

# 丽江乌头中二萜生物碱成分

尚语杉,刘 为,任佳俐,黄 帅,周先礼,高 峰\*

西南交通大学 生命科学与工程学院,成都 610031

**摘要:**本研究采用硅胶柱层析对丽江乌头(*Aconitum forrestii* Stapf)中的二萜生物碱成分进行分离,并利用 NMR、MS 以及与文献对比的方法和手段,对分离得到的 14 个化合物进行结构鉴定,确定结构分别为 sachaconitine (1)、8-*O*-methylsachaconitine (2)、14-*O*-acetylsachaconitine (3)、6-epiforsticine (4)、8-*O*-methyltalatisamine (5)、14-methyltalatisamine (6)、austroconitine B (7)、hemsleyadine (8)、vilmorrianine A (9)、yunaconitine (10)、*N*-deethyl-*N*-19-didehydrosachaconitine (11)、14-debenzoylfranchetine (12)、deacetylheterophylloidine (13) 和 sczukinine (14),其中化合物 1~9,11~14 均为首次从该植物中分离得到。采用 MTT 法考察了部分化合物对阿霉素诱导的 H9c2 心肌细胞损伤的保护活性,结果显示,当浓度为 40  $\mu\text{M}$  时,化合物 5 的细胞存活率为 65.25% (阿霉素的细胞存活率为 60.24%),表现出一定的心肌细胞保护活性,其他化合物均未表现出活性。

**关键词:**乌头属;丽江乌头;二萜生物碱;心肌细胞保护活性

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)3-0435-06

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.3.012

## Diterpenoid alkaloids from *Aconitum forrestii* Stapf

SHANG Yu-shan, LIU Wei, REN Jia-li, HUANG Shuai, ZHOU Xian-li, GAO Feng\*

School of Life Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China

**Abstract:** Fourteen diterpenoid alkaloids, including sachaconitine (1), 8-*O*-methylsachaconitine (2), 14-*O*-acetylsachaconitine (3), 6-epiforsticine (4), 8-*O*-methyltalatisamine (5), 14-methyltalatisamine (6), austroconitine B (7), hemsleyadine (8), vilmorrianine A (9), yunaconitine (10), *N*-deethyl-*N*-19-didehydrosachaconitine (11), 14-debenzoylfranchetine (12), deacetylheterophylloidine (13), sczukinine (14), were isolated from *Aconitum forrestii* Stapf by silica gel column chromatography and identified by NMR, MS and literature comparison. Compounds 1-9, 11-14 were isolated from this plant for the first time. The protective activity against adriamycin induced H9c2 rate of compound 5 was 65.25% compared with 60.24% of adriamycin when the concentration was 40  $\mu\text{M}$ , which indicated compound 5 behaved certain protective activity, while none of the other compounds showed any activity.

**Key words:** Aconitum; *Aconitum forrestii* Stapf; diterpenoid alkaloid; myocardial protective activity

乌头属植物多为传统中药,其主要成分是二萜生物碱。现代药理研究表明,二萜生物碱具有抗炎镇痛,抗心律失常,强心和杀虫等多种生物活性<sup>[1]</sup>。丽江乌头(*Aconitum forrestii* Stapf)为毛茛科(Ranunculaceae)乌头属植物,产于云南西部、四川西南部地区,块根有祛风除湿,温经止痛的功效,全草用于杀虫<sup>[2]</sup>。目前,从该植物中分离鉴定出的二萜生物碱共 20 余种,主要为乌头碱型 C<sub>19</sub>-二萜生物

碱<sup>[3-6]</sup>。迄今为止,未见丽江乌头活性成分研究的相关报道。但研究发现,乌头碱型生物碱的水平低于中毒剂量,则具有强心、抗心律失常作用,适当剂量的生物碱对心肌细胞损伤表现出保护作用,如乌头碱<sup>[7]</sup>和次乌头碱<sup>[8]</sup>能有效抑制 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的大鼠心肌细胞氧化应激损伤和凋亡;川芎生物碱<sup>[9]</sup>和沙棘籽粕生物碱<sup>[10]</sup>对心肌缺血造成的心肌细胞损伤表现出保护作用。因此本文对丽江乌头进行了系统的植物化学研究,并同时考察了部分化合物对阿霉素诱导的 H9c2 心肌细胞损伤的保护活性,以期从该植物中发现具心肌细胞保护活性的生物碱。

收稿日期:2019-12-23 接受日期:2020-04-01

基金项目:国家自然科学基金(31870329)

\* 通信作者 E-mail:gaof@swjtu.edu.cn

## 1 材料、仪器与试剂

### 1.1 材料

丽江乌头于2018年8月采自云南省丽江市,由云南中医药大学李国栋副教授鉴定,标本(NO. 2018HS0801)保存于西南交通大学生命科学与工程学院。

### 1.2 仪器与试剂

核磁共振波谱仪(Bruker AV 400, TMS 为内标,  $\text{CDCl}_3$  为溶剂), 超高效液相色谱(ACQUITY UPLC-Class)与四级杆飞行时间质谱(Xevo G2-S QToF)联用仪(Waters 公司), Hei-vap digital G3 旋转蒸发仪(Heidolph 公司), 薄层层析硅胶 GF254(青岛海洋化工厂), 柱层析硅胶 G 和 H(200~400 目, 青岛海洋化工厂), 碱性氧化铝(100~200 目, 天津致远化学试剂公司)。显色剂为碘蒸气和改良碘化铋钾溶液, 所用试剂均为分析纯。

## 2 实验方法

### 2.1 提取与分离

丽江乌头块根(11.8 kg)阴干后粉碎, 用95%乙醇在室温下冷浸5次, 每次3天。合并滤液, 减压浓缩得乙醇浸膏。浸膏用水溶解, 稀盐酸调节 pH 至2~3, 用石油醚萃取, 每次4 L, 共4次, 合并萃取

液, 浓缩得石油醚萃取物。用氨水溶液将水层的 pH 调整至9~10后, 用二氯甲烷萃取并浓缩得到总生物碱(140 g)。

总生物碱经硅胶柱层析, 以二氯甲烷: 甲醇(100:1→0:1)梯度洗脱, 得到A~G七个部分, A部分经硅胶柱层析(石油醚: 乙酸乙酯: 二乙胺50:1:0.05→0:1:0.05)梯度洗脱得到A1~A5五个部分。A1部分经硅胶柱层析(石油醚: 二乙胺100:0.5→100:2), 得化合物1(200 mg)和6(274 mg)。A2部分经硅胶柱层析(二氯甲烷: 甲醇10:0.2→1:1), 得化合物5(680 mg)和12(11 mg)。A3和A4部分经硅胶柱层析(石油醚: 二乙胺100:0.6→1:1), 得到化合物2(339 mg)、3(840 mg)和11(15 mg)。A5部分经硅胶柱层析(石油醚: 乙酸乙酯: 二乙胺10:0.2:0.1→1:1:0.5), 得到化合物9(312 mg)和13(12 mg)。E和F部分经硅胶柱层析(二氯甲烷: 甲醇10:0.2→1:1), 得到化合物7(63 mg)和8(230 mg)。G部分经硅胶柱层析(石油醚: 二乙胺10:0.2→1:1)得到化合物14(63 mg); 经硅胶柱层析(二氯甲烷: 甲醇10:0.2→1:1)洗脱得到化合物4(33 mg)。

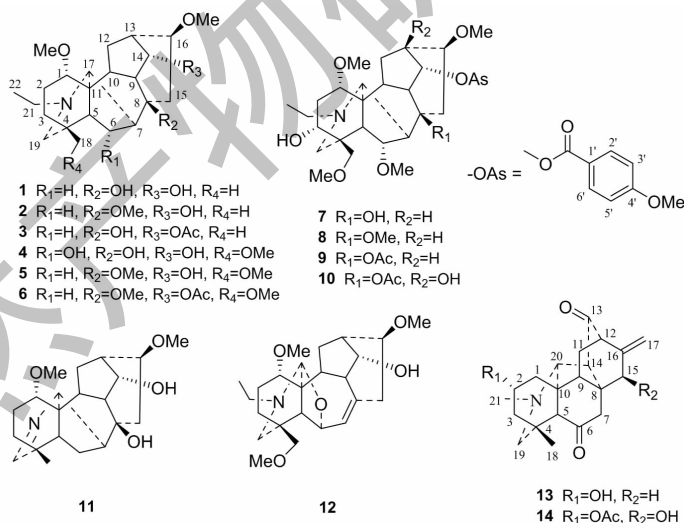


图1 化合物1~14的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1-14

### 2.2 对阿霉素诱导的 H9c2 心肌细胞损伤的保护作用

采用 MTT 法测定 H9c2 心肌细胞存活率。取对数生长期的 H9c2 心肌细胞, 经 0.25% 胰蛋白酶消化后, 接种于 96 孔板内, 每孔 100  $\mu\text{L}$ ,  $6 \times 10^4$  个细

胞, 孵育 24 h 后分组, 各组均设 6 个复孔。空白组加入无细胞的培养液; 正常组加入正常的心肌细胞; 模型组加入 8  $\mu\text{M}$  的阿霉素处理细胞 24 h; 实验组加入浓度为 40  $\mu\text{M}$  的待测化合物, 同时加入 8  $\mu\text{M}$  的阿霉素, 培养 24 h 后, 每孔加入 5 g/L MTT 溶液

20  $\mu\text{L}$ , 4 h 后吸除培养基, 加入二甲基亚砜 150  $\mu\text{L}$ , 置于摇床上振摇 10 min, 在 492 nm 波长处测定吸光值(A), 按照公式: 细胞存活率 = (实验组 A 值 - 空白组 A 值) / (正常对照组 A 值 - 空白组 A 值)  $\times$  100% 计算细胞存活率。

### 3 实验结果

#### 3.1 结构鉴定

**化合物 1** 白色粉末; HR-EI-MS:  $m/z$  392. 277 8  $[M + H]^+$ , calcd for 392. 279 5; 分子式  $\text{C}_{23}\text{H}_{37}\text{NO}_4$ 。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0. 75 (3H, s, H-18), 1. 03 (3H, t,  $J = 7. 2$  Hz, H-22), 3. 24, 3. 32 (各 3H, s, 2  $\times$  OMe);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 86. 7 (d, C-1), 26. 4 (t, C-2), 37. 8 (t, C-3), 34. 7 (s, C-4), 51. 0 (d, C-5), 25. 3 (t, C-6), 46. 0 (d, C-7), 73. 1 (s, C-8), 47. 2 (d, C-9), 38. 7 (d, C-10), 49. 1 (s, C-11), 27. 9 (t, C-12), 46. 0 (d, C-13), 75. 8 (d, C-14), 38. 1 (t, C-15), 82. 4 (d, C-16), 62. 6 (d, C-17), 26. 5 (q, C-18), 57. 0 (t, C-19), 49. 5 (t, C-21), 13. 8 (q, C-22), 56. 6 (q, 1-OMe), 56. 4 (q, 16-OMe)。以上数据与文献<sup>[11]</sup>一致, 故化合物 1 鉴定为 sachaconitine。

**化合物 2** 白色粉末; HR-EI-MS:  $m/z$  406. 294 1  $[M + H]^+$ , calcd for 406. 295 2; 分子式  $\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{NO}_4$ 。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0. 76 (3H, s, H-18), 1. 05 (3H, t,  $J = 7. 2$  Hz, H-22), 3. 12, 3. 24, 3. 34 (各 3H, s, 3  $\times$  OMe);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 86. 0 (d, C-1), 26. 6 (t, C-2), 37. 8 (t, C-3), 34. 6 (s, C-4), 49. 2 (d, C-5), 24. 3 (t, C-6), 40. 1 (d, C-7), 78. 2 (s, C-8), 45. 7 (d, C-9), 46. 1 (d, C-10), 51. 0 (s, C-11), 28. 7 (t, C-12), 38. 4 (d, C-13), 75. 2 (d, C-14), 33. 7 (t, C-15), 82. 5 (d, C-16), 62. 3 (d, C-17), 26. 5 (q, C-18), 57. 0 (t, C-19), 49. 4 (t, C-21), 13. 6 (q, C-22), 56. 3 (q, 1-OMe), 48. 4 (q, 8-OMe), 56. 5 (q, 16-OMe)。以上数据与文献<sup>[12]</sup>一致, 故化合物 2 鉴定为 8-*O*-methylsachaconitine。

**化合物 3** 白色粉末; HR-EI-MS:  $m/z$  434. 291 5  $[M + H]^+$ , calcd for 434. 290 1; 分子式  $\text{C}_{25}\text{H}_{39}\text{NO}_5$ 。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0. 77 (3H, s, H-18), 1. 08 (3H, t,  $J = 7. 2$  Hz, H-22), 2. 03 (3H, s, 14-OAc), 3. 21, 3. 23 (各 3H, s, 2  $\times$  OMe);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 86. 1 (d, C-1), 25. 6 (t, C-2), 37. 9 (t, C-3), 34. 6 (s, C-4), 45. 6 (d, C-5), 26. 8 (t, C-6), 46. 4 (d, C-7), 74. 0 (s, C-8), 50. 9 (d, C-9), 35. 8 (d, C-10), 49. 2 (s, C-11), 28. 7 (t, C-12), 45. 1 (d, C-

13), 77. 1 (d, C-14), 41. 2 (t, C-15), 81. 9 (d, C-16), 61. 9 (d, C-17), 26. 5 (q, C-18), 57. 1 (t, C-19), 49. 4 (t, C-21), 13. 7 (q, C-22), 56. 3 (q, 1-OMe), 56. 3 (q, 16-OMe), 170. 9 (s, 14-MeCO), 21. 5 (q, 14-MeCO)。以上数据与文献<sup>[13]</sup>一致, 故化合物 3 鉴定为 14-*O*-acetylsachaconitine。

**化合物 4** 白色粉末; HR-EI-MS:  $m/z$  438. 290 7  $[M + H]^+$ , calcd for 438. 285 0; 分子式  $\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{NO}_6$ 。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1. 07 (3H, t,  $J = 7. 2$  Hz, H-22), 3. 22, 3. 29, 3. 32 (各 3H, s, 3  $\times$  OMe);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 86. 2 (d, C-1), 26. 1 (t, C-2), 35. 7 (t, C-3), 39. 3 (s, C-4), 51. 1 (d, C-5), 72. 2 (d, C-6), 56. 5 (d, C-7), 73. 9 (s, C-8), 49. 1 (d, C-9), 45. 7 (d, C-10), 50. 8 (s, C-11), 28. 7 (t, C-12), 38. 3 (d, C-13), 75. 6 (d, C-14), 39. 3 (t, C-15), 82. 2 (d, C-16), 62. 8 (d, C-17), 81. 1 (t, C-18), 54. 3 (t, C-19), 49. 4 (t, C-21), 13. 8 (q, C-22), 56. 3 (q, 1-OMe), 56. 6 (q, 16-OMe), 59. 4 (q, 18-OMe)。以上数据与文献<sup>[14]</sup>一致, 故化合物 4 鉴定为 6-epi-forsticine。

**化合物 5** 白色粉末; HR-EI-MS:  $m/z$  436. 307 5  $[M + H]^+$ , calcd for 436. 305 7; 分子式  $\text{C}_{25}\text{H}_{41}\text{NO}_5$ 。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1. 04 (3H, t,  $J = 7. 2$  Hz, H-22), 3. 11, 3. 24, 3. 27, 3. 33 (各 3H, s, 4  $\times$  OMe);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 86. 1 (d, C-1), 26. 2 (t, C-2), 32. 8 (t, C-3), 38. 7 (s, C-4), 46. 4 (d, C-5), 23. 8 (t, C-6), 40. 2 (d, C-7), 78. 0 (s, C-8), 45. 7 (d, C-9), 46. 0 (d, C-10), 49. 0 (s, C-11), 28. 6 (t, C-12), 38. 2 (d, C-13), 75. 2 (d, C-14), 33. 4 (t, C-15), 82. 4 (d, C-16), 62. 8 (d, C-17), 79. 8 (t, C-18), 53. 2 (t, C-19), 49. 5 (t, C-21), 13. 7 (q, C-22), 56. 3 (q, 1-OMe), 48. 3 (q, 8-OMe), 56. 4 (q, 16-OMe), 59. 6 (q, 18-OMe)。以上数据与文献<sup>[15]</sup>一致, 故化合物 5 鉴定为 8-*O*-methyltalatisamine。

**化合物 6** 白色粉末; HR-EI-MS:  $m/z$  478. 314 6  $[M + H]^+$ , calcd for 478. 316 3; 分子式  $\text{C}_{27}\text{H}_{43}\text{NO}_6$ 。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1. 05 (3H, t,  $J = 7. 2$  Hz, H-22), 2. 01 (3H, s, 14-OAc), 3. 11, 3. 26, 3. 28, 3. 32 (各 3H, s, 4  $\times$  OMe);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 85. 8 (d, C-1), 26. 7 (t, C-2), 32. 8 (t, C-3), 38. 6 (s, C-4), 46. 2 (d, C-5), 24. 2 (t, C-6), 46. 2 (d, C-7), 77. 9 (s, C-8), 45. 4 (d, C-9), 43. 3 (d, C-10), 49. 2 (s, C-11), 29. 1 (t, C-12), 35. 6 (d, C-13), 76. 0

(d, C-14), 40.2 (t, C-15), 83.5 (d, C-16), 62.0 (d, C-17), 80.0 (t, C-18), 53.3 (t, C-19), 49.4 (t, C-21), 13.7 (q, C-22), 56.4 (q, 1-OMe), 48.3 (q, 8-OMe), 56.4 (q, 16-OMe), 59.6 (q, 18-OMe), 171.7 (s, 8-MeCO), 21.5 (q, 8-MeCO)。以上数据与文献<sup>[16]</sup>一致, 故化合物 **6** 鉴定为 14-methyltalatisamine。

**化合物 7** 白色粉末; HR-EI-MS:  $m/z$  602.3383  $[M + H]^+$ , calcd for 602.3324; 分子式  $C_{33}H_{47}NO_9$ 。 $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 1.08 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz, H-22), 3.20, 3.25, 3.30, 3.32, 3.84 (各 3H, s,  $5 \times OMe$ ), 6.91 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-3'/5'), 7.95 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-2'/6');  $^{13}C$  NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 82.8 (d, C-1), 33.7 (t, C-2), 72.2 (d, C-3), 43.4 (s, C-4), 46.8 (d, C-5), 81.9 (d, C-6), 47.8 (d, C-7), 74.2 (s, C-8), 53.5 (d, C-9), 45.2 (d, C-10), 50.6 (s, C-11), 28.9 (t, C-12), 37.3 (d, C-13), 76.7 (d, C-14), 41.7 (t, C-15), 82.9 (d, C-16), 61.7 (d, C-17), 77.8 (t, C-18), 48.9 (t, C-19), 47.8 (t, C-21), 13.6 (q, C-22), 55.9 (q, 1-OMe), 57.8 (q, 6-OMe), 56.2 (q, 16-OMe), 59.3 (q, 18-OMe), 55.5 (q, 4'-OMe), 166.2 (s, 14-OCOAr), 122.8 (s, C-1'), 131.7 (d, C-2'/6'), 113.9 (d, C-3'/5'), 163.5 (s, C-4')。以上数据与文献<sup>[17]</sup>一致, 故化合物 **7** 鉴定为 austroconitine B。

**化合物 8** 白色粉末; HR-EI-MS:  $m/z$  616.3517  $[M + H]^+$ , calcd for 616.3480; 分子式  $C_{34}H_{49}NO_9$ 。 $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 1.07 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz, H-22), 3.13, 3.23, 3.29, 3.30, 3.31, 3.83 (各 3H, s,  $6 \times OMe$ ), 6.89 (2H, d,  $J = 8.6$  Hz, H-3'/5'), 7.99 (2H, d,  $J = 8.6$  Hz, H-2'/6');  $^{13}C$  NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 82.8 (d, C-1), 23.3 (t, C-2), 72.1 (d, C-3), 43.1 (s, C-4), 46.0 (d, C-5), 83.5 (d, C-6), 48.1 (d, C-7), 78.7 (s, C-8), 45.2 (d, C-9), 45.3 (d, C-10), 51.0 (s, C-11), 28.9 (t, C-12), 38.3 (d, C-13), 75.9 (d, C-14), 35.7 (t, C-15), 83.2 (d, C-16), 61.0 (d, C-17), 77.4 (t, C-18), 47.9 (t, C-19), 48.6 (t, C-21), 13.4 (q, C-22), 55.8 (q, 1-OMe), 58.6 (q, 6-OMe), 48.6 (q, 8-OMe), 56.4 (q, 16-OMe), 59.2 (q, 18-OMe), 55.5 (q, 4'-OMe), 166.3 (s, 14-OCOAr), 123.4 (s, C-1'), 131.8 (d, C-2'/6'), 113.6 (d, C-3'/5'), 163.2 (s, C-4')。以上数据与文献<sup>[18]</sup>一致, 故化合物 **8** 鉴定为 hemsleyadine。

**化合物 9** 白色粒状结晶 (丙酮); HR-EI-MS:  $m/z$  644.3461  $[M + H]^+$ , calcd for 644.3429; 分子式  $C_{35}H_{49}NO_{10}$ 。 $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 1.06 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz, H-22), 1.39 (3H, s, 8-OAc), 3.16, 3.23, 3.27, 3.36, 3.82 (各 3H, s,  $5 \times OMe$ ), 6.89 (2H, d,  $J = 8.6$  Hz, H-3'/5'), 7.98 (2H, d,  $J = 8.6$  Hz, H-2'/6');  $^{13}C$  NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 83.6 (d, C-1), 33.4 (t, C-2), 71.8 (d, C-3), 43.2 (s, C-4), 47.0 (d, C-5), 82.4 (d, C-6), 44.9 (d, C-7), 85.9 (s, C-8), 48.8 (d, C-9), 43.7 (d, C-10), 50.6 (s, C-11), 28.5 (t, C-12), 38.2 (d, C-13), 77.2 (d, C-14), 39.3 (t, C-15), 82.8 (d, C-16), 61.5 (d, C-17), 75.4 (t, C-18), 48.8 (t, C-19), 47.7 (t, C-21), 13.3 (q, C-22), 55.5 (q, 1-OMe), 57.9 (q, 6-OMe), 55.7 (q, 16-OMe), 59.2 (q, 18-OMe), 56.7 (q, 4'-OMe), 169.8 (s, 8-MeCO), 21.8 (q, 8-MeCO), 166.1 (s, 14-OCOAr), 122.9 (s, C-1'), 131.8 (d, C-2'/6'), 113.8 (d, C-3'/5'), 163.5 (s, C-4')。以上数据与文献<sup>[19]</sup>一致, 故化合物 **9** 鉴定为 vilmorrianine A。

**化合物 10** 白色粒状结晶 (丙酮); HR-EI-MS:  $m/z$  660.3405  $[M + H]^+$ , calcd for 660.3378; 分子式  $C_{35}H_{49}NO_{11}$ 。 $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 1.06 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz, H-22), 1.37 (3H, s, 8-OAc), 3.16, 3.23, 3.27, 3.36, 3.82 (各 3H, s,  $5 \times OMe$ ), 6.92 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-3'/5'), 8.00 (2H, d,  $J = 9.2$  Hz, H-2'/6');  $^{13}C$  NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 83.3 (d, C-1), 33.7 (t, C-2), 71.8 (d, C-3), 43.4 (s, C-4), 47.6 (d, C-5), 82.4 (d, C-6), 44.9 (d, C-7), 85.7 (s, C-8), 48.8 (d, C-9), 41.0 (d, C-10), 50.4 (s, C-11), 35.4 (t, C-12), 74.9 (s, C-13), 78.7 (d, C-14), 39.8 (t, C-15), 83.8 (d, C-16), 61.8 (d, C-17), 76.1 (t, C-18), 48.7 (t, C-19), 47.6 (t, C-21), 13.5 (q, C-22), 56.6 (q, 1-OMe), 58.9 (q, 6-OMe), 57.9 (q, 16-OMe), 59.3 (q, 18-OMe), 55.6 (q, 4'-OMe), 170.0 (s, 8-MeCO), 21.8 (q, 8-MeCO), 166.2 (s, 14-OCOAr), 122.8 (s, C-1'), 131.8 (d, C-2'/6'), 113.9 (d, C-3'/5'), 163.6 (s, C-4')。以上数据与文献<sup>[19]</sup>一致, 故化合物 **10** 鉴定为 yunaconitine。

**化合物 11** 白色粉末; HR-EI-MS:  $m/z$  362.2354  $[M + H]^+$ , calcd for 362.2326; 分子式  $C_{21}H_{32}NO_4$ 。 $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 1.09 (3H, s, H-18), 3.21, 3.35 (各 3H, s,  $2 \times OMe$ ), 7.21 (1H, s, H-19);  $^{13}C$  NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 85.1 (d, C-1),

26.4(t, C-2), 33.0(t, C-3), 46.4(s, C-4), 47.0(d, C-5), 26.5(t, C-6), 52.7(d, C-7), 72.4(s, C-8), 46.5(d, C-9), 46.6(d, C-10), 47.8(s, C-11), 27.3(t, C-12), 37.5(d, C-13), 75.6(d, C-14), 37.6(t, C-15), 82.2(d, C-16), 62.0(d, C-17), 22.6(q, C-18), 169.5(d, C-19), 56.2(q, 1-OMe), 56.7(q, 16-OMe)。以上数据与文献<sup>[20]</sup>一致,故化合物 **11** 鉴定为 *N*-deethyl-*N*-19-didehydrosachaconitine。

**化合物 12** 白色粉末;HR-EI-MS:  $m/z$  420.274 9 [M + H]<sup>+</sup>, calcd for 420.274 4; 分子式 C<sub>24</sub>H<sub>37</sub>NO<sub>5</sub>。<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.00(3H, t,  $J$  = 7.2 Hz, H-22), 3.29, 3.31, 3.33(各 3H, s, 3  $\times$  OMe); <sup>13</sup>C NMR(100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 86.9(d, C-1), 24.5(t, C-2), 33.0(t, C-3), 37.5(s, C-4), 48.3(d, C-5), 75.1(d, C-6), 128.6(d, C-7), 137.6(s, C-8), 44.6(d, C-9), 49.4(d, C-10), 50.6(s, C-11), 29.6(t, C-12), 40.7(d, C-13), 77.8(d, C-14), 38.9(t, C-15), 85.1(d, C-16), 92.6(d, C-17), 79.4(t, C-18), 52.3(t, C-19), 49.3(t, C-21), 13.2(q, C-22), 57.3(q, 1-OMe), 56.4(q, 16-OMe), 59.7(q, 18-OMe)。以上数据与文献<sup>[21]</sup>一致,故化合物 **12** 鉴定为 14-debenzoylfranchetine。

**化合物 13** 白色粉末;HR-EI-MS:  $m/z$  342.202 0 [M + H]<sup>+</sup>, calcd for 342.206 4; 分子式 C<sub>21</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>3</sub>。<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.10(3H, s, H-18), 2.47(3H, s, H-21), 2.60(1H, br t, H-14), 2.92(1H, br d, H-12), 3.23(1H, s, H-20), 3.94(1H, br s, H-2), 4.76(1H, br s, H-17a), 4.94(1H, br s, H-17b); <sup>13</sup>C NMR(100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 40.7(t, C-1), 64.6(d, C-2), 48.3(t, C-3), 37.2(s, C-4), 60.1(d, C-5), 208.7(s, C-6), 52.0(t, C-7), 41.2(s, C-8), 46.8(d, C-9), 45.3(s, C-10), 23.5(t, C-11), 53.7(d, C-12), 210.5(s, C-13), 56.8(d, C-14), 36.3(t, C-15), 142.8(s, C-16), 110.1(t, C-17), 27.5(q, C-18), 58.2(t, C-19), 67.5(d, C-20), 41.9(q, C-21)。以上数据与文献<sup>[22]</sup>一致,故化合物 **13** 鉴定为 deacetylheterophyllidine。

**化合物 14** 白色粉末;HR-EI-MS:  $m/z$  400.208 7 [M + H]<sup>+</sup>, calcd for 400.211 8; 分子式 C<sub>23</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>5</sub>。<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.45(3H, s, H-18), 2.03(3H, s, 2-OAc), 2.37(3H, s, H-21); <sup>13</sup>C NMR(100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 35.5(t, C-1), 68.5(d, C-2), 43.4(t, C-3), 37.0(s, C-4), 59.3(d, C-5),

196.3(s, C-6), 46.6(t, C-7), 44.5(s, C-8), 48.8(d, C-9), 47.0(s, C-10), 21.8(t, C-11), 57.7(d, C-12), 210.8(s, C-13), 52.3(d, C-14), 71.2(d, C-15), 147.3(s, C-16), 113.7(t, C-17), 31.2(q, C-18), 61.2(t, C-19), 70.9(d, C-20), 42.8(q, C-21), 170.0(s, 2-MeCO), 21.7(q, 2-MeCO)。以上数据与文献<sup>[23]</sup>一致,故化合物 **14** 鉴定为 sczukinine。

### 3.2 心肌细胞保护活性

运用 MTT 法,考察了 sachaconitine (**1**)、8-*O*-methylsachaconitine (**2**)、14-*O*-acetylsachaconitine (**3**)、6-epiforsticine (**4**)、8-*O*-methyltalatisamine (**5**)、14-methyltalatisamine(**6**)、austroconitine B(**7**)、hemsleyadine(**8**)、vilmorriamine A(**9**)、yunaconitine(**10**)、14-debenzoylfranchetine(**12**)和 sczukinine(**14**)对阿霉素诱导的 H9c2 心肌细胞损伤的保护作用,结果表明,当浓度为 40  $\mu$ M 时,化合物 **5** 的细胞存活率为 65.25%(阿霉素的细胞存活率为 60.24%),表现出一定的保护活性,其他化合物均无活性。

### 4 结论

本文对丽江乌头干燥块根进行了二萜生物碱成分的研究,共分离得到 14 个二萜生物碱,分别为 11 个乌头碱型 C<sub>19</sub>-二萜生物碱,1 个 7,17 断裂型 C<sub>19</sub>-二萜生物碱,2 个海替定型 C<sub>20</sub>-二萜生物碱。除化合物 **10** 外,均为首次从该植物中分离得到,其中化合物 **12**、**13** 和 **14** 分别为首次从该植物中分离得到的 7,17 断裂型 C<sub>19</sub>-二萜生物碱和 C<sub>20</sub>-二萜生物碱。同时采用 MTT 法考察了部分化合物对阿霉素诱导的 H9c2 心肌细胞损伤的保护活性,发现浓度为 40  $\mu$ M 时,化合物 **5** 表现出一定的保护活性。目前,国内外对丽江乌头的研究较少,本研究丰富了丽江乌头化学成分多样性,为后续寻找活性生物碱成分提供了物质基础。

### 参考文献

- 1 Xiao PG, Wang FP, Gao F, et al. A pharmacophylogenetic study of *Aconitum* L. (Ranunculaceae) from China[J]. Acta Phytotaxon Sin(植物分类学报), 2006, 44: 1-46.
- 2 Yunnan Institute of Botany. Flora of Yunnanica(云南植物志)[M]. Beijing: Science Press, 1977, 11: 72.
- 3 Xu JJ, Zhao DK, Ai HL, et al. Three new C<sub>19</sub>-diterpenoid alkaloids from *Aconitum forrestii*[J]. Helv Chim Acta, 2013, 96: 2155-2159.
- 4 Wang C, Chen D, Sung W. Liwaconitine, a new diterpenoid alkaloid from *Aconitum forrestii*[J]. Planta Med, 1983, 48:

- 55-64.
- 5 Chen WS, Eberhard B. Foresaconitin, das Hauptalkaloid der Wurzeln von *Aconitum forestii* Stapf[J]. Eur J Inorg Chem, 2010, 114:394-397.
  - 6 Pelletier SW, Ying CS, Joshi BS, et al. The structures of for-estine and foresticine, two new C<sub>19</sub>-diterpenoid alkaloids from *Aconitum forrestii* Stapf[J]. J Nat Prod, 1984, 47:474-477.
  - 7 Wen SS, Wang HT, Zhang YY, et al. Experimental study on the dose-time-effect relationship of aconitine on cardiac strength in heart failure cells[J]. J Emerg Tradit Chin Med (中国中医急症), 2012, 21:562-564.
  - 8 Fang K, Li ZH, Li GH, et al. Protective effects of hypaconi-tine on apoptosis of rats cardiac muscle cell caused by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [J]. Chin J Tradit Med Sci Technol (中国中医药科技), 2010, 17:315-317.
  - 9 Zhang W, Liu JW. Protective effect of ligusticum alkaloids on rat cardiomyocyte injury[J]. Chin J Control Endemic Dis (中国地方病防治杂志), 2018, 33:615-616.
  - 10 Hu CY, Xu DP. Extraction, isolation and protective effect of alkaloid from seabuckthorn seeds on injured cardiomyocytes in rats[J]. Food Sci (食品科学), 2010, 31:234-237.
  - 11 Ge YH, Mu SZ, Zhang JX, et al. Diterpenoid alkaloids from roots of *Aconitum recemulosum* and their inhibitory effects on PAF-induced platelet aggregation [J]. Chin J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2009, 15:65-67.
  - 12 Matías R, Alberto M, Gabriel F. Further norditerpenoid alka-loids from *Delphinium cardiopetalum* [J]. Phytochemistry, 1996, 45:1707-1711.
  - 13 Aiyar VN, Kulanthaivel P, Bemm M. The C<sub>19</sub>-diterpenoid al-ka-loids of *Aconitum delphinifolium* [J]. Phytochemistry, 1986, 25:973-975.
  - 14 Wang FP, Li ZB, Chen JJ, et al. Structure of 6-epiforsticine and revision of the stereochemistry of forsticine [J]. Chin Chem Lett, 2000, 11:1003-1004.
  - 15 Boido V, Edwards OE, Handa KL, et al. Alkaloids of *Aconi-tum columbianum* Nutt [J]. Can J Chem, 1984, 62:778-784.
  - 16 Ding LS, Wu FE, Chen YZ. Diterpenoid alkaloids from *Aconi-tum gymnandrum* [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 1993, 28:188-191.
  - 17 Jiang ZY, Chen SY, Zhou J. Chemical component studies on aconitum austroyunnanense (II) [J]. Acta Bot Yunnan (云南植物研究), 1989, 10:461-464.
  - 18 Luo ZH, Chen Y, Sun XY, et al. A new diterpenoid alkaloid from *Aconitum hemsleyanum* [J]. Nat Prod Res, 2019:1-6.
  - 19 Yang CR, Wang ZD, Wu DG, et al. <sup>13</sup>C NMR spectroscopic studies of several new diterpenoid alkaloids from *Aconitum* species [J]. Acta Chim Sin (化学学报), 1981, 39:445-452.
  - 20 Díaz JG, Ruiza JG, Herz W. Norditerpene and diterpene alka-loids from *Aconitum variegatum* [J]. Phytochemistry, 2005, 66:837-846.
  - 21 Xie GB, Wang FP. Chemical study on the norditerpenoid al-ka-loids of *Aconitum liljestrandii* [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2002, 14:32-34.
  - 22 Desai HA, Joshi HK, Venkateswarlu V. Diterpenoid alkaloids from *Delphinium albiflorum* [J]. J Nat Prod, 1995, 58:1555-1561.
  - 23 Chen DH, Chang Q. The new diterpenoid alkaloids from *Aco-nitum szcukinii* Turcz [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 1991, 3:1-5.

(上接第 413 页)

- 11 Hou LR, Sun LN, Teng Y, et al. Study on extraction and hypoglycemic effect of dandelion polysaccharide [J]. Dandelion Polysaccharide [J]. Heilongjiang Med Sci (黑龙江医药科学), 2010, 33(6):36-37.
- 12 Pang YJ, Jiang WW, Lie CP, et al. Inhibition of  $\alpha$ -glucosidase by extracts of 7 kinds of Guizhou national medicines [J]. Chin Tradit Chin Med Pharm (中华中医药杂志), 2012, 27:385-388.
- 13 Huang YX, Zhang M, Zhang Q, et al. Screening of  $\alpha$ -glucosidase inhibitors and their inhibition types [J]. China Food Addit (中国食品添加剂), 2014, 3:96-99.
- 14 Wei YY, Peng ZX, Wang Y. GC-MS analysis of anti-tumor active parts of dandelion [J]. Prog Mod Biomed (现代生物医学进展), 2013, 13:6451-6455.
- 15 Duan HB, Xian CC, Xu ZY, et al. GC-MS analysis and activity analysis of fat soluble components in dandelion leaves [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2018, 24(1):60-66.
- 16 Ling Y, Xu Y, Deng JH. Study on the chemical constituents of dandelion triterpenoids [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 1998, 4:224-225.
- 17 Ling XQ, Zhu XT, Jiang QY, et al. Regulation of chlorophyll on adipocyte differentiation and glycolipid metabolism [J]. Chin J Anim Nutr (动物营养报), 2012, 24:1866-1870.
- 18 Zhang JJ, Kong FQ, Li JX, et al. Effect of palmitic acid on insulin maturation in islet MIN6 cells [J]. Prog Veter Med (动物医学进展), 2013, 34(2):44-48.
- 19 Song XY, Liu Q, Wang ZH. Study on pharmacological action of dandelion polysaccharide [J]. China Pharm (中国药房), 2009, 20:2095-2097.