

延胡索化学成分的分离和结构鉴定

李凤琴¹, 周琼², 马林², 邓安珺^{2*}

(1. 濮阳市食品药品检验检测中心, 河南 濮阳 457000;

2. 中国医学科学院 & 北京协和医学院 药物研究所, 北京 100050)

[摘要] **目的:**该文以阐明延胡索的特征性化学成分并为延胡索中药化学研究相关的基础研究和质量控制研究提供必要的信息,深入开展延胡索的化学成分研究。**方法:**采用溶剂提取和萃取粗分离的手段得到延胡索根茎的 95% 乙醇提取物的乙酸乙酯萃取部位和 *n*-BuOH 萃取部位,用硅胶柱色谱法及 ODS 反相柱色谱等分离纯化手段对粗分离部位进行精细分离,得到单体化合物;根据 1D 和 2D-NMR 数据以及 MS 数据分析,并通过与文献数据的对比鉴定单体化合物的结构。**结果:**从延胡索块茎中分离得到了 12 个化合物单体,均为生物碱类成分;其结构分别为 *d*-紫堇碱(1),四氢黄连碱(2),四氢巴马汀(3),四氢非洲防己胺(4),紫堇球碱(5),四氢药根碱(6),去氢延胡索甲素(7),脱氢海罂粟碱(8),8-氧化二氢黄连碱(9),普罗托品(10),taxilamine(11)和 pontevedrine(12);其中,化合物 12 的结构是通过系统的 1D 和 2D NMR 研究完成的修正后的结构。**结论:**化合物 6 和 11 均为首次从延胡索中分离得到的化合物;化合物 12 的结构经分析验证为 1,2,9,10-四甲氧基-6-甲基-4H-二苯并[*de,g*]喹啉-4,5(6H)-二酮。

[关键词] 延胡索; 生物碱; 分离纯化; 结构鉴定; 1, 2, 9, 10-四甲氧基-6-甲基-4H-二苯并[*de, g*]喹啉-4, 5(6H)-二酮

[中图分类号] R284.2;R289;R2-03;R22 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)01-0211-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190162

Isolation and Structural Elucidation of Chemical Constituents of Corydalis Rhizoma

LI Feng-qin¹, ZHOU Qiong², MA Lin², DENG An-jun^{2*}

(1. Puyang Center for Food and Drug Inspection and Test, Puyang 457000, China;

2. Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

[Abstract] **Objective:** In order to clarify the characteristic chemical constituents and furnish applicable information to the basic research and quality control research related to the chemistry of traditional Chinese medicines for Corydalis Rhizoma, this paper investigated the chemical constituents of Corydalis Rhizoma extensively. **Method:** The dried-up and pulverized plant materials were extracted using 95% EtOH as solvent, the EtOH extract was fractionated using different solvents to afford the EtOAc-soluble and *n*-BuOH-soluble portion, respectively, among others. These two portions were subjected to procedures of isolation and purification on silica gel or ODS column chromatographies to afford monomers. 1D and 2D NMR and MS methods, along with comparison with the data of literatures, were used to identify the structures. **Result:** Twelve compounds, all belonging to alkaloids, were isolated and identified as *d*-corydaline (1), tetrahydrocoptisine (2), tetrahydropalmatine (3), tetrahydrocolumbamine (4), corybulbine (5), tetrahydrojatrorrhizine (6), dehydrocorydaline (7), dehydroglaucine (8), 8-oxodihydrocoptisine (9), protopine (10), taxilamine (11), and pontevedrine (12). Of these compounds, the structure of 12 was a revised structure which was

[收稿日期] 20180612(004)

[基金项目] 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(2016-I2M-1-010)

[第一作者] 李凤琴,主任药师,从事药品质量控制研究,Tel:0393-4439832,E-mail:Lfq0393@163.com

[通信作者] * 邓安珺,硕士,助理研究员,从事天然药物化学研究,Tel: 010-83172503,E-mail: denganjun@imm.ac.cn

assigned by combined examinations of their 1D and 2D NMR spectra and MS data. **Conclusion:** Compounds **6** and **11** were reported from *Corydalis Rhizoma* for the first time. The structure of pontevadrine was verified as 1, 2, 9, 10-tetramethoxy-6-methyl-4H-dibenzo [*de, g*] quinoline-4, 5 (6H) -dione.

[Key words] *Corydalis Rhizoma*; alkaloids; isolation and purification; structural elucidation; 1, 2, 9, 10-tetramethoxy-6-methyl-4H-dibenzo [*de, g*] quinoline-4, 5 (6H) -dione

延胡索来源于罂粟科紫堇属植物延胡索的干燥块茎,主产于江苏省和浙江省,在江西省、陕西省、河南省等省份的部分地区有栽培。延胡索性辛、苦、温,具有活血、利气、止痛的功效,中医用其治疗胸胁、脘腹疼痛、经闭痛经、产后瘀阻、跌打肿痛等症^[1]。作为一味著名的中药材,延胡索在中医经典名方、配方颗粒和中成药等传统中医药的各个领域均有广泛的应用,因此,对延胡索的基础和应用方面的研究一直是中药研究的热点。在化学成分研究方面,文献报道至 2007 年已分离鉴定了 30 多种生物碱成分^[2];至 2014 年,又有综述报道从延胡索中分离鉴定的生物碱类成分达 40 多个^[3],特别是苜基异喹啉类生物碱,包括原小檗碱型、普罗托品碱型、阿朴菲型等结构类型,代表了延胡索生物碱的主要特征,并以原小檗碱型生物碱居多^[2-5],近期从延胡索中分离鉴定的新生物碱成分 corydayanine 和 yanhusuine 均为原小檗碱型生物碱^[6]。从延胡索中鉴定的非生物碱类成分包括三萜类、蒽醌类、酚酸类、甾体类、有机酸类、醇和糖类、氨基酸及其衍生物类、核苷类和微量元素等^[3]。除了新的化学成分外,也陆续有报道,从延胡索中首次分离鉴定了一些已知化学成分^[5]。近年来,科研人员还对延胡索的质量控制、饮片及化学成分的药理作用以及中药现代化等均开展了深入地研究,并取得了一定的进展^[7-10]。受技术条件的限制,在前人开展延胡索化学成分研究的过程中,难免发生结构鉴定错误的情况,因而,对一些结构的修正也是后续研究的部分内容;如对延胡索戊素的结构就曾经鉴定为消旋四氢黄连碱,但之后的研究将其结构修正为左旋四氢非洲防己胺^[3]。笔者在承担有关科研项目的过程中,深入研究了延胡索的化学成分,并为其质量保障和监控提供必要的物质基础,对延胡索 90% 乙醇提取物进行了化学成分的分离,从中鉴定了 12 个化合物,其中包括首次从延胡索中分离得到的 2 个化合物,四氢药根碱和 taxilamine。本研究中又一次分离得到了文献报道的生物碱 pontevadrine,但由于早期条件的局限性,其结构鉴定还存有疑问。本文报道这些化合物的分离和结构鉴定以及 pontevadrine 的

结构验证。

1 材料

Mercury-300 和 400 型, INOVA-500 型, VNS-600 型核磁共振波谱仪(TMS 为内标,美国 Varian 公司); Agilent 1100 LC/MSD Trap SL 型液相色谱-质谱联用仪(美国安捷伦公司); LC-6AD 型制备型高效液相色谱仪(包括 SPD-20A 紫外检测器, PRC-ODS 色谱柱 20 mm × 250 mm, 日本岛津); LH-20 型羟丙基葡聚糖凝胶(Sephadex LH-20, Pharmacia 公司产品); 柱色谱硅胶(200 ~ 300 目)和薄层色谱用硅胶 GF₂₅₄(青岛海洋化工厂); 反相柱填料 ODS-A-HG(日本 YMC 公司); 色谱纯试剂为美国 Fisher 公司产品; 分析纯试剂为北京化工厂产品。

延胡索药材购自陕西汉中中药材市场,由中国医学科学院药物研究所马林副研究员鉴定为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusu* 的干燥块茎。

2 提取与分离

取延胡索干燥块茎 30 kg 并粉碎,用 90% EtOH 回流提取 5 次(2, 2, 1, 1, 1 h),将提取液合并,减压浓缩至浓稠溶液,再加 95% 乙醇至醇体积分数为约 70%。将所得醇水溶液用石油醚萃取 3 次,萃取后的醇溶液经减压浓缩至无醇味后,再加水混悬;将此水混悬液用乙酸乙酯萃取 3 次;将乙酸乙酯萃取液合并,用 5% NaHCO₃ 水溶液萃取 3 次,再用蒸馏水萃取 2 次至中性;将乙酸乙酯溶液浓缩后得乙酸乙酯萃取部分 40 g。将上述乙酸乙酯萃取后的母液用正丁醇萃取 3 次;将正丁醇萃取液合并,用 5% NaHCO₃ 水溶液萃取 3 次,再用蒸馏水萃取 2 次至中性,减压浓缩正丁醇溶液得正丁醇萃取部分 108 g。

将乙酸乙酯萃取部分进行硅胶柱色谱,以三氯甲烷-甲醇(100:0 ~ 100:1 ~ 50:1 ~ 25:1 ~ 15:1 ~ 10:1 ~ 1:1)梯度洗脱,经薄层色谱检测分为 7 个洗脱部分(Fr. 1 ~ Fr. 7)。Fr. 1(三氯甲烷-甲醇, 100:0)经硅胶柱色谱,用三氯甲烷-甲醇(100:1)洗脱,得到的洗脱溶液经浓缩后析出化合物 **1**(2 g); 然后以石油醚-乙酸乙酯(1:1)洗脱,得到化合物 **12**(21 mg)。Fr. 2(三氯甲烷-甲醇, 100:1)经硅胶柱

色谱,以石油醚-乙酸乙酯(15:1~8:1)梯度洗脱,分成2个洗脱部分(Fr. 2-1~Fr. 2-2),Fr. 2-1(石油醚-乙酸乙酯,15:1)经硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯(15:1)洗脱得化合物**2**(50 mg),Fr. 2-2(石油醚-乙酸乙酯,8:1)经硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯(5:1)洗脱得化合物**5**(30 mg)。Fr. 3(三氯甲烷-甲醇,100:1)经硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯(15:1)洗脱得化合物**3**(5 g),Fr. 4(三氯甲烷-甲醇,100:1)经硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯(1:1)洗脱,得洗脱部分 Fr. 4-1,Fr. 4-1 经硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯(1:1)洗脱得化合物**4**(30 mg),Fr. 5(三氯甲烷-甲醇,50:1)再经硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯(8:1)等度洗脱得到化合物**6**(7 mg)。Fr. 7(三氯甲烷-甲醇,10:1~1:1)经反相柱色谱,以甲醇-水(40:60)洗脱得洗脱部分 Fr. 7-1,Fr. 7-1 经高效制备液相色谱分离,以甲醇-为(75:25,6 mL·min⁻¹)为流动相,分离得到化合物**7**(7 mg)。

将正丁醇萃取部分经硅胶柱色谱,以三氯甲烷-甲醇(100:0~100:1~50:1)梯度洗脱,经薄层色谱检测分为2个洗脱部分(BFr. 1~BFr. 2)。BFr. 1(三氯甲烷-甲醇,100:0~100:1)再经硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯(10:1)洗脱得化合物**8**(20 mg),以石油醚-乙酸乙酯(3:1)洗脱得化合物**9**(26 mg),以石油醚-乙酸乙酯(3:1)洗脱得化合物**11**(9 mg)。BFr. 2(三氯甲烷-甲醇,50:1)直接析出化合物**10**(2.3 g)。

3 结构鉴定

化合物**1** 白色结晶。¹H-NMR(CDCl₃, 300 MHz) δ:6.91(1H, d, J = 8.4 Hz, H-12), 6.82(1H, d, J = 8.4 Hz, H-11), 6.68(1H, s, H-1), 6.61(1H, s, H-4), 4.22(1H, d, J = 15.3 Hz, H-8a), 3.87(6H, s, 2 × OCH₃), 3.86(6H, s, 2 × OCH₃), 3.63(1H, br, H-13a), 3.50(1H, d, J = 15.3 Hz, H-8b), 3.23(1H, m, H-13), 3.15(2H, m, H-5a, 6a), 2.60(2H, m, H-5b, 6b), 0.94(3H, d, J = 6.9 Hz, CH₃-13)。以上数据与文献[11-12]报道的*d*-紫堇碱(延胡索甲素)一致。

化合物**2** 白色粉末。ESI-MS *m/z* 324.0 [M + H]⁺; ¹H-NMR(CDCl₃, 300 MHz) δ:6.72(1H, s, H-1), 6.68(1H, d, J = 8.7 Hz, H-11), 6.63(1H, d, J = 8.7 Hz, H-12), 6.59(1H, s, H-4), 5.95(2H, s, O-CH₂-O), 5.92(2H, s, O-CH₂-O), 4.09(1H, d, J = 15.3 Hz, H-8a), 3.59(1H, m, H-13a), 3.54(1H, d,

J = 15.3 Hz, H-8b), 3.23(1H, m, H-13a), 3.13(2H, m, H-5a, 6a), 2.79(1H, m, H-13b), 2.66(2H, m, H-5b, 6b)。¹H-NMR(DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ:2.50(3H, m), 2.89(1H, m), 3.07(1H, dd, J = 10.8, 5.2 Hz), 3.40(2H, m), 3.42(1H, d, J = 14.2 Hz), 3.95(1H, d, J = 14.2 Hz), 5.93(1H, s), 5.94(1H, s), 5.97(1H, s), 5.99(1H, s), 6.62(1H, d, J = 8.0 Hz), 6.66(1H, s), 6.75(1H, d, J = 8.0 Hz), 6.91(1H, s); ¹³C-NMR(DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ:29.1, 35.9, 50.6, 52.2, 59.2, 100.6, 100.8, 105.8, 106.5, 108.2, 116.6, 121.0, 127.4, 128.7, 130.7, 142.8, 144.5, 145.5, 145.8; ¹³C-NMR(CDCl₃, 100 MHz) δ:146.2(C-9), 146.0(C-3), 145.0(C-2), 143.3(C-10), 130.4(C-13b), 128.4(C-12a), 127.6(C-4a), 121.1(C-12), 108.4(C-4), 106.8(C-11), 105.2(C-1), 101.1(C-15), 100.8(C-14), 59.7(C-13a), 52.8(C-8), 51.2(C-6), 36.3(C-13), 29.4(C-5)。以上数据与文献[11-13]报道的四氢黄连碱一致。

化合物**3** 白色方晶。EI-MS *m/z* 355 [M]⁺; ¹H-NMR(CDCl₃, 300 MHz) δ:6.87(1H, d, J = 8.4 Hz, H-12), 6.78(1H, d, J = 8.4 Hz, H-11), 6.73(1H, s, H-1), 6.62(1H, s, H-4), 4.24(1H, d, J = 15.9 Hz, H-8_a), 3.89(3H, s, OCH₃), 3.87(3H, s, OCH₃), 3.86(3H, s, OCH₃), 3.85(3H, s, OCH₃), 3.59(2H, m, H-13a, 8b), 3.21(3H, m, H-5a, 6a, 13a), 2.84(1H, m, H-6b), 2.64(2H, m, H-5b, 13b); ¹³C-NMR(CDCl₃, 100 MHz) δ:150.3(C-9), 147.5, 147.4(2C, C-2, 3), 145.0(C-10), 129.5(C-13b), 128.5(C-12a), 127.6(C-8a), 126.7(C-4a), 123.8(C-12), 111.3(C-4), 110.9(C-11), 108.5(C-1), 60.4(OCH₃-9), 59.2(C-13a), 56.0(OCH₃-3), 55.8(2C, OCH₃-2, 10), 53.9(C-8), 51.5(C-6), 36.2(C-13), 29.0(C-5)。以上数据与文献[11-12]报道的四氢巴马汀(延胡索乙素)一致。

化合物**4** 黄色结晶。ESI-MS *m/z* 342.0 [M + H]⁺; ¹H-NMR(CDCl₃, 300 MHz) δ:6.87(1H, d, J = 8.7 Hz, H-12), 6.81(1H, s, H-1), 6.78(1H, d, J = 8.7 Hz, H-11), 6.60(1H, s, H-4), 5.52(1H, s, OH-2), 4.26(1H, d, J = 15.9 Hz, H-8a), 3.87(3H, s, OCH₃-9), 3.85(6H, s, OCH₃-3, 10), 3.55(2H, m, H-13a, 8b), 3.26(3H, m, H-5a, 6a, 13a), 2.85(1H, m, H-13b), 2.68(2H, m, H-5b, 6b); ¹³C-NMR(DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ:149.8(C-9), 146.0(C-10), 144.6(C-2), 144.4(C-3), 129.8(C-13b), 128.3(C-12a),

127.5 (C-8a), 124.7 (C-4a), 123.7 (C-12), 112.4 (C-4), 111.8 (C-11), 111.1 (C-1), 59.5 (OCH₃-9), 58.5 (C-13a), 55.7 (OCH₃-3), 55.5 (OCH₃-10), 53.4 (C-8), 51.1 (C-6), 35.8 (C-13), 28.5 (C-5)。以上数据与文献[11-12]报道的四氢非洲防己胺一致。

化合物5 白色结晶。ESI-MS m/z 356.0 [M + H]⁺; ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 6.90 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-12), 6.82 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-11), 6.68 (1H, s, H-1), 6.65 (1H, s, H-4), 5.50 (1H, s, OH-3), 4.19 (1H, d, J = 16.2 Hz, H-8a), 3.88 (3H, s, OCH₃-2), 3.86 (6H, s, OCH₃-9, 10), 3.68 (1H, br, H-13a), 3.50 (1H, d, J = 15.6 Hz, H-8b), 3.10 (3H, m, H-5a, 6e, 13), 2.58 (2H, m, H-5e, 6a), 0.95 (3H, d, J = 4.8 Hz, CH₃-13)。以上数据与文献[11-12]报道的紫堇球碱一致。

化合物6 黄色粉末。ESI-MS m/z 342.0 [M + H]⁺; ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 6.84 (1H, d, J = 8.7 Hz, H-12), 6.79 (1H, d, J = 8.7 Hz, H-11), 6.73 (1H, s, H-1), 6.62 (1H, s, H-4), 4.22 (1H, d, J = 15.6 Hz, H-8_a), 3.90 (3H, s, OCH₃-10), 3.88 (3H, s, OCH₃-9), 3.82 (3H, s, OCH₃-2), 3.60 (2H, m, H-13a, 8b), 3.23 (3H, m, H-5a, 6a, 13a), 2.83 (1H, m, H-13b), 2.66 (2H, m, H-5b, 6b)。以上数据与文献[14]报道的四氢药根碱一致。

化合物7 黄色结晶。ESI-MS m/z 366.2 [M]⁺; ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 10.6 (1H, s, H-8), 7.91 (1H, d, J = 9.3 Hz, H-11), 7.85 (1H, d, J = 9.3 Hz, H-12), 7.15 (1H, s, H-1), 6.91 (1H, s, H-4), 5.28 (2H, t-like, H₂-6), 4.34 (3H, s, OCH₃-9), 4.07 (3H, s, OCH₃), 3.99 (3H, s, OCH₃), 3.93 (3H, s, OCH₃), 3.24 (2H, t-like, H₂-5), 2.96 (3H, s, CH₃-13)。以上数据与文献[12, 15]报道的去氢延胡索甲素一致。

化合物8 黄绿色结晶。EI-MS m/z 353 [M]⁺; ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 9.10 (1H, s, H-11), 7.06 (1H, s, H-8), 6.98 (1H, s, H-3), 6.61 (1H, s, H-7), 4.01 (9H, s, 3 × OCH₃), 3.89 (3H, s, OCH₃), 3.35 (2H, t, J = 6.0 Hz, H₂-5), 3.26 (2H, t, J = 6.0 Hz, H₂-4), 3.06 (3H, s, NCH₃)。以上数据与文献[11]报道的脱氢海罂粟碱一致。

化合物9 黄色粉末。ESI-MS m/z 336.0 [M + H]⁺; ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 7.20 (1H, s, H-1), 7.16 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-11), 7.04 (1H, d, J =

8.4 Hz, H-12), 6.74 (1H, s, H-4), 6.70 (1H, s, H-13), 6.21 (2H, s, O-CH₂-O), 6.01 (2H, s, O-CH₂-O), 4.27 (2H, t, J = 6.0 Hz, H₂-6), 2.88 (2H, t, J = 6.0 Hz, H₂-5); ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 7.45 (1H, s), 7.32 (1H, d, J = 8.4 Hz), 7.13 (1H, d, J = 8.4 Hz), 7.10 (1H, s), 6.91 (1H, s), 6.17 (2H, s), 6.05 (2H, s), 4.08 (2H, t, J = 6.0 Hz), 2.85 (2H, t, J = 6.0 Hz); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 150 MHz) δ : 27.6, 38.6, 101.3, 101.5, 102.0, 104.6, 107.8, 109.7, 113.9, 119.2, 123.1, 129.7, 131.5, 134.6, 145.6, 145.9, 146.8, 147.8, 158.0; ¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ : 159.7 (C-8), 148.5 (C-9), 147.4 (C-10), 146.7 (C-3), 146.2 (C-2), 135.4 (C-13a), 131.9 (C-8a), 130.0 (C-12a), 123.8 (C-13b), 119.2 (C-12), 113.9 (C-11), 110.7 (C-4a), 108.0 (C-4), 104.8 (C-1), 102.6 (C-13), 102.1 (O-CH₂-O), 101.4 (O-CH₂-O), 39.1 (C-6), 28.6 (C-5)。以上数据与文献[12, 16-17]报道的8-氧化二氢黄连碱一致。

化合物10 白色粉末。ESI-MS m/z 354.0 [M + H]⁺; ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 6.93 (1H, s, H-1), 6.70 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-11), 6.65 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-12), 6.64 (1H, s, H-4), 5.95 (2H, s, O-CH₂-O), 5.92 (2H, s, O-CH₂-O), 3.78 (2H, br, H₂-13), 3.58 (2H, br, H₂-8), 2.90 (2H, br, H₂-6), 2.55 (2H, br, H₂-5), 2.04 (3H, s, N-CH₃)。以上数据与文献[18]报道的普罗托品一致。

化合物11 白色粉末。EI-MS m/z 369 [M]⁺; ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 8.46 (1H, d, J = 5.1 Hz, H-3), 7.65 (1H, d, J = 5.1 Hz, H-4), 7.40 (1H, s, H-8), 7.27 (1H, d, J = 9.0 Hz, H-6'), 7.14 (1H, s, H-5), 6.43 (1H, d, J = 9.0 Hz, H-5'), 4.06 (3H, s, OCH₃), 3.96 (6H, s, 2 × OCH₃), 3.92 (3H, s, OCH₃)。以上数据与文献[19]报道的 taxilamine 一致。

化合物12 橙红色粉末。ESI-MS m/z 366.1 [M - 15]⁺; ¹H-NMR (CDCl₃, 600 MHz) 图谱上在 δ_H 9.07 (1H, s), 8.17 (1H, s), 7.39 (1H, s) 和 7.22 (1H, s) 显示出4个孤立的分别含1个芳香质子的单峰; 在 δ_H 4.105 (3H, s), 4.097 (6H, s) 和 4.08 (3H, s) 出现的共振峰表明其含4个芳香甲氧基, 在 δ_H 3.82 (3H, s) 显示出另一个与杂原子相连的甲基单峰。经查阅文献发现, 以上¹H-NMR 共振峰与文献[20]报道的 pontevodrine 的¹H-NMR 数据一致。但文献[20]是引用文献[21]完成的结构鉴定; 文献

报道的 *pontevedrine* 仅是一个主要经 $^1\text{H-NMR}$ 数据推测的结构, 结构式如 $12'$ 所示, 且没有给出 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据。因此, 本文对 *pontevedrine* 进行了深入的结构研究。其 $^{13}\text{C-NMR}$ 图谱显示出 21 个碳信号, 这些碳信号经 HSQC 图谱分析确定含 5 个甲基, 4 个芳香次甲基以及 12 个不连氢的碳信号 (表 1)。HMBC 实验观察到了各个氢信号与关键的碳信号的远程相关 (图 1, 表 1); 其中 $\delta_{\text{H}} 8.17$ 与 $\delta_{\text{C}} 152.5$, 154.0 , 123.9 , 118.5 和 175.7 的相关并结合, $\delta_{\text{H}} 9.07$ ($1\text{H}, \text{s}$), 7.39 ($1\text{H}, \text{s}$) 和 7.22 ($1\text{H}, \text{s}$) 分别与关键的碳信号的远程碳氢相关峰证实了其含有阿朴菲结构; HMBC 谱中没有观察到与 $\delta_{\text{C}} 156.4$ 存在远程碳氢相关的质子信号, 表明 *pontevedrine* 的结构不可能是 $12'$ 。通过采用 HMBC 谱将各个甲氧基和氮甲基

与对应的碳相连接, 实现了化合物 12 的结构鉴定。因此, 将 *pontevedrine* 确定为 1,2,9,10-四甲氧基-6-甲基-4H-二苯并[de,g]喹啉-4,5(6H)-二酮; 这与文献推测的结构存在差异。

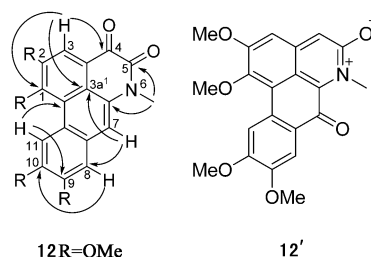


图 1 化合物 12 和 $12'$ 的结构及化合物 12 关键的 HMBC (H→C) 相关
Fig. 1 Structure of compound 12 and $12'$, HMBC (H→C) correlation of compound 12

表 1 *Pontevedrine* 的 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz), $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) 和 HMBC 数据

Table 1 Data of $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz), $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) and HMBC of *pontevedrine*

No.	δ_{H}	δ_{C}	HMBC (H→C)	No.	δ_{H}	δ_{C}	HMBC (H→C)
1		152.5 ^a		9		149.3 ^b	
2		154.0 ^a		10		149.8 ^b	
3	8.17 s(1H)	112.3	C-1,2,3a,3a ¹ ,4	11	9.07 s(1H)	108.6	C-7a,9,10,11a,11b
3a		123.9		11a		121.4	
3a ¹		118.5		11b		124.2	
4		175.7		1-OMe	4.097 s(3H)	60.5 ^c	C-1
5		156.4		2-OMe	4.105 s(3H)	56.5 ^c	C-2
6a		130.6		9-OMe	4.08 s(3H)	56.0 ^c	C-9
7	7.39 s(1H)	113.7	C-3a ¹ ,6a,8,11a	10-OMe	4.097 s(3H)	55.9 ^c	C-10
7a		127.8		N-Me	3.82 s(3H)		C-5,6a
8	7.22 s(1H)	108.7	C-7,9,10,11a				

注: 上标相同字母表示位置可以互换。

4 讨论

本研究将延胡索干燥块茎的 90% 乙醇提取物用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇分别萃取后得到相应的三部分萃取物。运用色谱方法和波谱技术, 从乙酸乙酯萃取物中分离鉴定了 8 个化合物, 从正丁醇萃取物中分离鉴定了 4 个化合物, 全部为苜蓿基异喹啉生物碱, 但涉及小檗碱型、阿朴菲型和普罗托品型。石油醚萃取物的化学成分有待进一步研究。

上述延胡索干燥块茎的乙酸乙酯部分主要成分为四氢小檗碱型生物碱和阿朴菲型生物碱; 这些化合物具有较强的紫外吸收, 极性大小相似, 易于结晶。在采用硅胶柱色谱分离并采用梯度溶剂洗脱的过程中, 洗脱物主要集中在相对极性较小的洗脱部

分, 且在甲醇中溶解性不好, 没有必要采用反相柱色谱法和制备 HPLC 色谱法进行分离和纯化。本文主要采用硅胶柱色谱结合凝胶柱色谱及重结晶的手段获得了上述化合物。

上述延胡索干燥块茎的正丁醇部分含有极性相对较大的生物碱成分。这些成分一般具有较强的紫外吸收; 同时正丁醇部分也富含色素类物质, 单纯采用硅胶正相色谱方法进行分离具有一定的难度。因此, 可采用硅胶柱色谱、凝胶柱色谱、反相柱色谱以及制备 HPLC 色谱等分离手段相结合的方法进行分离和纯化。正丁醇部分所含生物碱本身极性较大, 在采用硅胶吸附色谱进行粗分离的过程中有明显的化合物损失; 因此在采用正相硅胶柱色谱粗分离后,

最好不再重复使用正相硅胶柱色谱进行纯化。

因为延胡索中所含生物碱主要为苕基四氢异喹啉型,通常在254 nm的紫外光下可以显出暗斑;并且也因为这些化学成分含有较大的共轭体系,在365 nm紫外光下显出荧光;因此,在研究过程中采用紫外光对生物碱进行监测或用改良碘化铋钾对其生物碱成分进行显色。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:139.

[2] 贺凯,高建莉,赵光树. 延胡索化学成分、药理作用及质量控制研究进展[J]. 中草药,2007,38(12):1909-1912.

[3] 杨鑫宝,杨秀伟,刘建勋. 延胡索物质基础研究[J]. 中国中药杂志,2014,39(1):20-27.

[4] 冯静,于宗渊,杨洪军,等. 延胡索中生物碱成分的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(6):124-127.

[5] 吕子明,孙武兴,段绪红,等. 延胡索化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2012,37(2):235-237.

[6] ZHOU Q, DENG A J, QIN H L. Two new quaternary protoberberine alkaloids from *Corydalis yanhusuo* [J]. J Asian Nat Prod,2012,14(5):476-481.

[7] 杨敏,李春,冯伟红,等. 延胡索中生物碱类成分的质量控制[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(6):22-25.

[8] 陈东东,周萍,白钢钢,等. 基于HPLC中药指纹图谱技术延胡索药材及其制剂的质量控制探讨[J]. 中国中药杂志,2015,40(12):2470-2473.

[9] 李荣,蔡青青,牛彦兵,等. 生、熟延胡索饮片药理作用的对比研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(19):133-137.

[10] 余守洋,白威峰,涂平,等. 延胡索及其有效成分抗吗啡成瘾多巴胺系统作用机制研究和效果比较[J]. 中国中药杂志,2016,41(19):3643-3648.

[11] 许翔鸿,王峥涛,余国奠,等. 延胡索中生物碱成分的

研究[J]. 中国药科大学学报,2002,33(6):483-486.

[12] 杨鑫宝,刘扬子,杨秀伟,等. 磐安延胡索的化学成分研究[J]. 中草药,2013,44(16):2200-2207.

[13] ZHANG Z H, ZHANG H J, DENG A J, et al. Synthesis and structure-activity relationships of quaternary coptisine derivatives as potential anti-ulcerative colitis agents[J]. J Med Chem,2015,58(11):7557-7571.

[14] Sette I M F, da-Cunha E V L, Barbosa-Filho J M, et al. The first tetrahydroprotoberberine alkaloid from the genus *Rollinia* [J]. Biochem Syst Ecol,2000,28(4):393-394.

[15] 胡甜甜,张雪,马世中,等. 延胡索中的生物碱成分[J]. 中国中药杂志,2009,34(15):1917-1920.

[16] XIE M, ZHANG H J, DENG A J, et al. Synthesis and structure-activity relationships of *N*-dihydrocoptisine-8-ylidene aromatic amines and *N*-dihydrocoptisine-8-ylidene aliphatic amides as antiulcerative colitis agents targeting XBP1 [J]. J Nat Prod,2016,79(4):775-783.

[17] ZHANG Z H, WU L Q, DENG A J, et al. New synthetic method of 8-oxocoptisine starting from natural quaternary coptisine as anti-ulcerative colitis agent [J]. J Asian Nat Prod Res,2014,16(8):841-846.

[18] 秦海林,王鹏,李志宏,等. 小果博落回对照物质及其核磁共振氢谱指纹图的创建[J]. 分析化学,2004,32(9):1165-1170.

[19] Blaskó G, Shamma M, Ansari A A, et al. Taxilaminbe, a pseudobenzulisoquinoline alkaloid [J]. Heterocycles, 1982,19(2):257-259.

[20] 王文蜀,肖巍,喻蓉,等. 中药延胡索化学成分研究[J]. 中央民族大学学报:自然科学版,2007,16(1):80-82,86.

[21] Ribas I, Sueiras J, Castedo L. Corunjine and pontevedrine, two new aporphine alkaloids from *Glaucium flavum* Cr. var. *vestitum* [J]. Tetrahedron Lett,1971,12(33):3093-3096.

[责任编辑 顾雪竹]