

海燕化学成分研究

任连杰, 果德安*

(北京大学药学院 中医药现代研究中心, 北京 100083)

海洋生物具有广泛的生物多样性。为了从我国丰富的海洋生物资源中寻找具有新颖结构和显著生理活性的次生代谢产物, 探讨我国北部海域海洋生物中次生代谢产物的化学结构特征, 我们对产自青岛海域的海燕进行了化学成分研究。海燕 *Asterina pectinifera* 是棘皮动物门海星纲海燕科动物, 是我国北部海域常见的海星品种^[1]。我们从其 95% 乙醇提取物的正丁醇部位中分离鉴定 12 个化合物, 分别为 astero saponin P₁ (I), pectinioside A (II), L-色氨酸(III), L-苯丙氨酸(IV), 对羟基苯甲酸(V), 对羟基苯乙酸(VI), 对羟基苯乙胺(VII), 尿嘧啶核苷(VIII), 尿嘧啶(IX), 胸腺嘧啶脱氧核苷(X), 胸腺嘧啶(XI), 次黄嘌呤核苷(XII)。以上化合物除 I、II 外均为首次报道从海燕中分离得到。

1 材料、仪器及试剂

海燕动物 2000 年 7 月采集于山东青岛附近海域, 由中国水产科学院青岛水产科学研究所王清印研究员鉴定为海燕科动物海燕 *A. pectinifera*, 标本存放在北京大学药学院生物技术室。

XT_{4A} 数字显示双目显微熔点仪(温度未校正), Bruker Avance 500, 核磁共振光谱仪, AEI-MS-50 型(EIMS)和 ZAB-HS 型(FAB-MS) Perkin-Elmer 983 型, KBr 压片, 旋光仪使用 WZZ-1S 数字式自动旋光仪。色谱用硅胶(100-200 目, 200-300 目)为青岛海洋化工厂生产, 所用溶剂为北京化工厂生产的分析纯产品。

2 提取和分离

干燥海燕全体 10 kg, 粉碎, 用 95% 乙醇浸提 3 次, 每次 15 L, 滤过浓缩分别用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇进行萃取。正丁醇部位上 D-101 大孔吸附树脂, 分别用水、30% 乙醇、50% 乙醇、70% 乙醇及 95% 乙醇洗脱。所得各部分进行硅胶柱色谱。30% 乙醇部分经氯仿-甲醇-水梯度(10:1:0~6:4:1)洗脱。经过反复硅胶柱色谱分别得到化合物 X、III、IV、V。50% 乙醇洗脱部分以氯仿-甲醇-水(7:3:0.5)洗脱, 反复硅胶柱色谱得到化合物 I、II、

VI、VII、VIII、IX、XI、XII。

3 结构鉴定

化合物 I: 白色固体, mp 191 ~ 192 °C, $[\alpha]_D^{20}$: + 7.0 (0.97, MeOH), IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3 407, 1 221, FAB-MS 给出准分子量 $m/z = 716 (M^+ + 1 + K)$, 根据碳谱数据 109.6, 81.5, 89.3, 81.7, 69.1, 58.4 和氢谱数据分析有 3 位甲基化的阿拉伯呋喃糖存在, $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) 谱上还显示了甾体母核的特征, 对应的 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱中有 3, 6, 8, 15 位羟基化甾体的结构信号。波谱数据与文献报道的 astero saponin P₁ 一致, $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD) δ 39.6 (C-1), 32.2 (C-2), 72.2 (C-3), 33.1 (C-4), 53.6 (C-5), 67.0 (C-6), 50.2 (C-7), 75.9 (C-8), 57.3 (C-9), 37.8 (C-10), 19.6 (C-11), 42.8 (C-12), 45.5 (C-13), 67.6 (C-14), 69.9 (C-15), 41.8 (C-16), 56.1 (C-17), 15.5 (C-18), 14.2 (C-19), 36.4 (C-20), 18.9 (C-21), 31.8 (C-22), 28.7 (C-23), 84.5 (C-24), 31.4 (C-25), 18.5 (C-26), 18.1 (C-27), 109.1 (C-1), 81.5 (C-2), 89.3 (C-3), 81.7 (C-4), 69.1 (C-5), 58.4 (OMe)。但是文献报道^[2]的化合物是以硫酸酯钠盐形式存在, 我们所得到的化合物经过原子吸收光谱测试证明是以硫酸酯钾盐形式存在。

化合物 II: 白色粉末状固体, Molish 反应阳性, mp 330 °C, $[\alpha]_D^{20} = - 5.5$ (c, 1.0, pyridine), IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3 426 提示有羟基存在, 1 694 cm^{-1} 提示有羰基的存在, 1 244, 1 173 提示可能有含 S 基团存在。TOF-MS 给出准分子离子峰 1 257。根据原子吸收光谱显示有 S、Na 元素的存在。结合碳谱和氢谱给出分子式 $\text{C}_{57}\text{H}_{93}\text{O}_{28}\text{S}^-$ 。在 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱中 δ 107.1, 105.4, 104.8, 103.8, 103.0 以及在 $^1\text{H-NMR}$ (CD_3N) 谱中出现的 5.29 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), 5.02 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), 4.98 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), 4.90 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 4.84 (1H, d, $J = 7.5$ Hz) 表明是糖上的端基碳和端基质子信号, 共有 5 个糖而且是 β 构型的糖。另外 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱和 $^1\text{H-NMR}$ 谱中还出现了 9(11) 位双键, 23 位羰基的甾体结构的特征

信号, 即 δ 145.5, 116.87, 211.8。初步判断是一甾体皂苷并以硫酸酯形式存在, 甾体母核上连有 5 个糖。碳谱中还出现了 9(11) 位双键, 23 位羰基的甾体结构信号。其理化性质和波谱数据与文献报道的 pectinioside A 一致^[3]。对波谱数据进行了归属, $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ 0.86 (3H, d, $J = 3.5$ Hz, H-26), 0.88 (3H, d, $J = 3.5$ Hz, H-27), 0.95 (3H, s, H-18), 1.04 (3H, s, H-19), 1.55 (3H, s, H-21), 1.44, 1.59, 1.63, 1.71 (each 3H, d, $J = 6$ Hz, sugar's Me), 4.84, 4.90, 4.93, 5.01, 5.29 (each 1H, d, $J = 7.5$ Hz, 5 anomeric H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD): 36.0 (C-1), 29.5 (C-2), 78.5 (C-3), 30.8 (C-4), 49.2 (C-5), 80.9 (C-6), 41.7 (C-7), 35.4 (C-8), 145.5 (C-9), 38.3 (C-10), 116.8 (C-11), 42.5 (C-12), 41.7 (C-13), 54.1 (C-14), 23.5 (C-15), 25.2 (C-16), 59.7 (C-17), 13.6 (C-18), 19.3 (C-19), 73.8 (C-20), 27.1 (C-21), 54.9 (C-22), 211.8 (C-23), 54.1 (C-24), 24.4 (C-25), 22.7 (C-26), 22.6 (C-27), 104.8 (Qui I-C-1), 91.2 (Qui I-C-3), 74.7 (Qui I-C-4), 72.6 (Qui I-C-5), 17.5 (Qui I-C-6), 103.8 (Qui II-C-1), 82.2 (Qui II-C-2), 74.0 (Qui II-C-3), 86.5 (Qui II-C-4), 71.7 (Qui II-C-5), 18.4 (Qui II-C-6), 105.3 (Qui III-C-1), 75.2 (Qui III-C-2), 76.6 (Qui III-C-3), 75.8 (Qui III-C-4), 74.0 (Qui III-C-5), 18.5 (Qui III-C-6), 103.0 (Glu-C-1), 84.4 (Glu-C-2), 76.0 (Glu-C-3), 70.9 (Glu-C-4), 78.4 (Glu-C-5), 62.3 (Glu-C-6), 107.0 (Fuc-C-1), 71.9 (Fuc-C-2), 73.9 (Fuc-C-3), 72.6 (Fuc-C-4), 71.8 (Fuc-C-5), 17.1 (Fuc-C-6)。

化合物 III: 淡黄色固体, mp 288, $[\alpha]_D^{20}$: -32.0 (C₁₀, H₂O), 茛三酮反应显紫色, 化合物 III 的理化性质及 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据均与文献报道^[4,6] 的 L-构型的色氨酸一致。故鉴定化合物 III 为 L-色氨酸。

化合物 IV: 白色固体, mp 283, $[\alpha]_D^{20}$: -38.1 (c_{15.0}, H₂O), 茛三酮反应显紫红色。FAB-MS 给出准分子离子峰 $m/z = 166$ ($\text{M}^+ + 1$), $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据与文献报道的苯丙氨酸一致, 对照旋光确定此化合物为 L-构型的苯丙氨酸^[6]。

化合物 V: 白色针状晶体, mp 213 ~ 214, $^{13}\text{C-NMR}$ 中明显给出苯环对位二取代的特征信号 δ 161.64, 131.58, 121.37, 115.16。结合氢谱推断此化合物为对羟基苯甲酸, 与对照品对照理化性质和 TLC 的 R_f 值一致, 故鉴定化合物 V 为对羟基苯甲酸。

化合物 VI: 白色晶体, EIMS 给出分子离子峰 $m/z = 152$ (M^+), 观察 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$, 发现此化合物较化合物 V 多出 δ 3.27 (2H, s) 和 δ 1.13, 增加一个 -CH₂, 与对羟基苯乙酸对照品对照理化性质和 TLC 的 R_f 值一致, 故鉴定化合物 VI 为对羟基苯乙酸。

化合物 VII: 无色片状晶体, FAB-MS: m/z 138 ($\text{M}^+ + 1$), 结合碳谱和氢谱数据分析, 确定化合物为对羟基苯乙胺, 与对照品对照理化性质和 TLC 的 R_f 值一致。

化合物 VIII: 白色固体, FAB-MS 给出准分子离子峰 $m/z = 245$ ($\text{M}^+ + 1$); 结合 $^1\text{H-NMR}$ (DM SO_d) 和 $^{13}\text{C-NMR}$ (DM SO_d) 谱的分析, 确定分子组成为 C₉H₁₂O₆。其波谱数据和理化性质与文献报道尿嘧啶核苷的一致, 故将化合物 VIII 鉴定为尿嘧啶核苷^[5,6]。

化合物 IX: 白色固体, mp 333 ~ 335, 波谱数据与文献报道的尿嘧啶一致, 经理化性质以及同尿嘧啶对照品共薄层检识分析最终确定化合物 IX 为尿嘧啶。

化合物 X: 白色针状晶体, mp 187 ~ 188, 对照文献发现化合物 X 的 EIMS、TOFMS、 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 以及理化性质均与胸腺嘧啶脱氧核苷一致^[6]。故鉴定此化合物为胸腺嘧啶脱氧核苷。

化合物 XI: 白色粉末, mp 315 ~ 316, $^{13}\text{C-NMR}$ 数据与化合物 IX 对比, 尿嘧啶 C5 上的 101.2 向低场位移了 δ 同时增另一个 δ 11.8 的信号, 这是 5 位取代了一个甲基。与文献报道胸腺嘧啶的波谱数据一致^[6]。化合物 XI 与胸腺嘧啶对照品共薄层 R_f 值也一致。故确定此化合物为胸腺嘧啶。

化合物 XII: 白色粉末, FAB-MS: m/z 269 ($\text{M}^+ + 1$), 结合碳谱和氢谱确定分子式为 C₁₀H₁₂N₄O₅, 其理化性质和 FAB-MS、 $^{13}\text{C-NMR}$ 、 $^1\text{H-NMR}$ 均与文献报道次黄嘌呤核苷一致^[6], 故鉴定化合物 XII 为次黄嘌呤核苷。

References

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1993.
- [2] Higuchi R, Noguchi Y. $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy and biological activities of polyhydroxylated steroids from the starfish *Asterina pectinifera* Müller et Troschel [J]. *Liebigs Ann Chem*, 1988, 1185-1189.
- [3] Noguchi Y, Higuchi R. Steroid oligoglycosides from starfish *Asterina pectinifera* Müller et Troschel. I. Structures of two

new saponins and two new oligoglycosides sulfates: pectinioside A and pectinioside B [J]. *Liebig's Ann Chem*, 1987, 341-348.

- [4] Xie J X. *Application of Infrared Absorption in Organic Chemistry and Medicinal Chemistry*. (红外光谱在有机化学和药物化学中的应用) [M]. Beijing: Science Press, 1987.

[5] Fu H Z, Zhang X W, Lin W H, *et al.* Studies on the chemical constituents from sea anemone *Anthopleura xanthogramma* [J]. *Chin J Mar Drugs* (中国海洋药物), 1998, 17(1): 11-16.

- [6] Yu D Q, Yang J S. *Analytical Chemistry Manual* (VII) (分析化学手册第七分册) [M]. Beijing: Chemical Industry Press.

苍术有效部位化学成分的研究

孟青¹, 冯毅凡¹, 郭晓玲¹, 陈耕夫¹, 李卫民², 高英^{2*}

(1. 广东药学院 中心实验室, 广东 广州 510224; 2. 广州中医药大学 新药开发研究中心, 广东 广州 510405)

苍术为菊科植物茅苍术 *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. 或北苍术 *A. chinensis* (DC.) Koidz. 的干燥根茎; 其性温, 味辛、苦, 归脾、胃、肝经; 能燥湿健脾, 祛风散寒, 明目; 用于脘腹胀满, 泄泻、水肿, 风湿痹痛, 风寒感冒, 雀目夜盲等症^[1]

超临界 CO₂ 萃取是以液态 CO₂ 为溶剂进行提取, 是一种不同于传统中药提取的新工艺, 能够更有效地从中药中提取有效成分。而分子蒸馏是一种特殊的液-液分离技术, 是一种对高沸点、热敏性物料能有效无损的分离手段。本研究首次使用 GC-MS 联用技术对使用超临界 CO₂ 萃取技术从中药苍术中提取的苍术油, 及根据现代中药有效部位药研究需要, 利用分子蒸馏技术对苍术油进一步处理, 分离出不同的有效部位进行分析; 确定不同部位的成分分布; 以及为使有效部位达到 50% 的可测成分, 而确定超临界 CO₂ 最佳提取工艺及分子蒸馏分离的最佳条件提供依据。

1 仪器和材料

1.1 仪器: 2 × 25 L 超临界萃取装置 (SFE), MD-S80 分子蒸馏装置, HP5890 II GC/HP5972MS 气相色谱-质谱联用仪。

1.2 材料: 苍术药材 (经鉴定为菊科植物苍术 *A. lancea* 的干燥根茎)。

2 样品的制备

2.1 苍术油的制备: 将药材粉碎成粗粉, 装入超临界萃取罐中, 以压力为 21 MPa、温度为 40 °C、流量为 22 L/h 的条件进行萃取 4 h; 以压力为 6.2 MPa; 温度为 50 °C 进行解析, 萃取出淡红棕色油状物即得, 萃取得率约为 5%。

2.2 分子蒸馏有效部位的制备: 取苍术油 (苍术-

SFE) 适量, 在温度 100 °C、真空度 100 (Pa × 10⁻¹) 条件下进行分子蒸馏分离出两个部分苍术 MD1 及苍术 MD2。

2.3 挥发油的制备: 取适量的苍术 MD1, 按《中华人民共和国药典》2000 年版一部附录挥发油项下进行处理, 得挥发油 (苍术-HFY) 约 75%。

3 苍术超临界 CO₂ 萃取物有效部分 GC-MS 分析

3.1 色谱条件: 色谱柱为 BP1 (nonpolar) 石英毛细管柱 60 m × 0.22 mm × 0.25 μm (澳大利亚 SGE 公司); 初始温度 80 °C, 停留 2 min, 以 5 °C/min 速率一阶升温至 120 °C, 保持 10 min, 以 1 °C/min 的速率二阶升温至 240 °C, 保持 25 min, 再以 10 °C/min 的速率三阶升温至 260 °C, 保持 5 min。进样口温度 280 °C, 柱流量 1 mL/min。样品浓度 10 mg/mL。质谱条件: 电离方式 EI, 电离高压 2 012 mV, 离子源温度 178 °C, 扫描质量范围 50 ~ 550 m/z。

3.2 分析结果: 取苍术-SFE、苍术 MD1、苍术-HFY 适量, 以无水乙醇-正己烷 (1:1) 溶解, 配制成浓度约为 10 mg/mL 的溶液; 分别吸取 1 μL 以无分流方式进样, 得总离子流图, 所得各色谱峰经峰纯度检测, 并将得到的质谱数据经由 Wiley 138 质谱数据库检索及结合文献^[2]进行鉴别, 结果见表 1。从结果来看, 苍术 CO₂ 超临界提取物中分离出 66 个色谱峰, 鉴定出 32 种化合物, 占气化产物总量的 77.89%; 其中苍术素占 21.47%, 醇类占 13.92%, 烯类占 37.18%, 酯类占 1.84%。经过分子蒸馏分离提取, 各有效组份得到保留, 其中 MD1 挥发油约占 75%, 与传统方法得到的挥发油相比组份基本没有被破坏。

4 苍术超临界 CO₂ 萃取物中脂肪酸类 GC-MS 分析