

高乌头中 1 个新的二萜生物碱

张玉莹, 李昕卓, 龚传明, 王雨轩, 张嘉怡, 吴 焱, 李玉泽, 王 薇, 宋小妹, 张东东*

陕西中医药大学药学院, 陕西省太白七药研究与应用重点实验室, 陕西 咸阳 712046

摘要: 目的 研究高乌头 *Aconitum sinomontanum* 根的化学成分及其抗炎活性。方法 采用硅胶、凝胶柱色谱以及半制备液相色谱等方法进行分离纯化, 并结合其理化性质及高分辨质谱 (HR-ESI-MS)、红外光谱 (IR)、核磁共振等波谱技术进行结构解析。采用脂多糖 (lipopolysaccharides, LPS) 诱导的 RAW 264.7 细胞测定分离所得化合物的 NO 抑制活性。结果 从高乌头 80% 乙醇提取物中分离得到 8 个二萜生物碱类化合物, 分别鉴定为 1 α ,9 ξ ,14 α ,22-四羟基-乌头碱 (1)、翠雀灵 (2)、vaginatinine C (3)、acoseptine (4)、acosanine (5)、dehydroacosanine (6)、takaosamine (7)、飞燕草碱 (8)。化合物 1 和 5 抑制 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞中 NO 释放的半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 值分别为 (65.05 ± 4.58)、(78.38 ± 1.26) μ mol/L, 阳性药氨基胍基盐酸盐的 IC₅₀ 值为 (12.62 ± 1.52) μ mol/L。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为高乌头碱 A; 化合物 2~7 首次从该植物中分离得到, 化合物 1 和 5 具有一定的抗炎活性。

关键词: 高乌头; 高乌头碱 A; 1 α ,9 ξ ,14 α ,22-四羟基-乌头碱; 翠雀灵; 飞燕草碱; 抗炎活性

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2025)15-5353-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.15.003

A new diterpenoid alkaloid from *Aconitum sinomontanum*

ZHANG Yuying, LI Xinzhuo, GONG Chuanming, WANG Yuxuan, ZHANG Jiayi, WU Yao, LI Yuze, WANG Wei, SONG Xiaomei, ZHANG Dongdong

Shaanxi Key Laboratory of Research and Application of "Taibai Qi Yao", School of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents and anti-inflammatory activity of roots of *Aconitum sinomontanum*. **Methods** The compounds were isolated and purified by silica gel, gel column chromatography and semi-preparative liquid chromatography, and their structures were elucidated by physicochemical properties and spectroscopic techniques such as high resolution electrospray ionization mass spectrometry (HR-ESI-MS), infrared spectrum (IR), and nuclear magnetic resonance. The NO inhibitory activity of the isolated compounds was determined by lipopolysaccharide (LPS)-induced RAW264.7 cells. **Results** A total of eight compounds were isolated from 80% ethanol extract of *A. sinomontanum*, all of which were diterpenoid alkaloids and identified as 1 α ,9 ξ ,14 α ,22-tetrahydroxy-aconitine (1), delsoline (2), vaginatinine C (3), acoseptine (4), acosanine (5), dehydroacosanine (6), takaosamine (7), delcosine (8). The median inhibition concentration (IC₅₀) values of compounds 1 and 5 for inhibiting NO release in LPS-induced RAW264.7 cells were (65.05 ± 4.58) and (78.38 ± 1.26) μ mol/L, respectively. The IC₅₀ value of the positive drug aminoguanidine hydrochloride was (12.62 ± 1.52) μ mol/L. **Conclusion** Compound 1 was a new compound, named aconsinomtine A, and compounds 2—7 was isolated from the plant for the first time. Compound 1 and 5 possessed certain anti-inflammatory activity.

Key words: *Aconitum sinomontanum* Nakai; aconsinomtine A; 1 α ,9 ξ ,14 α ,22-tetrahydroxy-aconitine; delsoline; delcosine; anti-inflammatory activity

高乌头为毛茛科 (Ranunculaceae) 乌头属 *Aconitum* L. 植物高乌头 *Aconitum sinomontanum* Nakai 的干燥根, 为民间常用草药, 是“太白七药”

中的 1 个重要品种, 又名麻布七、统天袋等。主要分布于我国四川、陕西、甘肃、青海等省, 陕西省内主要产于秦岭巴山地区, 以佛坪、太白地区产量

收稿日期: 2025-05-03

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82104368); 陕西中医药大学创新团队项目 (2023-CXTD-05); 国家中医药管理局重点学科项目 (zyyzdxk-2023202); 陕西中医药大学研究生质量提升工程项目 (CXJSJ202418); 秦创原产业聚集区联合基金项目 (L2024-QCY-ZYYYJJQ-X32)

作者简介: 张玉莹, 在读硕士研究生, 研究方向为中草药药效物质基础研究。E-mail: 2411060561@qq.com

*通信作者: 张东东, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事中药药效物质基础研究。E-mail: zhangnatprod@163.com

较多。其味辛、性温，具有祛风除湿、理气止痛、活血消肿等功效，用于治疗风湿痹痛、关节肿痛、跌打损伤等症^[1-2]。现代研究表明，高乌头的化学成分以二萜类生物碱为主，且具有广泛的药理活性，如抗炎、抗肿瘤、抗心律失常、免疫调节、清热止痛等^[3-6]。为了明确高乌头的化学成分，寻找活性更好的天然产物，本研究对其 80%乙醇提取物的化学成分进行研究，分离鉴定得到 8 个化合物，均为二萜类生物碱，分别为 1 α ,9 ξ ,14 α ,22-四羟基-乌头碱 (1 α ,9 ξ ,14 α ,22-tetrahydroxy-aconitine, **1**)、翠雀灵 (delsoline, **2**)、vaginatinine C (**3**)、acoseprine (**4**)、acosanine (**5**)、dehydroacosanine (**6**)、takaosamine (**7**)、飞燕草碱 (delcosine, **8**)。其中，化合物 **1** 为新化合物，命名为高乌头碱 A，化合物 **2**~**7** 为首次从该植物中分离得到。采用脂多糖 (lipopolysaccharides, LPS) 诱导的 RAW 264.7 细胞测定化合物的 NO 抑制活性，结果表明，化合物 **1** 和 **5** 具有一定的 NO 抑制活性。

1 仪器及材料

LC-6AD 型半制备液相色谱仪 (日本岛津公司, SPD-20A 紫外可见光检测器), Welch Ultimate XB-C₁₈ 半制备色谱柱 (250 mm×10 mm, 5 μ m), AVANCE 型核磁共振波谱仪 (德国 Burkcr 公司), 紫外分析仪 (常州恩培仪器制造有限公司), 万分之一电子分析天平 (美国 Mettler Toledo), RV10 型旋转蒸发仪 (德国 IKA 公司), 柱色谱用硅胶 (200~300 目, 青岛海洋化工有限公司), Sephadex LH-20 型凝胶 (美国 GE 公司), 薄层硅胶板 GF₂₅₄ (烟台江友硅胶开发有限公司), CO₂ 细胞培养箱 (新加坡 ESCO 科技有限公司), 酶标仪 (上海闪谱生物科技有限公司), LPS (美国 Sigma 公司), 氨基胍基盐酸盐 (aminoguanidine hydrochloride, AG, 山东思科捷生物技术有限公司, 批号 HVJWH), CCK-8 试剂盒 (山东思科捷生物技术有限公司), DMEM 高糖培养基 (美国 Hyclone 公司), Griess 试剂盒 (南京建成生物工程研究所), 色谱甲醇、二乙胺 (天津市科密欧化学试剂有限公司), 分析甲醇、二氯甲烷、乙醇、盐酸、氨水、石油醚 (天津市天力化学试剂有限公司), 细胞培养级 DMSO (北京索莱宝科技有限公司)、娃哈哈纯净水。

本实验所用高乌头药材于 2021 年 7 月采自陕西省宝鸡市眉县红河谷境内, 经陕西中医药大学王薇教授鉴定为毛茛科高乌头属植物高乌头 *A.*

sinomontanum Nakai 的干燥根, 标本 (20210711) 保存于陕西中医药大学植物标本馆。

小鼠单核巨噬细胞白血病细胞 (RAW264.7, 中国科学院细胞库)。

2 方法

2.1 提取与分离

高乌头药材 15.0 kg 粉碎后, 用 80%的乙醇, 10 倍量加热回流提取 3 次, 每次 1.5 h, 合并滤液, 减压浓缩得浸膏。浸膏以 6 倍量体积的水溶解, 用稀盐酸调 pH 1, 用石油醚萃取该酸水溶液, 回收石油醚; 萃取后水相用浓氨水调 pH 10, 再用二氯甲烷萃取碱水相, 萃取 6 次, 回收二氯甲烷, 得到总生物碱 520 g。总生物碱经硅胶柱色谱分离, 采用二氯甲烷-甲醇-二乙胺 (100:1:0.1~1:1:0.1) 梯度洗脱, 得到 5 个组分 (K1~K5), 采用硅胶柱色谱、凝胶柱色谱、半制备液相色谱等技术进行分离纯化。

K1 组分经硅胶柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (120:1~60:1) 梯度洗脱, 得到组分 K1-1~K1-4。K1-1 组分经结晶重结晶得到化合物 **2** (16.7 mg)。K1-3 组分经葡聚糖凝胶柱色谱及半制备液相, 甲醇-0.1%二乙胺水 (76:24) 洗脱得到化合物 **1** (t_R =32.5 min, 6.1 mg)。K1-4 组分经葡聚糖凝胶柱色谱及半制备液相, 甲醇-0.1%二乙胺水 (70:30) 洗脱得到化合物 **3** (t_R =24.8 min, 8.1 mg)。

K2 组分经半制备液相, 甲醇-0.1%二乙胺水分离得到 K2-1~K2-4 组分。K2-2 组分经葡聚糖凝胶柱色谱分离得 5 个组分 K2-2-1~K2-2-5。K2-2-5 经半制备液相, 甲醇-0.1%二乙胺水 (61:39) 洗脱得到化合物 **4** (t_R =19.7 min, 7.3 mg)。K2-3 组分经葡聚糖凝胶柱色谱分离得 K2-3-1~K2-3-3 组分。合并 K2-3-2 和 K2-3-3 组分, 经半制备液相, 甲醇-0.1%二乙胺水 (61:39) 洗脱得到化合物 **8** (t_R =23.5 min, 6.1 mg)。K2-4 经葡聚糖凝胶柱色谱分离得 K2-4-1~K2-4-3 组分。K2-4-1 经半制备液相, 甲醇-0.1%二乙胺水 (65:35) 洗脱得到化合物 **6** (t_R =18.6 min, 10.5 mg), K2-4-2 经半制备液相, 甲醇-0.1%二乙胺水 (65:35) 洗脱得到化合物 **5** (t_R =15.6 min, 5.5 mg), K2-4-3 经半制备液相, 甲醇-0.1%二乙胺水 (65:35) 洗脱得到化合物 **7** (t_R =22.4 min, 5.6 mg)。

2.2 巨噬细胞抗炎活性研究

2.2.1 细胞活力实验 取对数生长期的的小鼠单核

巨噬细胞白血病细胞 RAW 264.7, 以 5.0×10^5 个/mL 的密度接种于 96 孔板中, 置 37 °C、5% CO₂ 的细胞培养箱中培养 24 h。设置空白组、对照组和给药组, 每组设置 3 个复孔, 弃去旧培养基, 空白组加入 100 μL 含 0.1% DMSO 的完全培养基 (不含细胞), 对照组加入 100 μL 含 0.1% DMSO 的完全培养基 (含细胞), 给药组加入含化合物 1~8 的完全培养基 100 μL (含细胞)。置培养箱中培养 24 h, 弃去上清液, 每孔加入含 10% CCK-8 基础培养基 100 μL, 置培养箱中孵育 30 min, 于 450 nm 波长下测定吸光度 (A), 根据公式计算存活率 (R)。取细胞活力抑制率不超过 25%, 即细胞存活率不低于 75%, 认为化合物不具细胞毒性。抗炎活性实验在无细胞毒浓度条件下测试。实验重复 3 次。

$$R = (A_{\text{给药}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

2.2.2 抗炎活性实验 采用 LPS 诱导 RAW264.7 细胞炎症模型对分离所得单体化合物进行活性筛选。取对数生长的 RAW264.7 细胞以 5.0×10^5 个/mL 的密度接种于 96 孔板中, 于 37 °C、5% CO₂ 的细胞培养箱中培养 24 h。设置空白组: 加入 100 μL 含 0.1% DMSO 的完全培养基 (不含细胞); 模型组: 加入 100 μL 的含 0.1% DMSO 和 LPS (1 μg/mL) 的完全培养基; AG 阳性对照组: 加入 100 μL 含 AG (12 μmol/L) 和 LPS (1 μg/mL) 的完全培养基; 给药组: 加入 100 μL 含待测化合物 (3.125、6.25、12.5、25、50、100 μmol/L) 和 LPS (1 μg/mL) 的完全培养基。以换液方式加入不同组别的培养基中。诱导 24 h, 吸取 50 μL 细胞上清液和 100 μL Griess 试剂于 96 孔板中反应, 避光, 550 nm 波长

下测各孔 A 值, 根据公式计算化合物对 LPS 诱导 RAW 264.7 细胞产生 NO 的抑制率 (I)。实验重复 3 次。

$$I = 1 - (A_{\text{给药}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{模型}} - A_{\text{空白}})$$

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 1: 白色无定型粉末, 改良碘化铋钾试剂显红棕色, 呈阳性。HR-ESI-MS 显示准分子离子峰为 m/z 378.271 2 $[M+H]^+$, 计算值为 (378.271 4 $[M+H]^+$), 推测分子式为 C₂₂H₃₅NO₄。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 467.7, 2 832.5, 1 409.8, 1 343.2, 1 062.3。化合物 1 的 ¹H 和 ¹³C-NMR 谱图数据见表 1。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) 谱图中显示 1 组特征-NCH₂CH₃ 氢信号 δ_{H} 2.43 (1H, m, H-20a), 2.53 (1H, m, H-20b), 1.11 (3H, t, J = 7.1 Hz, H-21); 1 组特征甲基信号 0.88 (3H, s, H-18); 2 组连氧碳氢信号 3.73 (1H, s, H-1) 和 3.47 (2H, s, H-22)。¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) 谱图中显示共有 22 个碳信号, 1 组特征-NCH₂CH₃ 碳信号 δ_{C} 48.1 (C-20)、13.0 (C-21)。结合 DEPT-135 谱图, 可以看出 δ_{C} 13.0、27.6 为伯碳, δ_{C} 24.9、27.5、29.5、31.0、32.8、33.1、48.1、60.3 和 66.5 为仲碳, δ_{C} 35.7、44.0、46.2、46.7、46.8、63.1 和 72.3 为叔碳, δ_{C} 32.7、48.7、78.4 和 82.7 为季碳。

在二维 NMR 谱图中, 由 HSQC 谱图数据, 将化合物中的氢与其相对应的碳信号进行归属。在 ¹H-¹H COSY 谱图中, H-1/H-2/H-3 相关, H-5/H-6/H-7/H-8 相关, H-8/H-15 相关, H-10/H-12/H-13 相关, H-13/H-15/H-16 相关, H-20/H-21 相关, 再结合 HMBC 谱图信号, H-17 与 C-1/5/7/11 相关, H-18 与

表 1 化合物 1 的 ¹H-和 ¹³C-NMR 数据 (400/100 MHz, CDCl₃)
Table 1 ¹H- and ¹³C-NMR data for compounds 1 (400/100 MHz, CDCl₃)

碳位	δ_{C}	δ_{H}	碳位	δ_{C}	δ_{H}
1	72.3	3.73 (1H, s, H-1)	12	32.8	1.64 (1H, d, J = 6.3 Hz H-12a), 1.68 (1H, m, H-12b)
2	29.5	1.57 (2H, m, H-2)	13	35.7	1.96 (1H, d, J = 6.6 Hz, H-13)
3	31.0	1.73 (1H, m, H-3a), 1.50 (1H, m, H-3b)	14	78.4	—
4	32.7	—	15	33.1	1.79 (1H, m, H-15a), 1.99 (1H, m, H-15b)
5	46.7	1.94 (1H, d, J = 3.1 Hz, H-5)	16	24.9	1.54 (1H, d, J = 6.9 Hz, H-16a), 1.87 (1H, m, H-16b)
6	27.5	2.23 (1H, d, J = 8.6 Hz H-6a), 1.43 (1H, m, H-6b)	17	63.1	3.06 (1H, s, H-17)
7	46.2	2.18 (1H, d, J = 5.4 Hz, H-7)	18	27.6	0.88 (3H, s, H-18)
8	46.8	1.61 (1H, d, J = 5.9 Hz, H-8)	19	60.3	2.05 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-19a), 2.28 (1H, s, H-19b)
9	82.7	—	20	48.1	2.53 (1H, m, H-20a), 2.43 (1H, m, H-20b)
10	44.0	1.81 (1H, m, H-10)	21	13.0	1.11 (3H, t, J = 7.1 Hz, H-21)
11	48.7	—	22	66.5	3.47 (2H, s, H-22)

C-4/5/19 相关, H-22 与 C-9/13/14 相关。因此, 以上数据表明化合物 **1** 的平面结构被鉴定为 1,9,14,22-tetrahydroxy-aconitine。在 NOESY 谱图中, H-10/H-1/H-13/H-22 相关, 表明 1-OH 为 α 构型, 14-OH 为 α 构型。在 C₁₈ 型和 C₁₉ 型二萜生物碱中 C-9 位连 β -OH 的化学位移一般为 δ 77~79^[7], 化合物 **1**

中 C-9 位化学位移为 δ 82.7, 较高乌宁庚^[8]存在差异, 但考虑结构中 C-14 和 C-22 具有羟基取代, 可能会造成 C-9 位化学位移发生变化, 故 9-OH 构型暂无法确定。通过系统文献检索, 发现化合物 **1** 未被报道, 命名为高乌头碱 A (aconsinomtine A), 结构见图 1。

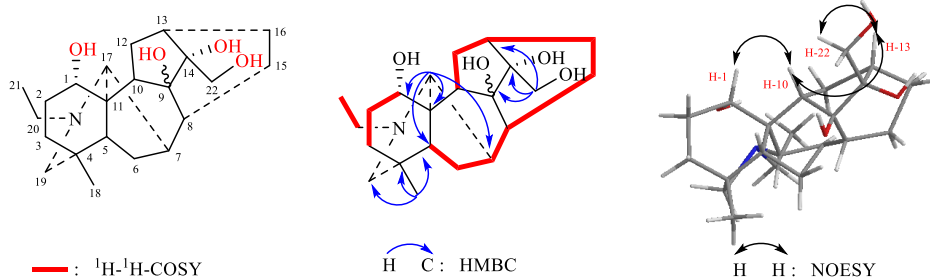


图 1 化合物 **1** 的化学结构和主要的 ¹H-¹H COSY、HMBC 和 NOESY 相关信号

Fig. 1 Chemical structure and key ¹H-¹H COSY, HMBC and NOESY correlations of compound **1**

化合物 **2**: 白色方晶 (甲醇), 改良碘化铋钾试剂显红棕色, 呈阳性。ESI-MS m/z : 468.2 [M+H]⁺, 分子式为 C₂₅H₃₉NO₇。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 3.97 (1H, s, H-6), 3.65 (1H, s, H-1), 3.61 (1H, t, J = 4.3 Hz, H-14), 3.38 (3H, s, OCH₃-14), 3.33 (1H, d, J = 8.9 Hz, H-18a), 3.32 (3H, s, OCH₃-6), 3.31 (3H, s, OCH₃-16), 3.30 (3H, s, OCH₃-18), 3.25 (1H, t, J = 8.5 Hz, H-16), 2.99 (1H, d, J = 8.9 Hz, H-18b), 2.94 (1H, dt, J = 14.7, 7.4 Hz, H-9), 2.92 (2H, m, H-20), 2.80 (1H, s, H-17), 2.58 (1H, dd, J = 14.6, 8.6 Hz, H-15a), 2.42 (2H, m, H-19), 2.41 (1H, m, H-13), 2.03 (1H, m, H-12a), 1.97 (1H, m, H-10), 1.90 (1H, m, H-2a), 1.86 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-5), 1.81 (1H, m, H-12b), 1.71 (1H, dd, J = 14.6, 8.6 Hz, H-15b), 1.63 (1H, m, H-2b), 1.62 (1H, m, H-3a), 1.43 (1H, m, H-3b), 1.08 (3H, t, J = 7.3 Hz, H-21); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 90.4 (C-6), 87.8 (C-7), 84.5 (C-14), 82.9 (C-16), 78.5 (C-8), 77.2 (C-18), 72.6 (C-1), 66.0 (C-17), 59.0 (18-OCH₃), 57.6 (14-OCH₃), 57.3 (6-OCH₃), 57.2 (C-19), 56.2 (16-OCH₃), 50.2 (C-20), 49.3 (C-11), 45.0 (C-5), 43.9 (C-10), 43.3 (C-9), 37.7 (C-4), 37.4 (C-13), 33.4 (C-15), 30.5 (C-12), 29.3 (C-3), 27.2 (C-2), 13.5 (C-21)。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故确定化合物 **2** 为翠雀灵。

化合物 **3**: 白色无定型粉末, 改良碘化铋钾试剂显红棕色, 呈阳性。ESI-MS m/z : 438.2 [M+H]⁺, 分子式为 C₂₄H₃₉NO₆。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ :

4.01 (1H, s, H-6), 3.63 (1H, t, J = 4.8 Hz, H-14), 3.42 (3H, s, OCH₃-14), 3.39 (3H, s, OCH₃-6), 3.36 (3H, s, OCH₃-16), 3.34 (3H, s, OCH₃-8), 3.31 (1H, t, J = 8.4 Hz, H-1), 3.28 (1H, m, H-16), 3.07 (1H, m, H-18a), 2.93 (1H, m, H-18b), 2.91 (1H, m, H-17), 2.80 (2H, m, H-19), 2.62 (1H, dd, J = 6.5, 4.8 Hz, H-9), 2.40 (1H, m, H-4), 2.39 (1H, m, H-13), 2.38 (1H, m, H-10), 2.33 (1H, m, H-2a), 2.08 (1H, m, H-15a), 2.04 (1H, m, H-3a), 1.97 (1H, m, H-15b), 1.89 (1H, d, J = 1.7 Hz, H-5), 1.83 (1H, m, H-12a), 1.82 (1H, m, H-2b), 1.49 (1H, m, H-3b), 1.45 (1H, m, H-12b), 1.10 (3H, t, J = 7.6 Hz, H-20); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 90.4 (C-6), 87.7 (C-7), 84.5 (C-14), 82.9 (C-16), 78.5 (C-8), 72.6 (C-1), 66.0 (C-17), 59.0 (16-OCH₃), 57.6 (14-OCH₃), 57.3 (6-OCH₃), 57.2 (C-18), 56.2 (8-OCH₃), 50.2 (C-19), 49.2 (C-11), 44.9 (C-5), 43.9 (C-10), 43.3 (C-9), 37.6 (C-13), 37.4 (C-4), 33.4 (C-15), 30.5 (C-3), 29.3 (C-2), 27.1 (C-12), 13.5 (C-20)。以上数据与文献报道基本一致^[10], 故确定化合物 **3** 为 vaginatunine C。

化合物 **4**: 白色无定型粉末, 改良碘化铋钾试剂显红棕色, 呈阳性。ESI-MS m/z : 440.2 [M+H]⁺, 分子式为 C₂₃H₃₇NO₇。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 4.30 (1H, s, H-6), 4.21 (1H, t, J = 4.5 Hz, H-14), 3.47 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-1), 3.42 (3H, s, OCH₃-14), 3.33 (3H, s, OCH₃-16), 3.27 (1H, m, H-16), 3.25 (3H, s, OCH₃-1), 3.17 (1H, m, H-18a), 3.07 (1H, m, H-18b), 3.06 (1H, s, H-9), 2.98 (1H, m, H-12a), 2.87 (1H, m, H-

12b), 2.82 (1H, m, H-13), 2.81 (1H, s, H-17), 2.80 (2H, m, H-19), 2.55 (1H, m, H-15a), 2.41 (1H, m, H-4), 1.97 (1H, m, H-15b), 1.88 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-5), 1.86 (1H, m, H-2a), 1.81 (1H, m, H-3a), 1.51 (1H, m, H-2b), 1.47 (1H, m, H-3b), 1.05 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, H-20); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 86.1 (C-7), 82.4 (C-1), 81.5 (C-14), 81.0 (C-16), 80.2 (C-10), 78.8 (C-6), 77.0 (C-8), 66.2 (C-17), 58.3 (14-OCH₃), 57.6 (16-OCH₃), 56.0 (1-OCH₃), 55.3 (C-9), 54.0 (C-11), 52.6 (C-19), 51.5 (C-18), 49.5 (C-5), 38.6 (C-15), 37.9 (C-4), 37.2 (C-12), 36.6 (C-13), 29.5 (C-3), 25.3 (C-2), 14.4 (C-20)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故确定化合物 **4** 为 *acoseptrine*。

化合物 **5**: 白色无定型粉末, 改良碘化铯钾试剂显红棕色, 呈阳性。ESI-MS m/z : 468.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{25}\text{H}_{41}\text{NO}_7$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.22 (1H, s, H-6), 3.62 (1H, t, $J = 4.5$ Hz, H-14), 3.53 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-1), 3.31 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-18a), 3.28 (3H, s, OCH₃-14), 3.26 (1H, t, $J = 8.5$ Hz, H-16), 3.25 (3H, s, OCH₃-18), 3.24 (3H, s, OCH₃-16), 3.15 (3H, s, OCH₃-1), 2.99 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-18b), 2.88 (2H, m, H-20), 2.85 (1H, dt, $J = 14.7, 7.3$ Hz, H-9), 2.79 (1H, s, H-17), 2.60 (1H, dd, $J = 14.5, 8.5$ Hz, H-15a), 2.45 (2H, m, H-19), 2.41 (1H, m, H-13), 2.10 (1H, m, H-12a), 1.97 (1H, m, H-10), 1.89 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-5), 1.86 (1H, m, H-2a), 1.82 (1H, m, H-12b), 1.71 (1H, dd, $J = 14.5, 8.5$ Hz, H-15b), 1.63 (1H, m, H-2b), 1.61 (1H, m, H-3a), 1.42 (1H, m, H-3b), 1.00 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, H-21); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 87.2 (C-7), 84.2 (C-1), 84.1 (C-14), 82.3 (C-16), 80.6 (C-6), 79.1 (C-18), 78.1 (C-8), 65.8 (C-17), 57.8 (18-OCH₃), 56.3 (14-OCH₃), 55.7 (16-OCH₃), 54.1 (1-OCH₃), 53.5 (C-9), 51.7 (C-19), 50.5 (C-20), 48.2 (C-11), 45.6 (C-13), 43.8 (C-5), 38.5 (C-4), 37.1 (C-10), 36.0 (C-15), 31.8 (C-3), 28.9 (C-12), 25.6 (C-2), 14.5 (C-21)。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故确定化合物 **5** 为 *acosanine*。

化合物 **6**: 白色无定型粉末, 改良碘化铯钾试剂显红棕色, 呈阳性。ESI-MS m/z : 466.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{25}\text{H}_{39}\text{NO}_7$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 3.61 (1H, t, $J = 4.4$ Hz, H-14), 3.51 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-1), 3.36 (3H, s, OCH₃-18), 3.33 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-18a), 3.30 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-18b), 3.28 (3H, s, 14-OCH₃), 3.26 (3H, s, 16-OCH₃), 3.23 (1H, m, H-16),

3.15 (3H, s, 1-OCH₃), 2.93 (1H, dt, $J = 14.7, 7.3$ Hz, H-9), 2.91 (2H, m, H-20), 2.83 (1H, s, H-5), 2.81 (1H, s, H-17), 2.58 (1H, dd, $J = 14.5, 8.6$ Hz, H-15a), 2.45 (2H, m, H-19), 2.41 (1H, m, H-13), 2.05 (1H, m, H-10), 2.03 (1H, m, H-12a), 1.89 (1H, m, H-2a), 1.80 (1H, m, H-12b), 1.72 (1H, dd, $J = 14.5, 8.6$ Hz, H-15b), 1.68 (1H, m, H-3a), 1.63 (1H, m, H-2b), 1.54 (1H, m, H-3b), 1.05 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, H-21); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 219.1 (C-6), 84.8 (C-7), 83.9 (C-14), 83.2 (C-1), 81.8 (C-16), 76.3 (C-18), 75.3 (C-8), 63.0 (C-17), 57.8 (18-OCH₃), 57.5 (14-OCH₃), 57.4 (16-OCH₃), 56.4 (1-OCH₃), 56.0 (C-5), 52.5 (C-19), 50.7 (C-20), 45.7 (C-9), 45.6 (C-13), 44.3 (C-11), 38.9 (C-4), 37.5 (C-10), 34.1 (C-15), 32.5 (C-3), 28.4 (C-12), 26.1 (C-2), 14.0 (C-21)。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故确定化合物 **6** 为 *dehydroacosanine*。

化合物 **7**: 白色无定型粉末, 改良碘化铯钾试剂显红棕色, 呈阳性。ESI-MS m/z : 440.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{23}\text{H}_{37}\text{NO}_7$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.09 (1H, q, $J = 4.8$ Hz, H-14), 3.95 (1H, s, H-6), 3.65 (1H, s, H-1), 3.64 (1H, d, $J = 10.4$ Hz, H-18a), 3.43 (3H, s, 16-OCH₃), 3.38 (3H, s, 6-OCH₃), 3.33 (1H, m, H-18b), 3.23 (1H, m, H-16), 2.95 (1H, t, $J = 6.1$ Hz, H-9), 2.82 (2H, m, H-20), 2.78 (1H, s, H-17), 2.61 (1H, dd, $J = 16.3, 9.0$ Hz, H-15a), 2.46 (2H, m, H-19), 2.41 (1H, m, H-13), 2.13 (1H, m, H-12a), 1.96 (1H, m, H-10), 1.93 (1H, m, H-3a), 1.86 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-5), 1.72 (1H, m, H-15b), 1.70 (1H, m, H-3b), 1.67 (1H, m, H-2a), 1.61 (1H, m, H-12b), 1.60 (1H, m, H-2b), 1.10 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, H-21); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 90.0 (C-6), 87.8 (C-7), 82.0 (C-16), 78.0 (C-8), 75.7 (C-14), 72.6 (C-1), 67.1 (C-18), 66.3 (C-17), 57.3 (6-OCH₃), 57.0 (C-19), 56.3 (16-OCH₃), 50.4 (C-20), 48.8 (C-11), 45.2 (C-10), 45.0 (C-5), 43.9 (C-9), 39.3 (C-13), 37.5 (C-4), 34.4 (C-15), 29.3 (C-3), 29.2 (C-12), 27.0 (C-2), 13.6 (C-21)。以上数据与文献报道基本一致^[14], 故确定化合物 **7** 为 *takaosamine*。

化合物 **8**: 片状晶体 (丙酮), 改良碘化铯钾试剂显红棕色, 呈阳性。ESI-MS m/z : 454.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{NO}_7$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.10 (1H, dd, $J = 10.0, 5.1$ Hz, H-14), 4.01 (1H, s, H-6), 3.63 (1H, s, H-1), 3.37 (3H, s, 16-OCH₃), 3.36 (3H, s, 6-OCH₃), 3.32 (3H, s, 18-OCH₃), 3.25 (1H, m, H-

16), 3.24 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-18a), 3.05 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-18b), 2.93 (1H, m, H-9), 2.90 (2H, m, H-20), 2.82 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-17), 2.72 (1H, $J = 15.9$, 9.2 Hz, H-15a), 2.48 (2H, s, H-19), 2.42 (1H, dd, $J = 7.3$, 5.0 Hz, H-13), 2.11 (1H, m, H-12a), 1.97 (1H, m, H-3a), 1.95 (1H, m, H-10), 1.86 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-5), 1.69 (1H, dd, $J = 15.9$, 5.8 Hz, H-15b), 1.64 (1H, m, H-3b), 1.62 (1H, m, H-12b), 1.60 (1H, m, H-2a), 1.49 (1H, m, H-2b), 1.09 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, H-21); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 90.2 (C-6), 88.0 (C-7), 82.1 (C-16), 78.2 (C-8), 77.4 (C-18), 75.9 (C-14), 72.8 (C-1), 66.5 (C-17), 59.2 (18- OCH_3), 57.5 (6- OCH_3), 57.2 (C-19), 56.5 (16- OCH_3), 50.6 (C-20), 49.0 (C-11), 45.4 (C-9), 45.3 (C-13), 44.1 (C-5), 39.5 (C-10), 37.7 (C-4), 34.6 (C-15), 29.5 (C-12), 29.4 (C-2), 27.6 (C-3), 13.8 (C-21)。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故确定化合物 **8** 为飞燕草碱。

3.2 抗炎活性测试

3.2.1 RAW264.7 细胞活力 采用 CCK-8 实验检测化合物 **1~8** 对 RAW264.7 细胞活力的影响, 结果表明, 化合物 **1~8** 在 100 $\mu\text{mol/L}$ 下无细胞毒性(细胞活力 $\geq 75\%$)。

3.2.2 化合物抑制 RAW264.7 细胞释放 NO 活性 采用 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞炎症模型对化合物 **1~8** 的抗炎活性进行评价, 结果表明, 化合物 **1** 和 **5** 对 NO 释放具有一定的抑制作用, 其半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC_{50}) 值分别为 (65.05 $\pm$ 4.58)、(78.38 $\pm$ 1.26) $\mu\text{mol/L}$, 阳性药氨基胍基盐酸盐的 IC_{50} 值为 (12.62 $\pm$ 1.52) $\mu\text{mol/L}$ 。

4 讨论

本研究对高乌头 80%乙醇提取物的化学成分进行了系统分离与鉴定, 共分离鉴定了 8 个化合物, 其中化合物 **1** 为新化合物; 化合物 **2~7** 首次从该植物中分离得到, 进一步丰富了高乌头药材的化学成分。化合物 **1** 中 9-OH 构型暂无法确定, 后续可采用合适的溶剂, 培养单晶, 利用单晶衍射确定构型, 或采用计算 NMR 的方式, 明确其构型。对分离所得化合物进行抗炎活性测试, 其中化合物 **1** 和 **5** 具有较弱的抗炎活性, 其余均未表现出抗炎活性。由于该植物在传统上被广泛用于治疗各种疾病, 故后续可对分离得到的化合物进行其他生物活性研

究, 为高乌头的开发利用提供科学依据。

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] 陕西省革命委员会卫生局商业局. 陕西中草药 [M]. 北京: 科学出版社, 1971: 836-839.
- [3] 王菲, 张娇, 李玉泽, 等. 麻布七中 1 个新的二萜类生物碱 [J]. 中草药, 2021, 52(3): 626-629.
- [4] 刘辰旺, 李鑫, 丁超, 等. 麻布七的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 陕西中医药大学学报, 2022, 45(5): 16-22.
- [5] 陈文治, 何向军. 高乌甲素用于儿童发热的临床疗效 [J]. 中国医院药学杂志, 2008, 28(7): 562-563.
- [6] Liang Y, Wu J L, Li X, et al. Anti-cancer and anti-inflammatory new vakognavine-type alkaloid from the roots of *Aconitum carmichaelii* [J]. *Tetrahedron Lett*, 2016, 57(52): 5881-5884.
- [7] 尹田鹏, 罗智慧, 蔡乐, 等. 天然 C_{19} -二萜生物碱的研究进展及其核磁共振波谱特征 [J]. 波谱学杂志, 2019, 36(1): 113-126.
- [8] 彭崇胜, 陈东林, 陈巧鸿, 等. 高乌头根中新的二萜生物碱 [J]. 有机化学, 2005, 25(10): 1235-1239.
- [9] Joshi B S, Desai H K, Pelletier S W, et al. Crystal and molecular structure of delsoline [J]. *J Crystallogr Spectrosc Res*, 1992, 22(4): 477-483.
- [10] Li J, Chang H, Zhao W Y, et al. New alkaloids from *Aconitum vaginatum* [J]. *Helv Chim Acta*, 2014, 97(5): 689-693.
- [11] Sayed H M, Desai H K, Ross S A, et al. New diterpenoid alkaloids from the roots of *Aconitum septentrionale*: Isolation by an ion exchange method [J]. *J Nat Prod*, 1992, 55(11): 1595-1606.
- [12] Shakirov R, Telezhenetskaya M V, Bessonova I A, et al. Alkaloids, plants, structure, properties [J]. *Chem Nat Compd*, 1996, 32(2): 216-334.
- [13] Zinurova E G, Khakimova T V, Spirikhin L V, et al. Alkaloids of *Aconitum septentrionale* Seeds [J]. *Chem Nat Compd*, 2000, 36(4): 387-389.
- [14] 郑曦孜, 简锡贤, 陈东林, 等. 峨嵋翠雀花中生物碱成份的再研究 [J]. 华西药学杂志, 2002, 17(6): 403-405.
- [15] Hohmann J, Forgo P, Hajdú Z, et al. Norditerpenoid alkaloids from *Consolida orientalis* and complete ^1H and ^{13}C NMR signal assignments of some lycoctonine-type alkaloids [J]. *J Nat Prod*, 2002, 65(7): 1069-1072.

[责任编辑 王文倩]