

黄花乌头茎叶中一个新的 Hetisine 型生物碱

汤庆发¹, 杨春华², 刘静涵^{1*}, 叶文才^{1,3}, 赵守训¹, 吕扬⁴, 冒莉⁴, 郑启泰⁴

(中国药科大学 1. 天然药物化学教研室, 2. 分析测试中心, 江苏 南京 210009;
3. 暨南大学 中药及天然药物研究所, 广东 广州 510632; 4. 中国医学科学院、中国协和医科大学 药物研究所, 北京 100050)

摘要: 目的 研究黄花乌头茎叶的化学成分。**方法** 采用现代色谱方法进行化学成分分离, 并通过各种波谱学分析鉴定化合物的结构。**结果** 从黄花乌头茎叶中分离得到 2 个化合物, 分别鉴定为 13-dehydro-1 β -acetyl-2 α , 6 β -dihydroxyhetisine (I) 和关附庚素(II)。**结论** I 为新化合物。

关键词: 黄花乌头; Hetisine 型生物碱; 关附庚素

中图分类号: R284.2 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2005)07-0640-04

A new hetisine-type alkaloid from the stems and leaves of *Aconitum coreanum*

TANG Qing-fa¹, YANG Chun-hua², LIU Jing-han^{1*}, YE Wen-cai^{1,3}, ZHAO Shou-xun¹,
LÜ Yang⁴, MAO Li⁴, ZHENG Qi-tai⁴

(1. Department of Phytochemistry, 2. Center for Instrumental Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China;
3. Institute of Traditional Chinese Medicine and Natural Products, Jinan University, Guangzhou 510632, China;
4. Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: Aim To study the chemical constituents of the stems and leaves of *Aconitum coreanum* (Lévl.) Rapaics. **Methods** The constituents of *Aconitum coreanum* were isolated by using various kinds of modern chromatographic methods. The new alkaloid was identified on the basis of spectral analysis. **Results** Two compounds were isolated and identified as: 13-dehydro-1 β -acetyl-2 α , 6 β -dihydroxyhetisine (I) and Guanfu base G (II). **Conclusion** Compound I is a new alkaloid.

Key words: *Aconitum coreanum*; hetisine-type alkaloid; 13-dehydro-1 β -acetyl-2 α , 6 β -dihydroxyhetisine

黄花乌头 [*Aconitum coreanum* (Lévl.) Rapaics] 为毛茛科乌头属植物, 其块根称关白附。主要分布于我国东北、朝鲜和俄罗斯远东地区, 是我国民间常用的中草药, 有祛风、止痛、燥湿、化痰和治疗心痛血痹之功效。迄今为止, 已从黄花乌头的块根中分得 26 个生物碱^[1-6]。其中关附甲素 (Guanfu base A) 已开发成我国的原创新药, 即盐酸关附甲素注射液。该药即将上市, 是一种疗效显著的新型抗心律失常

药物。为了扩大药用资源, 作者对黄花乌头茎叶进行了研究, 从中分得 2 个化合物。经波谱学分析鉴定其结构, 分别为 13-dehydro-1 β -acetyl-2 α , 6 β -dihydroxyhetisine (I) 和关附庚素(II)。化合物 I 为一新生物碱, 命名关附午素 (Guanfu base Q, 图 1)。

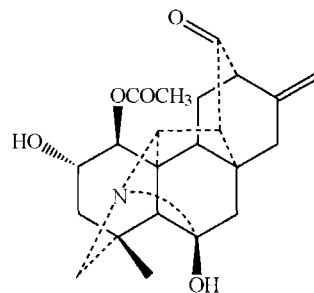


Figure 1 Structure of compound I

收稿日期: 2004-10-09.

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (863 计划) 资助项目 (2002AA223102).

* 通讯作者 Tel: 86-25-83271328, Fax: 86-25-83375894,
E-mail: liujinghan@vip.sina.com

化合物 I 无色针晶(EtOH),碘化铋钾反应呈阳性,mp 235 ~ 236 °C。UV(λ_{\max} nm):205(末端)。HR-MS 显示化合物分子量为 385. 193 5(理论值为 385. 196 1),确定其分子式为 $C_{22}H_{27}NO_5$,不饱和度为 10。IR cm^{-1} : 3 234(OH), 1 737, 1 229(OCO), 1 649, 882(C = CH₂) 和 1 287(C-N)。该化合物 ¹H NMR 中 δ 2. 05(3H, s) 及 ¹³C NMR 中 δ 169. 9(两个信号峰在 HMBC 中有相关)的信号峰显示分子中存在 1 个乙酰基,除去此乙酰基的两个碳,该生物碱还剩余 20 个碳组成的碳骨架。¹³C NMR 的 δ 140. 0, δ 112. 5 及 ¹H NMR 的 δ 4. 98(1H, m), δ 4. 87(1H, m) 显示分子中含有环外双键;¹H NMR 的 δ 1. 52(3H, s) 为 Hestine 型生物碱 C₄ 位甲基质子信号峰;氢谱中未显示有 N-CH₃, N-CH₂CH₃ 和 -OCH₃ 基团的质子信号峰,说明分子中不含有噁唑环;这与 Hestine 型生物碱母核的特征一致^[7],因此推测化合物 I 属于 C₂₀二萜 Hestine 型生物碱。化合物 I 的 δ_H 4. 11 的单峰为 Hestine 母核特征的 H-20 信号峰, δ_C 51. 5 为母核 C₁₀ 位季碳信号(δ_C 51. 5 与 δ_H 4. 11 在 HMBC 谱中有相关); δ_H 3. 98 为母核上未被酰化的 H-2 的信号^[8]。在 HMBC 谱中(图 2), δ_H 4. 73 与 C₁₀ 有相关,同时 δ_H 4. 73 在 ¹H-¹H COSY 谱中与 H-2 有相关,可以推断 δ_H 4. 73 为 H-1,从 HMBC 谱中可以观察到 H-1 与乙酰基的羰基碳(δ_C 169. 9) 有相关,因此可以确定-OAc 取代在 1 位,从 H-1 的化学位移在较低场也可以推断出 C₁ 的-OH 被酰化。Hestine 母核的 H-18 信号一般在 δ 0. 82 ~ 1. 20 之间,但如果在 C₆ 上取代了-OR(或-OH)基团时,其化学位移应向低场移至 δ 1. 29 ~ 1. 68^[9],化合物 I 的 H-18 信号为 δ 1. 52,故可初步推断 C₆ 被-OH 取代,从 ¹³C NMR 中 C₆ 的化学位移比未被取代时有较大的低场位移也证实了-OH 取代在 C₆ 位。

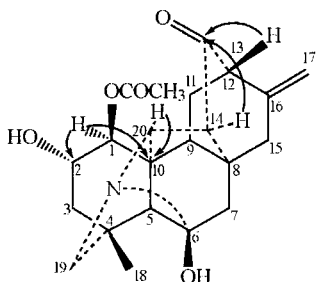


Figure 2 Key HMBC correlation of compound I

¹³C NMR 中最低场处 δ 207. 3 为酮羰基的碳信号峰, HMBC 谱中显示 δ 207. 3 与 H-12, H-14 都有

相关(H-12, H-14 分别与 C₁₆, C₂₀ 在 HMBC 谱上有相关),推断 C₁₃ 位为酮基碳。而且化合物 I 的 ¹³C NMR 与 panicudine 及 spiradin-A 的 ¹³C NMR 进行比较(表 1),可以看出化合物 I 的 C₉, C₁₄ 与 panicudine 的 C₉, C₁₄ 的化学位移值相近,而与 spiradin-A 的 C₁₄, C₉ 的化学位移值相差甚远(图 3),进一步证实了羰基在 C₁₃ 而不在 C₁₁^[10]。

Table 1 ¹³C NMR data of compound I, panicudine, spiradin-A in CDCl₃

C	Compound I	Panicudine	Spiradin-A
1	70. 2	34. 9	35. 6
2	66. 8	66. 1	66. 2
3	37. 0	43. 3	33. 8
4	36. 1	37. 7	37. 7
5	56. 0	62. 5	61. 9
6	101. 0	99. 7	98. 7
7	41. 4	44. 4	45. 2
8	43. 1	44. 2	44. 5
9	46. 5	49. 7	65. 2
10	51. 5	49. 7	51. 8
11	22. 5	23. 4	211. 0
12	51. 9	54. 0	53. 3
13	207. 8	210. 8	27. 6
14	57. 9	61. 9	43. 9
15	32. 3	34. 0	29. 2
16	140. 1	144. 9	143. 5
17	112. 5	110. 3	110. 9
18	30. 1	32. 0	30. 6
19	57. 0	61. 9	60. 8
20	64. 8	70. 0	74. 6
1-OAc	169. 9	-	-
	21. 0	-	-

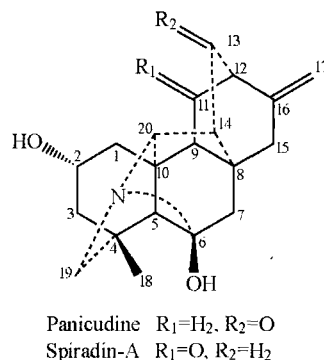


Figure 3 Structures of panicudine and spiradin-A

综上所述确定化合物 I 为 13-dehydro-1-acetyl-2,6 β -dihydroxyhetisine。化合物 I 的 NOESY 谱中显示 H-1 与 H-11, H-20 存在 NOE 相关(图 4),说明

H-1 与 H-11, H-20 的空间距离较近, 可以推断 H-1 为 α -H, 即 β 位被 -OAc 取代; H-2 与 H-1 在 ^1H - ^1H COSY 谱中有相关信号而在 NOESY 谱中未观察到 NOE 相关信号, 说明 H-2 在 H-1 的邻位但构象相反, 可以推断 H-2 为 β -H, 即 α 位 -OH 取代。因此推定新生物碱的立体结构为 13-dehydro-1 β -acetyl-2 α , 6 β -dihydroxyhetisine, 为一新化合物, 命名为关附午素 (Guanfu base Q)。

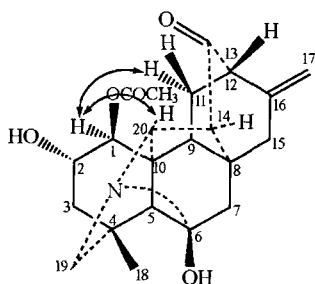


Figure 4 NOESY of compound I

为了确证上面的结构推断, 进行单晶 X 射线衍射分析。在丙酮溶液重结晶化合物 I 得无色透明片状晶体, 衍射分析所用晶体大小为 0.15 mm × 0.30 mm × 0.70 mm。属正交晶系, 空间群 $P2_12_12_1$, 晶胞参数: $a = 9.218(1)$, $b = 11.903(1)$, $c = 21.283(1)$ Å。晶胞体积 $V = 2335.2(3)$ Å³, 晶胞内分子数 $Z = 4$ 。

用 MAC DIP-2030K 面探测器收集衍射强度数据, MoK α 辐射, 石墨单色器, 晶体与 IP 板距离 $d = 100$ mm, 管压 50 kV, 管流 70 mA, ω 扫描, 最大 2θ 角为 50.0°, 扫描范围为 0 ~ 180°, 回摆角度为 5°, 间隔为 5° 扫描速度为 1.5° · min⁻¹, 每个画面扫描 2 次, 总摄取 36 幅图像, 独立衍射点为 2 737 个, 可观察点 ($|F|^2 \geq 3\sigma|F|^2$) 为 2 145 个。

在微机上用直接法解析晶体结构, 从 E 图上直接获得 28 个非氢原子位置, 迭使用最小二乘法 and 差值 Fourier 法获得其他非氢原子位置, 使得最小二乘法修正结构参数和判别原子种类, 使用几何计算法和差值 Fourier 法获得全部氢原子位置, 最终可靠因子 $R_1 = 0.077$, $R_w = 0.070$ ($|F|^2 \geq 3\sigma|F|^2$) 最终确定不对称单位化学计量式为 $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{NO}_5 \cdot \text{C}_3\text{H}_6\text{O}$, 计算相对分子质量 (不含溶剂) 为 385.46, 计算晶体密度 1.262 g · cm⁻³, 其分子立体结构投影如图 5 所示。

实验部分

XT-4 双目体视显微熔点仪 (温度未校正);

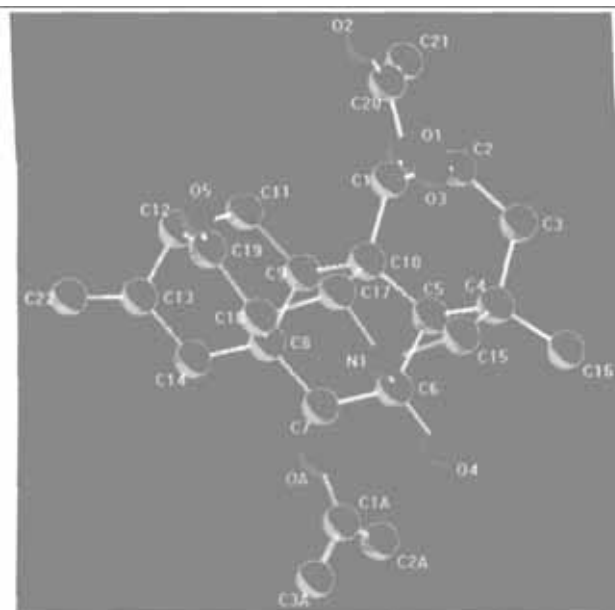


Figure 5 Molecular stereoscopic structure projection

Nicolet Avater 360 傅立叶红外分光光度计; Agilent 1100 高效液相色谱仪; Agilent 1100 LC/MALDI/TOF 高分辨质谱仪; Bruker AV300 型核磁共振谱仪。薄层色谱硅胶 GF₂₅₄ (10 ~ 40 μm) 和柱色谱用氧化铝 (200 ~ 300 目) 均为青岛海洋化工厂生产。色谱用溶剂均为 AR 级。

1 提取和分离

生药 20 kg, 用 95% 乙醇浸泡 3 次, 过滤, 合并滤液, 浓缩, 用氨水调至 pH 8 ~ 9, 然后依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取。乙酸乙酯萃取部分浓缩, 经常压氧化铝柱分离, 使用石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱, 石油醚-乙酸乙酯 (90:10) 部分得到化合物 II, 石油醚-乙酸乙酯 (20:80) 部分得到化合物 I。

黄花岗头药材采自辽宁西丰地区, 由沈阳药科大学吴维春教授鉴定为毛茛科乌头属植物黄花岗头 [*Aconitum coreanum* (Lévl.) Rapaics] 的茎叶。

2 结构鉴定

化合物 I 无色针晶 (EtOH), 碘化铋钾反应呈阳性, mp 235 ~ 236 °C。UV (λ_{max} nm): 205 (末端); IR (KBr) cm⁻¹: 3 234, 1 737, 1 229, 1 649, 882, 1 287; HRMS 显示化合物相对分子质量为 385.193 5 (理论值为 385.196 1), 确定其分子式为 $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{NO}_5$ 。 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据见表 2。

化合物 II 白色鳞片状结晶 (EtOH), 碘化铋钾反应呈阳性, mp 178 ~ 179 °C。ESI-MS 给出分子离子峰 M^+ m/z : 471, ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 1.01 (3H, s), 2.03 (3H, s), 2.06 (3H, s), 2.09 (3H,

Table 2 NMR spectral data of compound I (CDCl₃, δ, J in Hz)

No.	¹ H NMR	¹³ C NMR	HMBC	¹ H- ¹ H COSY	NOESY *
1	4.73(1H,d,2.2)	70.2	H-20,H-5	H-3,H-2	H-11,H-20
2	3.98(1H,m)	66.8	H-1	H-1,H-3	
3	1.67(1H,m) 1.85(1H,m)	37.0	H-18,H-19	H-2 H-2,H-1	
4		36.1	H-19		
5	2.01	56.0	H-7,H-3		
6		101.0	H-7,H-19		
7	2.15(1H,d,14.2) 2.37(1H,d,14.2)	41.4			
8		43.1	H-20,H-11		
9	2.08(1H,m)	46.5	H-12,H-14	H-11	
10		51.5	H-20,H-1		
11	1.60(1H,m) 1.78(1H,m)	22.5		H-9,H-12	H-1
12	2.92(1H,d,3.4)	51.9	H-14,H-9	H-11	
13		207.8	H-12,H-14		
14	2.72(1H,d)	57.9	H-12,H-15	H-20	
15	2.48(1H,m) 2.58(1H,m)	32.3	H-12		
16		140.1	H-12,H-15		
17	4.87(1H,m) 4.98(1H,m)	112.5	H-12		
18	1.52(3H,s)	30.1	H-19,H-3		
19	3.38(1H,d,11.5) 3.49(1H,d,11.5)	57.0	H-20,H-18		
20	4.11(1H,s)	64.8	H-19	H-14	H-1
1-OAc		169.9	H-1		
	2.05(3H,s)	21.0			

* Key NOESY correlation of compound I

s), 4.82(1H, s), 5.01(1H, s), 5.03(1H, m), 5.11(1H, d, 9.0 Hz), 5.16(1H, m)。将该化合物的理化常数和波谱数据与已知化合物关附庚素进行比较,二者一致,故鉴定该化合物为关附庚素^[2]。

References

- [1] Gao HG, Yue FH, Chu JH. The alkaloids of Chinese drug, *Aconitum* spp. X. New alkaloids from Guan-Bai-Fu-Tzu [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1966, **13**(3):186-193.
- [2] Liu JH, Wang HC, Gao YL, et al. Studies on aconitum SPP-XVI new alkaloid from guanbaifu [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1981, **12**(3):1-2.
- [3] Chen DC, Yang WM. Alkaloids of the chinese herb guanbaifu (*aconitum koreanum*); Guan Fu Bases Y and A [J]. *Tetrahedron*, 1986, **42**(24):6621-6626.
- [4] Bessonova IA, Samusenko LN, Yunusov MS. Alkaloids of *Aconitum coreanum* V 13-acetyl-14-hydroxy-2-isobutylrhetisine [J]. *Chem Nat Compd*, 1991, **27**(4):573-575.
- [5] Han Y, Liu JH, Wang MS. Studies on *Aconitum coreanum* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1994, **25**(12):619-621,624.
- [6] Yang CH, Liu JH, Xiang BR, et al. Guan Fu Base K, new diterpene alkaloid from *Aconitum coreanum* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, **33**(3):201-203.
- [7] Bessonova IA, Saidkhodzhaeva SA. Hetisine-type diterpenoid alkaloid [J]. *Chem Nat Compd*, 2000, **36**(5):419-477.
- [8] Grina JA, Schroeder DR, Wydallis ET, et al. Alkaloids from *Delphinium geyeri*. Three new C₂₀-diterpenoid alkaloids [J]. *J Org Chem*, 1986, **51**(3):390-294.
- [9] Zhang X, Snyder JK, Glinski JA, et al. Tatsirine, a diterpenoid alkaloid from *Delphinium tatsienense* Franch [J]. *Heterocycles*, 1990, **31**(10):1879-1888.
- [10] Bessonova IA, Saidkhodzhaeva SA, Faskhutdinov MF. Panicudine - a new alkaloid from *Aconitum paniculatum* [J]. *Chem Nat Compd*, 1995, **31**(6):705-707.