71 (1H, m)	C-1, C-11, C-17
11	54.1		
12	31.9	1.75 (1H, m), 1.30 (1H, m)	C-10, C-13, C-14, C-16
13	37.6	1.62 (1H, m)	C-12, C-14, C-16, 16- OCH_3
14	82.9	4.19 (1H, t, $J = 4.8$ Hz)	C-15, C-16, 14- OCH_3 , 16- OCH_3
15	79.2	3.61 (1H, dd, $J = 3.2, 5.9$ Hz)	C-8, C-13, C-16, 16- OCH_3
16	89.9	3.11 (1H, d, $J = 4.7$ Hz)	C-13, C-15, 14- OCH_3 , 16- OCH_3
17	66.7	2.80 (1H, m)	C-1, C-7, C-8, C-10, C-19, C-20
18	79.2	3.26 (1H, d, $J = 8.9$ Hz), 3.69 (1H, d, $J = 8.2$ Hz)	C-3, C-4, C-5, C-19
19	53.6	2.61 (1H, d, $J = 11.9$ Hz), 2.53 (1H, m)	C-4, C-18, C-20
20	51.9	2.87 (2H, m), 2.89 (2H, m)	C-7, C-17, C-19, C-21
21	14.7	1.03 (3H, t, $J = 7.1$ Hz)	C-20
1- OCH_3	55.6	3.32 (3H, s)	C-1
14- OCH_3	58.1	3.40 (3H, s)	C-14
16- OCH_3	56.4	3.31 (5H, s)	C-16
18- OCH_3	59.8	3.32 (6H, s)	C-18

确定化合物 **1** 的平面结构为 6,7,8,15-tetrahydroxy-1,14,16,18-tetramethoxy-aconitan-19-en。与文献报道^[6]中化合物 delphinifoline 的 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据相比较得知 6-OH、7-OH、8-OH 为 β 构型。在 ROSEY 谱图(图 2)中,通过 H-1/H-10、H-10/H-14、H-14/H-9 的相关信号,推断出 H-1、H-9、H-10 和 H-14 为 β 构型以及 1-OCH₃ 和 14-OCH₃ 为 α 构型;通过 H-17/H-16 和 15-OH、H-15/16-OCH₃ 的相关信号,推断 H-16 和 15-OH 为 α 构型以及 16-OCH₃ 为 β 构型;H-18a (δ_{H} 3.26, d, $J=8.9$ Hz), H-18b (δ_{H} 3.69, d, $J=8.2$ Hz) 与文献数据基本一致^[7],推断 18-OCH₃ 为 β 构型。综上所述,最终确定化合物 **1** 的结构为 6 β ,7 β ,8 β ,15 α -tetrahydroxy-1 α ,14 α ,16 β ,18 β -tetramethoxy-aconitan-19-en。查阅 Scifinder 数据库,发现化合物 **1** 为 1 个未见报道的新化合物,命名为冉乌宁 J。

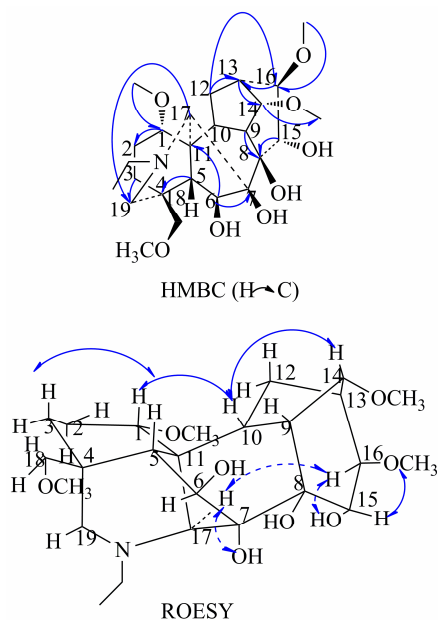


图 2 化合物 **1** 的主要 HMBC、ROSEY 相关信号

Fig. 2 Key HMBC and ROSEY correlations of compound **1**

化合物 **2**: 白色结晶(丙酮), UV 365 nm 下有蓝色荧光, 碘化铯钾反应阳性。ESI-MS m/z : 454.280 7 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.06 (3H, t, $J=7.2$ Hz), 2.81 (1H, m), 2.97 (1H, m) 显示该化合物具有 1 个 $N\text{-CH}_2\text{CH}_3$ 基团, δ 3.33 (3H, s), 3.31 (3H, s), 3.29 (3H, s) 显示该化合物具有 3 个 -OCH₃; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 72.9 (C-1), 27.6 (C-2), 29.5 (C-3), 37.7 (C-4), 44.1 (C-5), 90.2 (C-6), 88.0 (C-7), 78.2 (C-8), 45.3 (C-9), 39.5 (C-10), 49.0 (C-11), 29.6 (C-12), 45.4 (C-13), 75.9 (C-14), 34.6

(C-15), 82.1 (C-16), 66.5 (C-17), 77.5 (C-18), 57.3 (C-19), 50.6 (C-20), 13.9 (C-21), 57.5 (6-OMe), 56.5 (16-OMe), 59.3 (18-OMe)。以上数据与文献报道基本一致^[8], 故鉴定化合物 **2** 为飞燕草碱。

化合物 **3**: 白色无定形粉末, UV 365 nm 下有蓝色荧光, 碘化铯钾反应阳性。ESI-MS m/z : 360.254 2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.03 (3H, t, $J=7.3$ Hz), 2.70 (1H, m), 2.54 (1H, m) 显示该化合物具有 1 个 $N\text{-CH}_2\text{CH}_3$ 基团, δ 5.21 (1H, t, $J=2.0$ Hz), 4.99 (1H, t, $J=2.0$ Hz) 显示该化合物具有 1 个环外双键, δ 0.67 (3H, s) 显示该化合物具有 1 个连接在季碳上的 -CH₃。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) 显示 22 个共振碳信号, 结合上述信息, 推断该化合物为 C₂₀ 型二萜类生物碱。 $^{13}\text{C-NMR}$ δ : 71.1 (C-1), 31.5 (C-2), 38.8 (C-3), 33.9 (C-4), 52.6 (C-5), 23.3 (C-6), 47.0 (C-7), 43.9 (C-8), 54.4 (C-9), 51.2 (C-10), 72.4 (C-11), 42.5 (C-12), 24.8 (C-13), 27.7 (C-14), 78.2 (C-15), 154.8 (C-16), 109.5 (C-17), 26.5 (C-18), 57.3 (C-19), 67.9 (C-20), 50.9 (C-21), 13.9 (C-22)。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **3** 为 lepenine。

化合物 **4**: 白色无定形粉末, UV 365 nm 下有蓝色荧光, 碘化铯钾反应阳性。ESI-MS m/z : 360.243 9 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) 谱图特征信号与化合物 **3** 相似, 可以推断出化合物有 1 个 $N\text{-CH}_2\text{CH}_3$ 基团、1 个环外双键、1 个 -CH₃。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) 谱给出 22 个碳共振信号, 结合上述信息, 推断该化合物为 C₂₀ 型二萜类生物碱。 $^{13}\text{C-NMR}$ δ : 70.1 (C-1), 32.0 (C-2), 36.4 (C-3), 34.2 (C-4), 48.6 (C-5), 23.6 (C-6), 44.1 (C-7), 50.6 (C-8), 36.5 (C-9), 53.1 (C-10), 29.8 (C-11), 76.4 (C-12), 47.4 (C-13), 29.8 (C-14), 77.9 (C-15), 159.4 (C-16), 108.9 (C-17), 26.6 (C-18), 58.7 (C-19), 66.1 (C-20), 51.2 (C-21), 13.6 (C-22)。以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **4** 为 napelline。

化合物 **5**: 白色无定形粉末, UV 365 nm 下有蓝色荧光, 碘化铯钾反应阳性。ESI-MS m/z : 358.238 7 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) 谱图信号与化合物 **3**、**4** 相似, 可以推断出化合物有 1 个 $N\text{-CH}_2\text{CH}_3$ 基团、1 个环外双键、1 个连接在季碳上的 -CH₃。 $^1\text{H-NMR}$ δ : 4.19 (1H, d, $J=5.3$ Hz), 3.67 (1H, s) 与文献报道数据基本一致^[11], 显示该化合物 C₁ 和 C₁₉ 之间由 1 个 O 原子相连接。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100

MHz, CDCl₃) δ : 68.9 (C-1), 24.7 (C-2), 30 (C-3), 37.8 (C-4), 50.2 (C-5), 24.7 (C-6), 47.3 (C-7), 46 (C-8), 51.9 (C-9), 48.7 (C-10), 72.4 (C-11), 47.6 (C-12), 24.7 (C-13), 27.3 (C-14), 77.5 (C-15), 154.4 (C-16), 110.7 (C-17), 18.9 (C-18), 93.3 (C-19), 70.1 (C-20), 49.8 (C-21), 14.4 (C-22)。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **5** 为 kirinine B。

参考文献

- [1] 宋小妹, 刘海静. 太白七药研究与应用 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011.
- [2] 陈兴良, 郝小江. 贵州高乌头的生物碱成分 [J]. 贵州科学, 1991, 9(3): 244-248.
- [3] 乌力吉特古斯, 高艳红, 黄冬梅, 等. 乌头属植物化学成分研究进展 [J]. 中国民族医药杂志, 2008, 14(4): 68-72.
- [4] 李 芸, 苗小楼, 李剑勇, 等. 高乌头的研究进展 [J]. 中药材, 2015, 38(11): 2439-2441.
- [5] 张立军, 戴海蓉, 杨志军, 等. 高乌头炮制前后镇痛抗炎活性部位 HPLC 指纹图谱建立及质量研究 [J]. 中草药, 2017, 48(12): 2442-2447.
- [6] Koji W, Norio K. Diterpenoid and norditerpenoid alkaloids from the roots of *Aconitum yesoense* var. *macroyesoense* [J]. *Helv Chim Acta*, 2009, 92(4): 629-637.
- [7] Wang F, Yue Z, Xie P, *et al.* C19-norditerpenoid alkaloids from *Aconitum szechenyianum* and their effects on LPS-activated NO production [J]. *Molecules*, 2016, 21(9): 1175-1183.
- [8] 杨峻山. 天然有机化合物核磁共振碳谱集 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2011.
- [9] Feng F, Liu J H, Zhao S X. Diterpene alkaloids from *Aconitum kirinense* [J]. *Phytochemistry*, 1998, 49(8): 2557-2559.
- [10] Kiss T, Orvos P, Bánsághi S, *et al.* Identification of diterpene alkaloids from *Aconitum napellus*, subsp. *firmum*, and GIRK channel activities of some *Aconitum*, alkaloids [J]. *Fitoterapia*, 2013, 90(20): 85-93.
- [11] Proksa B, Uhrín D, Batsuren D, *et al.* 11-Acetyl-1, 19-epoxydenudatine: A new alkaloid from *Aconitum barbatum* [J]. *Planta Med*, 1990, 56(5): 461-463.