

宽叶荨麻化学成分研究(II)

周 渊, 王 炜, 闫兴国, 史丽颖, 王永奇, 冯宝民*

(大连大学生物工程学院, 辽宁 大连 116622)

摘要:目的 研究宽叶荨麻地上部分的化学成分。方法 运用多种色谱法进行分离纯化, 通过理化性质和多种波谱数据以及对对照品对照进行结构鉴定。结果 从宽叶荨麻地上部分分离得到8个化合物, 分别鉴定为5 α , 6 β -二羟基胡萝卜苷(I)、2 α , 3 α , 19 α -三羟基-12-烯-28-乌苏酸(II)、2, 3, 4, 9-四氢-1H-吡啶[3, 4-b]吲哚-3-羧酸(III)、2, 3, 4, 9-四氢-1-甲基-吡啶[3, 4-b]吲哚-3-羧酸(IV)、东莨菪素(V)、对羟基桂皮酸(VI)、对甲氧基苯甲酸(VII)、己二酸(VIII)。结论 化合物I~VIII均为首次从宽叶荨麻中分离得到, 其中化合物I、III、IV为首次从荨麻属植物中分离得到。

关键词:宽叶荨麻; 荨麻苷; 化学成分; 结构鉴定

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2009)05-0711-03

宽叶荨麻 *Urtica laetevirens* Maxim. 为荨麻科荨麻属植物, 多年生草本, 又名“哈拉海”。广布于我国山区, 全草入药。宽叶荨麻已收入1995年《卫生部药品标准》(藏药)第一册, 具有祛风定惊, 温肾消食之功。藏医常用来治疗“龙”病引起的久热、消化不良。王梦月^[1]等对宽叶荨麻水煎液的抗炎、镇痛作用进行了研究, 结果发现在二甲苯致小鼠耳廓肿胀的实验中, 宽叶荨麻显示出明显的抗炎活性。在前期的研究中, 已报道了由宽叶荨麻脂溶性部位分离鉴定出的13个化学成分, 本实验经过进一步研究从石油醚和大极性部位又分离鉴定了8个化合物, 分别为5 α , 6 β -二羟基胡萝卜苷(5 α , 6 β -dihydroxydaucoesterol, I)、2 α , 3 α , 19 α -三羟基-12-烯-28-乌苏酸(2 α , 3 α , 19 α -trihydroxyurs-12-en-28-oic acid, II)、2, 3, 4, 9-四氢-1H-吡啶[3, 4-b]吲哚-3-羧酸(2, 3, 4, 9-tetrahydro-1H-pyrido[3, 4-b]indole-3-carboxylic acid, III)、2, 3, 4, 9-四氢-1-甲基-吡啶[3, 4-b]吲哚-3-羧酸(2, 3, 4, 9-tetrahydro-1-methyl-1H-pyrido[3, 4-b]indole-3-carboxylic acid, IV)、东莨菪素(scopoletin, V)、对羟基桂皮酸(*p*-hydroxycinnamic acid, VI)、对甲氧基苯甲酸(*p*-methoxybenzoic acid, VII)、己二酸(hexanedioic acid, VIII)。

1 材料与方

XT4A 显微熔点测定仪; Bruker 核磁共振仪 ARX-500 型; 薄层色谱用硅胶(10~40 μ m)及柱色谱用硅胶(200~300目)均为青岛海洋化工厂生

产; ODS-RP18 硅胶柱, HPLC(美国 Water 公司), Sephadex LH-20 为 Pharmacia Biotech 公司产品; 其余试剂均为分析纯。

药材采于辽宁庄河市市郊, 经辽宁师范大学陈辰教授鉴定为宽叶荨麻 *Urtica laetevirens* Maxim., 标本现存于大连大学药物研究所(标本号: No. 04050)。

2 提取和分离

宽叶荨麻干燥地上部分4.5 kg, 粉碎, 95%工业乙醇加热回流提取3次, 每次3 h, 滤过, 减压浓缩得醇提取物159 g。醇提取物用热水混悬, 以石油醚萃取, 得石油醚部分和水层部分。石油醚部分用石油醚-丙酮混合溶剂溶解, 不溶物反应用硅胶柱色谱及 Sephadex LH-20 柱色谱分离纯化, 得化合物 I。水层部分320 g 上大孔树脂柱, 依次用水, 40%、60%、80%乙醇洗脱。其中60%乙醇洗脱部分3 g 经硅胶柱和 Sephadex LH-20 柱色谱分离纯化, 得化合物 II。40%乙醇洗脱部分27 g 经硅胶柱色谱进行分离, 所得组分进一步经硅胶柱和 Sephadex LH-20 柱色谱以及制备 HPLC 或重结晶等方法纯化分别得到化合物 III~ VIII。

3 结构鉴定

化合物 I: 白色无定形粉末, mp 296~298 $^{\circ}$ C (MeOH)。Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应阳性。ESI-MS 得准分子离子峰 533 1 [M⁺ + Na], 结合¹H-NMR, ¹³C-NMR 推测化合物 I 分子式

* 收稿日期: 2008-08-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(30572317); 辽宁省教育厅科研项目(2004F114)

作者简介: 周 渊(1983-), 男, 硕士研究生, 主要从事植物化学及天然活性物质的研究。

Tel: (0411)87402718 E-mail: yuan2273@163.com

* 通讯作者: 冯宝民, Tel: (0411)87403759 E-mail: fbmdl@163.com

为 $C_{35}H_{62}O_8$ 。 ^1H-NMR (500 MHz, CD_3OD) 所显示的 6 个甲基信号 δ 0.72 (3H, s), 0.85 (3H, d), 0.86 (3H, d), 0.87 (3H, t), 0.95 (3H, d), 1.16 (3H, s) 为甾醇的甲基特征信号, 据此推测为甾醇类化合物。 $^{13}C-NMR$ (125 MHz, CD_3OD) 中 δ 102.1 (C-1'), 75.1 (C-2'), 78.2 (C-3'), 71.7 (C-4'), 77.9 (C-5'), 62.8 (C-6') 显示结构中有葡萄糖基片段, 因此推测化合物 I 为甾醇葡萄糖苷。另外 $^{13}C-NMR$ 显示其苷元数据 δ 33.5 (C-1), 29.9 (C-2), 76.3 (C-3), 35.3 (C-4), 76.8 (C-5), 76.7 (C-6), 31.6 (C-7), 38.2 (C-8), 46.6 (C-9), 39.5 (C-10), 29.4 (C-11), 41.5 (C-12), 43.9 (C-13), 57.5 (C-14), 22.3 (C-15), 25.2 (C-16), 57.5 (C-17), 12.5 (C-18), 17.2 (C-19), 35.1 (C-20), 19.3 (C-21), 37.4 (C-22), 27.3 (C-23), 47.5 (C-24), 30.5 (C-25), 19.4 (C-26), 20.2 (C-27), 24.2 (C-28), 12.3 (C-29)。以上 ^1H-NMR 和 $^{13}C-NMR$ 数据与文献对照一致^[2], 鉴定化合物 I 为 $5\alpha, 6\beta$ -二羟基胡萝卜苷。

化合物 II: 白色无定形粉末, mp 270 ~ 271 °C (MeOH)。Liebermann-Burchard 反应阳性, 可以推测该化合物为萜类化合物。 ^1H-NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ 5.18 (1H, t, $J=3.1$ Hz), 3.76 (1H, d, $J=2.6$ Hz, H-3), 3.04 (1H, s, H-18), 1.65 (3H, s, H-29), 1.12 (3H, d, $J=7.8$ Hz, H-30), 0.91 (3H, s), 0.95 (3H, s), 1.11 (3H, s), 1.28 (3H, s), 1.43 (3H, s)。 $^{13}C-NMR$ (125 MHz, $DMSO-d_6$) 给出 30 个碳信号 δ 41.5 (C-1), 64.6 (C-2), 77.8 (C-3), 37.9 (C-4), 48.8 (C-5), 18.6 (C-6), 32.5 (C-7), 40.7 (C-8), 47.6 (C-9), 38.9 (C-10), 24.1 (C-11), 126.7 (C-12), 138.5 (C-13), 41.3 (C-14), 2.82 (C-15), 26.4 (C-16), 48.3 (C-17), 54.6 (C-18), 71.5 (C-19), 41.1 (C-20), 26.9 (C-21), 37.7 (C-22), 29.4 (C-23), 22.3 (C-24), 16.5 (C-25), 17.3 (C-26), 24.6 (C-27), 178.8 (C-28), 27.9 (C-29), 16.8 (C-30)。以上数据与文献对照基本一致^[3], 故鉴定化合物 II 为 $2\alpha, 3\alpha, 19\alpha$ -三羟基-12-烯-28-乌苏酸。

化合物 III: 淡黄色针晶, mp > 300 °C (MeOH- H_2O)。碘化铯钾反应阳性, 提示该化合物可能为生物碱。 ^1H-NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ 10.89 (1H, s, H-9), 7.43 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-5), 7.32 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-8), 7.06 (1H, t, $J=8.0$ Hz, H-7), 6.98 (1H, t, $J=8.0$ Hz, H-6), 4.20, 4.16 (各 1H, d, $J=15.0$ Hz, H-1a, b), 3.62 (1H, dd, $J=5.0, 11.5$ Hz, H-3), 3.12 (1H, dd, $J=5.0, 16.5$

Hz, H-4a), 2.82 (1H, dd, $J=11.5, 16.5$ Hz, H-4b)。 $^{13}C-NMR$ (125 MHz, $DMSO-d_6$) δ 169.6 (COOH), 136.1 (C-8a), 128.1 (C-9a), 126.3 (C-5a), 121.2 (C-7), 118.7 (C-6), 117.7 (C-5), 111.1 (C-8), 106.6 (C-4a), 56.5 (C-3), 40.5 (C-1), 23.0 (C-4)。以上数据与文献对照一致^[4], 故鉴定化合物 II 为 2, 3, 4, 9-四氢-1H-吡啶并 [3, 4-b] 吲哚-3-羧酸。

化合物 IV: 淡黄色针晶, mp > 300 °C (MeOH- H_2O)。碘化铯钾反应阳性, 提示该化合物可能含有氮原子。比较化合物 IV 与化合物 III 的 ^1H-NMR 和 $^{13}C-NMR$ 数据, 发现它们在低场区十分相似, 在高场区化合物 IV 较化合物 III 在 δ 1.52 (3H, d, $J=5.6$ Hz), δ 18.8 (CH₃) 多了一个甲基, 提示化合物 IV 可能是化合物 III 的 1 位甲基化的衍生物。 ^1H-NMR 和 $^{13}C-NMR$ 数据与文献^[5] 对照鉴定化合物 IV 为 2, 3, 4, 9-四氢-1-甲基-吡啶并 [3, 4-b] 吲哚-3-羧酸。

化合物 V: 淡黄色针晶, mp 204 ~ 205 °C ($CHCl_3$)。TLC 254 nm 下显亮蓝色荧光, ^1H-NMR 数据与文献报道一致^[6], 并经过与对照品共薄层, 在 3 种溶剂系统下 Rf 值一致, 混合后测定熔点不下降, 故确定化合物 V 为东莨菪素。

化合物 VI: 白色针晶, mp 210 ~ 212 °C (acetone)。 ^1H-NMR 和 $^{13}C-NMR$ 数据与文献一致^[7], 鉴定化合物 VI 为对羟基桂皮酸。

化合物 VII: 白色针晶, mp 184 ~ 185 °C ($CHCl_3$ - CH_3OH)。溴酚蓝显色反应阳性, 证明有羧基存在。 ^1H-NMR 数据与文献一致^[8], 鉴定化合物 VII 为对甲氧基苯甲酸。

化合物 VIII: 白色结晶, mp 152 ~ 154 °C ($CHCl_3$)。溴酚蓝显色反应阳性, 证明有羧基存在。 ^1H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 1.64 (4H, m, H-3, 4), 2.35 (4H, m, H-2, 5)。以上数据与文献对照一致^[9], 鉴定化合物 VIII 为己二酸。

参考文献:

- [1] 王梦月, 卫莹芳, 史炎, 等. 三种活麻水煎液药理作用探索 [J]. 时珍国医国药, 2001, 12(8): 676-677.
- [2] Li S H, Zhang H J, Yao P, et al. Non-taxane compounds from the bark of *Taxus yunnanensis* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2002, 4(2): 147-154.
- [3] Dong L C, Xiao P C. Pomolic acid derivatives from the root of *Sanguisorba officinalis* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31: 1317-1320.
- [4] Yukihiko G, Kaori H, Hiroshi A, et al. Constituents in water-extract inhibitors of histamine release from RBL-2H₃ cells induced by antigen stimulation [J]. *Biol Pharm Bull*, 1999, 22(12): 1319.
- [5] Della G M, Monaco P, Previtera L. Stigmasterols from *Typhalatifolia* [J]. *J Nat Prod*, 1990, 53(6): 1430.

- [6] Akiyo S, Maksut C K, Takashi M. Hydroxybenzoic acids from *Boreava orientalis* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 40: 257-261
- [7] 刘明生, 何泉泉, 靳德军, 等. 海南裂叶山龙眼的化学成分

- 研究[J]. 中国药学杂志, 2005, 40(12): 893
- [8] *Nuclear Magnetic Resonance Spectra* [S]. 1971
- [9] 戴畅. 藓类植物回心草的化学成分和生物活性研究[D]. 中国人民解放军军医进修学院, 2006

天然熊胆粉与人工合成熊胆粉的红外吸收特征比较

李政¹, 孟勤², 尹建元^{2*}, 江崇波³

(1 吉林大学 化学公共教学与研究中心, 吉林 长春 130021; 2 吉林大学药学院, 吉林 长春 130021;
3 吉林省春天阳光医学科技发展有限公司, 吉林 长春 130063)

熊胆为中医药瑰宝, 自古以来被视为中医药圣药, 雄居各胆之首, 为名贵中药。来源于熊科动物黑熊 *Selenarctos thibetanus* Cuvier, 棕熊 *Ursus arctos* L. 的干燥胆或黑熊引流之胆汁(其干燥物称熊胆粉)^[1]。熊胆具有清热, 平肝, 明目之功效, 临床用于惊风抽搐, 咽喉肿痛。文献报道, 熊胆的主要化学成分为牛磺熊去氧胆酸(TUDCA)、牛磺鹅去氧胆酸(TCDCA)、牛磺胆酸(TCA)、少量的熊去氧胆酸(UDCA)、鹅去氧胆酸(CDCA)、胆酸(CA)、去氧胆酸(DCA)、胆固醇(CS)、胆红素, 以及各种氨基酸和微量的无机元素, 其中 TUDCA 的量最高, 是熊胆的特有成分^[2]。现代药理研究证实熊胆具有保肝利胆、溶解胆石、镇静、抗惊厥、解痉, 抗炎、抑菌、解热, 临床上广泛用于眼科、五官科、消化科、神经科^[3]。天然熊胆来源有限, 其中有两个品种是国家中药二级保护野生药材物种; 虽然引流熊胆可避免杀熊取胆, 但对通过手术长期把导管植入熊的体内抽取胆汁的做法越来越不被公众所接受, 因此, 寻找天然熊胆的代用品成为必然。本研究室利用廉价的畜禽胆汁为原料, 人工合成熊胆粉。该制品在外观颜色、气味、鉴别特征、理化性质、化学成分、含量及比例, 以及药理药效等技术指标都达到了天然熊胆粉的水平。为了深入研究合成品与天然品的区别, 本实验探讨了人工合成熊胆粉和天然熊胆粉的红外吸收光谱特征, 以期获得二者的区别, 为人工合成熊胆粉的质量控制以及鉴定标准提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料: 天然熊胆粉(四川省资阳黑熊养殖厂提供); 人工合成熊胆粉(吉林大学药学院天然药物化

学教研室研制)。

1.2 实验仪器: 330FT-IR 傅里叶变换红外光谱仪, 美国 Nicolet。实验扫描次数为 32 次, 分辨率为 4 cm^{-1} , 扫描范围为 $4\ 000\sim 400\text{ cm}^{-1}$ 。

1.3 样品处理: 将天然熊胆粉在红外灯下烘干 0.5 h, 研细, 取约 1 mg, 精密称定, 加溴化钾约 100 mg, 研细、压片, 于傅里叶变换红外光谱仪上绘制红外吸收光谱图。同法测定人工合成熊胆粉及 TUDCA 的红外吸收光谱图。

2 结果与分析

由图 1 可见, 人工合成熊胆粉、天然熊胆粉和 TUDCA 的红外吸收光谱图在 $4\ 000\sim 1\ 800\text{ cm}^{-1}$, $1\ 333\sim 800\text{ cm}^{-1}$, $700\sim 400\text{ cm}^{-1}$ 谱图基本一致, 3 者的区别仅在 $1\ 648$ 、 $1\ 554$ 、 $1\ 407$ 、 740 cm^{-1} 等 4 个吸收峰的峰强。具体差别在于: (1) 天然熊胆粉的 $1\ 648$ 与 $1\ 554\text{ cm}^{-1}$ 的峰强相等; 而人工合成熊胆粉的 $1\ 548\text{ cm}^{-1}$ 峰强弱于 $1\ 648\text{ cm}^{-1}$, 二者峰高比约为 $1:2$; TUDCA 的 $1\ 548\text{ cm}^{-1}$ 峰强弱于 $1\ 648\text{ cm}^{-1}$, 二者峰高比约为 $1:1.5$ 。(2) 天然熊胆粉的 $1\ 455$ 、 $1\ 407$ 、 $1\ 377\text{ cm}^{-1}$ 等 3 个峰的峰强呈递减趋势; 而人工合成熊胆粉和 TUDCA, 在峰形上无上述趋势。(3) 天然熊胆粉的 740 cm^{-1} 为一尖峰; 而人工合成熊胆粉和 TUDCA 在 740 cm^{-1} 处为一小峰, 峰强很弱。

红外谱图具体分析如下: (1) $1\ 554\text{ cm}^{-1}$ 强峰为氨基酸中 COO^- 的不对称伸缩振动峰; $1\ 407\text{ cm}^{-1}$ 中等强度峰为氨基酸中 COO^- 的对称伸缩振动峰^[4]。天然熊胆粉的 $1\ 554$ 、 $1\ 407\text{ cm}^{-1}$ 峰强明显大于人工合成熊胆粉, 推测人工合成熊胆粉中氨基酸

* 收稿日期: 2008-08-26

基金项目: 国家科技部星火计划

作者简介: 李政(1966-), 男, 吉林省德惠市人, 主要从事红外光谱测定研究。

* 通讯作者 尹建元 Tel: 13943178128 Fax: (0431)5912878 E-mail: yinjianyuan@tom.com