

19), 51.1 (t, C-21), 14.2 (q, C-22), 55.8 (q, OCH₃-1), 57.9 (q, OCH₃-6), 57.8 (q, OCH₃-14), 56.3 (q, OCH₃-16)。氢谱、碳谱数据与文献值^[6]一致, 故鉴定为牛扁碱(lycoctonine)。

化合物 III: 白色无定形粉末, 分子式 C₂₅H₄₁NO₆。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.03 (3H, t, J = 7.2 Hz, NCH₂CH₃), 3.23, 3.32, 3.39, 3.41 (各 3H, s, 4 × OCH₃), 3.58 (1H, t, J = 4.8 Hz, 14β-H)。¹³C-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 85.0 (d, C-1), 26.1 (t, C-2), 33.4 (t, C-3), 38.4 (s, C-4), 43.4 (d, C-5), 94.5 (d, C-6), 88.7 (s, C-7), 77.7 (s, C-8), 48.9 (d, C-9), 46.2 (d, C-10), 48.7 (s, C-11), 29.5 (t, C-12), 38.4 (d, C-13), 84.0 (d, C-14), 36.9 (t, C-15), 82.8 (d, C-16), 65.3 (d, C-17), 29.0 (t, C-18), 51.3 (t, C-19), 50.1 (t, C-21), 14.1 (q, C-22), 56.1 (q, OCH₃-1), 57.8 (q, OCH₃-6), 58.4 (q, OCH₃-14), 56.3 (q, OCH₃-16)。氢谱、碳谱数据与文献值^[7]基本一致, 故鉴定为去氧牛扁碱(deoxylycoctonine)。

化合物 IV: 白色无定形粉末, 分子式 C₂₄H₃₉NO₆。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.03 (3H, t, J = 7.2 Hz, NCH₂CH₃), 3.27, 3.29, 3.41 (各 3H, s, 3 × OCH₃), 3.71 (1H, t, J = 4.2 Hz, 14β-H)。¹³C-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 72.0 (d, C-1), 29.3 (t, C-2), 29.6 (t, C-3), 37.2 (s, C-4), 43.5 (d, C-5), 30.1 (d, C-6), 85.9 (s, C-7), 74.9 (s, C-8), 45.7 (d, C-9), 36.8 (d, C-10), 48.5 (s, C-11), 26.5 (t, C-12), 44.9 (d, C-13), 84.8 (d, C-14), 42.9 (t, C-15), 82.6 (d, C-16), 63.7 (d, C-17), 78.9 (t, C-18), 56.6 (t, C-19), 48.9 (t, C-21), 14.1 (q, C-22), 57.6 (q, OCH₃-14), 56.2 (q, OCH₃-16), 59.4 (q, OCH₃-18)。氢谱、碳谱数据与文献值^[8]基本一致, 故鉴定为草地乌头碱(umbrosine)。

化合物 V: 白色晶体, 分子式 C₁₇H₁₇NO。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 2.85 (2H, m, H-7), 3.65 (2H, m, H-8), 7.25 (5H, m, H-2, 3, 4, 5, 6), 6.39 (1H, d, J = 15.6 Hz, H-8'), 7.62 (1H, d, J = 15.6 Hz, H-7'), 7.50 (2H, dd, J = 1.6, 6.8 Hz, H-2', 6'), 7.35 (3H, m, H-3', 4', 5'), 5.58 (1H, s, NH)。¹³C-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 134.8 (s, C-1), 128.8 (d, C-2), 127.8 (d, C-3), 126.6 (d, C-4), 127.8 (d, C-5), 128.8 (d, C-6), 35.65 (t, C-7), 40.78 (t, C-8), 138.9 (s, C-1'), 128.7 (d, C-2'), 128.8 (d, C-3'), 129.8 (d, C-4'), 128.8 (d, C-5'), 128.7 (d, C-6'), 141.8 (d, C-7'), 120.5 (d, C-8'), 165.8 (s, C=O)。氢谱、碳谱数据与文献值^[9,10]基本一致, 故鉴定为氮-肉桂酰-2-苯基乙胺(N-cinnamoyl-2-phenylethylamine)。

References:

[1] Wang J L, Zhou X L, Wang F P. Chemical studies on the diterpenoid alkaloids of *Delphinium giraldill* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2003, 15(6): 498-502.
 [2] Li C J, Chen D H. Alkaloidal constituents from aerial parts of *Delphinium grandiflorum* L. [J]. *J Integr Plant Biol* (植物学报), 1993, 35(1): 80-83.
 [3] Deng Y P. Diterpenoid alkaloids from roots of *Delphinium grandiflorum* L. [J]. *Fitoterapia*, 1993, 64(3): 282.
 [4] Nyamdari B, Shiiter E, Jigjidsuren T, et al. Norditerpenoid alkaloids from *Delphinium* species [J]. *Phytochemistry*, 2003, 62: 543-550.
 [5] Shamma M, Chinnesamy P, Miana G A. The alkaloids of *Delphinium cashmirianum* [J]. *J Nat Prod*, 1979, 42: 615.
 [6] Pelletier S W, Mody N V, Varughese K I. Structure revision of 37 lycoctonine-related diterpenoid alkaloids [J]. *J Am Chem Soc*, 1981, 103: 6536.
 [7] Jones A J, Benn M H. Diterpenoid alkaloids from *Delphinium* species [J]. *Canad J Chem*, 1973, 51(4): 486-499.
 [8] Tel'nov V A, Golubev N M, Yunusov M S. A new alkaloid from *Aconitum umbrosum* [J]. *Khim Prirod Soedinenii*, 1976 (5): 675-676.
 [9] Akhmedzhanova V I, Batsuren D. Alkaloids and flavonoids of *Oxytropis muricata* [J]. *Chem Nat Comp*, 1997, 33(3): 326-328.
 [10] Ross S A, Al-Azeib M A, Krishnavem K S, et al. Alkaloids from the leaves of *Zanthoxylum syncarpum* [J]. *J Nat Prod*, 2005, 68: 1297-1299.

中华大蟾蜍皮化学成分的研究

李维熙¹, 孙 辉¹, 李 茜¹, 张晓琦², 叶文才^{1,2*}, 姚新生²

(1. 中国药科大学 天然药物化学教研室, 江苏 南京 210038; 2. 暨南大学中药及天然药物研究所, 广东 广州 510632)

中华大蟾蜍 *Bufo bufo gargarizans* Cantor 是 两栖纲无尾目蟾蜍属动物, 广泛分布于全国大部分

收稿日期: 2006-06-16

* 通讯作者 叶文才 Tel: (020)85221559 E-mail: chywc@yahoo.com.cn

地区。蟾蜍入药,始见于《本草别录》,其味辛,性凉,有毒,归心、肝、脾、肺经,具有解毒散结、消积利水、杀虫消痞的功效。现代医学证明蟾蜍还有局麻、强心、升压、抗肿瘤等多方面的作用^[1]。传统中药多以蟾酥入药,为了更好地合理利用蟾蜍资源,本实验对中华大蟾蜍干皮进行了化学成分研究。从中华大蟾蜍皮水提取物中分离得到 13 个化合物,分别为:华蟾蜍精(cinobufagin, I)、蟾蜍它灵(bufotalin, II)、蟾蜍灵(bufalin, III)、远华蟾蜍精(telocinobufagin, IV)、嚏根草苷元(hellebrigenin, V)、去乙酰华蟾蜍精(desacetylcinobufagin, VI)、去乙酰蟾蜍它灵(desacetylbufotalin, VII)、11 β -羟基-蟾蜍灵(11 β -hydroxyl-bufalin, VIII)、远华蟾蜍精-3-单辛酸酯(telocinobufagin-3-hemisuberate, IX)、cholestane-3 β ,5 α ,6 β -triol(X)、胆甾烯醇(XI)、棕榈酸(XII)和软脂酸-3'-甘油单酯(XIII)。其中,化合物 VII~XIII 为首次从中华大蟾蜍皮中分离得到。

1 实验仪器与材料

熔点用 X-5 型显微熔点测定仪测定(未校正);IR 用 JASCO FI/IR-480 Plus Fourier Transform 红外光谱仪(KBr 压片)测定;NMR 用 BRUKER AV-400 FT 型核磁共振仪测定;ESI-MS 用 Finnigan LCQ Advantage MAX 质谱仪测定。

柱色谱用硅胶为青岛海洋化工厂产品;硅胶 GF₂₅₄ 薄层预制板为烟台化学工业研究所产品;硅胶 G60F₂₅₄ 薄层预制板、RP-18 F₂₅₄S 薄层预制板为 Merck 公司产品;Sephadex LH-20 柱色谱材料为 Pharmacia 公司产品;色谱纯甲醇为江苏汉邦公司产品;其余试剂均为化学纯或分析纯。

中华大蟾蜍皮由安徽金蟾药业有限公司提供,经安徽芜湖中医药专科学校刘晓龙教授鉴定为 *B. bufo gargarizans* Cantor。

2 提取与分离

中华大蟾蜍干燥皮(去头)20 kg,切碎后用沸水提取 2 次,提取时间分别为 60 min 和 45 min,合并提取液以 80% 及 65% 乙醇醇沉 2 次,减压回收乙醇浓缩成浸膏 200 g。浸膏加水 1 500 mL 混悬,并用氯仿等量萃取,氯仿部分(30 g)经硅胶、Sephadex LH-20 反复柱色谱分离得到化合物 I~XIII。

3 结构鉴定

化合物 I:白色方晶(丙酮),mp 259~260 °C,易溶于氯仿及甲醇。ESI-MS (m/z):443[M+H]⁺。IR ν_{\max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 450, 1 740, 1 715, 1 630, 1 540, 1 040。¹H-NMR (CDCl₃) δ : 7.92 (1H, d, J = 10.0

Hz, H-22), 7.17 (1H, s, H-21), 6.21 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-23), 5.46 (1H, d, J = 9.2 Hz, H-16), 4.15 (1H, br s, H-3), 3.65 (1H, s, H-15), 2.80 (1H, d, J = 9.2 Hz, H-17), 1.89 (3H, s, Ac), 0.99 (3H, s, H-19), 0.82 (3H, s, H-18)。¹³C-NMR 数据见表 1。以上数据与文献报道^[2]的华蟾蜍精一致,鉴定化合物 I 为华蟾蜍精。

化合物 II:白色粉末(甲醇),mp 223~225 °C,易溶于甲醇及氯仿。¹³C-NMR 数据见表 1。EIS-MS、¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据与文献报道^[3]的蟾蜍它灵一致,鉴定化合物 II 为蟾蜍它灵。

化合物 III:白色针晶(甲醇),mp 240~243 °C,易溶于甲醇。¹³C-NMR 数据见表 1。ESI-MS、¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据与文献报道^[4]的蟾蜍灵一致,鉴定化合物 III 为蟾蜍灵。

化合物 IV:无色针晶(甲醇-水),mp 210~211 °C,易溶于甲醇。¹³C-NMR 数据见表 1。ESI-MS、¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据与文献报道^[4]的远华蟾蜍精一致,鉴定化合物 IV 为远华蟾蜍精。

化合物 V:白色晶体(甲醇-水),mp 250~253 °C,易溶于甲醇。¹³C-NMR 数据见表 1。ESI-MS、¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据与文献报道^[5]的嚏根草苷元一致,鉴定化合物 V 为嚏根草苷元。

化合物 VI:白色结晶(甲醇-水),mp 212~215 °C,易溶于甲醇。¹³C-NMR 数据见表 1。ESI-MS、¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据与文献报道^[6]的去乙酰华蟾蜍精一致,鉴定化合物 VI 为去乙酰华蟾蜍精。

化合物 VII:白色针晶(甲醇),mp 218~220 °C,易溶于氯仿。ESI-MS (m/z):403[M+H]⁺。IR ν_{\max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 355, 2 940, 2 919, 2 875, 1 700, 1 632, 1 541, 1 140, 1 050。¹H-NMR (CD₃OD) δ : 7.74 (1H, dd, J = 9.6, 2.4 Hz, H-22), 7.27 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-21), 6.24 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-23), 4.43 (1H, t, J = 6.4 Hz, H-16), 4.14 (1H, br s, H-3), 2.63 (1H, d, J = 7.4 Hz, H-15), 2.42 (1H, d, J = 6.4 Hz, H-16), 2.38 (1H, d, J = 6.4 Hz, H-17), 0.96 (3H, s, H-19), 0.82 (3H, s, H-18)。¹³C-NMR 数据见表 1。以上数据与文献报道^[6]的去乙酰蟾蜍它灵一致,鉴定化合物 VII 为去乙酰蟾蜍它灵。

化合物 VIII:白色粉末(甲醇),mp 213~214 °C,易溶于甲醇。EIS-MS (m/z):403[M+H]⁺。IR ν_{\max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 432, 3 380, 2 921, 2 850, 1 709, 1 625, 1 537, 1 058, 1 036。¹H-NMR (CD₃OD) δ : 7.95 (1H, dd, J = 9.6, 2.4 Hz, H-22), 7.43 (1H, d, J = 2.4

Hz, H-21), 6.26 (1H, d, $J=9.6$ Hz, H-23), 4.05 (1H, br s, H-3), 3.68 (1H, dt, $J=5.6, 3.6$ Hz, H-11), 2.58 (1H, dd, $J=10.9, 5.6$ Hz, H-17), 1.07 (3H, s, H-19), 0.73 (3H, s, H-18)。 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据见表 1。以上数据与文献报道^[2]的 11 β -羟基-蟾蜍灵一致, 鉴定化合物 VII 为 11 β -羟基-蟾蜍灵。

表 1 化合物 I ~ VIII 的 $^{13}\text{C-NMR}$ 光谱数据 (100 MHz, CD_3OD)

Table 1 $^{13}\text{C-NMR}$ Spectral data for compounds I - VIII (100 MHz, CD_3OD)

碳位	I *	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	30.7	30.8	30.8	26.2	25.2	29.6	33.4	30.7
2	28.5	28.5	28.6	28.5	27.6	28.0	29.4	28.5
3	67.6	67.7	67.7	69.1	67.9	66.8	67.9	67.6
4	34.6	34.2	34.2	37.8	38.6	33.4	34.8	40.8
5	37.4	37.4	37.5	76.2	75.8	35.5	39.2	36.5
6	27.0	27.8	27.9	36.0	37.5	26.5	28.2	27.0
7	20.9	22.3	22.6	24.8	23.5	21.8	22.7	22.1
8	34.1	43.1	43.1	42.1	43.1	42.0	42.2	40.4
9	40.4	36.4	36.9	40.3	40.1	35.6	42.9	37.4
10	36.5	36.4	36.5	41.9	52.0	36.0	37.7	36.5
11	20.6	22.3	22.5	23.0	18.5	21.2	69.3	21.7
12	40.8	41.2	42.0	41.9	41.5	41.9	51.7	40.8
13	46.4	50.8	42.0	49.6	48.9	48.6	50.1	46.4
14	73.6	85.1	86.2	86.0	85.7	86.2	85.4	73.6
15	63.3	41.3	33.2	33.2	32.3	41.7	33.4	73.1
16	73.1	75.7	29.8	29.8	29.7	73.9	29.7	63.2
17	53.2	58.3	52.3	52.2	56.2	58.6	52.1	53.2
18	17.6	17.2	17.3	17.3	17.1	16.4	18.3	17.6
19	24.2	24.3	24.3	17.3	210.1	23.8	24.5	24.2
20	119.8	119.4	125.1	125.0	124.9	117.4	124.5	119.8
21	152.6	152.8	150.4	150.5	150.6	148.8	150.6	152.5
22	151.9	152.1	149.4	149.4	149.3	149.9	149.2	151.6
23	113.6	113.1	115.4	115.4	115.4	113.8	115.4	113.5
24	164.6	164.4	164.8	164.8	164.8	162.0	164.7	164.7
CH_3CO	170.1	171.9	—	—	—	—	—	—
CH_3CO	20.5	20.9	—	—	—	—	—	—

* in CDCl_3

化合物 IX: 白色固体(甲醇), mp 194~196 °C, 易溶于氯仿。ESI-MS (m/z): 581 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.81 (1H, dd, $J=9.4, 2.4$ Hz, H-22), 7.23 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-21), 6.26 (1H, d, $J=9.4$ Hz, H-23), 5.26 (1H, br s, H-3), 2.48 (1H, dd, $J=9.8, 6.6$ Hz, H-17), 0.99 (3H, s, H-19), 0.71 (3H, s, H-18)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) δ : 162.4 (C-24), 148.6 (C-21), 146.7 (C-22), 122.5 (C-20), 115.4 (C-23), 85.3 (C-14), 73.4 (C-5), 71.0 (C-3), 51.0 (C-17), 48.2 (C-13), 41.3 (C-8), 40.8 (C-12), 40.6 (C-10), 39.2 (C-9), 35.2 (C-4), 34.5 (C-6), 32.7 (C-15), 28.6 (C-16), 28.5 (C-2), 25.4 (C-1), 23.8 (C-7), 21.7 (C-11), 16.7 (C-19), 16.4 (C-19),

172.1 (C-1'), 33.7 (C-2'), 24.6 (C-3'), 24.5 (C-4'), 24.4 (C-5'), 29.7 (C-6'), 34.1 (C-7'), 177.7 (C-8')。以上数据与文献报道^[7]的远华蟾蜍精-3-单辛二酸酯一致, 鉴定化合物 IX 为远华蟾蜍精-3-单辛二酸酯。

化合物 X: 无色针晶(甲醇), mp 237~240 °C, 易溶于氯仿。ESI-MS (m/z): 419 $[\text{M} - \text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 3.99 (1H, m, H-6), 3.60 (1H, br s, H-3), 1.16 (3H, s, H-18), 0.93 (3H, d, $J=6.4$ Hz, H-21), 0.89 (3H, d, $J=1.4$ Hz, H-26), 0.87 (3H, d, $J=1.4$ Hz, H-27), 0.72 (3H, s, H-19)。以上数据与文献报道^[8]的 cholestane-3 β , 5 α , 6 β -triol 一致, 鉴定化合物 X 为 cholestane-3 β , 5 α , 6 β -triol。

化合物 XI: 白色针晶(醋酸乙酯), mp 148~149 °C, 易溶于氯仿。ESI-MS、 $^1\text{H-NMR}$ 数据与文献报道^[8,9]的胆甾烯醇一致, 鉴定化合物 XI 为胆甾烯醇。

化合物 XII: 淡黄色针晶, mp 53~54 °C。ESI-MS (m/z): 335 $[\text{M} - \text{H}]^+$ 。其 IR、NMR 数据与文献报道^[9]的棕榈酸相符, 鉴定化合物 XII 为棕榈酸。

化合物 XIII: 淡黄色针晶, mp 70~71 °C。其光谱数据与文献报道^[10]的软脂酸-3'-甘油单酯一致, 鉴定化合物 XIII 为软脂酸-3'-甘油单酯。

References:

[1] Editorial Board of China Herbal, State Administration of Traditional Chinese Medicine, China. *China Herbal* (中华本草) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1999.

[2] Ye M, Qu G Q, Guo H Z, et al. Specific 12 β -Hydroxylation of cinobufagin by *Filamentous Fungi* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70(6): 3521-3527.

[3] Kamano Y, Nogawa T, Kotake A, et al. Separation of toad poison bufadienolides by hydrophobic GEL [J]. *J Liq Chromatogr Relat Technol*, 1999, 22(16): 2455-2465.

[4] Ye M, Qu G Q, Guo H Z, et al. Novel cytotoxic bufadienolides derived from bufalin by microbial hydroxylation and their structure-activity relationships [J]. *J Steroid Biochem Mole Biol*, 2004, 91: 87-98.

[5] Muller A, Nonnenmacher G, Kutscher B, et al. Complete proton and carbon spectral assignments of acrihellin and hellebriginin [J]. *Magn Reson Chem*, 1991, 29(1): 18-21.

[6] Zhan J X, Liu W H, Guo H Z, et al. Selective dehydrogenation of resibufogenin and cinobufagin at 3-OH by *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Enzyme Microb Technol*, 2003, 33(2003): 29-32.

[7] Shimada K, Nambara T. Isolation and characterization of a new type of bufotoxin from the skin of *Bufo americanus* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1980, 28(5): 1559-1562.

[8] Yu D Q, Yang J S, Xie J X. *The Handbook for Analytical Chemistry: NMR Spectrum Analysis* (V) (分析化学手册 (V) 核磁共振波谱分析) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 1999.

[9] Huang J S, Li Q X, Wu J, et al. Studies on chemical constituents from *Trachyrhynchus serratus* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35(5): 485-487.

[10] Yuan J, Hu W G. Studies on $^{13}\text{C-NMR}$ and $^1\text{H-NMR}$ spectra of glycerin-ester of 3'-long-straight-chain saturated carboxylic acid [J]. *Chin J Magn Resonance* (波谱学杂志), 1993, 10(2): 185-188.