· 化学与分析 ·

藏族药甘青乌头化学成分研究(Ⅳ)

杨丽华[1], 李春[2], 林丽美[3], 王智民[2], 李钟[1*]
(1. 广东药学院, 广州 510006;
2. 中国中医科学院 中药研究所, 中药质量控制技术国家工程实验室, 北京 100700;
3. 湖南中医药大学, 长沙 410208)

[摘要] **目的:**研究藏族药甘青乌头全草的化学成分。**方法:**采用多种现代色谱技术进行分离纯化,并通过理化性质、波谱分析(1D,2D-NMR 和 MS)及与文献对比的方法进行结构鉴定。**结果:**分离并鉴定了 17 个化合物,分别为异光黄素(**1**),对羟基桂皮酸(**2**),苯甲酸(**3**),对羟基苯乙胺(**4**),对羟基苯乙醇(**5**),尼泊金丁酯(**6**),腺苷(**7**),3-[*p*-hydroxyphenyl]-propionic acid amide(**8**),hetisine(**9**),关附辛素(**10**),红景天苷(**11**),环(异亮-亮)二肽(**12**),苯丙氨酸(**13**),3-(4-aminophenyl) prop-2-enoic acid(**14**),*N*-oxide hordenine(**15**),(2*R*,3*R*)-2,3,4-三羟基丁酸(**16**)和 *N*-甲基酪胺(**17**)。**结论:**其中化合物 **1**~**4**,**6**~**8** 和 **12**~**17** 为首次从甘青乌头中分离得到。

[关键词] 甘青乌头; 化学成分; 水溶性生物碱
[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2016)04-0039-06
[**doi**] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016040039

Chemical Constituents from Whole Plants of *Aconitum tanguticum* (Ⅳ)

YANG Li-hua[1], LI Chun[2], LIN Li-mei[3], WANG Zhi-min[2], LI Zhong[1*]
(1. *Guangdong Pharmaceutical University*, *Guangzhou* 510006, *China*;
2. *National Engineering Laboratory for Quality Control Technology of Chinese Herbal Medicines*, *Institute of Chinese Materia Medica*, *China Academy of Chinese Medicine Sciences*, *Beijing* 100700, *China*;
3. *Hunan University of Traditional Chinese Medicine*, *Changsha* 410208, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To study the chemical constituents from *Aconitum tanguticum*. **Method**: The chemical constituents were isolated and purified by using a combination of modern chromatographic techniques, and their structures were determined through spectral analysis (1D, 2D-NMR and MS) and literature comparison. **Result**: Seventeen compounds were isolated and identified as isolumichrome (**1**), *p*-hydroxycinnamic acid (**2**), benzoic acid (**3**), *p*-hydroxy phenylethylamine (**4**), *p*-hydroxy phenylethanol (**5**), butylparaben (**6**), adenosine (**7**), 3-[*p*-hydroxyphenyl] -propionic acid amide (**8**), hetisine (**9**), guanfu base H (**10**), salidroside (**11**), cyclo-(ile-leu) (**12**), phenylalanine (**13**), 3-(4-aminophenyl) prop-2-enoic acid (**14**), *N*-oxide hordenine (**15**), (2*R*, 3*R*) -2, 3, 4-trihydroxy-butanoic acid (**16**), and *N*-methyltyramine (**17**). **Conclusion**: Compounds **1-4**, **6-8** and **12-17** were isolated from *A. tanguticum* for the first time.

[**Key words**] *Aconitum tanguticum*; chemical constituents; water-soluble alkaloids

藏族医药居我国四大民族医药之首,由于藏族药多生长在高海拔、强日照、昼夜温差大的青藏高原

[收稿日期] 20150530(009)
[基金项目] 北京市自然科学基金项目(7132152);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(ZZ070828)
[第一作者] 杨丽华,在读硕士,从事中药质量控制研究,Tel:15210204202,E-mail:1154506334@qq.com
[通讯作者] * 李钟,副教授,从事中药质量控制研究,Tel:020-39352176,E-mail:lizhongyxy@126.com

地区,因此其活性成分含量高,作用强,疗效独特。近年来,随着人们崇尚自然,回归自然疗法,藏族医药得到越来越多人的青睐。但是,藏族药现代研究远远落后于中药,尤其是其药效物质基础研究严重不足,导致其质量控制和制剂工艺水平都较低下。因此应首先加强常用藏族药药效物质基础的研究。甘青乌头为常用藏族药榜嘎的药材来源之一,具有清热解毒功效,多入丸散用于治疗传染病发热,流行性感冒,肝、胆热病,肺热,肠热和食物中毒等[1]。现代研究表明甘青乌头具有抗菌[2],抗病毒[3-4],抗肿瘤[2,5]和抗炎[6-7]等药理活性,其化学成分可分为生物碱(脂溶性和水溶性生物碱)和非生物碱两大类。迄今为止,已从甘青乌头中分离鉴定了 38 个二萜生物碱[8-21],这些成分主要是脂溶性生物碱。课题组前期曾对甘青乌头非生物碱部位的化学成分进行了系统研究,从中分离鉴定了大量黄酮和酚酸类成分[22-27]。而至今,有关甘青乌头水溶性生物碱成分的研究鲜有报道。前期试验发现甘青乌头水溶性生物碱部位在体外具有良好的抗甲型 H1N1 流感病毒活性(半抑制浓度 $IC_{50}=0.11\ g\cdot L^{-1}$;阳性药病毒唑的 $IC_{50}=0.22\ g\cdot L^{-1}$)。因此,本文对该部位的化学成分开展系统研究,期望发现抗病毒活性成分,从抗病毒角度阐明甘青乌头清热解毒药效物质基础。

1 材料

Avance 600 型核磁共振波谱仪(内标为四甲基硅烷 TMS, Bruker),6130SQ-MSD 型质谱仪和 6250 Accurate-Mass Q-TOF-LC-MS 型质谱仪(美国 Agilent),QP2010 Ultra 型气相色谱-质谱联用仪(日本岛津公司),U3000 型高效液相色谱仪(美国戴安),LC3000 型制备液相色谱仪(北京创新通恒科技有限公司),RE-52A 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂),SHZ-D 型循环水真空泵(河南巩义市英峪华中仪器厂),KQ-100B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

柱色谱硅胶(200~300 目,青岛海洋化工厂),羟丙基葡聚糖凝胶(Sephadex LH-20,瑞典 GE 公司),ODS (50 μm,日本 YMC),高效薄层板 GF_{254}(德国 Merck 公司),Hypersil C_{18} 分析色谱柱 (4.6 mm×250 mm,5 μm,Thermo),Welch xtimate 制备色谱柱 (19 mm×250 mm,10 μm,月旭)。

氘代试剂(德国 Merck 公司);显色剂香草醛-浓硫酸溶液,改良碘化铋钾溶液;甲醇、乙腈色谱纯,水为娃哈哈纯净水,其他试剂均为分析纯。

甘青乌头药材 2014 年 3 月购于青海西宁三江宝商贸有限公司,经中国中医科学院中药研究所李春副研究员鉴定为毛茛科植物甘青乌头 *Aconitum tanguticum* 的干燥全草。

2 提取分离

干燥的甘青乌头药材(10 kg),粉碎,用 70% 乙醇热回流提取 3 次,每次 2 h,分别加入 8,6,6 倍量乙醇,过滤,合并滤液,减压回收乙醇至无醇味;混悬液加适量水稀释,HCl 调 pH 至 2.5 左右,用二氯甲烷萃取,水相用氨水调 pH 至 10 左右,依次用二氯甲烷、正丁醇萃取 5 次,分别合并这 2 部分萃取液,回收溶剂得二氯甲烷部位(脂溶性生物碱)47 g 和正丁醇部位(水溶性生物碱)190 g。

水溶性生物碱部分(190 g),经硅胶柱色谱,三氯甲烷-甲醇-水(9∶1∶0.1~6∶4∶1)梯度洗脱,共得到 14 个部分(Fr. 1~Fr. 14)。Fr. 1 经硅胶柱色谱,石油醚-乙酸乙酯(7∶1~0∶1)梯度洗脱,分为 5 个部分(Fr. 1-1~Fr. 1-5)。其中 Fr. 1-1 部分经制备 HPLC 柱色谱,乙腈-水(乙腈从 42%~58%)梯度洗脱,得化合物 **3** (t_R 8.9 min, 50 mg) 和 **6** (t_R 24.6 min, 5 mg), Fr. 1-2 部分先经 ODS 柱色谱,甲醇-水(2∶8~4∶6)梯度洗脱,再经制备 HPLC 柱色谱,乙腈-水(乙腈从 10%~50%)梯度洗脱,得化合物 **2** (t_R 22.9 min, 70 mg) 和 **5** (t_R 17.1 min, 80 mg)。Fr. 1-3 部分经硅胶柱色谱,石油醚-乙酸乙酯(1∶1)等度洗脱,分为(Fr. 1-3-1~Fr. 1-3-2)两个部分。Fr. 1-3-1 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱,甲醇洗脱,得化合物 **8** (30 mg)。Fr. 1-4 部分经 ODS 柱色谱,甲醇-水(4∶6)洗脱,得化合物 **1** (3 mg)。Fr. 1-5 部分经硅胶柱色谱,三氯甲烷-甲醇梯度(10∶1~0∶1)洗脱,得 Fr. 1-5-1 部分;Fr. 1-5-1 部分经 ODS 柱层析得化合物 **9** (25 mg)。Fr. 2 经硅胶柱色谱,石油醚-乙酸乙酯(1∶1~0∶1)梯度洗脱,分为 2 个部分(Fr. 2-1~Fr. 2-2)。其中 Fr. 2-1 析出结晶,经甲醇重结晶得化合物 **16** (5 mg)。Fr. 2-2 部分经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱,甲醇洗脱,得化合物 **14** (20 mg)。Fr. 3 经硅胶柱色谱,乙酸乙酯-甲醇-水梯度(30∶1∶1~9∶1∶1)洗脱,分为(Fr. 3-1~Fr. 3-3)3 个部分。Fr. 3-1 部分经 ODS 柱色谱,甲醇-水(2∶8)洗脱,得到 Fr. 3-1-1 部分,其中 Fr. 3-1-1 部分经 2 次制备 HPLC 色谱,乙腈-水(乙腈从 5%~30%)梯度洗脱,得化合物 **7** (t_R 18.0 min, 90 mg)。Fr. 3-3 部分经 ODS 柱色谱,甲醇-水(2∶8)洗脱,得化合物 **10** (600 mg)。Fr. 4 部分经硅胶柱色谱,三氯甲烷-甲醇-水梯度(9∶1∶0.1~7∶3∶0.5)洗脱,得 Fr. 4-1~Fr. 4-3 两个部分,

其中 Fr. 4-1 部分经 ODS 柱色谱,再经制备 HPLC 色谱,乙腈-水(乙腈从 5% ~40%)梯度洗脱,得化合物 **17**(t_R 8.71 min, 200 mg)。Fr. 4-2 部分经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱,甲醇洗脱,再经制备 HPLC 色谱,乙腈-水梯度(乙腈从 5% ~40%)洗脱,得化合物 **11**(t_R 16.74 min, 30 mg)。Fr. 5 部分经 MCI 柱色谱,甲醇-水(2∶8 ~8∶2)梯度洗脱,再经 ODS 柱色谱,甲醇-水(2∶8)洗脱,得化合物 **15**(20 mg)和 Fr. 5-1-1 部分;Fr. 5-1-1 部分经制备 HPLC 色谱,乙腈-水(乙腈从 5% ~40%)梯度洗脱,得化合物 4(t_R 6.5 min, 300 mg)。Fr. 7 部分经 MCI 柱色谱,甲醇-水(2∶8 ~8∶2)梯度洗脱,得 Fr. 7-1 部分,Fr. 7-1 部分经 ODS 柱色谱,甲醇-水(2∶8)洗脱,得化合物 **13**(20 mg)和 Fr. 7-1-1-1 部分;Fr. 7-1-1-1 部分经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱,甲醇-水(4∶6)洗脱,得化合物 **12**(40 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1** 黄色无定型粉末,ESI-MS m/z 243 [M + H]$^+$;^{1}H-NMR (DMSO-d_6, 600 MHz) δ: 7.92 (1H, s, H-1), 7.71 (1H, s, H-4), 2.46 (3H, s, H-12), 2.49 (3H, s, H-13), 11.83 (1H, s, 7-OH), 11.66 (1H, s, 10-NH);^{13}C-NMR (DMSO-d_6, 150 MHz) δ: 128.7 (C-1), 138.3 (C-1α), 138.8 (C-2), 141.6 (C-3), 125.8 (C-4), 146.4 (C-4α), 130.2 (C-6), 150.0 (C-7), 160.6 (C-9), 144.6 (C-10α), 19.5 (C-12), 20.2 (C-13)。以上数据与文献[28]对照基本一致,鉴定化合物 **1** 为异光黄素。

化合物 **2** 白色针状结晶(甲醇),ESI-MS m/z 165 [M + H]$^+$;^{1}H-NMR (CD$_3$OD, 600 MHz) δ: 7.45 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-2,6), 6.81 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-3,5), 7.61 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-7), 6.29 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-8);^{13}C-NMR (CD$_3$OD, 150 MHz) δ: 127.2 (C-1), 131.1 (C-2, 6), 116.8 (C-3, 5), 161.2 (C-4), 146.7 (C-7), 115.6 (C-8), 171.0 (C-9)。以上数据与文献[29]对照基本一致,鉴定化合物 **2** 为对羟基桂皮酸。

化合物 **3** 白色针状结晶(石油醚-丙酮),EI-MS m/z 122 [M]$^+$;^{1}H-NMR (CD$_3$OD, 600 MHz) δ: 8.01 (2H, d, J = 7.2 Hz, H-2,6), 7.47 (2H, t, J = 7.8 Hz, H-3,5), 7.58 (1H, t, J = 7.8 Hz, H-4);^{13}C-NMR (CD$_3$OD, 150 MHz) δ: 132.1 (C-1), 130.9 (C-3,5), 129.6 (C-2,6), 134.2 (C-4), 170.0 (-COOH)。以上数据与文献[29]对照基本一致,鉴定化合物 **3** 为苯甲酸。

化合物 **4** 白色粉末,ESI-MS m/z 138 [M + H]$^+$;^{1}H-NMR (CD$_3$OD, 600 MHz) δ: 3.11 (2H, t, J = 7.8 Hz, H-1), 2.85 (2H, t, J = 7.8 Hz, H-2), 7.08 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2′, 6′), 6.76 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-3′, 5′);^{13}C-NMR (CD$_3$OD, 150 MHz) δ: 42.3 (C-1), 33.9 (C-2), 128.4 (C-1′), 130.8 (C-2′, 6′), 116.8 (C-3′, 5′), 157.8 (C-4′);以上数据与文献[30]对照基本一致,鉴定化合物 4 为对羟基苯乙胺。

化合物 **5** 白色粉末,ESI-MS m/z 139 [M + H]$^+$;^{1}H-NMR (CD$_3$OD, 600 MHz) δ: 7.04 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2, 6), 6.71 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3, 5), 2.72 (2H, t, J = 7.2 Hz, H-7), 3.69 (2H, t, J = 7.2 Hz, H-8);^{13}C-NMR (CD$_3$OD, 150 MHz) δ: 131.0 (C-1), 130.8 (C-2,6), 116.1 (C-3,5), 156.8 (C-4), 39.4 (C-7), 64.6 (C-8)。以上数据与文献[22]对照基本一致,鉴定化合物 5 为对羟基苯乙醇。

化合物 **6** 白色粉末;ESI-MS m/z 195 [M + H]$^+$;^{1}H-NMR (CD$_3$OD, 600 MHz) δ: 7.86 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2, 6), 6.82 (2H, d, J = 9.0 Hz, H-3, 5), 4.26 (2H, t, J = 6.6 Hz, H-8), 1.74 (2H, m, H-9), 1.48 (2H, m, H-10), 0.99 (3H, t, J = 7.2 Hz, H-11);^{13}C-NMR (CD$_3$OD, 150 MHz) δ: 128.9 (C-1), 132.7 (C-2, 6), 116.1 (C-3, 5), 163.5 (C-4), 168.3 (C-7), 65.5 (C-8), 32.0 (C-9), 20.3 (C-10), 14.1 (C-11)。以上数据与文献[31]对照基本一致,鉴定化合物 6 为尼泊金丁酯。

化合物 **7** 白色粉末;ESI-MS m/z 268 [M + H]$^+$, 290 [M + Na]$^+$;^{1}H-NMR (CD$_3$OD, 600 MHz) δ: 8.35 (1H, s, H-2), 8.14 (1H, s, H-8), 5.87 (1H, d, J = 6.6 Hz, H-1′), 4.62 (1H, q, H-2′), 5.19 (1H, d, J = 4.2 Hz, 3′-OH), 4.14 (1H, m, H-3′), 3.96 (1H, m, H-4′), 3.56 (1H, m, H-5′a), 3.68 (1H, m, H-5′b), 7.36 (2H, s, -NH$_2$);^{13}C-NMR (CD$_3$OD, 150 MHz) δ: 152.9 (C-2), 149.5 (C-4), 119.8 (C-5), 156.6 (C-6), 140.4 (C-8), 88.4 (C-1′), 73.9 (C-2′), 71.1 (C-3′), 86.4 (C-4′), 62.1 (C-5′)。以上数据与文献[32]对照基本一致,鉴定化合物 7 为腺苷。

化合物 **8** 白色粉末,ESI-MS m/z 166 [M + H]$^+$, 331 [2M + H]$^+$;^{1}H-NMR (CD$_3$OD, 600 MHz) δ: 7.02 (2H, d, J = 7.8 Hz, H-2, 6), 6.70 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-3, 5), 3.40 (2H, t, J = 7.8 Hz, H-7), 2.68 (2H, t, J = 7.8 Hz, H-8), 7.98 (1H, s, -OH);^{13}C-NMR (CD$_3$OD, 150 MHz) δ: 129.5 (C-1), 129.3 (C-

2,6),114.9(C-3,5),155.6(C-4),34.2(C-7),39.5(C-8),162.3(C-9)。以上数据与文献[33-34]基本一致,鉴定化合物 **8** 为 3-[*p*-hydroxyphenyl]-propionic acid amide。

化合物 **9**　白色粉末;ESI-MS *m/z* 330[M+H]$^+$,364[M+Cl]$^-$;^{1}H-NMR (CD$_3$OD,600 MHz) δ:1.73(1H,d,15.6Hz,H-1),2.94(1H,m,H-1),4.15(1H,m,*J*=12.0 Hz,H-2),1.80(1H,m,H-3),1.53(1H,dd,*J*=3.0,15.3 Hz,H-3),2.13(1H,s,H-5),4.01(1H,s,H-6),1.88(1H,d,*J*=15.6 Hz,H-7),1.80(1H,m,H-7),2.16(1H,d,*J*=9.0 Hz,H-9),4.26(1H,d,*J*=9.0 Hz,H-11),2.36(1H,s,H-12),4.15(1H,m,H-13),2.30(1H,m,H-14),2.01(1H,d,*J*=18.0 Hz,H-15),2.30(1H,m,H-15),4.69(1H,s,H-17),4.86(1H,s,H-17),1.06(3H,s,H-18),2.92(1H,m,H-19),3.70(1H,d,*J*=12.0 Hz,H-19),4.46(1H,s,H-20);^{13}C-NMR(CD$_3$OD,150 MHz) δ:31.7(C-1),65.8(C-2),37.0(C-3),35.0(C-4),57.0(C-5),65.7(C-6),33.4(C-7),42.9(C-8),53.6(C-9),50.2(C-10),74.4(C-11),49.5(C-12),70.5(C-13),50.0(C-14),32.0(C-15),145.7(C-16),107.8(C-17),28.2(C-18),60.0(C-19),68.2(C-20)。依据^{1}H-NMR,^{13}C-NMR,HSQC,HMBC 以及^{1}H,^{1}H-COSY 对波谱数据进行了全归属,以上数据与文献[35]对照基本一致,鉴定化合物 **9** 为 hetisine。

化合物 **10**　白色针状结晶(甲醇),ESI-MS *m/z* 344[M+H]$^+$;^{1}H-NMR (CD$_3$OD,600 MHz) δ:8.62(1H,s,H-20),4.97(1H,br s,H-17),5.01(1H,br s,H-17),4.13(1H,m,H-22),4.05(1H,m,H-22),3.85(1H,m,H-21),3.94(1H,m,H-21),0.98(3H,s,H-18);^{13}C-NMR(CD$_3$OD,150 MHz) δ:42.0(C-1),20.7(C-2),37.2(C-3),34.5(C-4),46.2(C-5),20.3(C-6),31.7(C-7),38.7(C-8),40.9(C-9),47.6(C-10),28.9(C-11),35.9(C-12),26.8(C-13),26.4(C-14),76.0(C-15),155.9(C-16),110.7(C-17),25.1(C-18),65.1(C-19),184.2(C-20),60.6(C-21),58.7(C-22)。以上数据与文献[10,36]对照基本一致,鉴定化合物 **10** 为关附辛素(阿替新盐酸盐)。

化合物 **11**　白色粉末,ESI-MS *m/z* 299[M−H]$^-$;^{1}H-NMR (CD$_3$OD,600 MHz) δ:7.06(2H,d,*J*=9.0 Hz,H-2,6),6.68(2H,d,*J*=8.4 Hz,H-3,5),4.28(1H,d,*J*=7.8 Hz,H-1′),3.68(2H,m,H-8),2.83(2H,m,H-7),3.16～4.05(5H,m,H-2′～6′);^{13}C-NMR(CD$_3$OD,150 MHz) δ:129.3(C-1),129.5(C-2,6),114.7(C-3,5),155.4(C-4),35.0(C-7),70.7(C-8),103.0(C-1′),73.7(C-2′),76.6(C-3′),70.2(C-4′),76.7(C-5′),61.3(C-6′)。以上数据与文献[22]对照基本一致,鉴定化合物 **11** 为红景天苷。

化合物 **12**　白色块状结晶(甲醇-水),ESI-MS *m/z* 227[M+H]$^+$,^{1}H-NMR (D$_2$O,600 MHz) δ:3.71(1H,m,H-2′),1.69(2H,m,H-3′),1.69(1H,m,H-4′),0.93(3H,m,H-5′),0.93(3H,m,H-6′),3.65(1H,d,*J*=3.6 Hz,H-2),1.96(1H,m,H-3),1.46(1H,m,H-4),1.25(1H,m,H-4),0.93(3H,m,H-5),0.99(3H,d,*J*=7.2 Hz,H-6);^{13}C-NMR(D$_2$O,150 MHz) δ:53.4(C-2′),39.7(C-3′),24.1(C-4′),22.0(C-5′),20.8(C-6′),175.5(C-1′),59.5(C-2),35.7(C-3),24.4(C-4),11.0(C-5),14.6(C-6),174.1(C-1)。依据^{1}H-NMR,^{13}C-NMR,HSQC,HMBC 以及^{1}H,^{1}H-COSY 对波谱数据进行了全归属,以上数据与文献[37]对照基本一致,鉴定化合物 **12** 为环(异亮氨酸-亮氨酸)二肽。

化合物 **13**　白色粉末,ESI-MS *m/z* 166[M+H]$^+$;^{1}H-NMR(CD$_3$OD,600 MHz) δ:7.26～7.34(5H,m,H-2～6),3.77(1H,m,H-2′),3.34(1H,m,H-3′a),2.99(1H,m,H-3′b);^{13}C-NMR(CD$_3$OD,150 MHz) δ:173.8(C-1′),137.5(C-1),130.6(C-3,5),130.1(C-2,6),128.6(C-4),57.7(C-2′),38.4(C-3′)。以上数据与文献[38]对照基本一致,鉴定化合物 **13** 为苯丙氨酸。

化合物 **14**　白色粉末;ESI-MS *m/z* 163[M+H]$^+$,327[2M+H]$^+$;^{1}H-NMR (CD$_3$OD,600 MHz) δ:7.42(2H,d,*J*=9.0 Hz,H-3′,5′),6.80(2H,d,*J*=8.4 Hz,H-2′,6′),7.47(1H,d,*J*=15.6 Hz,H-3),6.44(1H,d,*J*=15.6 Hz,H-2);^{13}C-NMR (CD$_3$OD,150 MHz) δ:127.6(C-1′),116.8(C-2′,6′),130.7(C-3′,5′),160.7(C-4′),142.9(C-3),117.9(C-2),171.7(C-1)。以上数据与文献[39]对照基本一致,鉴定化合物 **14** 为 3-(4-aminophenyl) prop-2-enoic acid。

化合物 **15**　白色粉末;ESI-MS *m/z* 182[M+H]$^+$;^{1}H-NMR (CD$_3$OD,600 MHz) δ:7.10(2H,d,*J*=8.4 Hz,H-2′,6′),6.73(2H,d,*J*=8.46 Hz,H-3′,5′),3.43(2H,m,H-1),3.06(2H,m,H-2),3.20

(6H, s, N-CH_3); ^{13}C-NMR (CD_3OD, 150 MHz) δ: 128.8 (C-1′), 131.0 (C-2′, 6′), 116.6 (C-3′, 5′), 157.5 (C-4′), 30.0 (C-2), 73.0 (C-1), 58.6 (*N*-CH_3)。以上氢谱数据与文献值[40]基本一致,但是73.0(C-1),58.6(*N*-CH_3)与文献报道值 59.9(C-1)和 43.3(*N*-CH_3)存在较大差异为了保证鉴定结构的正确性,进一步对该化合物进行了 HMBC 谱分析,结果 HMBC 谱上 δ 3.43 (H-1) 与 δ 58.6 (*N*-CH_3)和 128.8(C-1′);δ 3.20(*N*-CH_3)与 δ 73.0(C-1),δ 3.06(H-2)与 δ 131.0(C-2′,6′),以及 δ 7.10(H-2′,6′)与 δ 30.0(C-2)存在明显相关,说明文献报道值存在错误,纠正了氧化大麦碱的核磁数据,鉴定化合物 **15** 为氧化大麦芽碱(*N*-oxide hordenine)。

化合物 **16** 白色针状结晶(石油醚-乙酸乙酯),ESI-MS *m/z* 137[M+H]$^+$;^{1}H-NMR (CD_3OD, 600 MHz) δ: 4.45 (1H, m, H-2), 4.37 (1H, m, H-4a), 4.37 (1H, m, H-3), 4.19 (1H, m, H-4b); ^{13}C-NMR(CD_3OD, 150 MHz) δ: 178.4 (-COOH), 73.4 (C-4), 71.0 (C-3), 70.2 (C-2)。以上数据与文献[41]对照基本一致,鉴定化合物 **16** 为(2*R*,3*R*)-2,3,4-三羟基丁酸。

化合物 **17** 白色粉末,ESI-MS *m/z* 152[M+H]$^+$;^{1}H-NMR (CD_3OD, 600 MHz) δ: 7.08 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-2,6), 6.75 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3,5), 2.87 (2H, t, *J* = 7.8 Hz, H-7), 3.18 (2H, t, *J* = 7.8 Hz, H-8), 2.70 (3H, s, *N*-CH_3); ^{13}C-NMR (CD_3OD, 150 MHz) δ: 128.2 (C-1), 130.9 (C-2,6), 116.9 (C-3,5), 158.0 (C-4), 32.7 (C-7), 52.0 (C-8), 33.9 (*N*-CH_3)。以上数据与文献[42]对照基本一致,鉴定化合物 **17** 为 *N*-甲基酪胺。

4 讨论

本研究对甘青乌头水溶性生物碱部位的化学成分进行了系统研究,从中分离鉴定了 17 个化合物,其中生物碱成分 11 个(其中二萜生物碱 2 个),酚酸类 6 个,研究结果进一步丰富了甘青乌头生物碱成分的结构类型。其中分离量最大的关附辛素(化合物 **10**)具有明确的解热作用,在临床上用于退热剂,这与甘青乌头清热解毒功效相吻合。

[参考文献]

[1] 罗达尚. 中华藏本草[M]. 北京:民族出版社,1997:65-66.

[2] 傅永红,李红玉,张春江,等. 藏药甘青乌头抗菌、抗肿瘤活性研究以及兔耳草抗病毒活性研究[D]. 兰州:兰州大学,2008.

[3] 张春江,李薇,孙振鹏,等. 藏药甘青乌头抗单纯疱疹病毒Ⅱ型体内外作用研究[J]. 中国药学杂志,2009,44(1):26-31.

[4] 张春江,李薇,孙振鹏,等. 藏药甘青乌头生物碱抗单纯疱疹病毒Ⅱ型体内外作用[J]. 兰州大学学报:医学版,2010,36(4):1-6.

[5] Dall'Acqua S, Shrestha B B, Gewali M B, et al. Diterpenoid alkaloids and phenol glycosides from *Aconitum naviculare* (Bruhl) Stapf[J]. Nat Prod Commun,2008,3(12):1985-1989.

[6] 曾锐,侯新莲,高宇明. 榜嘎总碱对关节炎模型大鼠炎症因子表达的影响[J]. 中国中医急症,2009,18(3):427-428.

[7] 瞿燕. 藏药榜嘎总生物碱的抗炎实验研究[J]. 时珍国医国药, 2009,20(10):2412-2413.

[8] 陈迪华,宋维良. 甘青乌头的生物碱成分[J]. 中草药,1985,16(8):2.

[9] 林玲,陈东林. 毛果甘青乌头中生物碱成分的提取和鉴定[J]. 四川生理科学杂志,2009,31(2):69-72.

[10] 王海顷,蒋山好,杨培明,等. 甘青乌头的生物碱[J]. 天然产物研究与开发,2002,14(4):13-15.

[11] 李淑红. 唐古特乌头化学成分的研究[D]. 西宁:青海师范大学,2008.

[12] Joshi B S, Bai Y, Chen D H, et al. Tangirine, a novel dimeric alkaloid from *Aconitum tanguticum* (Maxim.) stapf, W. T. Wang[J]. Tetrahedron Lett, 1993, 34(47):7525-7528.

[13] Li L, Zhao J, Wang Y B, et al. A novel 19, 21-secohetisan diterpenoid alkaloid from *Aconitum tanguticum*[J]. Helv Chim Acta, 2004, 87(4):866-868.

[14] Wang Y B, Huang R, Zhang H B, et al. Diterpenoid alkaloids from *Aconitum tanguticum*[J]. Helv Chim Acta,2005,88(5):1081-1084.

[15] Gao L, Wei X, Yang L. A new diterpenoid alkaloid from a Tibetan medicinal herb *Aconitum naviculare* Stapf[J]. J Chem Res, 2004,35(44):307-308.

[16] Lin L, Chen D L, Liu X Y, et al. Trichocarpinine, a novel hetidine-hetisine type bis-diterpenoid alkaloid from *Aconitum tanguticum* var. *trichocarpum*[J]. Helv Chim Acta,2010,93(1):118-122.

[17] Dall'Acqua S, Shrestha B B, Gewali M B, et al. Diterpenoid alkaloids and phenol glycosides from *Aconitum naviculare* (Bruhl) Stapf[J]. Nat Prod Commun,2008,3(12):1985-1989.

[18] Qu S J, Tan C H, Liu Z L, et al. Diterpenoid alkaloids from *Aconitum tanguticum* [J]. Phytochemistry Lett,

2011,4(2):144-146.

[19] Lin L, Chen D L, Liu X Y, et al. Bis-diterpenoid alkaloids from *Aconitum tanguticum* var. *trichocarpum* [J]. Nat Product Commun, 2009, 4(7):897-901.

[20] Zhang Z T, Chen D L, Chen Q H, et al. Bis-diterpenoid alkaloids from *Aconitum tanguticum* var. *trichocarpum* [J]. Helv Chim Acta, 2013, 96(4):710-718.

[21] Pelletier S W, Joshi B S, Chen D H, et al. Tangutisine, a new diterpenoid alkaloid from *Aconitum tanguticum* (Maxim.) Stapf, W. T. Wang[J]. Heterocycles, 1991, 32(9):1793-1804.

[22] 李艳茸, 李春, 王智民, 等. 藏药甘青乌头化学成分研究（Ⅲ）[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(7): 1163-1167.

[23] Xu L, Zhang X, Lin L M, et al. Two new flavonol glycosides from the Tibetan medicinal plant *Aconitum tanguticum*[J]. J Asian Nat Prod Res, 2013, 15(7): 737-742.

[24] 徐璐, 李艳茸, 李春, 等. 藏药甘青乌头化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(17):2818-2825.

[25] 罗明. 藏药甘青乌头化学成分的研究[D]. 咸阳:陕西中医学院, 2012.

[26] Li Y R, Xu L, Li C, et al. Two new compounds from *Aconitum tanguticum*[J]. J Asian Nat Prod Res, 2014, 16(7):730-734.

[27] Xu L, Luo M, Lin L M, et al. Three new phenolic glycosides from the Tibetan medicinal plant *Aconitum tanguticum*[J]. J Asian Nat Prod Res, 2013, 15(7): 743-749.

[28] 李莉娅, 邓志威, 李军, 等. 中国南海海绵 *Cinachyrella australiensis* 化学成分研究[J]. 北京大学学报:医学版, 2004, 36(1):12-17.

[29] 尹伟, 宋祖荣, 刘金旗, 等. 桂花的化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(4):679-685.

[30] 张海龙, 傅红伟, 田黎, 等. 海洋细菌 *Bacillus sp.* 发酵液中化学成分的研究[J]. 中国海洋药物, 2005, 24(2):9-12.

[31] 胡毓元. 尼泊金乙酯(丁酯)合成研究[D]. 郑州:郑州大学, 2014.

[33] Rybicka H. 3-[*p*-hydroxyphenyl]-propionic acid amide (phloretamide) in root exudate of Malus[J]. Biochemie Und Physiologie Der Pflanzen, 1984, 179(4):303-309.

[34] 刘华清, 王天麟. 蒲公英水溶性化学成分研究[J]. 中药材, 2014, 37(6):989-991.

[35] 何江波. 四种植物及四种真菌化学成分研究[D]. 昆明:中国科学院昆明植物研究所, 2014.

[36] 刘静涵, 陈翔飞. 关附辛素的结构鉴定[J]. 南京药学院学报, 1985, 16(3):58-60.

[37] 刘海滨, 高昊, 王乃利, 等. 红树林真菌草酸青霉(092007)的环二肽类成分[J]. 沈阳药科大学学报, 2007, 24(8):474-478.

[38] 彭燕, 郑建仙, 黄日明, 等. 海燕中含氮化合物的研究[J]. 中草药, 2010, 41(2):208-210.

[39] Youssef Moustafa A M, Kouam S F, Kulsoom A, et al. Phytochemcal investigation and biological evaluation of *Schinus terebinthifolius*[J]. Res J Phytochemistry, 2007, 1(1):1-11.

[40] Wang L, Wu M, Huang J, et al. Chemical constituents of *Eria spicata* [J]. Chem Nat Compd, 2012, 48(1): 168-169.

[41] 杨宁宁, 黄圣卓, 马青云, 等. 远东疣柄牛肝菌化学成分分析[J]. 食品科学, 2014, 35(6):78-82.

[42] 彭国平, 牛贺明, 徐丽华. 枳实活性成分的研究[J]. 南京中医药大学学报:自然科学版, 2001, 17(2): 91-92.

[责任编辑 顾雪竹]