

麻布七中 1 个新的二萜类生物碱

王 菲^{1,2}, 张 娇², 李玉泽², 张东东², 张化为², 黄文丽², 罗定强^{1*}, 宋小妹^{2*}

1. 陕西省食品药品监督检验研究院, 陕西 西安 710065

2. 陕西中医药大学药学院, 陕西 咸阳 712046

摘 要: 目的 研究麻布七 *Aconitum sinomontanum* 的化学成分。方法 采用硅胶柱色谱、半制备型高效液相色谱进行分离纯化, 通过理化性质及现代波谱技术鉴定化合物的结构。结果 从麻布七的 80%乙醇提取物中分离得到 3 个二萜类生物碱, 分别鉴定为 1 α ,11 α ,15 β -trihydroxylatisine (1)、demethylenedelcorine (2)、denudatine (3)。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为光翠雀碱 B, 化合物 3 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 麻布七; 二萜类生物碱; 光翠雀碱 B; 1 α ,11 α ,15 β -trihydroxylatisine; denudatine

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)03-0626-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.03.003

One new diterpenoid alkaloid from *Aconitum sinomontanum*

WANG Fei^{1,2}, ZHANG Jiao², LI Yu-ze², ZHANG Dong-dong², ZHANG Hua-wei², HUANG Wen-li², LUO Ding-qiang¹, SONG Xiao-mei²

1. Shaanxi Institute for Food and Drug Control, Xi'an 710065, China

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

Abstract: Objective To investigate the diterpenoid alkaloids from the roots of *Aconitum sinomontanum*. **Methods** The 80% ethanol extract from *A. sinomontanum* was isolated and purified by silica and semi-preparative HPLC column. Then the structures of obtained compounds were identified by physicochemical properties and spectral data. **Results** Three compounds were isolated and their structures were identified as 1 α ,11 α ,15 β -trihydroxylatisine (1), demethylenedelcorine (2), and denudatine (3), respectively. **Conclusion** Compound 1 is a new compound named denudatine B, and compound 3 is isolated from this plant for the first time.

Key words: *Aconitum sinomontanum* Nakai.; diterpenoid alkaloids; denudatine B; 1 α ,11 α ,15 β -trihydroxylatisine; denudatine

太白草药中以“七”命名的草药称为太白七药, 其可谓太白山药物资源的一大特色, 也是珍贵的民族文化遗产。麻布七恰好为七药之一。麻布七又名高乌头, 为毛茛科乌头属 *Aconitum* L. 植物高乌头 *Aconitum sinomontanum* Nakai. 的根^[1]。作为一味民间的常用草药, 其药性味苦、辛。具有活血消肿、理气止痛、祛风除湿的功效。目前从麻布七中分离得到 26 个二萜类生物碱^[2], 主要为 C₁₈、C₁₉ 和 C₂₀ 型^[3], 多具有抗炎、镇痛、抗肿瘤、抗癫痫、抗寄生虫和改善心血管功能等生物活性^[4-6]。为了开发利用本植物资源, 对麻布七的化学成分进行了研究,

从三氯甲烷提取部位中分离得到 3 个化合物(图 1), 分别鉴定为 1 α ,11 α ,15 β -trihydroxylatisine (1)、demethylenedelcorine (2)、denudatine (3)。其中化合物 1 为 1 个新的二萜类生物碱, 命名为光翠雀碱 B。化合物 3 为首次从该植物中分离得到。

1 仪器与材料

Burker AVANCE 400 型核磁共振仪(瑞士 Burker 公司); Waters e2695 高效液相色谱仪(PDA, 美国 Waters 公司); ZF-1 三用紫外线分析仪(上海金鹏分析仪器有限公司); OB204 电子分析天平(万分之一, 瑞士 METTLER TOLEDO 公司);

收稿日期: 2020-07-30

基金项目: 陕西中医药大学学科创新团队项目(2019-YL12)

作者简介: 王 菲(1991—), 女, 硕士, 药师, 研究方向为中草药药效物质基础研究。Tel: 18700084275 E-mail: 1097541561@qq.com

*通信作者: 罗定强(1969—), 男, 副主任药师, 主要从事中药质量研究。

宋小妹(1963—), 女, 博士, 教授, 主要从事中药药效物质基础及中药炮制研究。E-mail: 2051087@sntcm.edu.cn

KQ-500DE 数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); 岛津 LC-6AD 半制备液相色谱仪 (检测器 SPD-20A, 日本 Shimadzu 公司); 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); YMC-Pack R&D ODS-A 半制备色谱柱 (250 mm×10 mm, 5 μ m, 日本 YMC 公司); EYELAN-1100 旋转蒸发仪 (日本东京理化器械); HH-2 水浴锅 (常州国华电器有限公司); 高效液相色谱甲醇 (天津市科密欧化学试剂有限公司); 娃哈哈纯净水; 分析甲醇、二乙胺、丙酮、三氯甲烷、石油醚 (天津科密欧公司); 碘化铋钾溶液显色剂。

麻布七药材于 2016 年 7 月采自陕西省太白山, 经陕西中医药大学王继涛教授鉴定为毛茛科乌头属植物高乌头 *A. sinomontanum* Nakai. 的干燥根。标本 (20160727) 存放于陕西中医药大学药学院中药

标本室。

2 提取与分离

称取麻布七药材 5.0 kg, 粉碎, 10 倍量 80% 乙醇 80 $^{\circ}$ C 回流提取 3 次, 每次 1.5 h, 滤过, 合并滤液, 减压浓缩得浸膏。将浸膏分散于盐酸水溶液, 用稀盐酸调至 pH 0.8, 石油醚萃取酸水液, 萃取后水相用氨水调至 pH 10.26, 用三氯甲烷萃取碱水相得到总生物碱。

取总生物碱, 经硅胶柱色谱, 石油醚-丙酮-二乙胺 (50:1:0.1~1:1:0.1) 梯度洗脱, 得到 2 个部分 (Fr. 1~2)。Fr. 1 经硅胶柱色谱 (50:1:0.1~1:1:0.1), 采用丙酮进行重结晶得到化合物 3 (20 mg)。Fr. 2 经硅胶柱色谱 (20:1:0.1~1:1:0.1) 和半制备高效液相色谱 (60% 甲醇) 得到化合物 1 (15 mg) 和 2 (15 mg)。结构见图 1。

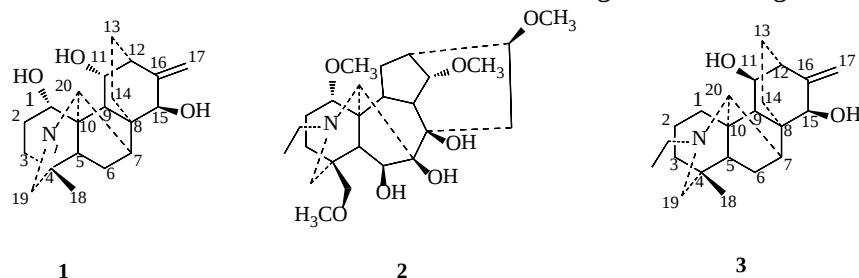


图 1 化合物 1~3 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1-3

化合物 1: 白色无定形粉末, 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。IR (KBr) 有羟基吸收 3451 cm^{-1} 和烯烃 1650 cm^{-1} ; $[\alpha]_D^{24} + 20.6^{\circ}$ (c 0.88, MeOH)。HR-ESI-MS 显示 m/z 330.206 9 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 结合 NMR 数据可知分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{NO}_3$ 。比较化合物 1 与文献报道^[7]的 N(19)-en-denudatine 的 NMR 数据, 除了 C-1、C-2、C-10、C-19 这 4 个位置的碳信号外, 其余的 NMR 光谱特征都基本相似, 化合物 N(19)-en-denudatine 的 C-1 (δ_C 27.2), C-2 (δ_C 21.2), C-10 (δ_C 45.8) 和 C-19 (δ_C 168.6) 的化学位移处于高场, 而化合物 1 的 C-1 (δ_C 71.0), C-2 (δ_C 32.2), C-10 (δ_C 51.8) 和 C-19 (δ_C 172.5) 处于低场 (表 1), 推测化合物 1 有 $\text{N}=\text{CH}$ 和 1-OH 基团。 ^1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) 中 δ_H 1.00 (3H, s) 推测该化合物可能含有叔甲基, δ_H 7.22 (1H, brs) 推测该化合物含有 1 个 $\text{N}=\text{CH}$ 基团, δ_H 5.18 (brs) 和 δ_H 4.93 (brs) 推测该化合物具有 1 个 $\text{C}=\text{CH}$ 基团。 ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) 谱显示有 20 个碳共振信号, 其中

δ_C 154.0 和 109.9 可归属于 $\text{C}=\text{CH}$ 的信号, δ_C 172.5 可归属为 $\text{N}=\text{CH}$ 基信号^[8], δ_C 77.7, 73.8 和 71.0 为 3 个连氧的碳信号。综上信息, 该化合物为 C_{20} 二萜类生物碱^[9]。为了准确确定化合物 1 的结构, 对其进行 ^1H - ^1H COSY、HSQC、HMBC 和 NOESY 的 2D-NMR 实验。在 HMBC 谱图中 (图 2), H-2 (δ_H 1.35, 1.81), H-3 (δ_H 1.35, 1.54) 与 δ_C 71.0 相关, H-1 (δ_H 4.13) 与 C-2 (δ_C 32.2), C-3 (δ_C 35.1) 相关, 可推测 δ_C 71.0 为 C-1 的碳信号, 表明 C-1 与 -OH 相连; H-9 (δ_H 1.39), H-13 (δ_H 2.97) 与 C-11 (δ_C 68.8) 相关, H-11 (δ_H 3.29) 与 C-12 (δ_C 48.1), C-13 (δ_C 26.5) 相关, 推测 11 位含有 -OH; H-7 (δ_H 2.04), H-9 (δ_H 1.39), H-17 (δ_H 5.18, 4.94) 与 C-15 (δ_C 77.7) 相关以及 H-15 (δ_H 4.22) 与 C-14 (δ_C 28.4), C-8 (δ_C 46.3), C-9 (δ_C 56.4), C-16 (δ_C 154.0) 和 C-17 (δ_C 109.9) 相关, 推测 15 位可能含有 1 个 -OH; 进一步确认该化合物与 N(19)-en-denudatine 结构相近, 只是 C-1 位上多连接了 1 个 -OH。因此确定化合物 1 的平面结构为 1,11,15-trihydroxylatisine。从文献报道^[7]的

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	71.0	4.13 (dd, $J = 10.1, 5.2$ Hz)	C-2, C-10, C-11
2	32.2	1.35 (m), 1.81 (m)	C-1, C-3, C-4, C-10
3	35.1	1.35 (m), 1.54 (m)	C-1, C-2, C-4, C-5
4	45.6		
5	49.9	1.33 (m)	C-3, C-4, C-9, C-10, C-18
6	25.4	1.72 (dd, $J = 12.6, 11.3$ Hz), 1.45 (m)	C-7, C-8, C-20
7	49.3	2.04 (m)	C-5, C-6, C-8, C-9, C-15
8	46.3		
9	56.4	1.39 (m)	C-8, C-10, C-14, C-15, C-20
10	51.8		
11	68.8	3.29 (m)	C-12, C-13
12	48.1	2.11 (m)	C-14, C-15
13	26.5	1.23 (m), 2.97 (q, $J = 7.6, 6.0, 13.2$ Hz)	C-8, C-9, C-12
14	28.4	1.14 (m), 2.00 (m)	C-8, C-9, C-13, C-15
15	77.7	4.22 (s)	C-8, C-9, C-14, C-16, C-17
16	154.0		
17	109.9	5.21 (brs), 4.97 (brs)	C-12, C-15, C-16
18	21.5	1.00 (s)	C-3, C-4, C-5
19	172.5	7.22 (s)	C-4, C-18
20	73.8	4.47 (d, $J = 9.0$ Hz)	C-6, C-9, C-10

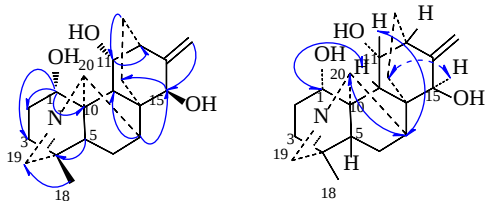


图 2 化合物 1 的 HMBC 和 NOESY 相关信号

Fig. 2 Key HMBC and NOESY correlations of compound 1

N(19)-en-denudatine 数据可知 H-5、H-7、H-9 为 β 构型，再结合化合物 1 的 NOESY 谱图（图 2），通过 H-1/H-9 β 、H-7/H-11/H-13/H-14 β /H-20 的相关信号，推断出 1-OH 和 11-OH 为 α 构型；通过 H-15/H-14 α 的相关信号以及 H-14 (δ_{H} 1.14, 2.00) 与 N(19)-en-denudatine 的 H-14 (δ_{H} 1.21, 1.55) 基本一致，推断出 15-OH 为 β 构型。综上所述，化合物 1 的结构鉴定为 1 α ,11 α ,15 β -trihydroxylatisine，经 Sci-Finder 检索，为 1 个新化合物，命名为光翠雀碱 B。

化合物 2：白色无定形粉末，碘化铋钾反应阳

性（红棕色），表明该化合物可能为生物碱类。ESI-MS 显示 m/z 468.291 4 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.02 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, -N-CH₂CH₃), 2.77 (1H, m, -N-CH₂CH₃), 2.88 (1H, m, -N-CH₂CH₃), 3.40 (3H, s, -OCH₃), 3.35 (3H, s, -OCH₃), 3.34 (3H, s, -OCH₃), 3.32 (3H, s, -OCH₃), 1.51 (1H, s, H-5), 4.50 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-6), 1.60 (1H, dd, $J = 5.8, 16.2$ Hz, H-15a), 2.50 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-19a), 2.65 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-19b); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 83.3 (C-1), 25.2 (C-2), 32.5 (C-3), 37.4 (C-4), 53.7 (C-5), 82.1 (C-6), 54.6 (C-7), 77.0 (C-8), 46.3 (C-9), 44.8 (C-10), 48.4 (C-11), 38.8 (C-12), 77.4 (C-13), 79.5 (C-14), 79.3 (C-15), 88.1 (C-16), 67.3 (C-17), 80.6 (C-18), 55.0 (C-19), 14.7 (-N-CH₂CH₃), 51.8 (-N-CH₂CH₃), 56.6 (1-OCH₃), 58.1 (14-OCH₃), 59.8 (16-OCH₃), 57.8 (16-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[10]，故鉴定化合物 2 为 demethylene-delcorine。

化合物 **3**: 白色无定形粉末, 碘化铋钾反应阳性 (红棕色), 表明该化合物可能为生物碱类。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 1.03 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, $-\text{N-CH}_2\text{CH}_3$), 2.52 (1H, m, $-\text{N-CH}_2\text{CH}_3$), 2.68 (1H, m, $-\text{N-CH}_2\text{CH}_3$), 0.70 (3H, s, 18-CH_3), 5.18 (1H, t, $J = 1.9$ Hz, $-\text{C}=\text{CH}_2$), 4.93 (1H, t, $J = 2.1$ Hz, $-\text{C}=\text{CH}_2$); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 41.7 (C-1), 24.2 (C-2), 29.2 (C-3), 35.3 (C-4), 54.0 (C-5), 21.9 (C-6), 43.6 (C-7), 47.0 (C-8), 54.6 (C-9), 45.2 (C-10), 73.4 (C-11), 48.7 (C-12), 25.8 (C-13), 27.7 (C-14), 79.1 (C-15), 154.7 (C-16), 110.3 (C-17), 27.7 (C-18), 59.0 (C-19), 73.5 (C-20), 14.1 ($-\text{N-CH}_2\text{CH}_3$), 52.1 ($-\text{N-CH}_2\text{CH}_3$)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **3** 为 denudatine。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

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: 264-267.
- [2] 徐斌, 张琴, 郭夫江, 等. 高乌头的研究进展 [J]. 中成药, 2016, 38(4): 882-890.
- [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] Wada K, Ohkoshi E, Morris-Natschke S L, et al. Cytotoxic esterified diterpenoid alkaloid derivatives with increased selectivity against a drug-resistant cancer cell line [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22(1): 249-252.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] Shen Y, Zuo A X, Jiang Z Y, et al. Two new diterpenoid alkaloids from *Aconitum brachypodum* [J]. *Bull Korean Chem Soc*, 2010, 31(11): 3301-3303.
- [8] Díaz J G, Ruiz J G, de La Fuente G. Alkaloids from *Delphinium staphisagria* [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63(8): 1136-1139.
- [9] 徐宁. 二萜生物碱的分离纯化及中药指纹图谱研究 [D]. 大连: 大连理工大学, 2013.
- [10] 原春兰, 王晓玲, 杨得锁. 高乌头中活性物质的杀虫活性 [J]. 现代农药, 2012, 11(3): 40-43.
- [11] 丁立生, 吴凤镔, 陈耀祖. 露蕊乌头的二萜生物碱 [J]. 药学报, 1993, 28(3): 188-191.

[责任编辑 王文倩]