铁棒锤中二萜生物碱成分及其生物活性

魏鼎华[1]，王菲[1]，宋蓓[1]，崔九成[1]，宋小妹[1,2*]，岳正刚[1,2*]
（1. 陕西中医药大学 药学院，陕西 咸阳 712046；
2. 陕西中医药大学 药学院中药资源产业化协同创新中心，陕西 咸阳 712046）

［摘要］ **目的**：研究铁棒锤中二萜生物碱的成分及其生物活性。**方法**：采用正相硅胶柱色谱、羟丙基葡聚糖凝胶柱色谱、半制备高效液相色谱等方法分离纯化，理化性质及现代波谱技术鉴定其结构。通过 MTT 法评价化合物 **2**～**8** 的细胞毒活性。**结果**：从铁棒锤根部的乙醇提取物中分离鉴定出 8 个二萜生物碱，分别为 3-脱氧乌头碱（**1**），3-乙酰乌头碱（**2**），乌头碱（**3**），次乌头碱（**4**），8-*O*-methyl-14-benzoylaconine（**5**），spicatine A（**6**），aldohypaconite（**7**），hokbusine A（**8**）。化合物 **3** 对肺癌 A549 细胞、肺癌 1299 细胞具有较强的细胞毒活性，化合物 **2**，**4**～**8** 则表现出较弱的细胞毒活性。**结论**：二萜生物碱是铁棒锤药材的主要及有效化学成分，其中 **6**～**8** 为首次从该植物中分离得到。化合物 **2**～**8** 均表现出一定的细胞毒活性。

［关键词］ 铁棒锤；二萜生物碱；化学成分；细胞毒活性
［中图分类号］ R284.1 ［文献标识码］ A ［文章编号］ 1005-9903(2015)19-0048-05
［doi］ 10.13422/j.cnki.syfjx.2015190048

Diterpenoid Alkaloids from Aconitum Penduli Radix and Their Bioactivities

WEI Ding-hua[1], WANG Fei[1], SONG Bei[1], CUI Jiu-cheng[1], SONG Xiao-mei[1,2*], YUE Zheng-gang[1,2*]
(1. *School of Pharmacy*, *Shaanxi University of Chinese Medicine*, *Xianyang* 712046, *China*; 2. *Shaanxi University of Chinese Medicine Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resource Industrialization*, *Xianyang* 712046, *China*)

［**Abstract**］ **Objective**: To investigate the diterpenoid alkaloids from the roots of Aconitum Penduli Radix and their bioactivities. **Method**: The compounds were isolated by positive-phase silica gel column chromatography, Sephadex LH gel column chromatography and semi-preparative HPLC. The structures of the isolated compounds were determined with chemical and spectroscopic methods. The cytotoxic activities were assessed by MTT. **Result**: From the roots of Aconitum Penduli Radix, 8 diterpenoid alkaloids were isolated and identified as 3-deoxyaconitine (**1**), 3-acetylaconitine (**2**), aconitine (**3**), hypaconitine (**4**), 8-*O*-methyl-14-benzoylaconine (**5**), spicatine A (**6**), aldohypaconite (**7**), hokbusine A (**8**). Compound **3** showed the potent cytotoxicity against A549 and 1299 lung cancer cells and compounds **2**, **4-8** showed the lower cytotoxicity. **Conclusion**: Diterpenoid alkaloids are the main and effective chemical components from from Aconitum Penduli Radix. Specifically, compounds **6-8** were obtained from the roots of Aconitum Penduli Radix for the first time. Compounds **2-8** showed a certain cytotoxicity.

［**Key words**］ Aconitum Penduli Radix; diterpenoidalkaloids; chemical constituent; cytotoxicity

铁棒锤主要分布在中国西藏、云南西北部、四川西部、青海、甘肃南部、陕西南部及河南西部，生长于海拔 2 800～4 500 m 山地草坡或林边[1-2]。具有祛瘀活络，止血镇痛等功用，用于治疗跌打损伤，风湿关节痛，筋断骨折及外伤出血等[3]。二萜类生物碱是铁棒锤中主要药效物质基础，它是一类化学结构复杂，生物活性较强的植物特异性成分[4]。目前，从铁棒锤中共分离出 23 个二萜生物碱[5-6]。但对其

［收稿日期］ 20150504(005)
［基金项目］ 陕西省科技统筹创新计划项目(2013KTCQ03-14)；陕西中医药大学校内基金(201425)
［第一作者］ 魏鼎华，在读硕士，从事中药及天然产物药物化学及药物分析研究，Tel：18329565716，E-mail 842591008@qq.com
［通讯作者］ * 宋小妹，博士，教授，从事中药及天然药物化学研究，Tel：13636733632，E-mail：songxiaom@126.com；
* 岳正刚，博士，讲师，从事中药及天然药物化学研究，Tel：18092086211，E-mail：liuxingjian1981@163.com

单一化合物的抗肿瘤活性未见过多报道。为了进一步阐明其药效物质基础,开发铁棒锤更多的药用价值,本实验对铁棒锤中二萜生物碱成分进行系统分离,共分离鉴定出 8 个二萜生物碱,分别为 3-脱氧乌头碱(**1**),3-乙酰乌头碱(**2**),乌头碱(**3**),次乌头碱(**4**),8-*O*-methyl-14-benzoylaconine(**5**),spicatine A(**6**),aldohypaconite(**7**),hokbusine A(**8**)。其中 **6**~**8** 首次从该植物中分离得到,并对化合物 **2**~**8** 进行了抗肿瘤活性评价。

1 材料

400 型核磁共振仪(德国布鲁克公司),2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司);X-4B 型显微熔点仪(上海精密仪器仪表),ZF7C 型三用紫外分析仪(上海康华升华仪器制造厂),柱色谱硅胶(100~200目,200~300 目青岛海洋有限公司),羟丙基葡聚糖凝胶(美国 GE 公司),YMC-Pack R&D ODS-A 半制备色谱柱(20 mm×250 mm,5 μm),预制硅胶板 G(青岛海洋化工厂),甲醇(色谱纯,天津科密欧公司),其他试剂均为分析纯。

药材于 2013 年 6 月采自陕西省太白县,经陕西中医学院中药鉴定教研室王继涛高级实验师鉴定为毛茛科铁棒锤 *Aconitum penduluml* 的根。

2 提取与分离

取铁棒锤干燥根 1.8 kg 粉碎后,用 8 倍量的 80% 乙醇加热回流提取 4 次,每次 2 h,合并滤液,减压蒸馏得浸膏。将浸膏分散于盐酸水溶液(pH 2)中,用石油醚萃取,取水相用氨水调至 pH 10,用三氯甲烷萃取,有机相浓缩干燥得到总生物碱(20 g)。

取总生物碱 20 g,经硅胶柱色谱石油醚-丙酮-二乙胺(30∶1∶0.1~1∶1∶0.1)梯度洗脱,得到 8 个部分(Fr. 1~8)。Fr. 1 重结晶得到化合物 **1**(10 mg)。Fr. 2 反复经硅胶柱色谱石油醚-丙酮-二乙胺(20∶1∶0.1~1∶1∶0.1)梯度洗脱,得到化合物 **2**(10 mg),**3**(9 mg),**4**(8 mg)。Fr. 3 经硅胶柱色谱,用石油醚-丙酮-二乙胺(20∶1∶0.1~1∶1∶0.1)梯度洗脱,得到 5 个组分(Fr. 3.1~3.5),Fr. 3.3 经羟丙基葡聚糖凝胶石油醚-三氯甲烷-甲醇(5∶5∶1)等度洗脱得到 **5**(13 mg)。Fr. 5 经半制备高效液相(70% 甲醇-水)得到化合物 **6**(50 mg),**7**(8 mg),**8**(5 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1** 无色晶体(三氯甲烷),$C_{34}H_{47}NO_{10}$,mp 179~180 ℃,ESI-MS *m/z* 630 $[M+H]^+$。主要通过共薄层来判断其化学结构,该化合物与 3-脱氧乌头碱对照品经多种展开剂展开,其 Rf 值均一致(碘化铋钾溶液显色),且它们混合后的熔点不下降,故将其鉴定为 3-脱氧乌头碱。

化合物 **2** 无色晶体(甲醇),mp 194~196 ℃,$C_{36}H_{49}NO_{12}$。ESI-MS *m/z* 688 $[M+H]^+$,^{1}H-NMR ($CDCl_3$,400 MHz) δ: 3.08 (1H, dd, *J* = 10.6, 6.8 Hz, H-1), 2.08 (1H, m, H-2β), 2.32 (1H, m, H-2α), 4.91 (1H, dd, *J* = 13.8, 5.3 Hz, H-3β), 2.25 (1H, m, H-5β), 4.05 (1H, d, *J* = 6.8 Hz, H-6β), 2.73 (1H, br s, H-7), 2.7 (1H, m, H-9), 2.20 (1H, m, H-10), 2.11 (1H, m, H-12α), 2.88 (1H, dd, *J* = 12.2, 5.7 Hz H-12β), 4.85 (1H, d, *J* = 5.2 Hz, H-14β), 4.43 (1H, dd, *J* = 5.2, 2.7 Hz, H-15β), 3.30 (1H, d, *J* = 5.3 Hz H-16), 2.82 (1H, s, H-17), 4.04 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-18β), 3.78 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-18α), 2.25 (1H, d, *J* = 11.0 Hz H-19β), 2.49 (1H, d, *J* = 11.0 Hz H-19α), 1.08 (3H, t, *J* = 7.1 Hz, *N*-CH_2-CH_3), 2.41 (1H, m, *N*-$CH_2\alpha$-CH_3), 2.94 (1H, m, *N*-$CH_2\beta$-CH_3), 1.36 (3H, s, C-8-$COCH_3$), 2.04 (3H, s, C-3-$COCH_3$), 3.17 (3H, s, C-1-OCH_3), 3.17 (3H, s, C-6-OCH_3), 3.71 (3H, s, C-16-OCH_3), 3.23 (3H, s, C-18-OCH_3), 8.03 (2H, d, *J* = 7.1 Hz, H-2′, 6′), 7.54 (1H, t, *J* = 7.3 Hz, H-4′), 7.43 (2H, t, *J* = 7.5 Hz, H-3′, 5′);^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 83.7 (C-1), 32.1 (C-2), 71.8 (C-3), 42.5 (C-4), 46.1 (C-5), 82.2 (C-6), 45.5 (C-7), 92.1 (C-8), 44.8 (C-9), 40.7 (C-10), 49.9 (C-11), 36.6 (C-12), 74.3 (C-13), 79.0 (C-14), 78.9 (C-15), 90.3 (C-16), 61.3 (C-17), 71.7 (C-18), 49.3 (C-19), 47.3 (*N*-CH_2-CH_3), 13.6 (*N*-CH_2-CH_3), 172.6 (C-8-CO-CH_3), 21.4 (C-8-CO-CH_3), 170.5 (C-3-CO-CH_3), 21.5 (C-3-CO-CH_3), 56.6 (1-OCH_3), 58.5 (6-OCH_3), 60.9 (16-OCH_3), 58.9 (18-OCH_3), 166.3 (Ar-CO), 130.0 (C-1′), 129.8 (C-2′, 6′), 128.8 (C-3′, 5′), 133.5 (C-4′)。波谱数据与文献[7]的数据一致,所以鉴定化合物 **2** 为 3-乙酰乌头碱。

化合物 **3** 无色晶体(三氯甲烷),$C_{34}H_{47}NO_{11}$,mp 202~203 ℃。ESI-MS *m/z* 646 $[M+H]^+$。主要通过共薄层来判断其化学结构,该化合物与乌头碱对照品经多种展开剂展开,其 Rf 值均一致(碘化铋钾溶液显色),且它们混合后的熔点不下降。故将其鉴定为乌头碱。

化合物 **4** 无色晶体(甲醇),$C_{33}H_{45}NO_{10}$,mp 183~185 ℃,ESI-MS *m/z* 616 $[M+H]^+$。^{1}H-NMR ($CDCl_3$,400 MHz) δ: 3.01 (1H, dd, *J* = 10.1, 6.5

Hz, H-1), 1.99 (1H, m, H-2β), 2.21 (1H, m, H-2α), 1.62 (2H, dd, J = 9.3, 4.4 Hz, H-3), 2.06 (1H, d, J = 6.7 Hz, H-5β), 3.89 (1H, d, J = 6.8 Hz, H-6β), 2.86 (1H, br s, H-7), 2.90 (1H, dd, J = 7.2, 4.9 Hz, H-9), 2.15 (1H, m, H-10), 2.15 (1H, m, H-12α), 2.86 (1H, dd, J = 12.2, 5.7 Hz H-12β), 4.85 (1H, d, J = 4.9 Hz, H-14β), 4.45 (1H, dd, J = 5.4, 2.9 Hz, H-15β), 3.30 (1H, d, J = 5.3 Hz H-16), 3.04 (1H, br s, H-17), 3.61 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-18β), 3.08 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-18α), 2.35 (1H, d, J = 11.0 Hz H-19β), 2.51 (1H, d, J = 11.0 Hz H-19α), 2.31 (3H, s, N-CH_3), 3.26 (3H, s, C-1-OCH_3), 3.26 (3H, s, C-6-OCH_3), 3.71 (3H, s, C-16-OCH_3), 3.13 (3H, s, C-18-OCH_3), 1.35 (3H, s, C-8-$COCH_3$), 8.01 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-2′, 6′), 7.55 (1H, t, J = 7.6 Hz, H-4′), 7.43 (2H, t, J = 7.6 Hz, H-3′, 5′); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 85.3 (C-1), 26.6 (C-2), 35.1 (C-3), 39.5 (C-4), 48.4 (C-5), 83.4 (C-6), 44.7 (C-7), 92.1 (C-8), 44.0 (C-9), 41.3 (C-10), 50.1 (C-11), 36.5 (C-12), 74.3 (C-13), 79.1 (C-14), 79.0 (C-15), 90.3 (C-16), 62.4 (C-17), 80.4 (C-18), 56.2 (C-19), 42.9 (N-CH_3), 172.7 (C-8-CO-CH_3), 56.8 (1-OCH_3), 58.2 (6-OCH_3), 61.2 (16-OCH_3), 59.3 (18-OCH_3), 166.4 (Ar-CO), 130.0 (C-1′), 129.8 (C-2′, 6′), 128.9 (C-3′, 5′), 133.5 (C-4′)。化合物 **4** 的波谱数据与文献[8-9]的数据一致，所以鉴定化合物 4 为次乌头碱。

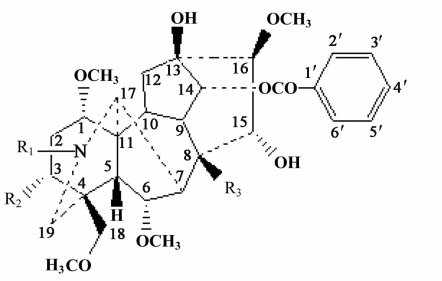
化合物 **5** 白色粉末，$C_{33}H_{47}NO_{10}$，ESI-MS m/z 618 [M + H]$^+$，^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 3.19 (1H, br t, J = 6.0 Hz, H-1), 1.92 (1H, m, H-2β), 2.36 (1H, m, H-2α), 3.87 (1H, dd, J = 7.7, 4.7 Hz, H-3), 2.10 (1H, m, H-5), 4.06 (1H, d, J = 5.9 Hz, H-6β), 2.84 (1H, br s, H-7), 2.59 (1H, t, J = 6.0 Hz, H-9), 2.06 (1H, m, H-10), 2.07 (1H, m, H-12α), 2.80 (1H, m, H-12β), 4.86 (1H, d, J = 5.0 Hz, H-14β), 4.57 (1H, d, J = 6.0 Hz, H-15β), 3.19 (1H, m, H-16), 2.91 (1H, br s, H-17), 3.54 (1H, d, J = 8.7 Hz, H-18β), 3.62 (1H, d, J = 8.7 Hz, H-18α), 2.50 (1H, m, H-19β), 2.73 (1H, m, H-19α), 1.15 (3H, t, J = 7.0 Hz, N-CH_2-CH_3), 2.55 (1H, m, N-CH_2α-CH_3), 3.01 (1H, m, N-CH_2β-CH_3), 3.29 (3H, s, C-1-OCH_3), 3.18 (3H, s, C-5-OCH_3), 3.32 (3H, s, C-6-OCH_3), 3.75 (3H, s, C-16-OCH_3), 3.35 (3H, s, C-18-OCH_3), 8.04 (2H, d, J = 7.3 Hz, H-2′, 6′), 7.56 (1H, t, J = 7.3 Hz, H-4′), 7.45 (2H, t, J = 7.7 Hz, H-3′, 5′); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 82.3 (C-1), 32.9 (C-2), 71.6 (C-3), 43.1 (C-4), 45.0 (C-5), 83.1 (C-6), 45.5 (C-7), 82.4 (C-8), 42.5 (C-9), 41.4 (C-10), 50.6 (C-11), 36.1 (C-12), 74.7 (C-13), 79.3 (C-14), 77.1 (C-15), 93.3 (C-16), 61.5 (C-17), 77.6 (C-18), 47.7 (C-19), 13.1 (N-CH_2-CH_3), 49.1 (N-CH_2-CH_3), 55.8 (1-OCH_3), 58.6 (6-OCH_3), 49.9 (q, 8-OCH_3), 62.4 (16-OCH_3), 59.1 (18-OCH_3), 166.2 (Ar-CO), 130.1 (C-1′), 129.7 (C-2′, 6′), 128.3 (C-3′, 5′), 132.9 (C-4′)。化合物 5 的波谱数据与文献[8]的数据一致，所以鉴定化合物 **5** 为 8-*O*-methyl-14-benzoylaconine。

化合物 **6** 白色粉末，$C_{34}H_{49}NO_{10}$，ESI-MS m/z 632 [M + H]$^+$，^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 3.16 (1H, t, J = 6.4 Hz, H-1), 1.89 (1H, dt, J = 13.3, 5.0 Hz, H-2β), 2.34 (1H, dt, J = 13.3, 6.4 Hz, H-2α), 3.83 (1H, dd, J = 8.3, 4.6 Hz, H-3), 2.09 (1H, m, H-5), 4.07 (1H, d, J = 6.0 Hz, H-6), 2.71 (1H, m, H-7), 2.63 (1H, m, H-9), 2.07 (1H, m, H-10), 2.11 (1H, m, H-12α), 2.57 (1H, m, H-12β), 4.83 (1H, d, J = 5.1Hz, H-14β), 4.57 (1H, d, J = 6.0 Hz, H-15β), 3.28 (1H, m, H-16), 2.91 (1H, br s, H-17), 3.52 (1H, d, J = 8.7Hz, H-18β), 3.60 (1H, d, J = 8.7 Hz, H-18α), 2.45 (1H, m, H-19β), 2.78 (1H, m, H-19α), 1.12 (3H, t, J = 7.0 Hz, N-CH_2-CH_3), 2.49 (1H, m, N-CH_2α-CH_3), 2.95 (1H, m, N-CH_2β-CH_3), 0.59 (3H, t, J = 6.8 Hz, O-CH_2-CH_3), 3.29 (1H, m, O-CH_2α-CH_3), 3.47 (1H, m, O-CH_2β-CH_3), 3.27 (3H, s, H-1-OCH_3), 3.27 (3H, s, H-6-OCH_3), 3.75 (3H, s, H-16-OCH_3), 3.32 (3H, s, H-18-OCH_3), 8.04 (2H, d, J = 7.5 Hz, H-2′, 6′), 7.56 (1H, t, J = 7.3 Hz, H-4′), 7.45 (2H, t, J = 7.7 Hz, H-3′, 5′), 4.07 (1H, d, J = 6.0 Hz, H-6β); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 82.5 (C-1), 33.2 (C-2), 71.6 (C-3), 43.0 (C-4), 45.1 (C-5), 83.4 (C-6), 45.5 (C-7), 82.2 (C-8), 43.0 (C-9), 41.4 (C-10), 50.6 (C-11), 36.2 (C-12), 74.7 (C-13), 79.5 (C-14), 78.4 (C-15), 93.3 (C-16), 61.2 (C-17), 76.9 (C-18), 47.4 (C-19), 13.2 (N-CH_2-CH_3), 48.9 (N-CH_2-CH_3), 15.3 (O-CH_2-CH_3), 57.2 (O-CH_2-CH_3), 55.8 (1-OCH_3), 58.6 (6-OCH_3), 62.4 (16-OCH_3), 59.1 (18-OCH_3), 166.2 (Ar-CO), 130.3 (C-1′), 129.7 (C-2′, 6′), 128.3 (C-3′, 5′), 132.9 (C-4′)。化合物 **6** 的波

谱数据与文献[10]的数据一致,鉴定化合物 **6** 为 spicatine A。

化合物 **7** 白色粉末,$C_{33}H_{43}NO_{11}$,mp 262 ~ 264 ℃,ESI-MS *m/z* 630[M + H]$^+$,^{1}H-NMR($CDCl_3$,400 MHz),δ:3.12(1H,br t,J = 6.4 Hz,H-1),1.48(1H,m,H-2β),1.94(1H,m,H-2α),1.61(2H,dd,J = 11.5,4.9 Hz,H-3),2.35(1H,d,J = 6.8 Hz,H-5),4.07(1H,d,J = 6.8 Hz,H-6β),2.69(1H,br s,H-7),2.85(1H,dd,J = 6.3,4.9 Hz,H-9),2.22(1H,m,H-10),2.10(1H,m,H-12α),2.83(1H,dd,J = 12.2,5.7 Hz H-12β),4.89(1H,d,J = 4.9 Hz,H-14β),4.50(1H,dd,J = 5.4,2.7 Hz,H-15β),3.37(1H,d,J = 5.1 Hz H-16),3.94(1H,br s,H-17),3.72(1H,d,J = 8.7 Hz,H-18β),3.18(1H,d,J = 8.7 Hz,H-18α),3.16(1H,d,J = 13.6 Hz H-19β),3.73(1H,d,J = 13.6 Hz H-19α),8.09(1H,s,*N*-CHO),3.22(3H,s,H-1-OCH_3),3.30(3H,s,H-6-OCH_3),1.34(3H,s,C-8-$COCH_3$),3.78(3H,s,H-16-OCH_3),3.14(3H,s,H-18-OCH_3),8.04(2H,d,J = 7.4 Hz,H-2′,6′),7.59(1H,t,J = 7.2 Hz,H-4′),7.46(2H,t,J = 7.7 Hz,H-3′,5′);^{13}C-NMR($CDCl_3$,100 MHz) δ:82.8(C-1),24.9(C-2),33.1(C-3),37.8(C-4),48.3(C-5),81.6(C-6),50.7(C-7),90.5(C-8),43.1(C-9),40.1(C-10),49.0(C-11),34.5(C-12),74.1(C-13),78.8(C-14),78.6(C-15),90.0(C-16),58.2(C-17),79.6(C-18),44.4(C-19),163.0(*N*-CHO),55.4(1-OCH_3),57.7(6-OCH_3),61.1(16-OCH_3),59.2(18-OCH_3),130.3(C-1′),129.6(C-2′,6′),128.7(C-3′,5′),133.4(C-4′),166.2(Ar-CO),21.3(-$COCH_3$),172.2(-$COCH_3$)。化合物 **7** 的波谱数据与文献[8,11]的数据一致,所以鉴定化合物 **7** 为 aldohypaconite。

化合物 **8** 白色粉末,$C_{32}H_{45}NO_{10}$,mp 140 ~ 144 ℃,ESI-MS *m/z* 604[M + H]$^+$,^{1}H-NMR($CDCl_3$,400 MHz),δ:3.22(1H,br t,J = 6.4 Hz,H-1),2.02(1H,m,H-2β),2.34(1H,m,H-2α),3,75(1H,dd,J = 8.2,5.0 Hz,H-3),2.10(1H,m,H-5),4.03(1H,d,J = 7.0 Hz,H-6β),2.85(1H,br s,H-7),2.58(1H,t,J = 6.0 Hz,H-9),2.07(1H,m,H-10),2.07(1H,m,H-12α),2.70(1H,m,H-12β),4.82(1H,d,J = 5.1 Hz,H-14β),4.52(1H,d,J = 6.0 Hz,H-15β),3.25(1H,m,H-16),2.87(1H,br s,H-17),3.61(1H,d,J = 8.7 Hz,H-18β),3.55(1H,d,J = 8.7 Hz,H-18α),2.50(1H,m,H-19β),2.73(1H,m,H-19α),2.38(3H,s,*N*-CH_3),3.28(3H,s,H-1-OCH_3),3.28(3H,s,H-6-OCH_3),3.12(3H,s,H-8-OCH_3),3.71(3H,s,H-16-OCH_3),3.30(3H,s,H-18-OCH_3),8.01(2H,d,J = 7.4 Hz,H-2′,6′),7.54(1H,t,J = 7.5 Hz,H-4′),7.43(2H,t,J = 7.4 Hz,H-3′,5′);^{13}C-NMR($CDCl_3$,100 MHz) δ:82.7(C-1),34.0(C-2),71.7(C-3),43.7(C-4),45.8(C-5),83.3(C-6),41.6(C-7),82.5(C-8),45.4(C-9),41.9(C-10),50.7(C-11),36.4(C-12),75.1(C-13),79.7(C-14),77.8(C-15),93.4(C-16),62.6(C-17),76.7(C-18),50.1(C-19),42.8(*N*-CH_3),56.5(1-OCH_3),58.8(6-OCH_3),50.0(8-OCH_3),62.9(16-OCH_3),59.4(18-OCH_3),130.6(C-1′),130.0(C-2′,6′),128.7(C-3′,5′),133.3(C-4′),166.4(Ar-CO)。化合物 **8** 的波谱数据与文献[12]的数据一致,所以化合物 **8** 鉴定为 hokbusine A。



	R_1	R_2	R_3
(1)	C_2H_5	H	$OCOCH_3$
(2)	C_2H_5	$OCOCH_3$	$OCOCH_3$
(3)	C_2H_5	OH	$OCOCH_3$
(4)	CH_3	H	$OCOCH_3$
(5)	C_2H_5	OH	OCH_3
(6)	C_2H_5	OH	OCH_2CH_3
(7)	CH_3	H	$OCOCH_3$
(8)	CH_3	OH	OCH_3

图 1 化合物 1 ~ 8 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1 ~ 8

4 生物活性

采取 MTT 法[13],培养 48 h 后,发现对化合物 **2 ~ 8** 进行肺癌 A549 细胞、肺癌 1299 细胞的细胞毒活性测试。结果化合物 **3** 对肺癌 A549 细胞,肺癌 1299 细胞具有显著的细胞毒活性,IC_{50} 值分别为(37.72 ± 1.18) μmol·L^{-1}和(23.67 ± 1.31) μmol·L^{-1},对肺癌 A549 细胞,肺癌 1299 细胞的细胞毒活性强于阳性对照药 5-氟尿嘧啶。化合物 **2**,**4 ~ 8** 则对活性肺癌 A549 细胞,肺癌 1299 细胞具有较弱的细胞毒活性,其中化合物 **4** 对活性肺癌 A549 细胞以及化合物 **2** 对活性肺癌 1299 细胞的细胞毒活性较强。

表 1　化合物 2 ~ 8 对肺癌 A549 细胞、肺癌 1299 细胞生物活性（$\bar{x} \pm s, n = 3$）

Table 1　Cytotoxicity of compounds 2-8 to A549, 1299 lung cancer cells（$\bar{x} \pm s, n = 3$）　$\mu mol \cdot L^{-1}$

化合物	IC_{50}	
	A549	1299
3-乙酰乌头碱(**2**)	> 285.7	> 145.8
乌头碱(**3**)	37.72 ± 1.18	23.67 ± 1.31
次乌头碱(**4**)	> 117.3	> 148.9
8-*O*-methyl-14-benzoylaconine(**5**)	> 100	> 100
spicatine A(**6**)	> 100	> 100
aldohypaconite(**7**)	> 100	> 100
hokbusine A(**8**)	> 100	> 100
5-FU	41.49 ± 1.02	41.07 ± 0.55

[参考文献]

[1] 罗达尚. 中华藏本草[M]. 北京:民族出版社,1997:62-63.

[2] 胡君茹,姜华. 藏药铁棒锤的化学成分及药理作用研究进展[J]. 甘肃中医,2006,19(11):18-19.

[3] 王毓杰,张静,田会萍,等. 民族药铁棒锤炮制减毒原理初步研究[J]. 中国中药杂志,2010,35(5):588-592.

[4] 高黎明,毛学峰,魏小梅,等. 二萜类生物碱的药理作用及构效关系研究概况[J]. 西北师范大学学报,1999,35(1):98-102.

[5] Wang Y J, Zhang J, Zeng C J, et al. Three new C19-diterpenoid alkaloids from *Aconitum pendulum* [J]. Phytochem Lett, 2011, 4(2): 166-169.

[6] 杨世英,马伟林,董开忠. 藏药铁棒锤的研究进展[J]. 西北民族大学学报:自然科学版,2014,35(95):46-50.

[7] 王毓杰,曾陈娟,姚喆,等. 铁棒锤及其炮制品中二萜生物碱化学成分研究[J]. 中草药,2010,41(3):347-351.

[8] 王宪楷,赵同芳,赖盛. 中坝鹅掌叶附子中的生物碱研究Ⅰ[J]. 中国药学杂志,1995,30(12):716-719.

[9] 付雪艳,康小兰,张百通,等. 伏毛铁棒锤活性部位化学成分及抗炎镇痛作用研究[J]. 中药材,2013,36(5):747-751.

[10] Li M G, Xiao M W, Li Y. Two new norditerpenoid alkaloids from *Aconitum spicatum* Stapf [J]. Chinese Chem Lett, 2005, 16(4): 475-478.

[11] Wang X K, Zhao T F, Lai S. A New N-formyl C19-diterpenoid alkaloid, aldohypaconite form cultivated *Aconitum Carmichaeli* Debx [J]. Chinese Chem Lett, 1994, 5(8): 671-672.

[12] Shim S H, Kim J S, Kang S S, et al. Alkaloidal constituents from *Aconitum jaluense* [J]. Arch Pharm Res, 2003, 26(9): 709-715.

[13] Thornburg C C, Thimmaiah M, Shaala L A, et al. Cyclic depsipeptides, grassypeptolides D and E and Ibuepidemethoxylyngbyastatin 3, from a Red Sea Leptolyngbya cyanobacterium [J]. J Nat Prod, 2011, 74(8): 1677-1685.

[责任编辑　顾雪竹]