

# 丽江乌头根中的二萜生物碱成分研究

刘 为,任佳俐,李信瑜,陈 琳,黄 帅\*

西南交通大学生命科学与工程学院,成都 610031

**摘要:**为了寻找丽江乌头中结构新颖的化合物,丰富丽江乌头的化学成分多样性,本文对丽江乌头(*Aconitum forrestii* Stapf)根部的化学成分进行研究,采用硅胶柱层析从其乙醇提取物中分离得到 14 个化合物。通过 HR-ESI-MS、1D 和 2D NMR 等波谱技术鉴定了它们的结构,其中化合物 **1** 是一个新的乌头碱型二萜生物碱,命名为 8-*O*-methyl-14-*O*-anisoylchasmaanine(**1**)。其余 13 个化合物均为已知化合物:14-acetoxy-8-*O*-methylsachaconitine(**2**)、14-acetylaltatizamine(**3**)、talatisamine(**4**)、chasmaanine(**5**)、ezochasmaanine(**6**)、crassicautine(**7**)、geniculatine C(**8**)、cammaconine(**9**)、vilmoraconitine(**10**)、aconitramine A(**11**)、vilmorrianine G(**12**)、hemsleyaconitine G(**13**)和 heterophylloidine(**14**)。测试了所有化合物对阿霉素诱导的 H9c2 心肌细胞损伤的保护活性,结果显示化合物 **3**、**10**、**11** 和 **12** 表现出一定的保护作用。

**关键词:**丽江乌头;根;分离鉴定;二萜生物碱;阿霉素;H9c2 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(2021)3-0419-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2021.3.009

## Diterpenoid alkaloids from the roots of *Aconitum forrestii* Stapf

LIU Wei, REN Jia-li, LI Xin-yu, CHEN Lin, HUANG Shuai\*

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

**Abstract:** To find new compounds in *Aconitum forrestii* Stapf and enrich the diversity of chemical composition. A new diterpenoid alkaloid along with thirteen known diterpenoid alkaloids were isolated from the ethanol extract of the roots of *A. forrestii* by silica gel column chromatography. Their structures were identified as 8-*O*-methyl-14-*O*-anisoylchasmaanine (**1**), 14-acetoxy-8-*O*-methylsachaconitine (**2**), 14-acetylaltatizamine (**3**), talatisamine (**4**), chasmaanine (**5**), ezochasmaanine (**6**), crassicautine (**7**), geniculatine C (**8**), cammaconine (**9**), vilmoraconitine (**10**), aconitramine A (**11**), vilmorrianine G (**12**), hemsleyaconitine G (**13**) and heterophylloidine (**14**) by means of spectroscopic methods such as HR-ESI-MS, 1D and 2D NMR. The protective activity against adriamycin induced H9c2 myocardial cell injury of all compounds have been investigated, and the results showed that compounds **3**, **10**, **11** and **12** had a certain protective effect.

**Key words:** *Aconitum forrestii* Stapf; roots; isolation and identification; diterpenoid alkaloid; adriamycin; protective activity against H9c2 cardiomyocytes

丽江乌头(*Aconitum forrestii* Stapf)为毛茛科乌头属(*Aconitum* L.)植物,分布于云南西北部及四川西南部,其性热-味辛-有毒,具有祛风除湿、温经止痛等药理作用;丽江地区民间常用于风湿病镇痛,全草杀虫<sup>[1,2]</sup>。乌头属植物主要药用成分为二萜生物碱,现代药理研究表明二萜生物碱具有镇痛、抗炎、杀虫、免疫调节和抗心律失常等药理活性<sup>[6]</sup>。从1981年开始陆续有学者对丽江乌头的化学成分进

行研究,目前,从该植物中分离并鉴定出 20 余种二萜生物碱<sup>[1-5]</sup>,均为为高乌宁碱型 C<sub>18</sub>-二萜生物碱和乌头碱型 C<sub>19</sub>-二萜生物碱<sup>[7]</sup>。已经有学者报道过丽江乌头中二萜生物碱的镇痛、抗炎和免疫调节活性<sup>[8,9]</sup>,但对丽江乌头中二萜生物碱的强心活性却未见文献报道。有研究证明部分海替定型 C<sub>20</sub>-二萜生物碱具有抗血小板聚集活性<sup>[10]</sup>;部分 C<sub>18</sub>-二萜生物碱和乌头碱型 C<sub>19</sub>-二萜生物碱有强心活性和心肌保护作用<sup>[11-13]</sup>;天然来源的化合物来源广泛、安全低毒,已经证实一些天然来源的化合物与抗肿瘤药物联用具有减毒增效的作用<sup>[14]</sup>。为了拓宽丽江乌

收稿日期:2020-02-12 接受日期:2020-12-10

基金项目:国家自然科学基金(21807089)

\* 通信作者 Tel:86-28-87603202;E-mail:shuaih@swjtu.edu.cn

头中的化合物成分类型,继续找寻具有药用价值的生物活性成分,本研究对采自云南丽江的丽江乌头中化学成分进行了进一步的研究。并测试了所有化合物对阿霉素诱导 H9c2 心肌细胞损伤的保护活性。

## 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 和 600, 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);H9c2 大鼠心肌细胞(上海研生生化试剂有限公司);阿霉素、胰蛋白酶和甲基四唑蓝(MTT)(北京索莱宝生物科技有限公司);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,95%乙醇室温下冷浸 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。然后用氨水溶液将水层的 pH 调至 9~10,最后用二氯甲烷萃取,每次 4 L,共 4 次,合并萃取液,浓缩得到生物总碱(140 g)。生物总碱经硅胶柱层析,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(18 g)、A2(10.43 g)、A3(87.3 mg)、A4(1.62 g)和 A5(18 g)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 2(418 mg)和 11(221 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(52 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 1(10 mg)、3(40 mg)、4(24 mg)、12(13 mg)和 13(6 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(14 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 15(1.88 g)、E3(1 g)和 E4(600 mg)。E3 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(83 mg)。E4 部分经硅胶柱层析(二氯甲烷:甲醇 10:0.4→1:1)得到化合物 8(28.4 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 6(817 mg)、10(40 mg)和 14(17 mg)。

### 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<sup>[15]</sup>。取对数生长期的 H9c2 心肌细胞,0.25% 胰蛋白酶

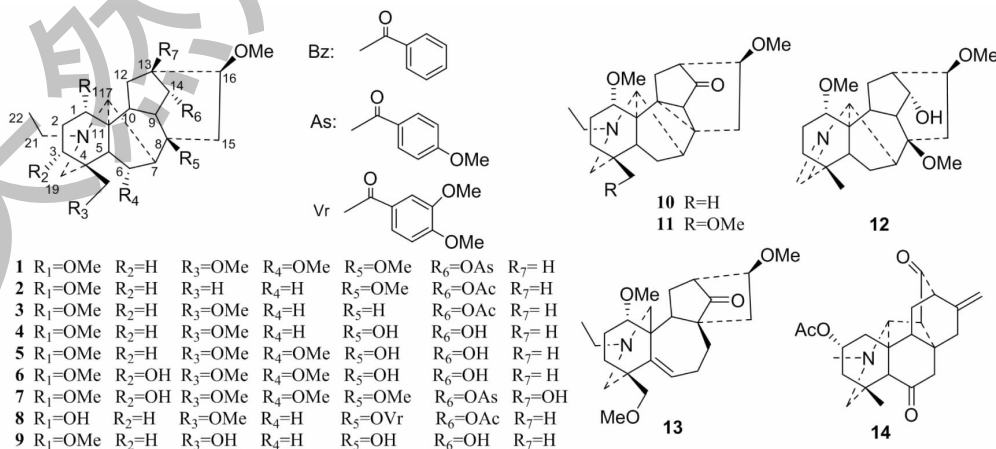


图 1 化合物 1~14 的化学结构

Fig. 1 The chemical structures of compounds 1-14

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  $\mu\text{mol/L}$ 的阿霉素处理细胞24 h;实验组加入浓度为40  $\mu\text{mol/L}$ 的待测化合物,同时加入8  $\mu\text{mol/L}$ 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,加入二甲亚砜150  $\mu\text{L}$ ,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 化合物结构鉴定

**化合物 1** 白色无定形粉末,对 Dragendorff 试剂反应显阳性,  $[\alpha]_D^{20} + 21.5$  (c 0.2,  $\text{CHCl}_3$ )。HR-ESI-MS:  $m/z$  600.3521 [ $M + H$ ] $^+$  (calcd for  $\text{C}_{34}\text{H}_{50}\text{NO}_8$ , 600.3531) 推测其分子式为  $\text{C}_{34}\text{H}_{49}\text{NO}_8$ 。红外光谱表明存在羰基酯(1712  $\text{cm}^{-1}$ )。化合物 1 的  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 数据(见表1)表明存在1个 *N*-乙基( $\delta_{\text{H}}$  1.08, 3H, t,  $J = 7.1$  Hz;  $\delta_{\text{H}}$  2.56, 2.51, 各1H, m;  $\delta_{\text{C}}$  49.1 t, 13.6 q), 和5个甲氧基 [ $\delta_{\text{H}}$  3.14 (3H, s)、3.26 (3H, s) 和 3.31 (9H, s)], 1个大茴香酰基 [ $\delta_{\text{H}}$  6.91 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz);  $\delta_{\text{H}}$  8.02 (2H, d,  $J = 8.9$

Hz);  $\delta_{\text{H}}$  3.85 (3H, s);  $\delta_{\text{C}}$  166.5 s, 163.1 s, 123.6 s, 131.9 d, 113.6 d 和 55.5 q]。此外,  $^{13}\text{C}$  NMR 图谱中除了 *N*-乙基, 大茴香酰基和5个甲氧基外, 它还具有19个碳信号的剩余, 包括7个亚甲基, 9个亚甲基和3个季碳, 与  $\text{C}_{34}\text{H}_{49}\text{NO}_8$  的分子式一致。综上所述, 推测化合物 1 为乌头碱型  $\text{C}_{19}$  二萜生物碱。在 HMBC 图谱中, 1-OCH<sub>3</sub> ( $\delta_{\text{H}}$  3.26 s)、6-OCH<sub>3</sub> ( $\delta_{\text{H}}$  3.31 s)、8-OCH<sub>3</sub> ( $\delta_{\text{H}}$  3.14 s)、16-OCH<sub>3</sub> ( $\delta_{\text{H}}$  3.31 s) 和 H-18 ( $\delta_{\text{H}}$  3.31 s) 分别与 C-1 ( $\delta_{\text{C}}$  85.6 d)、C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  83.3 d)、C-8 ( $\delta_{\text{C}}$  78.5 s)、C-16 ( $\delta_{\text{C}}$  83.2 d) 和 C-18 ( $\delta_{\text{C}}$  80.4 t) 有相关, 因此证明五个甲氧基分别位于 C-1、C-6、C-8、C-16 和 C-18。而 H-14 ( $\delta_{\text{H}}$  4.99, 1H, t,  $J = 4.9$  Hz) 与酯羰基 ( $\delta_{\text{C}}$  166.5 s) 的 HMBC 相关则表明大茴香酰基(As)连接在 C-14 位。化合物 1 的立体构型通过耦合常数和 NOESY 确认。H-1 和 H-5、H-1 和 H-3 以及 H-6 和 H-9 的相关峰证明了 1-OCH<sub>3</sub> 和 6-OCH<sub>3</sub> 为  $\alpha$  构型。H-14 ( $\delta_{\text{H}}$  4.99, 1H, t,  $J = 4.9$  Hz) 的耦合常数表明 H-14 均为  $\beta$  构型, 所以 14-OAs 均为  $\alpha$  构型。此外, H-16 和 H-17 之间的相关峰证明 16-OCH<sub>3</sub> 为  $\beta$  构型。因此, 确定了化合物 1 的结构为 8-*O*-methyl-14-*O*-anisoylchasanine (图2)。化合物 1 的详细结构鉴定数据原始图谱可从本刊官网免费下载(www.trew.ac.cn)。

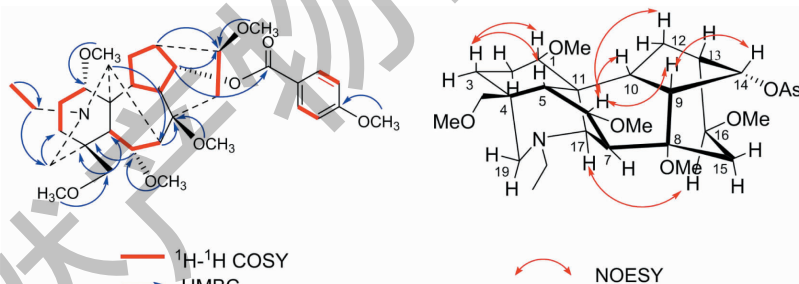


图2 化合物 1 的  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY (—)、HMBC (→) 和 NOESY (↷) 关键相关

Fig. 2 Key  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY (—), HMBC (→) and NOESY (↷) correlations of compound 1

表1 化合物 1 的核磁数据 ( $^1\text{H}$  NMR: 400 MHz;  $^{13}\text{C}$  NMR: 100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

Table 1 NMR data of compound 1 ( $^1\text{H}$  NMR: 400 MHz;  $^{13}\text{C}$  NMR: 100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

Position	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ ( $J = \text{Hz}$ )	Position	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ ( $J = \text{Hz}$ )
1	85.6 d	3.05 dd(9.6, 6.3)	17	61.3 d	2.75 s
2 $\alpha$	26.5 t	2.34 m	18a	80.4 t	3.13 d(8.3)
2 $\beta$		1.90 m	18b		3.66 d(8.3)
3 $\alpha$	35.0 t	1.64 m	19 $\alpha$	54.1 t	2.47 overlapped
3 $\beta$		1.64 m	19 $\beta$		2.54 overlapped
4	39.1 s	—	21a	49.1 t	2.56 m

续表 1 (Continued Tab. 1)

Position	$\delta_c$	$\delta_H (J = \text{Hz})$	Position	$\delta_c$	$\delta_H (J = \text{Hz})$
5	48.5 d	2.07 d(6.6)	21b		2.51 m
6	83.3 d	4.09 d(6.6)	22	13.6 q	1.08 t(7.1)
7	48.6 d	2.41 s	1-OMe	56.4 q	3.26 s
8	78.5 s	-	6-OMe	58.7 q	3.31 s
9	45.7 d	2.44 overlapped	8-OMe	48.6 q	3.14 s
10	38.1 d	2.49 overlapped	16-OMe	56.3 q	3.31 s
11	50.8 s	-	18-OMe	59.2 q	3.31 s
12 $\alpha$	29.7 t	1.93 overlapped	14-OCO	166.5 s	-
12 $\beta$		2.49 overlapped	1'	123.6 s	-
13	45.2 d	1.93 overlapped	2'/6'	131.9 d	8.02 d(8.9)
14	76.0 d	4.99 t(4.9)	3'/5'	113.6 d	6.91 d(8.9)
15 $\alpha$	35.6 t	2.12 dd(14.3, 8.9)	4'	163.1 s	-
15 $\beta$		2.19 dd(14.3, 7.3)	4'-OMe	55.5 q	3.85 s
16	83.2 d	3.34 overlapped			

**化合物 2** 无色油状液体; HR-ESI-MS:  $m/z$  448.563 1 [M + H]<sup>+</sup>; 分子式 C<sub>26</sub>H<sub>41</sub>NO<sub>5</sub>。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 0.75 (3H, s, H-18), 1.04 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz, H-22), 3.11, 3.25, 3.31 (各 3H, s, 3 × OMe), 2.01 (3H, s, 14-OAc); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 86.1 (d, C-1), 27.1 (t, C-2), 38.0 (t, C-3), 34.5 (s, C-4), 50.8 (d, C-5), 24.6 (t, C-6), 40.1 (d, C-7), 78.0 (s, C-8), 43.3 (d, C-9), 45.3 (d, C-10), 49.3 (s, C-11), 29.2 (t, C-12), 38.2 (d, C-13), 76.0 (d, C-14), 35.7 (t, C-15), 83.5 (d, C-16), 61.5 (d, C-17), 26.6 (q, C-18), 57.0 (t, C-19), 49.4 (t, C-21), 13.4 (q, C-22), 56.4 (q, 1-OMe), 48.3 (q, 8-OMe), 56.4 (q, 16-OMe), 171.7 (s, 14-MeCO), 21.5 (q, 14-MeCO)。以上数据与文献<sup>[3]</sup>基本一致, 故化合物 2 鉴定为 14-acetoxy-8-*O*-methylsachaconitine。

**化合物 3** 白色无定形粉末; HR-ESI-MS:  $m/z$  464.303 0 [M + H]<sup>+</sup>; 分子式 C<sub>26</sub>H<sub>41</sub>NO<sub>6</sub>。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.04 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz, H-22), 3.20, 3.25, 3.27 (各 3H, s, 3 × OMe), 2.03 (3H, s, 14-OAc); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 85.9 (d, C-1), 26.3 (t, C-2), 32.8 (t, C-3), 38.7 (s, C-4), 45.5 (d, C-5), 25.1 (t, C-6), 46.4 (d, C-7), 73.8 (s, C-8), 46.1 (d, C-9), 45.1 (d, C-10), 48.9 (s, C-11), 28.6 (t, C-12), 35.6 (d, C-13), 77.1 (d, C-14), 41.0 (t, C-15), 81.7 (d, C-16), 62.2 (d, C-17), 79.7 (t, C-18), 53.2 (t, C-19), 49.5 (t, C-21), 13.7 (q, C-22),

56.3 (q, 1-OMe), 56.6 (q, 16-OMe), 59.6 (q, 18-OMe), 170.8 (s, 14-MeCO), 21.5 (q, 14-MeCO)。以上数据与文献<sup>[16]</sup>基本一致, 故化合物 3 鉴定为 14-acetyltalatisamine。

**化合物 4** 白色无定形粉末; HR-ESI-MS:  $m/z$  422.290 1 [M + H]<sup>+</sup>; 分子式 C<sub>24</sub>H<sub>39</sub>NO<sub>5</sub>。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.02 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz, H-22), 3.21, 3.26, 3.31 (各 3H, s, 3 × OMe); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 86.4 (d, C-1), 25.9 (t, C-2), 37.8 (t, C-3), 34.6 (s, C-4), 50.9 (d, C-5), 24.8 (t, C-6), 45.1 (d, C-7), 72.9 (s, C-8), 47.1 (d, C-9), 46.0 (d, C-10), 48.8 (s, C-11), 27.8 (t, C-12), 37.7 (d, C-13), 75.7 (d, C-14), 38.5 (t, C-15), 82.4 (d, C-16), 63.0 (d, C-17), 79.6 (t, C-18), 53.3 (t, C-19), 49.6 (t, C-21), 13.8 (q, C-22), 56.4 (q, 1-OMe), 56.6 (q, 16-OMe), 59.6 (q, 8-OMe)。以上数据与文献<sup>[17]</sup>基本一致, 故化合物 4 鉴定为 talatisamine。

**化合物 5** 白色无定形粉末; HR-ESI-MS:  $m/z$  452.308 7 [M + H]<sup>+</sup>; 分子式 C<sub>25</sub>H<sub>41</sub>NO<sub>6</sub>。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.06 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz, H-22), 3.23, 3.30, 3.30, 3.32 (各 3H, s, 4 × OMe); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 86.4 (d, C-1), 26.1 (t, C-2), 35.4 (t, C-3), 39.6 (s, C-4), 48.8 (d, C-5), 82.5 (d, C-6), 52.8 (d, C-7), 72.7 (s, C-8), 50.4 (d, C-9), 45.8 (d, C-10), 50.5 (s, C-11), 28.5 (t, C-12), 38.1 (d, C-13), 75.7 (d, C-14), 39.0 (t, C-15), 82.2

(d, C-16), 62.8 (d, C-17), 80.9 (t, C-18), 54.0 (t, C-19), 49.5 (t, C-21), 13.9 (q, C-22), 56.6 (q, 1-OMe), 57.5 (q, 6-OMe), 56.3 (q, 16-OMe), 59.4 (q, 18-OMe)。以上数据与文献<sup>[18]</sup>基本一致,故化合物**5**鉴定为 chasmanine。

**化合物 6** 白色无定形粉末;HR-ESI-MS:  $m/z$  468.298 3 [M + H]<sup>+</sup>;分子式 C<sub>25</sub>H<sub>41</sub>NO<sub>7</sub>。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.07 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz, H-22), 3.23, 3.30, 3.30, 3.32 (各 3H, s, 4  $\times$  OMe); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 83.2 (d, C-1), 33.9 (t, C-2), 72.2 (d, C-3), 43.5 (s, C-4), 48.6 (d, C-5), 82.3 (d, C-6), 52.4 (d, C-7), 72.6 (s, C-8), 48.9 (d, C-9), 38.1 (d, C-10), 50.2 (s, C-11), 28.1 (t, C-12), 45.3 (d, C-13), 75.5 (d, C-14), 39.1 (t, C-15), 82.0 (d, C-16), 62.2 (d, C-17), 77.5 (t, C-18), 47.4 (t, C-19), 49.1 (t, C-21), 13.7 (q, C-22), 56.4 (q, 1-OMe), 57.3 (q, 6-OMe), 56.0 (q, 16-OMe), 59.2 (q, 18-OMe)。以上数据与文献<sup>[19]</sup>基本一致,故化合物**6**鉴定为 ezochasmanine。

**化合物 7** 白色无定形粉末;HR-ESI-MS:  $m/z$  632.352 9 [M + H]<sup>+</sup>;分子式 C<sub>34</sub>H<sub>49</sub>NO<sub>10</sub>。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.09 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz, H-22), 2.98, 3.23, 3.26, 3.29, 3.52, 3.85 (各 3H, s, 6  $\times$  OMe), 8.00 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz, H-2'/6'), 6.91 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz, H-3'/5'); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 83.2 (d, C-1), 33.5 (t, C-2), 71.9 (d, C-3), 43.2 (s, C-4), 48.2 (d, C-5), 82.7 (d, C-6), 48.7 (d, C-7), 78.7 (s, C-8), 46.1 (d, C-9), 35.9 (d, C-10), 50.8 (s, C-11), 36.8 (t, C-12), 75.4 (s, C-13), 79.2 (d, C-14), 41.6 (t, C-15), 83.9 (d, C-16), 61.2 (d, C-17), 77.5 (t, C-18), 47.8 (t, C-19), 48.8 (t, C-21), 13.5 (q, C-22), 56.0 (q, 1-OMe), 58.7 (q, 6-OMe), 58.8 (q, 8-OMe), 59.0 (q, 16-OMe), 59.2 (q, 18-OMe), 166.4 (s, 14-OCOAs), 123.2 (s, C-1'), 131.9 (d, C-2'/6'), 113.6 (s, C-3'/5'), 163.3 (s, C-4')。以上数据与文献<sup>[20]</sup>基本一致,故化合物**7**鉴定为 crassicautine。

**化合物 8** 白色无定形粉末;HR-ESI-MS:  $m/z$  614.334 4 [M + H]<sup>+</sup>;分子式 C<sub>34</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>9</sub>。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.16 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz, H-22), 3.27, 3.37, 3.94, 3.95 (各 3H, s, 4  $\times$  OMe), 1.81 (3H, s, 14-OAc); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 72.3 (d, C-1), 26.8 (t, C-2), 29.8 (t, C-3), 37.3 (s,

C-4), 41.5 (d, C-5), 25.0 (t, C-6), 43.5 (d, C-7), 86.6 (s, C-8), 41.5 (d, C-9), 40.8 (d, C-10), 49.1 (s, C-11), 29.2 (t, C-12), 39.3 (d, C-13), 76.0 (d, C-14), 38.6 (t, C-15), 83.2 (d, C-16), 63.4 (d, C-17), 78.9 (t, C-18), 56.6 (t, C-19), 48.6 (t, C-21), 13.0 (q, C-22), 56.8 (q, 16-OMe), 59.5 (q, 18-OMe), 171.3 (s, 14-MeCO), 21.6 (q, 14-MeCO), 164.9 (s, OCOVr), 123.6 (s, C-1'), 111.8 (d, C-2'), 148.8 (s, C-3'), 153.1 (s, C-4'), 110.4 (d, C-5'), 123.4 (d, C-6'), 56.1 (q, 3'-OMe), 56.1 (q, 4'-OMe)。以上数据与文献<sup>[21]</sup>基本一致,故化合物**8**鉴定为 geniculatine C。

**化合物 9** 白色无定形粉末;HR-ESI-MS:  $m/z$  408.273 8 [M + H]<sup>+</sup>;分子式 C<sub>23</sub>H<sub>37</sub>NO<sub>5</sub>。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.04 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz, H-22), 3.25, 3.32 (各 3H, s, 2  $\times$  OMe); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 86.4 (d, C-1), 25.9 (t, C-2), 32.3 (t, C-3), 39.2 (s, C-4), 46.0 (d, C-5), 24.7 (t, C-6), 45.9 (d, C-7), 73.1 (s, C-8), 47.1 (d, C-9), 37.7 (d, C-10), 48.9 (s, C-11), 27.8 (t, C-12), 45.7 (d, C-13), 75.7 (d, C-14), 38.4 (t, C-15), 82.3 (d, C-16), 63.1 (d, C-17), 68.9 (t, C-18), 53.1 (t, C-19), 49.6 (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>[22]</sup>基本一致,故化合物**9**鉴定为 cammaconine。

**化合物 10** 无色棱晶(石油醚:丙酮 = 10:1);HR-ESI-MS:  $m/z$  372.244 6 [M + H]<sup>+</sup>;分子式 C<sub>23</sub>H<sub>33</sub>NO<sub>3</sub>。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 0.74 (3H, s, H-18), 1.03 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz, H-22), 3.25, 3.34 (各 3H, s, 2  $\times$  OMe); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 80.1 (d, C-1), 25.0 (t, C-2), 38.1 (t, C-3), 35.2 (s, C-4), 48.8 (d, C-5), 26.4 (t, C-6), 42.8 (d, C-7), 41.2 (s, C-8), 40.1 (d, C-9), 45.1 (d, C-10), 51.5 (s, C-11), 29.7 (t, C-12), 46.9 (d, C-13), 211.3 (s, C-14), 30.6 (t, C-15), 79.7 (d, C-16), 77.4 (d, C-17), 26.6 (q, C-18), 57.1 (t, C-19), 50.4 (t, C-21), 13.5 (q, C-22), 55.9 (q, 1-OMe), 56.8 (q, 16-OMe)。以上数据与文献<sup>[23]</sup>基本一致,故化合物**10**鉴定为 vilmoraconitine。

**化合物 11** 无色油状液体;HR-ESI-MS:  $m/z$  402.276 0 [M + H]<sup>+</sup>;分子式 C<sub>24</sub>H<sub>35</sub>NO<sub>4</sub>。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.05 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz, H-22), 3.27, 3.29, 3.37 (各 3H, s, 3  $\times$  OMe); <sup>13</sup>C NMR

(100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 79.9 (d, C-1), 24.5 (t, C-2), 33.1 (t, C-3), 39.4 (s, C-4), 44.3 (d, C-5), 26.4 (t, C-6), 43.0 (d, C-7), 41.0 (s, C-8), 40.1 (d, C-9), 45.1 (s, C-10), 51.2 (s, C-11), 29.6 (t, C-12), 46.9 (d, C-13), 211.1 (s, C-14), 30.5 (t, C-15), 79.8 (d, C-16), 79.6 (d, C-17), 77.8 (t, C-18), 53.5 (t, C-19), 50.4 (t, C-21), 13.5 (q, C-22), 55.9 (q, 1-OMe), 56.8 (q, 16-OMe), 59.6 (q, 18-OMe)。以上数据与文献<sup>[24]</sup>基本一致,故化合物 **11** 鉴定为 ac-onitramine A。

**化合物 12** 白色无定形粉末;HR-ESI-MS:  $m/z$  376.249  $1 [M + H]^+$ ; 分子式  $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{NO}_4$ 。 $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.09 (3H, s, H-18), 3.12、3.23、3.37 (各 3H, s, 3  $\times$  OMe), 7.20 (1H, s, H-19);  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 84.8 (d, C-1), 26.0 (t, C-2), 32.7 (t, C-3), 45.8 (s, C-4), 46.7 (d, C-5), 25.1 (t, C-6), 47.4 (d, C-7), 77.3 (s, C-8), 45.3 (d, C-9), 46.3 (d, C-10), 48.3 (s, C-11), 27.9 (t, C-12), 37.7 (d, C-13), 75.3 (d, C-14), 32.0 (t, C-15), 82.1 (d, C-16), 61.9 (d, C-17), 23.0 (q, C-18), 169.2 (d, C-19), 56.2 (q, 1-OMe), 48.6 (q, 8-OMe), 56.6 (q, 16-OMe)。以上数据与文献<sup>[25]</sup>基本一致,故化合物 **12** 鉴定为 vilmorrianine G。

**化合物 13** 无色油状液体;HR-ESI-MS:  $m/z$  404.279  $8 [M + H]^+$ ; 分子式  $\text{C}_{24}\text{H}_{37}\text{NO}_4$ 。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.05 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz, H-22), 3.24、3.30、3.39 (各 3H, s, 3  $\times$  OMe);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 84.9 (d, C-1), 26.1 (t, C-2), 33.8 (t, C-3), 37.6 (s, C-4), 137.4 (s, C-5), 119.0 (d, C-6), 22.3 (t, C-7), 46.9 (t, C-8), 48.5 (s, C-9), 37.3 (d, C-10), 40.9 (s, C-11), 36.4 (t, C-12), 49.0 (d, C-13), 218.2 (s, C-14), 37.5 (t, C-15), 80.1 (d, C-16), 50.5 (t, C-17), 78.6 (t, C-18), 54.5 (t, C-19), 52.7 (t, C-21), 12.5 (q, C-22), 54.8 (q, 1-OMe), 56.1 (q, 16-OMe), 59.4 (q, 18-OMe)。以上数据与文献<sup>[26]</sup>基本一致,故化合物 **13** 鉴定为 hemsleyaconitine G。

**化合物 14** 白色无定形粉末;HR-ESI-MS:  $m/z$  384.220  $2 [M + H]^+$ ; 分子式  $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{NO}_4$ 。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.45 (3H, s, H-18), 2.02 (3H, s, 2-OAc), 2.33 (3H, s, H-21);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 35.9 (t, C-1), 71.0 (d, C-2), 43.4 (t, C-3), 36.9 (s, C-4), 63.2 (d, C-5), 203.7 (s, C-6), 50.5 (t,

C-7), 41.9 (s, C-8), 59.3 (d, C-9), 44.6 (s, C-10), 22.8 (t, C-11), 52.9 (d, C-12), 211.8 (s, C-13), 50.5 (d, C-14), 44.0 (t, C-15), 142.3 (s, C-16), 110.7 (t, C-17), 31.3 (q, C-18), 60.5 (t, C-19), 68.6 (d, C-20), 43.4 (q, C-21), 170.0 (s, 2-MeCO), 21.7 (q, 2-MeCO)。以上数据与文献<sup>[27]</sup>基本一致,故化合物 **14** 鉴定为 heterophylloidine。

### 3.2 活性测试结果

结果表明,化合物浓度在 40  $\mu\text{mol/L}$  时, **3**、**10**、**11** 和 **12** 表现出一定的保护活性,其细胞存活率分别为 69.92%、64.90%、74.86% 和 69.90% (阿霉素的细胞存活率为 61.49%)。

### 4 结论

本研究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 1 个新的乌头碱型  $\text{C}_{19}$ -二萜生物碱和 13 个已知化合物。分离得到的化合物结构类型涉及: 9 个乌头碱型  $\text{C}_{19}$ -二萜生物碱、2 个重排型  $\text{C}_{19}$ -二萜生物碱、1 个 7,17 次裂型  $\text{C}_{19}$ -二萜生物碱和 1 个海替定型  $\text{C}_{20}$ -二萜生物碱。除化合物 **4** 和 **9** 外,其余化合物均为首次从该植物中分离得到。发现丽江乌头中除了乌头碱型还有其他类型的  $\text{C}_{19}$ -二萜生物碱与  $\text{C}_{20}$ -二萜生物碱,丰富了丽江乌头的化学成分结构类型,也为阐明丽江乌头药效物质基础提供了一定依据。同时考察了化合物对阿霉素诱导的 H9c2 心肌细胞损伤的保护活性,发现在浓度 40  $\mu\text{mol/L}$  时,化合物 **3**、**10**、**11** 和 **12** 表现出了一定的保护活性。因此为发现能够减少因化疗药物副作用所致心肌损伤的新药和深入研究二萜生物碱的活性提供了线索。

### 参考文献

- Zhang RP, Chen JJ. Study on Alkaloids in *Aconitum forrestii* Stapf [J]. J Kunming Med Coll (昆明医科大学学报), 1997, 18: 99-100.
- Chen SY, Liu YQ. 8-Deacetyl diancoline of *Aconitum forrestii* Stapf [J]. Acta Bot Yunnan (云南植物研究), 1984, 6: 338-340.
- Xu JJ, Zhao DK, Ai HL, et al. Three new  $\text{C}_{19}$ -diterpenoid alkaloids from *Aconitum forrestii* [J]. Helv Chim Acta, 2013, 96: 2155-2159.
- Wang C, Chen D, Sung W. Liwaconitine, a new diterpenoid alkaloid from *Aconitum forrestii* [J]. Planta Med, 1983, 48 (5): 55-64.
- 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.
- 6 Li MR, Qu W, Liang JY. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Aconitum* [J]. Strait Pharm J (海峡药学), 2010, 22:1-6.
- 7 Xiao PG, Wang FP, Gao F, et al. Study on medicinal genetics of aconite in China [J]. J Sys Evol (植物分类学报), 2006, 44:1-46.
- 8 Lin ZG, Cai W, Tang CX. Anti-inflammatory and analgesic effects of yunaconitine [J]. Chin J Pharmacol Toxicol (中国药理学与毒理学杂志), 1987, 1:93-99.
- 9 Li XY, Jiang KM, Lin ZY. Immunoregulatory effect of yunaconitine [J]. Chin J Pharmacol Toxicol (中国药理学与毒理学杂志), 1987, 2:100-104.
- 10 Li L, Li M, Shen YM, et al. Antiplatelet aggregation activity of diterpenoid alkaloids from *Spiraea Fritschiana* Var. *Parvifolia* [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2002, 14:7-10.
- 11 Gao ZQ, Xie H, Chen L. Protective effect of lappaconitine in *Aconitum sinomontanum* Nakai on myocardial ischemia/reperfusion injury in rats [J]. Jiangsu Chin J Pharm (江苏中医药), 2015, 47:79-81.
- 12 Fang K, Li ZH, Li Guo H, et al. Protective effect of hypaconitine on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced myocardial cell apoptosis in rats [J]. Chin J Tradit Med Sci Technol (中国中医药科技), 2010, 17:315-317.
- 13 Wang L, Ding JY, Liu XX, et al. Identification of amino alcohol diterpenoid alkaloids in aconite and study on its cardiac activity [J]. Acta Pharm Sin, 2014, 49:1699-1704.
- 14 Zheng Y, Zhou F, Wu X, et al. 23-Hydroxybetulinic acid from *Pulsatilla chinensis* (Bunge) Regel synergizes the antitumor activities of doxorubicin *in vitro* and *in vivo* [J]. J Ethnopharmacol, 2010, 128:615-622.
- 15 Zhang XW, Li L, Wang Y, et al. Study on the protective mechanism of flavin on adriamycin-induced H9c2 cardiomyocyte injury [J]. J Mudanjiang Med Coll (牡丹江医学院学报), 2017, 38:25-27.
- 16 Sakai SI, Takayama H, Okamoto T. On the alkaloids of *Aconitum japonicum* Thunb. collected at Mt. Takao (Tokyo) [J]. Yakugaku Zasshi, 1979, 99:647-656.
- 17 Li ZB, Xu L, Wang J, et al. Chemical study on the norditerpenoid alkaloids of *Aconitum geniculatum* [J]. Nat Prod Res, 2000, 12:16-21.
- 18 Pelletier SW, Djarmati Z, Lajsic S, et al. Alkaloids of *Delphinium staphisagria*. The structure and stereochemistry of delphisine, neoline, chasmanine, and homochasmanine [J]. J Am Chem Soc, 1976, 98:2617-2625.
- 19 Takayama H, Tokita A, Ito M, et al. On the alkaloids of *Aconitum yesoense* Nakai [J]. Yakugaku Zasshi, 1982, 102:245-257.
- 20 Wang FP, Pelletier SW. Diterpenoid alkaloids from *Aconitum crassicaule* [J]. J Nat Prod, 1987, 50:55-62.
- 21 Li ZB, Xu L, Jian XX, et al. New norditerpenoid alkaloids from the roots of *Aconitum geniculatum* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2001, 3:131-137.
- 22 Mody NV, Pelletier SW, Mollov NM. The structure of cccammaconine from *Aconitum variegatum* [J]. Heterocycles, 1980, 14:1751-1752.
- 23 Xiong J, Tan NH, Ji CJ, et al. Vilmoraconitine, a novel skeleton C<sub>19</sub>-diterpenoid alkaloid from *Aconitum vilmorinianum* [J]. Tetrahedron Lett, 2008, 49:4851-4853.
- 24 Shen Y, Ai HL, Cao TW, et al. Three New C<sub>19</sub>-diterpenoid alkaloids from *Aconitum transectum* [J]. Helv Chim Acta, 2012, 95:509-513.
- 25 Chen CL, Tan WH, Wang Y, et al. New norditerpenoid alkaloids from *Aconitum vilmorinianum* Komarov [J]. J Nat Med, 2015, 69:601-607.
- 26 Shen Y, Zuo AX, Jiang ZY, et al. Hemsleyaconitines F and G, two novel C<sub>19</sub>-diterpenoid alkaloids possessing a unique skeleton from *Aconitum hemsleyanum* [J]. Helv Chim Acta, 2011, 94:268-272.
- 27 Pelletier SW, Mody NV, Finer-Moore J, et al. The structure and absolute configuration of heterophylloidine [J]. Tetrahedron Lett, 1981, 22:313-314.