

黑顺片的二萜生物碱成分

熊江^{1*}, 古昆², 谭宁华¹

¹中国科学院昆明植物研究所 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 昆明 650204;

²云南大学应用化学系, 昆明 650091

摘要:常用中药川乌、附子为毛茛科乌头属植物乌头 (*Aconitum camichaeli* Debx) 的母根和子根。从附子的加工炮制品黑顺片中分离鉴定了 5 种 C₁₉ 乌头碱型二萜生物碱和 1 个 C₂₀ 纳哌啉型二萜生物碱。通过 MS、NMR、IR 等波谱分析和已知化合物数据对照, 分别鉴定为次乌头碱 (1)、尼奥宁 (2)、塔拉地萨敏 (3)、多根乌头碱 (4)、异塔拉萨定 (5) 和去氢松果灵 (6)。

关键词:黑顺片; 毛茛科; 乌头; C₁₉ 乌头碱型二萜生物碱; C₂₀ 纳哌啉型二萜生物碱

中图分类号: R284; Q946.91

文献标识码: A

Diterpenoid Alkaloids from the Processed Roots of *Aconitum camichaeli*

XIONG Jiang^{1*}, GU Kun², TAN Ning-hua¹

¹State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany,

Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China; ²Department of Applied

Chemistry, Yunnan University, Kunming 650091, China

Abstract: "Heishunpian", the processed roots of *Aconitum camichaeli* Debx, is widely used as a famous Chinese traditional medicine, i.e. *Radix aconiti lateralis preparata*, which has cardiotonic, antiinflammatory, analgesic, anesthetic activities and improves blood circulation. Five C₁₉-aconitine-type and one C₂₀-napelline-type diterpenoid alkaloids were isolated from "Heishunpian". On the basis of chemical and spectral evidences, their structures were determined as hypaconitine (1), neoline (2), talatizamine (3), karakoline (4), isotalatizidine (5) and songoramine (6), respectively.

Key words: Heishunpian; Ranunculaceae; *Aconitum camichaeli*; C₁₉-aconitine-type diterpenoid alkaloids; C₂₀-napelline-type diterpenoid alkaloids

川乌、附子及其炮制品黑顺片、白附片均为中国药典 2005 年版一部收载的常用中药。其基源植物为毛茛科乌头属植物乌头 (*Aconitum camichaeli* Debx) 的根。加工后母根称为川乌, 子根称为附子。川乌和附子一般炮制后使用。其炮制品有制川乌、黑顺片、白附片、熟附片、挂附片、黄附片、刨附片、炮附片、柳叶片、草乌片和淡附片等二十余种, 但使用最多的附片是白附片和黑顺片。乌头药用历史悠久。附子用于医药的记载, 首见于《神农本草经》。在汉末张仲景著的《伤寒论》和《金匮要略》中, 使用附子的方剂分别有 20 个和 29 个; 明李时珍《本草纲目》中乌头方剂约有 160 个。现今以川乌、附子组

方的中成药甚多, 如小活络丸、参附注射液、金匱肾气丸、附子理中丸、骨痹痛散、风湿骨痛酒、乌头酊等。川乌可祛风除湿、温经止痛。附子及其炮制品有回阳救逆、补火助阳、逐风寒湿邪之功效, 用于治疗亡阳虚脱、肢冷脉微、阳萎、宫冷、心腹冷痛、虚寒吐泻、阴寒水肿、阳虚外感和寒湿痹痛等症^[1]。

川乌及附子的化学成分国内外研究较多, 其主要成分是 C₁₉ 二萜生物碱和 C₂₀ 二萜生物碱。C₁₉ 二萜生物碱中有双酯型二萜生物碱如次乌头碱 (hypaconitine)、中乌头碱 (mesaconitine)、乌头碱 (aconitine)、aldohypaconitine、3-乙酰乌头碱 (3-acetylaconitine)、北乌碱 (beiwutine) 和去氧乌头碱 (deoxyaconitine) 等; 单酯型二萜生物碱如苯甲酰中乌头原碱 (benzoylmesaconine)、浩布素甲 (hokbusine A)、浩布素乙 (hokbusine B)、14-乙酰基塔拉地萨敏 (14-acetylaltatizamine) 和新江油乌头碱 (neojiangyouar-

收稿日期: 2006-12-27

接受日期: 2007-03-12

基金项目: 云南省自然科学基金项目 (2003C0064M)

*通讯作者 Tel: 86-871-5223262; E-mail: xiongjiang@mail.kib.ac.cn

conitine)等;醇胺型二萜生物碱如附子碱(fuziline)、异塔拉萨定(isotalatizidine)、多根乌头碱(karakoline)、尼奥宁(neoline)和塔拉地萨敏(talatizamine)、senbusine A、senbusine B等。 C_{20} 二萜生物碱如川附宁(chuanfunine)、松果灵(songorine)、去氢松果灵(songoramine)等^[2-7]。

除了运用HPLC等方法对黑顺片中的次乌头碱、中乌头碱和乌头碱的含量进行分析外,其细致的化学成分研究未见报道。我们对产自四川江油的黑顺片的化学成分进行了研究,从中分得6个生物碱,经红外、紫外、核磁共振谱和质谱等光谱分析,并和已知化合物数据对照,其结构分别鉴定为次乌头碱(1)、尼奥宁(2)、塔拉地萨敏(3)、多根乌头碱(4)、异塔拉萨定(5)和去氢松果灵(6)。

1 仪器和材料

R用Bio-Rad FTS-135仪以KBr压片测定;NMR用Bruker AM-400和Bruker DRX-500仪测定,TMS为内标;MS用VG Auto Spec 3000仪测定。各项光谱数据均由中国科学院昆明植物研究所分析测试中心测定。薄层层析硅胶和柱层析硅胶为青岛海洋化工厂产品。中药饮片黑顺片于2005年5月购自云南省药材公司,其产地为四川江油。

2 提取和分离

将2 kg黑顺片粉碎为粗粉,用5%的稀氨水润湿,以氯仿冷浸渗滤3次。减压蒸去氯仿,得24 g浸膏。将浸膏以300 mL CH_2Cl_2 溶解,用500 mL 2% HCl的水溶液分4次处理,合并酸水部分,滴加浓NaOH水溶液至pH = 11,这时出现白色絮状物,用乙酸乙酯萃取4次,减压蒸去乙酸乙酯,得1.73 g总生物碱。总生物碱部分用硅胶(200~300目)和硅胶H柱层析以碱性丙酮-石油醚(5%~20%)和丙酮-氯仿(0~10%)为洗脱剂分离。从中分离鉴定了6个化合物:次乌头碱(1, 10 mg)、尼奥宁(2, 45 mg)、塔拉地萨敏(3, 10 mg)、多根乌头碱(4, 10 mg)、异塔拉萨定(5, 8 mg)和去氢松果灵(6, 20 mg)。

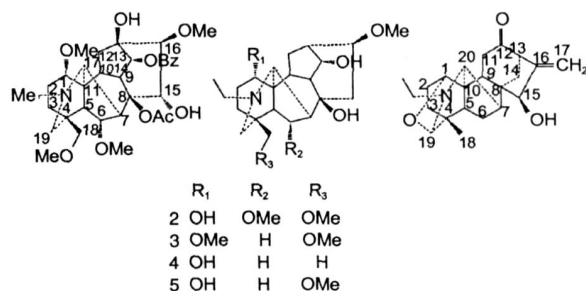


图1 黑顺片二萜生物碱(1~6)的结构

Fig. 1 Structures of diterpenoid alkaloids of heishunpian (1-6)

表1 化合物1~5的¹H NMR数据

Table 1 ¹H NMR data of the compounds 1-5

位置 Position	1 ^a	2 ^b	3 ^a	4 ^b	5 ^a
1	3.02 (dd, 10.01, 3.5)	3.66 (m)	3.07 (dd, 10.82, 6.54)	3.69 (br s)	3.71 (s)
6	3.94 (d, 6.76)	4.16 (d, 6.55)			
14	4.85 (d, 4.96)	4.19 (t, 4.92)	4.12 (d, 3.78)	4.20 (t, 4.61)	4.22 (t, 4.83)
15	4.43 (dd, 5.20, 2.77)				
16	3.30 (d, 5.20)	3.36 (m)	3.41 (d, 8.54)	3.35 (dd, 9.30, 5.10)	3.37 (dd, 9.36, 4.80)
17	3.04 (br s)		3.14 (s)	2.75 (s)	2.79 (s)
18	3.59, 3.08 (ABq, 8.40)	3.61, 3.25 (ABq, 8.09)	3.10, 2.98 (ABq, 8.97)	0.86 (s)	3.14, 3.00 (ABq, 8.80)
1-OMe	3.25 (s)				
6-OMe	3.13 (s)	3.32 (s)	3.26 (s)		
16-OMe	3.70 (s)	3.32 (s)	3.34 (s)	3.32 (s)	3.34 (s)
18-OMe	3.25 (s)	3.31 (s)	3.29 (s)		3.32 (s)
N-CH ₂ -	2.31 (s)	2.57, 2.50 (m)	2.52, 2.38 (m)	2.49, 2.40 (m)	2.54, 2.44 (m)
(H)CH ₃		1.12 (t, 7.16)	1.05 (t, 7.12)	1.09 (t, 7.16)	1.11 (t, 7.18)
8-OAc	1.34 (s)				

2, 6	8.00 (d, 7.20)			
3, 5	7.42 (t, 7.72)			
4	7.54 (t, 7.40)			
8- OH		2.93 (s)	3.62 (s)	3.05 (br s)
13- OH	3.88 (d)			
14- OH		4.81 (d, 3.51)		
15- OH	4.32 (d, 2.77)			

Note: ^aData were determined at 500 MHz in CDCl₃ with chemical shifts in ppm and coupling constants in Hz ^bData were determined at 400 MHz

表 2 化合物 1~6 的 ¹³C NMR 数据

Table 2 ¹³C NMR data of the compounds 1-6

位置 Position	1 ^a	2 ^b	3 ^a	4 ^b	5 ^a	6 ^b
1	85.07d	72.17d	86.37d	72.47d	72.32d	67.71d
2	26.37t	29.28t*	25.82t	29.68t	29.75t	23.96t
3	34.87t	29.78t*	32.77t	31.31t	26.83t	29.67t
4	38.26s	38.09s	38.66s	32.87s	37.31s	37.79s
5	48.18d	44.80d	46.04d	46.59d*	41.73d	45.92d
6	83.15d	83.03d	24.73t	25.10t	24.88t	24.28t
7	43.83d	52.14d	45.89d*	45.05d	45.19d	48.44d
8	91.93s	74.17s	72.80s	74.16s	74.13s	50.11s
9	44.53d	48.23d	46.95d	46.69d*	46.72d	31.36d
10	41.07d	44.07d	37.55d	44.03d	44.07d	51.68s
11	49.92s	49.47s	48.70s	48.78s	48.61s	37.37t
12	36.26t	29.35t*	27.66t	28.37t	28.24t	208.78s
13	74.12s	40.26d	45.79d*	39.90d	39.84d	53.03d
14	78.82d	75.92d	75.60d	75.83d	75.95d	31.18t
15	78.92d	42.72t	38.32t	42.23t	42.34t	76.96d
16	90.12d	81.77d	82.24d	81.93d	81.86d	149.63s
17	62.15d	63.79d	62.93d	63.31d	64.08d	111.93t
18	80.15t	80.18t	79.47t	27.52q	79.05t	18.86q
19	55.98t	56.95t	53.16t	60.22t	56.54t	92.91d
20						66.12d
1-OMe	56.57q		56.28q			
6-OMe	57.94q	57.85q				
16-OMe	60.96q	56.29q	56.46q	56.28q	56.30q	
18-OMe	59.03q	59.15q	59.47q		59.43q	
N-CH ₂ -	42.58q	48.30t	49.50t	48.34t	48.52t	48.30t
(H)CH ₃		12.96q	13.68q	13.05q	13.08q	14.23q
8-OAc	172.39s					
	21.38q					
14-OBz	166.10s					
1	129.84s					
2, 6	129.59d x2					
3, 5	128.60d x2					
4	133.21d					

Note: ^aData were determined at 125 MHz in CDCl₃ with chemical shifts in ppm; ^bData were determined at 100 MHz; * The assignments of the asterisked signals are ambiguous and might be reversed

2.1 结构鉴定

次乌头碱 (1, hyaconitine) 片状或棒状结晶 (甲醇-氯仿), 易溶于氯仿, 热溶于甲醇。与改良碘化铯钾试剂呈正反应。硅胶 TLC 的比移值 R_f 约为 0.7 (环己烷:二乙胺 = 4:1), 其 R_f 值与已知标准品次乌头碱的一致。UV_{max} (EOH) nm: 231, 273.5, 281.5。 $R_{max}^{KBr} cm^{-1}$: 3509, 2968, 2925, 2826, 1726, 1600, 1450, 1382, 1317, 1279, 1117, 1096, 956, 713。EHMS m/z (20 eV, *rel int*, %): 615 $[M]^{+}$ (1), 584 $[M-OMe]^{+}$ (47), 556 $[M-OAc]^{+}$ (7), 540 (9), 524 $[M-HOAc-OMe]^{+}$ (100), 510 (5), 496 (14), 122 $[HOBz]^{+}$ (4), 105 $[Bz]^{+}$ (51)。 1H 和 ^{13}C NMR 数据见表 1, 2。以上数据与报道的一致^[3]。

尼奥宁 (2, neoline) 无色片状结晶 (丙酮-正己烷)。EHMS m/z (70 eV, *rel int*, %): 439 $[M+2]^{+}$ (1), 438 $[M+1]^{+}$ (3), 437 $[M]^{+}$ (13), 423 (6), 421 (27), 420 $[M-OH]^{+}$ (100), 404 (16), 388 (15), 350 (15), 122 (15), 96 (15), 58 (18)。 1H 和 ^{13}C NMR 数据见表 1, 2。以上数据与报道的一致^[5]。

塔拉地萨敏 (3, taktizamine) 油状物。与改良碘化铯钾试剂呈正反应。EHMS m/z (70 eV, *rel int*, %): 421 $[M]^{+}$ (2), 390 $[M-OMe]^{+}$ (100), 149 (7), 131 (8), 129 (9), 91 (16), 71 (22), 58 (27)。 1H 和 ^{13}C NMR 数据见表 1, 2。以上数据与报道的一致^[8]。

多根乌头碱 (4, karakoline) 又称黄草乌碱乙 (vilmorriamine B)。无色片状结晶 (丙酮-正己烷)。易溶于三氯甲烷、乙醚等有机溶剂中。与改良碘化铯钾试剂呈正反应。 $R_{max}^{KBr} cm^{-1}$: 3545, 3243, 2950, 2916, 2872, 2830, 1498, 1464, 1384, 1293, 1269, 1219, 1115, 1084, 1048。EHMS m/z (70 eV, *rel int*, %): 378 $[M+1]^{+}$ (4), 377 $[M]^{+}$ (13), 361 (29), 360 $[M-OH]^{+}$ (100), 359 $[M-H_2O]^{+}$ (10), 344 $[M-H_2O-Me]^{+}$ (27), 334 (7), 321 (6), 306 (15), 207 (6), 206 (7), 148 (8), 122 (10), 98 (10), 91 (10), 84 (10), 71 (8)。 1H 和 ^{13}C NMR 数据见表 1, 2。以上数据与报道的一致^[9]。

异塔拉萨定 (5, isotaktizidine) 无色针状结晶 (丙酮-石油醚)。易溶于三氯甲烷、乙醚等有机溶剂中。与改良碘化铯钾试剂呈正反应。 $R_{max}^{KBr} cm^{-1}$: 3465, 2937, 1636, 1460, 1446, 1112, 1044, 989。EHMS m/z (70 eV, *rel int*, %): 408 $[M+1]^{+}$ (3), 407

$[M]^{+}$ (12), 392 (25), 390 $[M-OH]^{+}$ (100), 374 (22), 358 (13), 320 (19), 91 (9), 84 (7), 71 (8)。 1H 和 ^{13}C NMR 数据见表 1, 2。以上数据与报道的数据一致^[10]。

去氢松果灵 (6, songoramine) 无色针状结晶 (丙酮-石油醚)。易溶于三氯甲烷、乙醚等有机溶剂中。 $R_{max}^{KBr} cm^{-1}$: 3406, 2964, 2942, 1723, 1654, 1454, 1373, 1360, 1303, 1275, 1234, 1911。EHMS m/z (70 eV, *rel int*, %): 357 $[M+2]^{+}$ (3), 356 $[M+1]^{+}$ (23), 355 $[M]^{+}$ (93), 354 (10), 340 $[M-Me]^{+}$ (17), 327 $[M-CO]^{+}$ (19), 326 (13), 299 (100), 284 (47), 271 (19), 206 (12), 148 (18), 122 (88), 105 (20), 98 (51), 91 (29), 58 (7)。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 5.31, 5.20 (each 1H, s, 17-H), 4.40 (1H, d, 7.26, 15-H), 3.98 (1H, d, 5.22, 1-H), 3.71 (1H, s, 19-H), 3.15 (1H, d, 3.24, 13-H), 2.84 (1H, br. s, 20-H), 2.69 (2H, m, N-CH₂-), 1.03 (3H, t, 7.16, N-CH₂-CH₃), 0.84 (3H, s, 18-H); ^{13}C NMR 数据见表 2。以上数据与报道的一致^[3]。

2.2 讨论

白附片、黑顺片的主要成分和含量与生川乌、生附子相比变化较大。我们从产自四川江油的生川乌、生附子分得的主要成分是双酯型二萜类生物碱: 次乌头碱和中乌头碱; 而从黑顺片中分得的几乎都是醇胺型 C₁₉二萜生物碱如尼奥宁和多根乌头碱, 次乌头碱是微量成分, 中乌头碱则未分得。现代药理研究表明, 乌头类中药具有镇静、镇痛、强心、抗炎、抗肿瘤等作用。其中双酯型二萜类生物碱如次乌头碱、中乌头碱和乌头碱一般毒性较大, 是引起中毒的主要原因。此类生物碱易水解失去一个酯基而成为相应的单酯型二萜类生物碱, 毒性明显降低而中毒的性质相似 (均引起心律失常), 再进一步水解得到相应的醇胺, 毒性降低更为明显。生药在炮制过程中, 双酯型乌头类生物碱由于水解破坏含量降低, 其毒性也随之降低。所以, 川乌和附子一般炮制后使用。

参考文献

- Li ZY (李治滢), Chen YW (陈有为), Yang LY (杨丽源). Antipathogenic activity of endophytic fungi in *Radix aconiti* plant *Net Pwd Res Dev* (天然产物研究与开发), (in press).

(下转第 465 页)

4) -D 吡喃葡萄糖苷, 芹菜素-5-O- L 吡喃鼠李糖基-(1-4)-6-O 乙酰基-D 吡喃葡萄糖苷, 证实了 2 号峰与 8 号峰仅相差一个乙酰基, 结合干燥的和新鲜的粗榧药材 HPLC 指纹图谱的差异, 推测干燥过程可能使两者发生转化。

3 讨论

本实验采用了 HPLC 对粗榧药材进行分析, 一次进样即能得到众多的色谱峰, 分离分析效率高, 且相对保留值相对稳定, 所建立的指纹图谱具有稳定性和可控性。目前, 中药材的鉴别和分类很大程度上还依赖于经验和表观分析, 也缺乏从分析数据中获取评价依据的统一使用的方法, 本文在已建立标准指纹图谱的基础上, 用相似度评价待测样品之间的相似程度, 在一定程度上可反映了所测样品的偏离程度。同时, 在粗榧药材活性成分尚不是十分清楚的情况下, 制定指纹图谱时, 没有适宜的对照品或内标物作为参照物, 故以供试品中峰面积相对较大、较稳定的共有峰 (8 号峰) 作参照峰, 来标定其它各共有指纹峰的相对保留时间及计算其它各共有指纹峰面积的比值。另外, 如何将化学指纹图谱与中药材的药理药效相结合从而建立起中药功能化指纹图谱是指纹图谱研究中迫切需要解决的问题。本文借助中药有效部位辅助对指纹图谱共有峰的指认可是一种尝试, 有助于中药质量控制的更加完善和科学。

本文仅仅测定了 10 批样品的 HPLC 指纹图谱,

若样本数加大, 其共有模式将更能充分代表该中药材整体面貌。同时实验中发现药材干燥过程明显改变了主要成分的比例, 其对药效的影响有待进一步研究。通过建立粗榧的 HPLC 指纹图谱, 比较不同产地、不同干燥方法、不同药用部位的药材的差异为粗榧的进一步开发奠定了基础。

参考文献

- 1 Editorial Board of Zhonghua Bencao (中华本草编委会). Zhonghua Bencao (中华本草), 2nd Volume. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Press, 1999. 341-342.
- 2 Kuo YH, Hwang SY, Yang KLM, et al A novel cytotoxic c-methylated biflavone, Taiwanhomoflavone-B from the twigs of *Cephalotaxus wilsoniana* Chen. *Pharm Bull*, 2002, 50: 1607-1608.
- 3 Wang LW, Su HJ, Yang SZ, et al New alkaloids and a tetraflavonoid from *Cephalotaxus wilsoniana*. *J Nat Prod*, 2004, 67: 1182-1185.
- 4 Tu PF (屠鹏飞). Study on the establishing of characteristic fingerprint chromatogram by high performance liquid chromatography for Chinese medicinal materials and Chinese medical injection. *Chin Tradit Pat Med (中成药)*, 2000, 22: 516.
- 5 Wang X (王玺), Wang WY (王文宇), Zhang KR (张克荣), et al Approaching the study on the similarity analysis of HPLC fingerprints spectra for traditional Chinese medicines. *J Shenyang Pharm Univ (沈阳药科大学学报)*, 2003, 20: 360-362.
- 6 Xiao PG (肖培根), Wang FP (王锋鹏), Gao F (高峰), et al, A pharmacophylogenetic study of *Aconitum* L. (Ranunculaceae) from China. *Acta Phytotaxonomica Sinica (植物分类学报)*, 2006, 44: 1-46.
- 7 Chen HC (陈洪超), Wang XK (王宪楷), Zhao TF (赵同芳), et al, Chemical constituents from *Aconitum camichaeli*. *Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发)*, 2003, 15: 324-325, 340.
- 8 Shim SH, Kim JS, Kang SS, Norditerpenoid alkaloids from the processed tubers of *Aconitum camichaeli*. *Chin Pharm Bull*, 2003 51: 999-1002.
- 9 Wang XK (王宪楷), Zhao TF (赵同芳), Lai S (赖盛). Alkaloids of cultivated *Aconitum camichaeli* II. *Chin Pharm J (中国药学杂志)*, 1996, 31: 74-77.
- 10 Wang XK (王宪楷), Zhao TF (赵同芳), Lai S (赖盛). Alkaloids of cultivated *Aconitum camichaeli* I. *Chin Pharm J (中国药学杂志)*, 1995, 30: 716-719.
- 11 Wei XY (魏孝义), Chen SY (陈泗英), Zhou J (周俊). Chuanfunine—a new water-soluble diterpenoid alkaloid from *Aconitum camichaeli* Debx. *Chin J Bot (植物学报)*, 1990, 2: 57-63.
- 12 Pelletier SW, Chen SY, Joshi BS, et al The structures of forestine and foresticine, two new C₁₉-diterpenoid alkaloids from *Aconitum Forrestii* Stapf. *J Nat Prod*, 1984, 47: 474-477.
- 13 Konno C, Shirasaka M, Hikino H. Structure of sensubisine A, B and C, diterpenic alkaloids of *Aconitum camichaeli* roots from China. *J Nat Prod*, 1982, 45: 128-133.
- 14 Ayhan U, Muhammad A, Ufuk S, et al, Neoditerpenoid alkaloids from *Delphinium pyramdale*. *Phytochemistry*, 1998, 48: 385-388.

(上接第 443 页)