

## 藏药哈巴乌头的化学成分研究\*

杨 姝<sup>1,2</sup>, 羊晓东<sup>1</sup>, 杨 金<sup>1</sup>, 赵静峰<sup>1</sup>, 李 良<sup>1</sup>

(1. 云南大学 教育部自然资源药物化学重点实验室, 云南 昆明 650091;

2. 云南农业大学 基础与信息工程学院, 云南 昆明 650201)

**摘要:**对藏药哈巴乌头(*Aconitum habaense*)的化学成分进行研究. 利用反复硅胶柱层析、重结晶等分离手段从中分离得到了8个化合物, 通过现代波谱技术和理化常数测定鉴定了结构, 其中5个为二萜生物碱, 分别是粗茎乌碱甲(*crassicauline*, 1)、查斯曼尼丁(*chasmaconitine*, 2)、滇乌碱(*yunaconitine*, 3)、印乌碱(*indaconitine*, 4)、塔拉萨敏(*talatizamine*, 5), 同时还得到2个酚性类化合物和-谷甾醇. 以上化合物均为首次从该植物中分离得到.

**关键词:**哈巴乌头; 化学成分; 二萜生物碱

**中图分类号:** Q 946.88; Q 949 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-7971(2007)03-0283-04

哈巴乌头(*Aconitum habaense* W. T. Wang)系毛茛科乌头属多年生草本植物, 产于云南西北部地区(香格里拉县哈巴雪山, 模式产地)海拔3 600 m以上的山坡灌丛中. 乌头属植物具有显著的生理活性, 如有镇痛、局麻、镇静、解热和强心等功效. 民间常用于跌打损伤、风湿关节疼痛等症<sup>[1]</sup>. 本课题组曾对几种乌头属植物的化学成分进行过深入的研究<sup>[2~4]</sup>. 哈巴乌头的化学成分研究前人未见报道. 我们在对该植物的研究中, 分离得到了8个化合物, 其中5个为二萜生物碱, 分别是粗茎乌碱甲(*crassicauline*, 1)、查斯曼尼丁(*chasmaconitine*, 2)、滇乌碱(*yunaconitine*, 3)、印乌碱(*indaconitine*, 4)、塔拉萨敏(*talatizamine*, 5), 此外还分离得到了4-甲氧基苯甲酸(6)、3,4-二甲氧基苯甲酸(7)和-谷甾醇(8). 见图1. 以上化合物均为首次从该植物中分离得到.

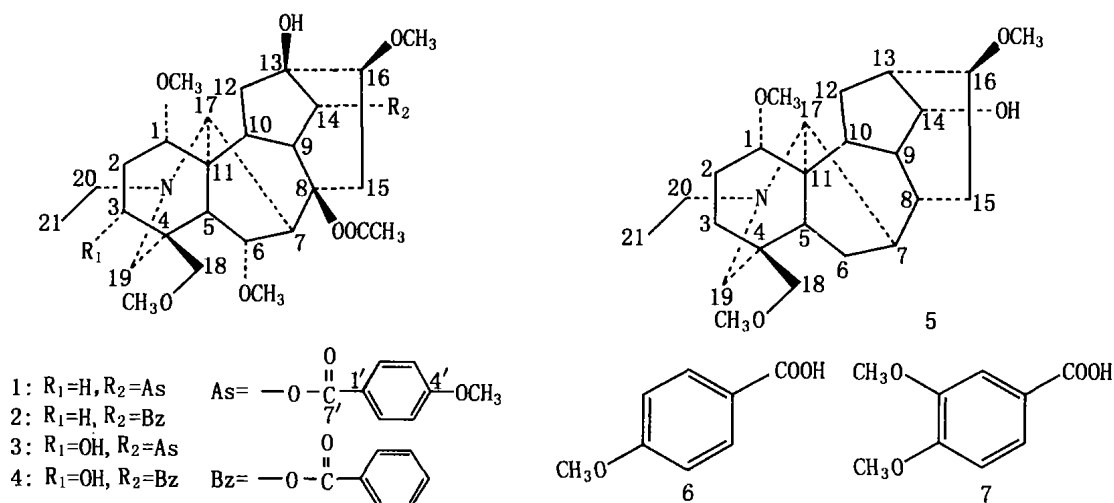


图1 哈巴乌头中的二萜生物碱和非二萜生物碱结构

Fig. 1 The structures of diterpenoid alkaloids and non-diterpenoid alkaloids from *Aconitum habaense*

\* 收稿日期: 2006-06-28

基金项目: 云南省自然科学基金资助项目(2005B0001Q); 云南大学自然科学基金资助项目(2003Q010A).

作者简介: 杨 姝(1976-), 女, 云南人, 讲师, 硕士生, 主要从事天然药物化学方面的研究.

通讯作者: 李 良(1965-), 男, 云南人, 教授, 主要从事天然药物化学方面的研究.

## 1 实验部分

**1.1 仪器和材料** NMR 谱在 Bruker AV300MHz 超导核磁共振仪上测定,  $\text{CCl}_3\text{D}$  作溶剂, TMS 为内标, MS 用 Auto spec - 3000 型质谱仪测定, 熔点用 XT - 4 显微熔点测定仪测定(温度未校正). 柱层析硅胶为青岛海洋化工厂出产, TLC 亦采用该厂生产的 GF254 高效硅胶板. 哈巴乌头(*Aconitum habaense* W. T. Wang) 于 2001 年 8 月采于云南香格里拉县哈巴雪山, 经云南大学生物系胡志浩教授鉴定, 现存放于云南大学教育部植物资源药物化学重点实验室.

**1.2 提取与分离** 干燥的哈巴乌头 6 kg 粉碎后用工业乙醇浸泡 5 次(每次 4 d), 提取液减压浓缩制得浸膏, 把浸膏溶于水, 酸化, 过滤除去淀粉, 再碱化, 分别用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取, 减压浓缩分别得到浸膏 66.65, 75.69, 291.56 g. 乙酸乙酯部分经硅胶柱层析, 用石油醚/丙酮溶剂体系梯度洗脱, 得到 7 个部分. 第 3~6 部分用石油醚/乙酸乙酯/三乙胺, 石油醚/丙酮/三乙胺溶剂体系进行洗脱, 最后分离得到 8 个化合物.

## 2 结构鉴定

**2.1 化合物 1**  $\text{C}_{35}\text{H}_{49}\text{NO}_{10}$ , 白色粉末, EI-MS  $m/z$ : 643  $[\text{M}]^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR(300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) : 7.97 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz, H - 2, 6), 6.89 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz, H - 3, 5), 4.85 (1H, d,  $J = 5.0$  Hz, H - 14), 3.94 (1H, d,  $J = 6.7$  Hz, H - 6), 3.84 (3H, s, Ar -  $\text{OCH}_3$ ), 3.50, 3.25, 3.23, 3.12 (各 3H, s, 4  $\times \text{OCH}_3$ ), 1.30 (3H, s,  $\text{OCOCH}_3$ ), 1.06 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz, H - 21);  $^{13}\text{C}$  NMR(75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) : 84.1 (C - 1), 26.7 (C - 2), 35.2 (C - 3), 39.5 (C - 4), 49.4 (C - 5), 83.4 (C - 6), 45.5 (C - 7), 85.9 (C - 8), 49.9 (C - 9), 41.4 (C - 10), 50.5 (C - 11), 36.2 (C - 12), 75.2 (C - 13), 78.9 (C - 14), 39.7 (C - 15), 84.1 (C - 16), 62.3 (C - 17), 80.8 (C - 18), 54.0 (C - 19), 49.9 (C - 20), 13.8 (C - 21), 59.4, 59.0, 58.1, 56.4, 55.8 (5  $\times \text{OCH}_3$ ), 123.1 (C - 1), 132.0 (C - 2, 6), 114.1 (C - 3, 5), 163.8 (C - 4), 166.4 (C - 7), 170.1 ( $\text{OCOCH}_3$ ), 22.0 ( $\text{OCOCH}_3$ ). 以上数据与文献报道的粗茎乌碱甲 (crassicauline A) 基本一致<sup>[5]</sup>, 故确定化合物 1 为粗茎乌碱甲.

**2.2 化合物 2**  $\text{C}_{34}\text{H}_{47}\text{NO}_9$ , 白色粉末, EI-MS  $m/z$ : 613  $[\text{M}]^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR(300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) : 8.05 (2H, dd,  $J = 7.3, 1.4$  Hz, H - 2, H - 6), 7.55 (1H, m, H - 4), 7.43 (2H, dd,  $J = 7.8, 7.3$  Hz, H - 3, H - 5), 4.90 (1H, d,  $J = 5.0$  Hz, H - 14), 3.52, 3.14, 3.27, 3.25 (各 3H, s, 4  $\times \text{OCH}_3$ ), 1.27 (3H, s,  $\text{OCOCH}_3$ ), 1.08 (3H,  $J = 7.2$  Hz, H - 21);  $^{13}\text{C}$  NMR(75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) : 85.4 (C - 1), 26.7 (C - 2), 35.5 (C - 3), 39.5 (C - 4), 49.9 (C - 5), 83.4 (C - 6), 49.5 (C - 7), 85.6 (C - 8), 45.5 (C - 9), 41.4 (C - 10), 50.1 (C - 11), 36.2 (C - 12), 75.2 (C - 13), 79.2 (C - 14), 39.7 (C - 15), 84.4 (C - 16), 62.4 (C - 17), 80.3 (C - 18), 54.0 (C - 19), 49.9 (C - 20), 13.8 (C - 21), 59.4, 59.0, 58.1, 56.4 (4  $\times \text{OCH}_3$ ), 130.6 (C - 1), 130.1 (C - 2, 6), 128.9 (C - 3, 5), 133.4 (C - 4), 166.4 (C - 7), 170.2 ( $\text{OCOCH}_3$ ), 22.0 ( $\text{OCOCH}_3$ ). 以上数据与文献报道的查斯曼尼丁 (chasmaconitine) 基本一致<sup>[6,7]</sup>, 故确定化合物 2 为查斯曼尼丁.

**2.3 化合物 3**  $\text{C}_{35}\text{H}_{49}\text{NO}_{11}$ , 白色粉末, EI-MS  $m/z$ : 659  $[\text{M}]^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR(300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) : 7.94 (2H, d,  $J = 8.3$  Hz, H - 2, 6), 6.86 (2H, d,  $J = 8.3$  Hz, H - 3, 5), 4.79 (1H, d,  $J = 4.7$  Hz, H - 14), 3.96 (1H, d,  $J = 6.2$  Hz, H - 6), 3.59 (3H, s, Ar -  $\text{OCH}_3$ ), 3.47, 3.22, 3.18, 3.09 (各 3H, s, 4  $\times \text{OCH}_3$ ), 1.26 (3H, s,  $\text{OCOCH}_3$ ), 1.03 (3H, t,  $J = 6.9$  Hz, H - 21);  $^{13}\text{C}$  NMR(75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) : 83.5 (C - 1), 34.0 (C - 2), 71.7 (C - 3), 43.6 (C - 4), 45.1 (C - 5), 82.6 (C - 6), 49.1 (C - 7), 85.9 (C - 8), 45.1 (C - 9), 41.1 (C - 10), 50.6 (C - 11), 35.6 (C - 12), 75.1 (C - 13), 78.9 (C - 14), 39.9 (C - 15), 83.9 (C - 16), 62.0 (C - 17), 77.0 (C - 18), 49.2 (C - 19), 47.7 (C - 20), 13.7 (C - 21), 59.5, 59.1, 58.1, 56.2, 55.8 (5  $\times \text{OCH}_3$ ), 122.9 (C - 1), 132.0 (C - 2, 6), 114.1 (C - 3, 5), 163.8 (C - 4), 166.4 (C - 7), 170.3 ( $\text{OCOCH}_3$ ), 22.0 ( $\text{OCOCH}_3$ ). 以上数据与文献报道的滇乌碱 (yunaconitine) 基本一致<sup>[8]</sup>, 故确定化合物 3 为滇乌碱.

**2.4 化合物4**  $C_{34}H_{47}NO_{10}$ , 白色粉末, EI-MS  $m/z$ : 629  $[M]^+$ ,  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ) : 8.03 (2H, dd,  $J = 7.3, 1.4$  Hz, H-2, H-6), 7.55 (1H, m, H-4), 7.41 (2H, dd,  $J = 7.8, 7.3$  Hz, H-3, H-5), 4.87 (1H, d,  $J = 5.0$  Hz, H-14), 3.52, 3.26, 3.22, 3.13 (各 3H, s, 4  $\times OCH_3$ ), 1.26 (3H, s,  $OCOCH_3$ ), 1.07 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz, H-21);  $^{13}C$  NMR (75 MHz,  $CDCl_3$ ) : 83.9 (C-1), 35.6 (C-2), 71.9 (C-3), 43.6 (C-4), 49.1 (C-5), 82.7 (C-6), 49.1 (C-7), 86.0 (C-8), 47.8 (C-9), 41.2 (C-10), 50.6 (C-11), 34.0 (C-12), 75.1 (C-13), 79.2 (C-14), 40.0 (C-15), 83.5 (C-16), 62.1 (C-17), 77.3 (C-18), 49.2 (C-19), 47.8 (C-20), 13.7 (C-21), 59.4, 59.0, 58.1, 56.4 (4  $\times OCH_3$ ), 130.5 (C-1), 130.1 (C-2, 6), 128.9 (C-3, 5), 133.5 (C-4), 166.7 (C-7), 170.2 ( $OCOCH_3$ ), 21.9 ( $OCOCH_3$ ). 以上数据与文献报道的印乌碱(indaconitine)基本一致<sup>[9]</sup>, 故确定化合物4为印乌碱。

**2.5 化合物5**  $C_{24}H_{39}NO_5$ , 无色晶体, m.p. 134~136, EI-MS  $m/z$ : 421  $[M]^+$ ,  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ) : 4.77 (H, d,  $J = 4.9$  Hz, H-14), 3.34, 3.29, 3.26 (各 3H, s, 3  $\times OCH_3$ ), 3.10, 3.01 (各 1H,  $J = 9.0$ , H-18), 1.05 (3H, t,  $J = 7.1$ , H-21);  $^{13}C$  NMR (75 MHz,  $CDCl_3$ ) : 86.7 (C-1), 25.1 (C-2), 33.1 (C-3), 39.0 (C-4), 37.9 (C-5), 26.2 (C-6), 46.2 (C-7), 73.2 (C-8), 47.3 (C-9), 46.3 (C-10), 49.1 (C-11), 28.0 (C-12), 46.4 (C-13), 75.9 (C-14), 38.7 (C-15), 82.6 (C-16), 63.3 (C-17), 79.8 (C-18), 53.5 (C-19), 49.9 (C-20), 14.1 (C-21), 59.8, 56.8, 56.6 (3  $\times OCH_3$ ). 以上数据与文献报道的塔拉萨敏(talatzamine)基本一致<sup>[10,11]</sup>, 故确定化合物5为塔拉萨敏。

**2.6 化合物6** 白色针晶, 分子式  $C_8H_8O_3$ , m.p. 183~185, EI-MS  $m/z$ : 152  $[M]^+$ ,  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ) : 8.07 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz, H-2, 6), 6.95 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz, H-3, 5), 3.88 (3H, s,  $OCH_3$ );  $^{13}C$  NMR (75 MHz,  $CDCl_3$ ) : 122.6 (C-1), 132.0 (C-2, 6), 113.6 (C-3, 5), 163.5 (C-4), 169.1 (COOH), 55.4 ( $OCH_3$ ). 以上数据与文献值基本一致<sup>[12]</sup>, 故确定化合物6为对甲氧基苯甲酸。

**2.7 化合物7** 白色针晶, 分子式  $C_9H_{10}O_4$ , m.p. 180~182, EI-MS  $m/z$ : 182  $[M]^+$ ,  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ) : 7.66 (1H, dd,  $J = 8.5, 1.9$  Hz, H-6), 7.54 (1H, d,  $J = 1.9$  Hz, H-2), 6.98 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-5), 3.88, 3.85 (各 3H, s, 2  $\times OCH_3$ );  $^{13}C$  NMR (75 MHz,  $CDCl_3$ ) : 122.4 (C-1), 117.5 (C-2), 145.3 (C-3), 150.8 (C-4), 115.7 (C-5), 123.9 (C-6), 56.4, 56.3 (2  $\times OCH_3$ ), 169.4 (COOH). 以上数据与文献值基本一致<sup>[13]</sup>, 故确定化合物7为3,4-二甲氧基苯甲酸。

**2.8 化合物8** 无色针状晶体, m.p. 136~137, 与-谷甾醇标准品进行对照, 混合熔点不下降, 在多种溶剂体系中进行薄层层析(TLC)检测,  $R_f$ 值相同, 因此确定化合物8为-谷甾醇。

### 3 结果与讨论

在目前报道的文献中, 滇产乌头属植物中主要的二萜生物碱成分为滇乌碱。滇乌碱具有很强的抗炎、镇痛解热活性, 与其它二萜生物碱比较, 治疗指数较大, 效价最强<sup>[14]</sup>, 但是滇乌碱的毒性也很大, 其有效剂量与中毒剂量相接近。对其构效关系研究发现表明, 3位的氧取代基跟其毒性有很大关系。例如, 滇乌碱与已临床用作镇痛的粗茎乌碱甲结构极其相似, 唯一的区别仅在于3位, 前者3位为羟基, 毒性很大, 而后者3位无取代基, 毒性很小。本课题组由此进行了从滇乌碱到粗茎乌碱甲的转化, 并申请了国家发明专利<sup>[15]</sup>。我们对藏药哈巴乌头的研究发现, 滇乌碱和粗茎乌碱甲为该植物中主要的生物碱成分, 其中滇乌碱的含量最高, 粗茎乌碱甲居其次, 分别占总植物的0.25%和0.08%。以上实验说明, 哈巴乌头作为藏药乌头系列中被列入具有镇痛、局麻等功效的药物是具有理论依据的。

### 参考文献:

- [1] 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.
- [2] 董锦艳, 李良. 东川乌头中的二萜生物碱[J]. 云南大学学报: 自然科学版, 2000, 22(3): 220-222.
- [3] 郭洁, 羊晓东, 刘利辉, 等. 土官村乌头中的二萜生物碱[J]. 云南大学学报: 自然科学版, 2003, 25(1): 50-52.

- [4] LIL , ZHAO J F , WANG Y B , et al. A novel 19 , 21-secohetisan diterpenoid alkaloid from *Aconitum tanguticum* [J]. *Helv Chim Acta* , 2004 , 87 (4) : 866-868.
- [5] WANG F P , FANG Q C. Alkaloids from roots of *Aconitum crassicaue* [J]. *Planta Medica* , 1981 , 42 (4) : 375-379.
- [6] GABRIEL D L F , RAFAEL D A , TOMAS O. Diterpenoid alkaloids from *Delphinium pictum* Willd [J]. *Heterocycles* , 1989 , 29 (2) : 205-208.
- [7] PELLETIER S W , ROSS S A , ETSE J T. Delstaphigine and 14-O-benzoyldelphonine , new alkaloids from *Delphinium staphisagria* Linne [J]. *Heterocycles* , 1988 , 27 (10) : 2 467-2 473.
- [8] 陈泗英. 滇乌碱的结构 [J]. *化学学报* , 1979 , 37 (1) : 15-17.
- [9] PELLETIER S W. Alkaloids: chemical and biological perspectives (Vol. 2) [M]. New York : John Wiley & Sons Inc , 1984.
- [10] WIESNER K. The total synthesis of racemic talatisamine [J]. *Pure Appl Chem* , 1975 , 41 (1) : 93-98.
- [11] KONNO C , SHIRASAKA M , HIKINO H. Structure of senbusine A , B and C , diterpene alkaloids of *Aconitum carmichaeli* roots from China [J]. *J Nat Prod* , 1982 , 45 (2) : 128-133.
- [12] BRUNET J J , SIDOT C , CAUBERE P. Cobalt carbonyl catalyzed SRN1 carbonylation of aryl and vinyl halides by phase transfer catalysis [J]. *Tet Lett* , 1981 , 22 (10) : 1 013-1 016.
- [13] KATHERINE N S. Carbon-13 nuclear magnetic resonance of biologically important aromatic acids. I. Chemical shifts of benzoic acid and derivatives [J]. *J Am Chem Soc* , 1972 , 94 (24) : 8 564-8 568.
- [14] 林志共 , 蔡文 , 唐希灿. 滇乌碱的抗炎和镇痛作用 [J]. *中国药理学与毒理学杂志* , 1987 , 1 (2) : 93-99.
- [15] 张洪彬 , 胡旺云 , 李良 , 等. 乌头碱衍生物的制备方法 [P]. 中国发明专利 , CN1054976 , 1991.

## Chemical constituents of *Aconitum habaense*

YANG Shu<sup>1,2</sup> , YANG Xiao-dong<sup>1</sup> , YANG Jin<sup>1</sup> , ZHAO Jing-feng<sup>1</sup> , LI Liang<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Medicinal Chemistry for Natural Resources (Yunnan University) , Ministry of Education , Yunnan University , Kunming 650091 , China ;

2. College of Fundamental and Information Engineering , Yunnan Agriculture University , Kunming 650201 , China)

**Abstract :** The chemical constituents of *Aconitum habaense* were studied and eight compounds were isolated by silica column chromatography. The structures of these compounds were elucidated as crassicauline A (1) , chasmaconitine (2) , yunaconitine (3) , indaconitine (4) , talatizamine (5) , 4-methoxybenzoic acid (6) , 3 , 4-dimethoxybenzoic acid (7) and -sitosterol (8) by spectral methods. All compounds above were isolated from this plant for the first time.

**Key words :** *Aconitum habaense* ; chemical constituents ; diterpenoid alkaloids

\* \* \* \* \*

(上接第 282 页)

**Abstract :** Comparative molecular field analysis (CoMFA) was performed to study 3D-QSAR of (*E*)-4-cinnamoyloxy-3-methoxystyrene derivatives with biological activity in order to give a theoretical basis to design novel more effective enzyme dual inhibitor. In this analysis , the cross validated coefficient  $R^2_{CV}$  was found to be 0.639 , non-cross validated coefficient  $r^2$  and the standard deviation SEE was 0.744 and 0.148 respectively , and  $F$  was 198.355. The CoMFA models for twenty four of (*E*)-4-cinnamoyloxy-3-methoxystyrene derivatives showed the good relationship between steric and electrostatic properties with anti-inflammatory activity , which were very helpful for designing novel compounds as 5-lipoxygenase/ cyclooxygenase inhibitor.

**Key words :** 5-lipoxygenase/ cyclooxygenase inhibitor ; comparative molecular field analysis (CoMFA) ; (*E*)-4-cinnamoyloxy-3-methoxystyrenes