

尖海龙的化学成分研究[△]

中国药科大学(南京 210038)

日本富山医科药科大学和汉药研究所

张朝晖* 徐国钧 徐珞珊 王 强

难波恒雄 门田重利

摘 要 从尖海龙中分得 18 个化合物,16 个为首次从该动物中分得,其中 11 个为甾体化合物,cholestane-3,6-dione、cholesta-4-ene-3 β ,6 β -diol 系首次分得的天然产物。2-hydroxy-4-methoxy-acetophenone 为首次从动物药中分得的天然产物。

关键词 海洋药物 尖海龙 甾体类化合物

海龙为常用中药材,具温肾助阳、散结消肿之功效。尖海龙 *Syngnathus acus* L. 为《中国药典》收载品种,亦是我国广布种,产量较大。余竟光等^[1]曾报道了从产于青岛的尖海龙中分得胆甾醇、胆甾-4 烯-3-酮及微量的 N-苯基- β -萘胺等成分,其中 N-苯基- β -萘胺具致癌作用。为了保证用药安全有效,并进一步对其进行品质评价、合理开发药源,我们再次对青岛产尖海龙进行了化学成分研究。

尖海龙药材经乙醇提取后,用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇分别萃取,从石油醚部分中分得 18 个化合物,16 个为首次从该动物中分得,其中 11 个为甾体化合物,cholestane-3,6-dione、cholesta-4-ene-3 β ,6 β -diol 系首次分得的天然产物。2-hydroxy-4-methoxy-acetophenone 为首次从动物药中分得的天然产物。

1 仪器与材料

Yanagimoto 熔点测定仪(Yanagimoto Co., Kyoto, Japan),未校正。Perkin-Elmer 983 IR-400 型红外测定仪, KBr 压片。JEOL GX-400 核磁共振仪, TMS 为内标, HMBC 等谱图数据由 JEOL 软件处理。EI-MS 测定使用 JEOL-JMSD300 质谱仪;柱层

析硅胶 Wako gel200,400(Wako Pure Chem. Co., Osaka, Japan)。

尖海龙药材 1995 年 8 月购自青岛药材采购供应站,经鉴定无误。标本现存于中国药科大学标本馆。

2 提取与分离

尖海龙药材 14 kg,用 95%乙醇回流提取 3 次,每次 2 h,合并提取液,回收乙醇得干浸膏 1.2 kg,将浸膏分别用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取,得石油醚部分 650 g,醋酸乙酯部分 63 g,正丁醇部分 156 g。将石油醚部分(600 g)经硅胶柱层析, n-Hex.-EtOAc 梯度洗脱,经 TLC 检识,合并为 A、B、C、D、E、F 共 6 个部分,每一部分分别进行硅胶柱层析和制备薄层层析,共分得 18 个化合物。

3 结构鉴定

化合物 I、II、XII 和 XIII,这 4 个化合物 ¹H, ¹³CNMR 与胆甾醇类似,唯有 C₃-H 的化学位移向低场移至约 4.6 ppm 处, ¹³CNMR 谱在 173 ppm 处示有羰基(酯)存在,故推测该类化合物为胆甾醇酯。其中 I 为饱和脂肪酸酯, II 为不饱和脂肪酸酯。取 I、II 各 4 mg,分别用 2%NaOMe-MeOH(3 mL)溶解, 70℃回流 30 min,减压回收溶媒,稀盐酸调 pH

* Address: Zhang Zhaohui, China Pharmaceutical University, Nanjing

张朝晖 男,副教授。1984 年毕业于第二军医大学药系,1996 年毕业于中国药科大学中药学院,获理学博士学位。现为海军医学高等专科学校生药教研室主任、中国药学会海洋药物专业委员会委员、中华航海医学会海洋生物工程专业委员会委员、江苏省药学会理事。近年来发表学术论文 20 篇。现主要从事海洋生药学研究。现在工作单位:南京海军医学高等专科学校。

[△] 国家自然科学基金资助项目, No. 39370836

至酸性,乙醚萃取,乙醚层浓缩至一定体积后,经 GC-MS 分析,确定 I 为胆甾醇硬脂酸酯,II 为胆甾醇油酸酯。

化合物 XI 直接采用 GC-MS 分析,确定 XI 为胆甾醇苯甲酸酯;XII 尚待进一步鉴定结构。

化合物 III:白色粉末,mp 31 °C~32 °C,IR: 1 740 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$), ^1H NMR δ ppm: 3.50 (3 H, s, $-\text{OCH}_3$), EI-MS m/z : 284 (M^+)。III 为十七酸甲酯。

化合物 IV:白色片状结晶,mp 50 °C~51 °C,IR、EI-MS 数据与十八碳酸文献^[1]记载完全一致,确证 IV 为十八碳酸。

化合物 V:黄色羽毛状结晶,mp 196 °C~197 °C(甲醇),IR、 ^1H NMR、EI-MS 数据与文献^[2]一致,故确证 V 为大黄酚。

化合物 VI:无色针状结晶,mp 64 °C~65 °C(正己烷-醋酸乙酯)。IR: 3 200 cm^{-1} 处为宽峰,示有羟基存在;950 cm^{-1} 、860 cm^{-1} 、820 cm^{-1} 、700 cm^{-1} 处有强峰,亦有苯环。 ^1H NMR δ ppm: 7.6 (1 H, d, $J=9.0$ Hz), 6.21 (1 H, dd, $J=9.0$ Hz), 6.16 (1 H, d, $J=2.5$ Hz) 为 3 个苯环上的氢, 3.9 (3 H, s) 为与苯环相连的 $-\text{OCH}_3$ 吸收峰, 2.25 为 COCH_3 吸收峰, 12.75 为酚羟基。 ^{13}C NMR δ ppm: 205 (连接在苯环上的羰基), 100.8, 107.2, 113.8, 132.0, 165.0, 166.1 (苯环碳)。EIMS m/z : 166 (M^+), 151 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3$)。根据 $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ COSY、 $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ 长距离 COSY 可推测该化合物为 2-羟基-4-甲氧基-苯乙酮,该化合物系首次从动物药中分得的天然产物。

化合物 VII:无色柱状结晶,76 °C~78 °C(正己烷-醋酸乙酯),TLC 层析,喷 10% H_2SO_4 ,加热后显棕红色。Liebermann-Burchard 反应阳性,说明为甾体类化合物。经与已知化合物胆甾-4-烯-3-酮比较,其 ^1H , ^{13}C NMR 光谱数据一致^[3]。

化合物 VIII:白色片状结晶,mp 54 °C,IR、EI-MS 数据与十四碳酸文献^[4]记载完全一致,故确证 VIII 为十四碳酸。

化合物 IX:无色针状结晶,mp 173 °C~174 °C(甲醇)。TLC 层析,喷 10% H_2SO_4 ,加热后显棕红色。Liebermann-Burchard 反应阳性,说明为甾体类化合物。 ^1H , ^{13}C NMR, IR、EI-MS 数据与文献^[5]记载的雄甾-4-烯-3,17-二酮一致。

化合物 X:无色针状结晶,mp 148 °C~149 °C(甲醇)。TLC 层析,喷 10% H_2SO_4 ,加热后显红色。Liebermann-Burchard 反应阳性,说明为甾体类化合物。EI-MS, ^1H NMR 数据与文献^[3]对照,确认该化合物为胆甾醇。

化合物 XI:无色针状结晶,mp 174 °C~176 °C(甲醇)。TLC 层析,10% H_2SO_4 显色,加热后显棕红色。Liebermann-Burchard 反应阳性,说明为甾体类化合物。EI-MS 示分子离子峰为 400。IR 显示在 1 720 cm^{-1} 处有羰基吸收峰, ^{13}C -NMR 谱中 209.1 ppm、211.0 ppm 处的两个信号为饱和环己酮上的两个羰基碳。根据 $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY 谱,5-H (δ 2.6 ppm) 与 4 α 、4 β (δ 2.0 ppm, 2.3 ppm) 偶合外,与 7 α (δ 2.0 ppm) 有微弱的偶合,这是由于空间效应造成的,因而可推断与 5-H 除与 4 α 、4 β 偶合外无其它偶合,说明 6 位为 $\text{C}=\text{O}$ ^[6]。故 XI 为胆甾-3,6-二酮。该化合物为首次分得的天然产物,Tosio G 等^[7]报道于 1962 年合成了此化合物。

化合物 XIV:无色针状结晶,mp 169 °C~170 °C(甲醇)。TLC 层析,喷 10% H_2SO_4 ,加热后显深蓝色。Liebermann-Burchard 反应阳性,说明为甾体类化合物。根据与已知化合物胆甾-5-烯-3 β ,7 α -二醇比较,其 ^1H , ^{13}C NMR 光谱数据完全一致^[8]。

化合物 XV:无色针状结晶(MeOH),mp 229 °C~230 °C,TLC 层析,喷 10% H_2SO_4 ,加热后显棕红色。Liebermann-Burchard 反应阳性,说明为甾体类化合物。IR 显示出 3 400 cm^{-1} 处有羟基吸收,1 660、842 cm^{-1} 为三取代双键吸收峰。EI-MS 提供 m/z 384 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 366 ($\text{M}^+ - 2\text{H}_2\text{O}$), 351 ($\text{M}^+ - 2\text{H}_2\text{O} - \text{CH}_3$), 271 ($\text{M}^+ - \text{SC} - \text{H}_2\text{O}$) 229 (M^+

—SC—H₂O—42)离子,符合典型的甾体化合物的裂解规律^[9]。¹³C-NMR 谱中 74.9、68.1 两个峰结合 IR,说明有 2 个与羟基相连的碳。从 m/z 111 可推测其中一个在 A 环^[10]。¹H-NMR 中 C₁₉-Me 为 1.23 ppm (3 H, s),推测在甾核的 2β、4β、6β 3 个位置上有一 OH 必定处于 C₁₉-Me 的 1,3 双竖键位置,故 C₆ 位有-βOH^[11]。2 个连氧碳上的 H 分别为 4.21 ppm (1 H, br. s)、4.15 ppm (1 H, m),说明两者邻位必有强吸电子基团或共轭双键,故其不饱和双键位于 C₄ 位。通过与已知化合物 3β,6β-二羟基-豆甾-4 烯比较,其母核的¹H-NMR、¹³C-NMR 数据基本一致,故推定 XV 为胆甾-4-烯-3β,6β-二醇。该化合物为首次分得的天然产物, Uenser E. 于 1969 年报道合成了此化合物^[12]。

化合物 XVI: 白色片状结晶,¹H-NMR δppm: 3.70 (2 H, m),¹³C-NMR δppm: 63.11 (连氧碳), XVI 为一高级醇。

化合物 XVII: 无色针状结晶 (MeOH), mp 167 °C~168 °C, TLC 层析, 喷 10% H₂SO₄, 加热后显棕红色。Liebermann-Burchard 反应阳性,说明为甾体类化合物。IR: 在 3 300 cm⁻¹ 处有一宽峰,示有羟基存在。从¹H-NMR 谱可知类似于化合物 IX, 仅有 2 个角甲基,分别为 δ: 0.68 ppm (3 H, s, C₁₈-Me), 0.99 ppm (3 H, s, C₁₉-Me); 3.59 ppm、4.01 ppm 为 2

个羟基碳上的氢,根据生源可推测-OH 在 C₃、C₁₇ 位,故 3.59 ppm、4.01 ppm 分别为 C₃-H 和 C₁₇-H。EI-MS: 294 (M⁺, 10.4), 274 (M⁺-H₂O, 100), 256 (M⁺-2H₂O, 61.7)。XVII 为雄甾-3β,17β-二醇。

化合物 XVIII: 白色粉末, mp 250 °C~253 °C, IR: 在 3 260 cm⁻¹ 处为一宽峰,示有羟基存在, 1 640 cm⁻¹ 为 α, β 不饱和羰基吸收峰。¹H、¹³C-NMR 示有多双键及 2 个羟基, XVIII 为多烯不饱和脂肪酸。

参考文献

- 1 Simons willam Wj. The Sadtler standard ¹³C-NMR spectra, phila sadtler illas, 4606
- 2 Dass A, et al. phytochem, 1984; 23: 2689
- 3 余竟光, 等. 海洋药物, 1984; (1): 10
- 4 The wiley/NBS Registry of mass spectral data, Volume 2, 1592-1-1
- 5 龚运淮. 天然有机化合物的¹³C 核磁共振化学位移. 昆明, 云南科技出版社, 1986: 222
- 6 Prakash O M, et al. J Nat prod, 1989; 52(4): 686
- 7 Goto Toshio et al. Nippon Kagaku Zasshi, 1962; 83: 1236
- 8 杨秀伟, 等. 中草药, 1994; 25(5): 229
- 9 丛浦珠. 质谱学在天然有机化学中心的应用. 北京: 科学出版社, 1987: 252
- 10 Sarita G, et al. phytochem, 1992; 23(7): 2558
- 11 蔡 雄, 等. 中草药, 1987; 18(12): 2
- 12 Uenser E. Sci Tech Aerosp Rep, 1969; 7(12): 2060

(1997-01-20 收稿)

新 书 介 绍

近期由辽宁科技出版社出版的《中草药及其制剂质量分析方法》新书, 系统介绍了中草药及其制剂分析中的常用方法, 包括高效液相色谱法、气相色谱法、薄层扫描法等, 并对这些方法的基本原理、操作条件、定性和定量分析的程度进行了详细的论述。各论介绍了 200 种单味药及其制剂的含量测定方法, 是从事中医中药科研、生产、临床特别是开发的工作人员较好的一本工具参考书。

本书作者赵余庆, 男, 40 岁, 现任辽宁中医学院教授, 《中草药》杂志副主任编委。从事天然药物研究近 20 年, 在国内外刊物上发表学术论文 50 余篇, 出版专著 3 部。该书是作者结合本人多年研究经验编写而成。

本书分精装和简装两种。精装定价 26.00 元, 简装定价 19.80 元, 另加邮费 5 元, 欲购者请将书款寄至: 110003 沈阳市和平区文化路 41 号沈阳飞龙保健品有限公司科技发展中心 王月敏收, 款到即寄书。