

白喉乌头的化学成分研究^Δ

汪芳^{1*}, 赵军², 赵翡翠³, 聂继红^{3#} (1. 新疆医科大学中医学院, 乌鲁木齐 830011; 2. 新疆维吾尔自治区药物研究所/维吾尔药重点实验室, 乌鲁木齐 830004; 3. 新疆医科大学附属中医医院药学部, 乌鲁木齐 830000)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)09-1233-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.09.28

摘要 目的: 研究白喉乌头的化学成分。方法: 采用硅胶、Sephadex LH-20 等色谱技术分离纯化白喉乌头中的化学成分, 根据波谱数据和理化性质进行结构鉴定。结果与结论: 共鉴定出了 5 个化合物, 分别为 Delvestidine(1)、高乌甲素(2)、*N*-去乙酰高乌甲素(3)、氨基酰牛扁碱(4)、冉乌碱(5)。其中, 化合物 1、5 为首次从白喉乌头中获得。

关键词 白喉乌头; 生物碱; 化学成分

Study on the Chemical Constituents of *Aconitum leucostomum*

WANG Fang¹, ZHAO Jun², ZHAO Fei-cui³, NIE Ji-hong³ (1. College of TCM, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China; 2. Xinjiang Institute of Materia Medica/Xinjiang Key Laboratory for Uyghur Medicines, Urumqi 830004, China; 3. Dept. of Pharmacy, Affiliated Chinese Traditional Medicine Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the chemical constituents of *Aconitum leucostomum*. METHODS: The chemical constituents of *A. leucostomum* were isolated and purified by silica gel and Sephadex LH-20 chromatography, etc.. The structures were identified according to spectral data and physicochemical properties. RESULTS & CONCLUSION: A total of 5 compounds were identified, including delvestidine (1), lappaconitine (2), *N*-deacetylase lappaconitine (3), anthranoyllycoctonine (4), ranaconitine (5). Compound 1 and 5 are isolated from this plant for the first time.

KEYWORDS *Aconitum leucostomum*; Alkaloids; Chemical constituents

controlled trial[J]. *JAMA Neurol*, 2013, 70(8):981.

[27] Creagan ET, Moertel CG, O'Fallon JR, et al. Failure of high-dose vitamin C (ascorbic acid) therapy to benefit patients with advanced cancer: a controlled trial[J]. *N Engl J Med*, 1979, 301(13):687.

[28] Mouly S, Mahe I, Knellwolf AL, et al. Effects of the addition of high-dose vitamin C to polyethylene glycol solution for colonic cleansing: a pilot study in healthy volunteers[J]. *Curr Ther Res Clin Exp*, 2005, 66(6):486.

[29] Micallef J, Attarian S, Dubourg O, et al. Effect of ascorbic acid in patients with Charcot-Marie-Tooth disease type 1A: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial[J]. *Lancet Neurol*, 2009, 8(12):1103.

[30] Brody S, Preut R, Schommer K, et al. A randomized controlled trial of high dose ascorbic acid for reduction of blood pressure, cortisol, and subjective responses to psychological stress[J]. *Psychopharmacology*, 2002, 159(3):319.

[31] Campbell GD, Steinberg MH, Bower JD. Letter: ascorbic acid-induced hemolysis in G-6-PD deficiency[J]. *Ann Intern Med*, 1975, 82(6):810.

[32] Rees DC, Kelsey H, Richards JD. Acute haemolysis induced by high dose ascorbic acid in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency[J]. *BMJ*, 1993, 306(6881):841.

[33] Mehta JB, Singhal SB, Mehta BC. Ascorbic-acid-induced haemolysis in G-6-PD deficiency[J]. *Lancet*, 1990, 336(8720):944.

[34] Lawton JM, Conway LT, Crosson JT, et al. Acute oxalate nephropathy after massive ascorbic acid administration[J]. *Arch Intern Med*, 1985, 145(5):950.

[35] Wong K, Thomson C, Bailey RR, et al. Acute oxalate nephropathy after a massive intravenous dose of vitamin C[J]. *Aust N Z J Med*, 1994, 24(4):410.

[36] McAllister CJ, Scowden EB, Dewberry FL, et al. Renal failure secondary to massive infusion of vitamin C[J]. *Jama*, 1984, 252(13):1684.

[37] Bromley J, Hughes BG, Leong DC, et al. Life-threatening interaction between complementary medicines: cyanide toxicity following ingestion of amygdalin and vitamin C[J]. *Ann Pharmacother*, 2005, 39(9):1566.

Δ 基金项目: 国家自然科学基金(No.81160498)

* 硕士研究生。研究方向: 中药复方制剂的开发。E-mail: wfang9009@163.com

通信作者: 教授, 主任药师, 硕士生导师。研究方向: 新药研发。电话: 0991-5810646。E-mail: xjnjh411@163.com

(收稿日期: 2014-11-26 修回日期: 2015-01-30)

(编辑: 申琳琳)

白喉乌头 *Aconitum leucostomum* Worosch. 为毛茛科乌头属的多年生草本植物, 主要分布于甘肃、新疆以及东北地区^[1]。该药材根部供药用, 其性味辛、苦, 大热, 有毒, 具祛风散寒、消肿止痛、通经活络之功, 一般用于风寒湿痹等疾患的治疗, 收载于《哈萨克药志》等医药文献中^[2]。此外, 白喉乌头在草场上广泛生长, 在严重危害牲畜生产与健康的同时, 也会严重降低草地的品质和质量, 继而制约畜牧业生产。若能将这种具有显著药用价值的植物进行了规范性利用与开发, 将有利于牧区经济发展。为此, 本研究对白喉乌头根进行了系统的化学成分研究。

1 材料

1.1 仪器

INOVA-600 和 400 型超导核磁共振仪(美国 VARIAN 公司); WHF-203B 暗箱式紫外分析仪(上海精科实业有限公司)。

1.2 试剂

硅胶(200~300 目, 青岛海洋化工); Sephadex LH-20 凝胶(Amersham Pharmacia Biotech AB 公司); 硅胶 G(青岛海洋化工); 所用试剂均为分析纯。

1.3 药材

白喉乌头于 2012 年采自新疆伊犁州尼勒克县, 经新疆维吾尔自治区中医院李永和教授鉴定为白喉乌头 *A. leucostomum* Worosch. 的干燥根。样品保存于新疆维吾尔自治区中医院药研室。

2 方法与结果

2.1 提取与分离

取白喉乌头根药材 10.0 kg, 粉碎, 过 20 目筛, 用 95% 乙醇冷浸提取, 提取液经薄膜蒸发浓缩后以 2% HCl 混悬, 石油醚萃取脱脂; 剩余水液用氨水调 pH 至 4, 用二氯甲烷萃取, 合并二氯甲烷萃取液, 得 pH 为 4 的部位; 水层用氨水调 pH 至 8, 用二氯甲烷萃取, 合并二氯甲烷萃取液, 得 pH 为 8 的部位; 水层用 10% NaOH 调 pH 至 11, 用二氯甲烷萃取, 得 pH 为 11 的部位; 水层再用饱和正丁醇萃取, 得正丁醇部位。将上述不同部位分别经反复硅胶、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱、结合重结晶等方式进行分离。其中, pH 为 4 的部位经硅胶(200~300 目)柱, 用石油醚-乙酸乙酯-二乙胺(10:1:0.5~5:5:0.5, V/V/V)梯度洗脱: 用石油醚-乙酸乙酯-二乙胺(10:1:0.5, V/V/V)洗脱的第 4~9 组分合并后经硅胶 H 柱、用石油醚-乙酸乙酯-二乙胺(20:1:0.5, V/V/V)洗脱得化合物 1(748.0 mg); 用石油醚-乙酸乙酯-二乙胺(9:1:0.5, V/V/V)洗脱的第 2~8 组分中得到化合物 2(18.887 8 g), 第 11~16 组分合并后经 ODS 反相硅胶柱, 用甲醇-水(7:3, V/V)洗脱得到化合物 3(8.037 3 g); 用石油醚-乙酸乙酯-二乙胺(8:2:0.5, V/V/V)洗脱的第 10~14 组分合并后经硅胶(200~300 目)柱、石油醚-乙酸乙酯-二乙胺(7:3:0.5, V/V/V)洗脱的第 4~8 组分得化合物 5(300 mg)。取 pH 为 8 的部位经硅胶(200~300 目)柱、用石油醚-乙酸乙酯-二乙胺

(10:1:0.5~5:5:0.5, V/V/V)梯度洗脱: 由石油醚-乙酸乙酯-二乙胺(8:2:0.5, V/V/V)洗脱的第 11~15 组分合并后, 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱、用石油醚-三氯甲烷-甲醇(5:5:1, V/V/V)洗脱纯化得化合物 4(315.3 mg)。pH 为 11 的部位与正丁醇部位待进一步分离。

2.2 结构鉴定

化合物 1: 白色粉末, 碘化铯钾反应呈阳性。分子式: $C_{33}H_{48}N_2O_8$ 。¹H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 1.07 (3H, t, $J=36.8$ Hz, N— CH_2CH_3), 2.70 (1H, s, H-17), 3.23, 3.35, 3.37, 3.46, 3.47 (各 3H, s, —OCH₃), 3.67 (1H, s, 14- β H), 5.73 (1H, s, —NH₂), 6.65 (1H, t, $J=15.6$ Hz, Ar-H), 7.82 (1H, d, $J=8$ Hz, Ar-H)。¹³C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 14.85 (C-22), 25.59 (C-2), 27.92 (C-12), 28.04 (C-15), 31.89 (C-3), 37.70 (C-4), 37.97 (C-13), 0.48 (C-5), 46.71 (C-10), 47.55 (C-11), 51.81 (C-21), 51.92 (C-9), 53.27 (C-19), 54.36 (C-8'), 55.60 (C-1'), 56.42 (C-16'), 57.65 (C-14'), 59.81 (C-6'), 66.24 (C-17), 69.51 (C-18), 80.71 (C-8), 82.81 (C-16), 83.11 (C-14), 83.43 (C-1), 90.11 (C-7), 91.37 (C-6), 10.76 (C-1''), 116.25 (C-5''), 116.72 (C-3''), 131.08 (C-6''), 134.12 (C-4''), 150.58 (C-2''), 167.96 (C=O)。以上数据与文献^[3]中的 Delvestidine 基本一致, ¹³C 核磁共振谱化学位移基本一致, 故确定该化合物为 Delvestidine。

化合物 2: 白色方晶, 碘化铯钾反应呈阳性。熔点 (mp) 208~210 °C。分子式: $C_{32}H_{44}N_2O_8$ 。¹H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 1.13 (3H, t, $J=6.8$ Hz, N— CH_2CH_3), 2.23 (3H, s, —COCH₃), 3.32 (6H, s, —OCH₃×2), 3.42 (3H, s, —OCH₃), 7.03 (1H, td, $J_1=1.2$ Hz, $J_2=8.4$ Hz, H-5'', Ar-H), 7.50 (1H, td, $J_1=1.6$ Hz, $J_2=8.4$ Hz, H-4'', Ar-H), 7.93 (1H, dd, $J_1=8$ Hz, $J_2=1.2$ Hz, H-3'', Ar-H), 8.67 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-6'', Ar-H), 11.06 (1H, s, NHCOCH₃); ¹³C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 13.56 (C-22), 24.14 (C-12), 25.56 (NHCOCH₃), 26.23 (C-2), 26.81 (C-6), 31.87 (C-3), 36.32 (C-13), 44.89 (C-15), 47.58 (C-7), 48.58 (C-5), 49.01 (C-21), 49.90 (C-10), 50.98 (C-11), 55.72 (C-19), 56.35 (C-16'), 56.14 (C-1'), 57.94 (C-14'), 61.55 (C-17), 75.65 (C-8), 78.57 (C-9), 82.90 (C-16), 84.19 (C-1), 84.62 (C-4), 90.15 (C-14), 115.78 (C-1''), 20.22 (C-3''), 122.33 (C-5''), 131.08 (C-6''), 134.38 (C-4''), 141.65 (C-2''), 167.42 (ArCO), 169.04 (NHCOCH₃)。以上数据与从高乌头 *A. sinomontanum* Nakai 中分离的高乌甲素基本一致, ¹³C 核磁共振谱化学位移基本一致, 故确定该化合物为高乌甲素^[4]。

化合物 3: 白色无定形粉末, 碘化铯钾反应呈阳性。mp 202~204 °C。分子式: $C_{30}H_{42}N_2O_7$ 。¹H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 1.11 (3H, t, $J=7.2$ Hz, N— CH_2CH_3), 2.99 (1H, s, H-17), 3.30 (3H, s, —OCH₃), 3.32 (3H, s, —OCH₃), 3.41 (3H, s, —OCH₃), 5.64 (2H, s, —NH₂), 6.60 (2H, m), 7.22 (1H, t, $J=15.2$ Hz), 7.76 (1H, d, $J=8.4$ Hz, Ar-H); ¹³C NMR (100

MHz, CDCl_3) δ : 13.58 (C-22), 24.08 (C-12), 26.26 (C-2), 26.83 (C-6), 31.98 (C-3), 36.33 (C-13), 44.87 (C-15), 47.56 (C-7), 48.83 (C-5), 49.01 (C-10), 49.85 (C-21), 50.86 (C-11), 55.66 (C-19), 56.12 (C-16'), 56.53 (C-1'), 57.93 (C-14'), 61.62 (C-17), 75.69 (C-8), 78.58 (C-9), 82.90 (C-1), 82.94 (C-16), 84.41 (C-4), 90.19 (C-14), 111.95 (C-1''), 116.25 (C-5''), 116.63 (C-3''), 131.55 (C-6''), 133.80 (C-4''), 150.39 (C-2''), 167.37 (ArCO)。以上数据与从高乌头 *A. sinomontanum* Nakai 中分离的 *N*-去乙酰高乌甲素基本一致, ^{13}C 核磁共振谱化学位移基本一致, 故确定该化合物为 *N*-去乙酰高乌甲素^[4]。

化合物 4: 白色粉末, 碘化铋钾反应呈阳性。mp 165~167 °C。分子式: $\text{C}_{32}\text{H}_{46}\text{N}_2\text{O}_8$ 。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.07 (3H, t, $J=16$ Hz, $\text{N}-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3.26, 3.34, 3.35, 3.42 (各 3H, s, $-\text{OCH}_3$), 3.61 (3H, t, $J=8$ Hz, 14- βH), 3.92 (1H, br, s, 8- αH), 4.00, 4.13 (各 1H, s, 18-H), 5.74 (2H, br, s, NH_2), 6.67, 7.29 (各 1H, t, $J=16$ Hz, Ar-H), 7.81 (1H, d, $J=8$ Hz, Ar-H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 14.10 (C-22), 26.17 (C-2), 28.73 (C-12), 32.26 (C-3), 33.59 (C-15), 37.58 (C-4), 38.27 (C-13), 43.25 (C-5), 46.15 (C-10), 49.08 (C-11), 50.34 (C-9), 51.03 (C-21), 52.46 (C-19), 55.82 (C-1'), 56.31 (C-16'), 57.85 (C-6'), 57.99 (C-14'), 64.55 (C-17), 68.63 (C-18), 77.54 (C-8), 82.59 (C-16), 83.94 (C-14), 84.06 (C-1), 88.51 (C-7), 90.90 (C-6), 110.33 (C-1''), 116.30 (C-5''), 116.84 (C-3''), 130.73 (C-6''), 134.33 (C-4''), 150.73 (C-2''), 167.81 (C=O)。以上数据与从草乌 *A. kusnezoffii* Reichb. 中分离得到的氨基酰牛扁碱基本一致, ^{13}C 核磁共振谱化学位移基本一致, 故确定该化合物为氨基酰牛扁碱^[5]。

化合物 5: 白色粉末, 碘化铋钾反应呈阳性。mp. (130~132) °C。分子式: $\text{C}_{32}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_9$, ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.13 (3H, t, $J=16$ Hz, $\text{N}-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2.23 (1H, s, NHCOCH_3), 3.33 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 3.35 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 3.43 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 7.01 (3H, t, $J=12$ Hz), 7.41 (1H, t, $J=8$ Hz), 7.94 (1H, d, $J=8$ Hz), 8.67 (1H, d, $J=8$ Hz, Ar-H), 11.05 (1H, br, s, 加 D_2O 消失, NHAc); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 14.55 (C-22), 25.55 (NHCOCH_3), 25.94 (C-12), 26.58 (C-2), 31.64 (C-3), 32.54 (C-6), 36.68 (C-13), 38.05 (C-15), 48.65 (C-5), 49.64 (C-10), 51.12 (C-21), 51.39 (C-11), 55.23 (C-19), 56.22 (C-1'), 56.22 (C-16'), 57.97 (C-14'), 63.07 (C-17), 77.89 (C-8), 78.27 (C-9), 82.76 (C-16), 83.46 (C-1), 84.26 (C-4), 85.43 (C-7), 89.96 (C-14), 115.71 (C-1''), 120.24 (C-3''), 122.34 (C-5''), 131.53 (C-6''), 134.41 (C-4''), 141.64 (C-2''), 167.46 (ArCO), 169.06 (NHCOCH_3)。以上数据与从高乌头 *A. sinomontanum* Nakai 中分离的冉乌碱基本一致, ^{13}C 核磁共振谱化学位移基本

一致, 故鉴定该化合物为冉乌碱^[4]。

化合物 1~5 的结构见图 1。

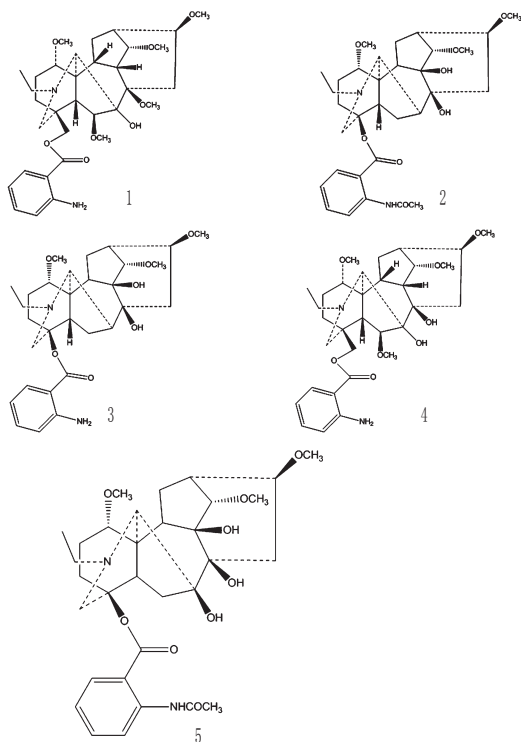


图 1 5 种化合物的化学结构

Fig 1 Chemical structures of 5 compounds

3 结论

本研究从白喉乌头中分离得到 5 个生物碱, 分别为: Delvestidine (1)、高乌甲素 (2)、*N*-去乙酰高乌甲素 (3)、氨基酰牛扁碱 (4)、冉乌碱 (5), 其中化合物 1、5 为首次从该植物中获得。

致谢: 本研究中的核磁共振波谱由中国科学院新疆理化技术研究所理化测试中心代测。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第 27 卷[M]. 北京: 科学出版社, 1979: 113-326.
- [2] 徐新, 巴哈尔古丽·黄尔汗. 哈萨克药志: 一卷[M]. 北京: 民族出版社, 2009: 45-47.
- [3] Samir AR, Pelletier SW. New norditerpenoid alkaloids from *Aconium septentrionale*[J]. *Tetrahedron*, 1992, 48(7): 1183.
- [4] 彭崇胜, 王建忠, 简锡贤, 等. 高乌头和彭州岩乌头中生物碱成分的研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2000, 12(4): 45.
- [5] 李正邦, 吕光华, 陈东林, 等. 草乌中生物碱的化学研究[J]. *天然产物研究与开发*, 1997, 9(1): 9.

(收稿日期: 2014-08-22 修回日期: 2015-01-04)

(编辑: 孙 冰)