

蚕沙中叶绿素 a 降解过程的化学研究[△]

第二军医大学药学院(上海 200433) 姚建忠* 许德余 陈文晖 刘建飞 董建春**

摘要 报道以家蚕粪叶绿素初提物为原料,经酸、碱降解反应制备叶绿素 a 稳定降解产物脱镁叶绿酸 a(I)、紫红素-18(II)、二氢卟吩 P₆-6、γ-二甲酯(V)、二氢卟吩 e₆(IV)和二氢卟吩 e₄(VII)的方法,其中 V、VII 的 UV、IR 和¹HNMR 及 FABMS 谱数据系首次报道。

关键词 蚕沙 叶绿素 a 降解 紫红素-18 二氢卟吩

蚕沙(家蚕粪)是蚕业的主要副产物之一。在我国,每年约有一百万吨的蚕粪干物可供利用,其中,叶绿素含量占蚕粪干物的 1% 左右,是一种丰富廉价的叶绿素资源。已知从植物绿色部位分离出来的叶绿素有 a, b, c, d 等 10 种,其中,叶绿素 a 的含量最高,而蚕沙中占叶绿素总量 75% 以上的是叶绿素 a。叶绿素 a 本身对光、热、酸、碱、酶等理化因素极不稳定而影响了在医药上的直接应用,但其降解产物如脱镁叶绿酸 a、焦脱镁叶绿酸 a、紫红素-18、二氢卟吩 P₆、二氢卟吩 e₆、二氢卟吩 e₄ 等则相对比较稳定。实验证明,叶绿素衍生物具有促进创口愈合、抗溃疡、抗肿瘤、抗微生物、抗补体、抗诱变防癌、保肝、抗贫血等多方面生物活性^[1]。因此,研究阐明蚕沙中叶绿素 a 降解过程的化学,提供规模制备叶绿素 a 稳定降解产物的方法,不仅在理论上充实蚕桑科学,亦属我国蚕业科学和发展叶绿素医药应用中急待解决的新课题。

作者以我国特有的家蚕粪叶绿素初提物(蚕沙粗品叶绿素)为原料,经酸降解反应得到叶绿素 a 的稳定降解产物脱镁叶绿酸 a 和焦脱镁叶绿酸 a,初步阐明了脱镁叶绿酸 a 进一步碱降解为二氢卟吩 e₆、二氢卟吩 e₄、紫红素-18 及二氢卟吩 P₆ 的化学过程(图 1),

并提供了它们的规模制备工艺,为蚕沙的综合利用及发展叶绿素稳定降解产物及其衍生物的药物化学研究提供可行依据。

1 仪器与试剂

蚕沙粗品叶绿素由浙江省海宁市天然色素厂提供。柱层析用硅胶 H(60 型)由中国青岛海洋化工集团公司出品。实验所用其它试剂均为分析纯。测定 HPLC 用 Waters-600 型高效液相仪(美国),分离柱:ZORBAX ODS 柱(0.46 cm×25 cm),流动相:60% THF 水溶液+10%0.2 mol/L HAc-NaAc 缓冲液流速:1 mL/min,检测波长:410 or 400 nm,柱温:(20±1)℃,柱压:22 080×10³~22 440×10³ Pa。灵敏度:0.1 AUFS。测定¹HNMR 用 MSL-300 型核磁共振谱仪(德国, Bruker)。测定 FAB-MS 用 4510-GC-MS-DS 质谱仪(美国, Finnigan MAT)。测定 UV 用 UV-160A 紫外分光光度计(日本岛津)。测定 IR 用 270-50 型红外分光光度计(日本, 日立), KBr 压片。

2 叶绿素 a 降解产物的制备、分离与鉴定

2.1 脱镁叶绿酸 a(I):蚕沙粗品叶绿素(200 g),溶于乙醚(500 mL),加入 36% 盐酸(1 000 mL)。于 4℃ 反应 1 h,静置 1 h,分取下层酸液,加水(1 000 mL)稀释,用 10 mol/

* Address: Yao Jianzhong, College of Pharmacy, The Second Military University, Shanghai

姚建忠 男 34 岁,硕士,助理研究员。1987 年 7 月毕业于第二军医大学药学院,获学士学位。1993 年 7 月在第二军医大学获天然药物化学专业硕士学位。现在第二军医大学药学院药物化学教研室工作,主要从事四吡咯药物化学的研究,在这一研究方向,参加了 1 项国家自然科学基金资助项目的研究工作。

** 吉林省白城市解放军 321 医院(白城 137000)

△国家自然科学基金资助项目 No39522003

L NaOH 中和至 pH5~6, 过滤, 干燥, 得粗品 (35 g), HPLC 分析显示其含以 I (55%) 为主 的 3 种组分, 与文献^[2]报道一致, 硅胶柱色

谱分离得黑色粉末 I (4.25 g, 22.1%), 纯度 (HPLC) 95%。UV、IR、¹HNMR、MS 数据与文献^[3,6]一致。

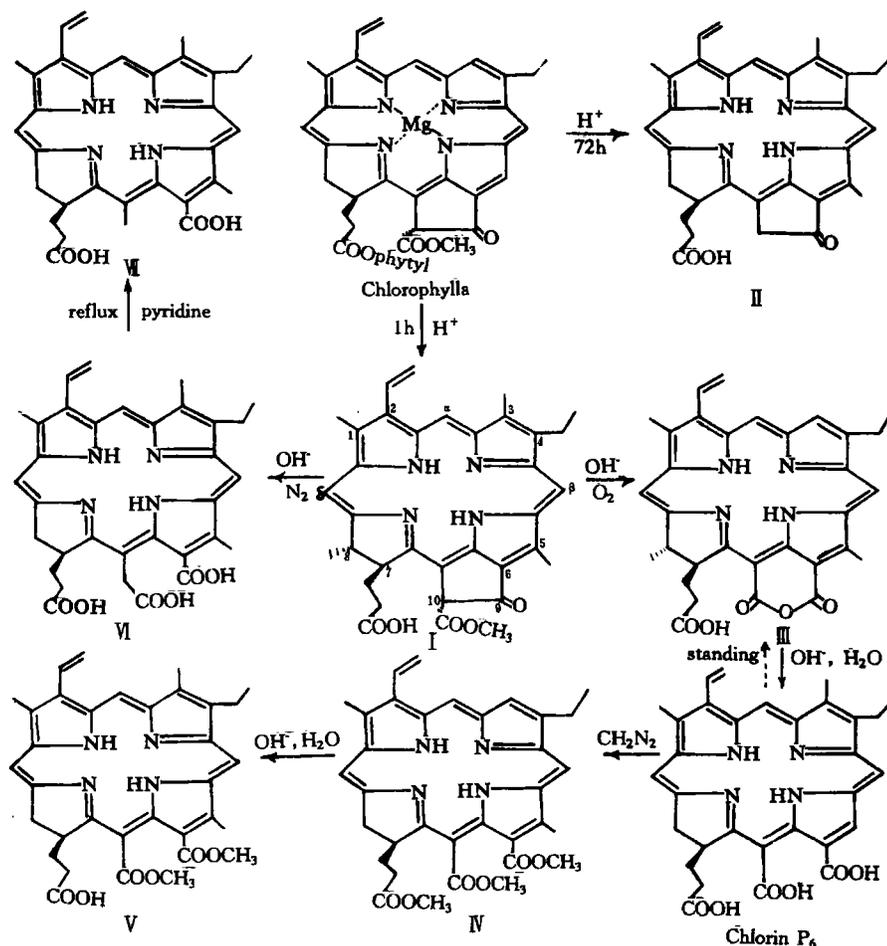


图 1 叶绿素 a 的降解反应

2.2 焦脱镁叶绿酸 a (I): 蚕沙粗品叶绿素 (200 g), 溶于乙醚 (500 mL), 加入 36% 盐酸 1 000 mL, 搅拌反应至 HPLC 检测脱镁叶绿酸 a 峰基本消失, 静置 1 h, 分取下层酸液, 加水 1 000 mL 稀释, 用 10 mol/L NaOH 中和至 pH5~6, 过滤, 干燥, 得粗品 40 g, 硅胶柱色谱分离得黑色粉末 I (9.6 g, 24%), 纯度 I (HPLC) 99%。UV、¹HNMR、MS 数据与文献^[4]一致。

2.3 紫红素-18 (III): I 粗品 (15 g, 13.94 mmol), 溶于 THF (50 mL), 加乙醚 500 mL, 再加 25% KOH-正丙醇溶液 30 mL, 通 O₂ 反应 2 h。加水 500 mL, 分取下层碱液, 用 10%

硫酸中和至 pH2~3, 过滤, 干燥, 得粗品 13.5 g, 硅胶柱色谱分离得黑色粉末 III (3.4 g, 43.2%)。纯度 (HPLC) 99%。IR_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3 350 (OH), 2 950~2 850, 1 760 (C=O), 1 720 (C=O), 1 600 (C=O), 1 520 (chlorin skeleton), 1 400, 1 300, 1 060。MS (FAB) m/z: 566 (M+H+1)⁺, 565 (M+H-1)⁺, 492 (M+H-CH₂CH₂COOH)⁺。UV、¹HNMR 数据与紫红素-18 甲酯的文献^[5]值基本一致。

2.4 二氢卟吩 P₆ 三甲酯 (IV): III (2 g, 3.55 mmol), 溶于 THF 50 mL, 加甲醇 200 mL, 再加 20% NaOH 水溶液 250 mL, 搅拌反应至 698 nm 处吸收峰消失, 加水 500 mL, 用 10%

硫酸中和至 pH5~6, 乙醚萃取(200 mL × 3), 无水 Na₂SO₄ 干燥。醚液在冰盐浴上加入过量新配制的 CH₂N₂ 反应 5 min, 滴加醋酸除去过剩的 CH₂N₂, 回收溶剂, 干燥, 硅胶柱色谱分离得黑色粉末 V (1.8 g, 81.3%), 纯度(HPLC)99%。UV、¹HNMR、MS 与文献^[5]值一致。

2.5 二氢卟吩 P₆-6, γ-二甲酯(V): V (1 g, 1.60 mmol), 溶于 THF 50 mL, 加甲醇 200 mL, 再加 2% NaOH 水溶液 250 mL, 回流 0.5 h, 加水 500 mL, 用 10% 硫酸中和至 pH5~6, 过滤, 干燥, 硅胶柱色谱分离得黑色粉末 V (0.88 g, 90.0%), 纯度(HPLC)98%。UVλ_{max} nm: 671, 615, 530, 490, 400 (THF)。IRν_{max} cm⁻¹: 3 310(OH), 2 950~2 850, 1 720 (C=O), 1 600(C=C), 1 500(chlorin skeleton), 1 440, 1 260, 1 080。¹HNMR(CDCl₃)δ: 9.70(1 H, s, β-H), 9.49(1 H, s, α-H), 8.65(1 H, s, δ-H), 7.98(1 H, dd, J=17.8 Hz, C_{2a}-H_x), 6.31(1 H, d, J=17.8 Hz, C_{2b}-H_B), 6.14(1 H, d, J=11.5 Hz, C_{2b}-H_A), 5.16(1 H, m, C₇-H), 4.40(1 H, q, J=7.2 Hz, C₈-H), 4.20(3 H, s, C₆-OMe), 4.13(3 H, s, r-OMe), 3.73(2 H, d, J=7.5 Hz, C_{4a}-CH₂), 3.64(3 H, s, C₅-Me), 3.39(3 H, s, C₁-Me), 3.25(3 H, s, C₃-Me), 2.40~2.20(4 H, m, C₇-CH₂CH₂), 1.84(3 H, d, J=7.2 Hz, C₈-Me), 1.69(3 H, t, J=7.5 Hz, C_{4b}-Me), 1.0(2 H, brs, 环内 NH×2)。MS(FAB)m/z: 612 (M+H+1)⁺, 611(M+H)⁺, 610(M+H-1)⁺, 580(M+H-OMe)⁺, 552(M+H-COOMe)⁺, 538(M+H+CH₂CH₂-COOH)⁺。

2.6 二氢卟吩 e₆(VI): I 粗品(15 g, 13.94 mmol), 溶于吡啶 50 mL, 加 25% KOH 溶液 500 mL, 通 N₂ 反应 30 min, 加水 1 000 mL, 用 10% 硫酸中和至 pH5~6, 过滤, 干燥, 硅胶柱色谱分离得黑色粉末 VI (4.5 g, 54.2%), 纯度(HPLC)95%。IRν_{max} cm⁻¹: 3 440(OH), 2 970~2 880, 1 710(C=O),

1 600(C=C), 1 500(chlorin skeleton), 1 440, 1 215, 1 060, 985。MS(FAB)m/z: 598 (M+H+1)⁺, 597(M+H)⁺, 596(M+H-1)⁺, 553(M+H+CO₂)⁺。UV、¹HNMR 光谱数据与二氢卟吩 e₆ 的文献^[6]值基本一致。

2.7 二氢卟吩 e₄(VII): VI (2 g, 3.36 mmol), 溶于吡啶 50 mL, 回流 25 min, 减压蒸除吡啶, 所得粗品干燥后经硅胶柱色谱分离得黑色粉末 VII (1.56 g, 84.2%), 纯度(HPLC)98%。UVλ_{max} nm: 665, 608, 530, 501, 401 (THF)。IRν_{max} cm⁻¹: 3 450(OH), 2 950~2 870, 1 700(C=O), 1 600(C=C), 1 510(chlorin skeleton), 1 440, 1 210, 1 050, 985。¹HNMR(CDCl₃)δ: 9.81(1 H, s, β-H), 9.67(1 H, s, α-H), 8.94(1 H, s, δ-H), 8.04(1 H, dd, J=17.9, 11.5 Hz, C_{2a}-H_x), 6.33(1 H, d, J=17.9 Hz, C_{2b}-H_B), 6.19(1 H, d, J=11.5 Hz, C_{2b}-H_A), 4.72(1 H, m, C₇-H), 4.56(1 H, q, J=7.2 Hz, C₈-H), 4.10(3 H, s, r-Me), 3.77(2 H, q, J=7.5 Hz, C_{4a}-CH₂), 3.67(3 H, s, C₅-Me), 3.50(3 H, s, C₁-Me), 3.32(3 H, s, C₃-Me), 2.50~2.20(4 H, m, C₇-CH₂CH₂), 1.79(3 H, d, J=7.2 Hz, C₈-Me), 1.67(3 H, t, C_{4b}-Me)。MS(FAB)m/z: 554(M+H+1)⁺, 553(M+H)⁺, 552(M+H+1)⁺, 509(M+H-CO₂)⁺, 480(M+H-CH₂CH₂COOH)⁺, 307(chlorin skeleton)。

3 总结与讨论

3.1 与国外文献报道以蔬菜叶及绿色藻类等为原料制备叶绿素及其降解产物不同。本文研究提供了从蚕沙粗品叶绿素制备叶绿素 a 稳定降解产物的方法。它具有成品收率高、原料廉价易得、操作简单便于扩大制备规模等特点, 为蚕沙的资源开发和发展蚕沙叶绿素的医药应用研究提供可行依据。

3.2 焦脱镁叶绿酸 a(II) 的制备, 文献^[7]报道以脱镁叶绿酸 a(I) 在可力丁(collidine) 中通 N₂ 回流反应 1.5 h 来合成的。作者在考察蚕沙粗品叶绿素经浓盐酸降解为脱镁叶绿酸 a 的反应时, 发现焦脱镁叶绿酸 a 的量随

反应时间的及温度的升高而增加,当在室温条件下搅拌反应 72 h,可全部生成焦脱镁叶绿酸 a。因此,本实验研究提供了一条以蚕沙粗品叶绿素为原料,经浓盐酸降解一步反应制备焦脱镁叶绿酸 a 的新合成途径。

致谢:样品的 FAB-MS 谱由中国科学院上海有机化学研究所傅桂香研究员测定;¹H-NMR 谱由复旦大学分析测试中心吴泰流老师测定;IR 谱由本校药学院分析测试中心王勇测定;UV 谱本所仪器室测定。

参 考 文 献

- 1 胡龙勤,等. 国外药学-合成药、生化药、制剂分册,1987,8(3):146
- 2 胡龙勤,等. 医药工业,1988,19(4):157
- 3 Hynnien P H, *et al.* Synthesis,1980,46(7):539
- 4 Wasielewski M R, *et al.* J Org Chem,1980,45:1969
- 5 Lee S J H, *et al.* J Chem Soc Perkin Trans I,1993:2369
- 6 方 瑛,等. 有机化学,1995,15(5):493
- 7 Smith M, *et al.* J Am Chem Soc, 1985,107:4946

(1998-11-05 收稿)

大叶买麻藤化学成分研究[△]

中国协和医科大学 药物研究所(北京 100050) 陈 浩* 林 茂**
中国医学科学院

摘 要 从大叶买麻藤 *Gnetum montanum* 藤茎中分得 10 个已知化合物。经理化常数和光谱分析鉴定为异丹叶大黄素(isorhapontigenin, I),白藜芦醇(resveratrol, II),胡萝卜苷(daucosterol, III), β -谷甾醇(β -sitosterol, IV),硬脂酸(stearic acid, V),买麻藤戊素(gnetifolin E, VI),买麻藤醇(gnetol, VII),异丹叶大黄素-3-O- β -D-葡萄糖苷(isorhapontigenin-3-O- β -D-glucopyranoside, VIII),(-) ϵ -viniferin(IX),买麻藤丙素(gnetifolin C, X)。化合物 V 首次从买麻藤属植物中分得。

关键词 大叶买麻藤 藤茎 二苯乙烯

大叶买麻藤主要分布于我国云南南部,广东等省及东南亚地区^[1],在民间与小叶买麻藤混用,治疗风湿性关节炎,腰肌劳损,筋骨酸软,跌打损伤,溃疡出血,支气管炎等疾病^[2]。经药理动物试验证实大叶买麻藤乙醇提取物对大鼠蛋清性及酵母性关节炎有明显抗炎作用。为了阐明其活性成分,为此进行了化学成分研究。

有关大叶买麻藤化学成分研究,云南大学周建波等^[3]从其水溶性部分得到 6 个化合物,它们分别是:2-羟基-3-甲氧基-4-甲氧羰基吡咯,2-羟基-3-甲氧基-4-甲氧羰基吡咯,3,4-二羟基-4-甲氧基二苄醚,2,3-二苯基

吡咯和胺甲基甲醇。

作者从云南西双版纳产大叶买麻藤藤茎的 60%乙醇提取物中得到 15 个单体,其中 5 个结构正待鉴定。本文报到结构已鉴定清楚的 10 个化合物。

大叶买麻藤藤茎的 60%乙醇提取物,经过 80%乙醇沉淀和 50%丙酮沉淀除去杂质后,溶解部分经聚酰胺柱层析,硅胶常压,低压柱层析,反相低压,中压、高压柱层析,并结合制备薄层层析等手段,得到 15 个化合物,通过各种光谱、生源推测及化学手段鉴定为:异丹叶大黄素(isorhapontigenin, I),白藜芦醇(resveratrol, II),胡萝卜苷(daucos-

* Address: Chen Hao, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing

** 通讯联系人

[△]国家自然科学基金资助项目 NO39570836