

9.2 Hz, H-4), 6.75 (1H, s, H-5), 3.85 (3H, s, OCH₃), 3.72 (3H, s, OCH₃)。NOESY 谱中显示 δ_{H} 3.85 (3H, s, OCH₃) 和 3.72 (3H, s, OCH₃) 与 7.01 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-4) 相关,进一步证实了此结构。确定该化合物为 7-羟基-5,6-二甲氧基香豆素。

参考文献:

- [1] Liu Y L, Mabry T J. Sesquiterpene Lactones from *Artemisia frigida* [J]. *J Nat Prod*, 1981, 44(6): 722.
- [2] Liu Y L, Mabry T J. Dimeric Guaianolides from *Artemisia sieversiana* [J]. *Phytochemistry*, 1985, 24(5): 1009.
- [3] 李海霞,王 钊,刘延泽. 石榴科植物化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中草药, 2002, 33(8): 765-附 2.
- [4] Rushdi A I, Ritter G, Grimalt J O, et al. Hydrous pyrolysis of cholesterol under various conditions [J]. *Org Geochem*, 2003, 34: 799-812.
- [5] 于德泉,杨峻山. 分析化学手册. 第七分册. 核磁共振波谱分析 [M]. 北京: 化学工业出版社, 1999.
- [6] 王秀坤,李家实,魏璐雪. 白刺花种子黄酮成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 1996, 21(3): 165-166.
- [7] 中国科学院上海药物研究所. 黄酮类化合物鉴定手册 [M]. 北京: 科学出版社, 1981.

鹅胆的化学成分研究

毕 丹,宋月林,张 梁,陈 东,屠鹏飞*

(北京大学药学院 天然药物及仿生药物国家重点实验室,北京 100191)

摘要:目的 研究鹅胆 *Anser anser* 的化学成分。方法 采用各种现代色谱手段对其化学成分进行分离,利用理化性质结合光谱数据鉴定化合物结构。结果 分离鉴定了 10 个化合物,分别为正四十二烷酸()、胆甾醇()、正十六烷酸()、十六烷酸甘油酯()、methyl-3 α ,7 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-oate()、3 α ,7 α -二羟基-5 β -胆甾烷-24-酸()、烟酰胺()、*n*-butyl-3 α ,7 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-oate()、正十八烷酸()、3 α ,7 α -dihydroxy-5 β -cholelanoic acid *N*-(2-sulfoethyl) amide()。结论 化合物 ~ 、~ 为首次从该属动物胆汁中分离得到,并首次报道了化合物 的波谱数据。

关键词:鹅胆;胆甾醇;3 α ,7 α -二羟基-5 β -胆甾烷-24-酸

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)10-1543-03

鹅为鸭科动物,是重要的家禽之一,随着我国养殖业的发展,目前家鹅养殖量巨大,鹅的综合利用,特别是其下脚料如胆、羽毛等开发利用成为养殖业发展的重要问题。动物胆汁中主要含有脂肪酸类、胆汁酸类、胆色素等成分,其中胆酸类成分具有溶解胆石、降低血脂和杀菌消炎等活性,迄今为止,国内对鹅胆的化学成分研究甚少。为了开发利用鹅胆资源,本实验对郎德鹅 *Anser anser* Dometric 胆汁的化学成分进行了初步研究,从中分离得到 10 个化合物,分别鉴定为正四十二烷酸()、胆甾醇()、正十六烷酸()、十六烷酸甘油酯()、methyl-3 α ,7 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-oate()、3 α ,7 α -二羟基-5 β -胆甾烷-24-酸()、烟酰胺()、*n*-butyl-3 α ,7 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-oate()、正十八烷酸()、3 α ,7 α -dihydroxy-5 β -cholelanoic acid *N*-(2-sulfoethyl) amide()。化合物 ~ , ~ 为首次从鹅胆中分离得到,并首次报道了化合物的波谱数据。

1 仪器与材料

X-4 型显微熔点测定仪,JEOL JNM-A300 型核磁共振仪(TMS 为内标),Varian Unity-500 型核磁共振仪(TMS 为内标),(MDS SCIEX) QSTAR (ABI,USA) ESI-TOF 质谱仪,安捷伦 G6300 系列 LC/MSD Trap。Sephadex LH-20 为 Pharmacia 公司产品,ODS 为默克公司产品,薄层色谱及柱色谱硅胶均为青岛海洋化工厂产品,其他试剂均为分析纯。鹅胆由北京合旺郎德鹅养殖中心提供。

2 提取与分离

新鲜鹅胆剪破后,挤出胆汁 5 L,胆汁依次用醋酸乙酯和正丁醇萃取,分别得提取物 30 g 和 600 g。醋酸乙酯部分(25 g)经硅胶柱色谱分离,以石油醚-丙酮(20:1~1:5)梯度洗脱,得到 6 个组分(Fr. 1~Fr. 6)。Fr. 1 析出白色固体,再用甲醇溶洗后剩余沉淀部分,经凝胶柱色谱(Sephadex LH-20,石油醚-氯仿-甲醇 2:1:1)分离,得到化合物 (15

* 收稿日期:2008-12-06

作者简介:毕 丹(1979—),北京大学 2006 级博士研究生,主要研究天然产物的化学成分及其活性。

Tel: (010) 82801404 E-mail: bidan_2005@163.com

* 通讯作者 屠鹏飞 Tel: (010) 82802750 E-mail: pengfeitu@vip.163.com

mg); Fr. 2 析出白色固体,再用甲醇溶洗后剩余沉淀部分,得到化合物 (15 mg); Fr. 3 经硅胶柱色谱(石油醚-醋酸乙酯 6:1)分离得到化合物 (12 mg); Fr. 4 析出白色固体,再用甲醇溶洗后剩余沉淀部分,经凝胶柱色谱(Sephadex LH-20,石油醚-氯仿-甲醇 2:1:1)分离得到化合物 (15 mg); Fr. 5 经硅胶柱色谱(石油醚-醋酸乙酯 2:1)、凝胶柱色谱(Sephadex LH-20,石油醚-氯仿-甲醇 2:1:1)分离得到化合物 (120 mg) 和 (8 mg)。正丁醇部分(30 g)经硅胶柱色谱分离,以氯仿-甲醇(5:1~2:1)梯度洗脱,得到 3 个组分(Fr. 7~Fr. 9)。Fr. 7 经硅胶柱色谱(氯仿-丙酮 10:1~5:1)分离得到化合物 (60 mg)、(5 mg); Fr. 8 经减压硅胶柱色谱(氯仿-甲醇 10:1)和反相柱色谱(甲醇-水 7:3)分离得到化合物 (230 mg)。

3 结构鉴定

化合物:白色粉末。EIMS m/z : 620 $[M]^+$, 551, 523, 507, 431, 423, 395, 367, 341, 313, 267, 239, 185, 171, 137, 123, 109, 98, 85, 71, 57 (100)。 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 2.31 (2H, t, J = 7.5 Hz, H-2), 1.61 (2H, brs, H-3), 1.25 (76H, m), 0.88 (3H, t, J = 6.9 Hz, H-42), 以上数据与文献报道^[1]一致,确定该化合物为正四十二烷酸。

化合物:白色针晶(氯仿)。mp 148.5。溶于石油醚、氯仿,微溶于甲醇。与胆甾醇对照品共薄层,在多个展开系统中色谱行为一致,混合测定熔点不下降,所以确定该化合物为胆甾醇。

化合物:白色粉末。mp 52~53。EIMS m/z : $[M]^+$, 239, 227, 213, 199, 185, 171, 157, 143, 129, 115, 97, 73, 69, 55, 43。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 2.35 (2H, t, J = 8.0 Hz, H-2), 1.62 (2H, brs, H-3), 1.25 (24H, m), 0.88 (3H, t, J = 7.0 Hz, H-16), 以上数据与文献报道^[2]一致,确定该化合物为正十六烷酸。

化合物:白色粉末。mp 67~69。EIMS m/z : 330 $[M]^+$, 299, 229, 239, 134, 98 (100)。 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 4.18 (2H, m, H-1), 3.93 (1H, m, H-2), 3.69 (1H, dd, J = 3.9, 11.4 Hz, H-3 b), 3.59 (1H, dd, J = 5.7, 11.4 Hz, H-3 a), 2.35 (2H, t, J = 7.5 Hz, H-2), 1.62 (2H, m, H-3), 1.25 (24H, brs), 0.88 (3H, t, J = 7.0 Hz, H-16)。以上数据与文献报道^[3]一致,确定该化合物为十六烷酸甘油酯。

化合物:无色胶状固体。EIMS m/z : 429

$[M + Na]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 3.85 (1H, m, β -H), 3.66 (s, -OCH₃), 3.46 (1H, m, β -H), 0.94 (3H, d, J = 6.5 Hz, 21-CH₃), 0.91 (3H, s, 19-CH₃), 0.66 (3H, s, 18-CH₃)。 ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) 数据见表 1。以上数据与文献报道^[4,5]一致,确定该化合物为 methyl-3 α , 7 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-oate。

化合物:无色针晶。ESI-MS m/z : 391 $[M - H]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, C_5D_5N) δ : 0.67 (3H, s, 18-CH₃), 0.94 (3H, s, 19-CH₃), 0.96 (3H, d, J = 4.5 Hz, 21-CH₃), 3.77 (1H, m, β -H), 4.01 (1H, m, β -H)。 ^{13}C -NMR (125 MHz, C_5D_5N) 数据见表 1。以上数据与文献报道^[6]一致,确定该化合物为 3 α , 7 α -二羟基-5 β -胆甾烷-24-酸。

化合物:无色针晶。mp 129~130。EIMS m/z : 122 $[M]^+$, 106, 78, 51。 1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.50 (1H, dd, J = 7.5, 4.5 Hz, H-5), 8.21 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-4), 8.71 (1H, d, J = 4.5 Hz, H-6), 9.04 (1H, s, H-2)。 ^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 166.5 (C-7), 151.8 (C-6), 148.6 (C-2), 135.2 (C-4), 129.7 (C-3), 123.44 (C-5)。以上数据与文献报道^[7]一致,确定该化合物为烟酰胺。

化合物:无色胶状固体。ESI-MS m/z : 466 $[M + NH_4]^+$ 。 1H -NMR 谱上观察到 4 个甲基信号,分别为 δ 0.66, 0.90, 0.92, 0.94, 其中 2 个单峰, 1 个双峰, 1 个三重峰。 δ 3.45, 3.84 显示存在 2 个连氧次甲基, δ 4.06 (2H, t, J = 6.5 Hz, -CH₂O-) 显示存在 1 个连氧亚甲基。 ^{13}C -NMR 谱上观察到 28 个碳,其中包括 3 个连氧的碳信号,分别是 δ 71.9, 68.4, 68.1, 1 个羰基信号 δ 174.4。以上数据确定化合物可能为胆酸酯,将其与 methyl-3 α , 7 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-oate 相比较,除了 3 个亚甲基和 1 个甲基外,其余数据基本一致。结合该化合物的 HMBC、HMQC 波谱,鉴定该化合物的结构为 *n*-butyl-3 α , 7 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-oate,并参考文献报道^[8]对郎德鹅 *Anser anser* Dometric 胆汁的波谱数据进行了归属。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) 和 ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) 数据见表 1。

化合物:白色粉末。mp 57~59。EIMS m/z : 284 $[M]^+$, 256, 227, 213, 199, 185, 171, 129, 115, 97, 85, 73 (100)。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 2.35 (2H, t, J = 8.0 Hz, H-2), 1.62 (2H, m, H-3), 1.25 (28H, m), 0.88 (3H, t, J = 7.0 Hz, H-18)。以上数据与文献报道^[9]一致,确定该化合物为正十八烷酸。

表 1 化合物 、 、 、 的 NMR 数据

Table 1 NMR Data of compounds , , , and

编号	基团	δ_{H}		δ_{C}		编号	δ_{C}	
		α	β					
1	CH ₂	1.82	0.97	35.3	35.3	1	36.4	29.2
2	CH ₂	1.60	1.78	30.6	31.0	2	32.0	31.3
3	CH	-	3.45	71.9	72.0	3	72.0	72.8
4	CH ₂	1.96	1.20	39.6	39.6	4	40.4	40.5
5	CH	-	1.39	41.5	41.5	5	42.8	43.2
6	CH ₂	1.52	1.96	34.6	34.6	6	36.1	36.6
7	CH	-	3.84	68.4	68.5	7	67.8	69.0
8	CH	-	1.46	39.4	39.4	8	40.4	40.8
9	CH	1.83	-	32.8	32.8	9	33.5	34.0
10	C	-	-	35.0	35.0	10	35.8	35.9
11	CH ₂	1.49	1.46	20.5	20.6	11	21.3	21.8
12	CH ₂	1.72	2.22	39.7	39.9	12	41.2	41.0
13	C	-	-	42.6	42.7	13	42.9	43.7
14	CH	1.39	-	50.4	50.4	14	51.0	51.5
15	CH ₂	1.12	1.65	23.6	23.7	15	24.3	24.6
16	CH ₂	1.89	1.31	28.1	28.1	16	28.8	29.2
17	CH	1.15	-	55.8	55.8	17	56.6	57.3
18	CH ₃	0.66		11.7	11.7	18	12.4	12.2
19	CH ₃	0.90		22.7	22.8	19	23.4	23.4
20	CH	1.42		35.3	35.3	20	36.1	36.2
21	CH ₃	0.92		18.2	18.2	21	18.9	18.9
22	CH ₂	1.79	1.32	31.0	31.0	22	32.0	33.2
23	CH ₂	2.32	2.21	31.2	31.0	23	32.0	34.2
24	CO	-	-	174.4	174.7	24	174.5	176.4
1'	CH ₂	4.20		68.1	51.5	25		36.5
2'	CH ₂	1.33		30.6		26		51.9
3'	CH ₂	1.37		19.1				
4'	CH ₂	0.94		13.7				

化合物 : 无色胶状固体。mp 132 ~ 135 。

ESI-MS m/z : 498 [M - H]⁻。 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 0.63 (3H, s, 18-CH₃), 0.86 (3H, s, 19-CH₃), 0.91 (3H, d, J = 6.5 Hz, 21-CH₃), 3.31 (1H, m, 3 β -H), 3.73 (1H, brs, 7 β -H), 3.52 (2H, t, J = 6.5 Hz, H-25), 2.90 (2H, t, J = 6.5 Hz, H-26)。 ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) 数据见表 1。以上数据与文献报道^[6]一致, 确定该化合物为 3 α , 7 α -dihydroxy-5 β -cholan-20-ic acid *N*-(2-sulfoethyl) amide。

4 讨论

本实验在提取分离过程中, 使用了甲醇和正丁醇, 化合物 和 怀疑可能是人工产物。为了确定这两个化合物是否为人工产物, 将鹅胆汁干燥后, 用水溶解, 将其与化合物 及 采用 LC-MS 进行分析, 结果证明鹅胆样品中不含有化合物 和 , 因此可以确定这两个化合物确实为提取过程中的人工产物, 这也提示鹅去氧胆酸极易与小分子醇成酯, 在今后提取分离过程中必须注意。

参考文献:

- [1] 李林珍, 杨小生, 朱海燕, 等. 假地蓝化学成分研究 [J]. 中草药, 2008, 39(2): 173-175.
- [2] 张前军, 杨小生, 郝小江, 等. 我国天然抗菌药物研究进展 [J]. 中草药, 2008, 25(2): 304-305.
- [3] 刘玉明, 杨俊山, 刘庆华. 瘤果黑种草子化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(13): 980-983.
- [4] Retch I L, Lardy H, Wei Y, et al. Ergosteroids . syntheses and biological activity of seco-steroids related to dehydroepiandrosterone [J]. *Steroids*, 1998, 63: 542-553.
- [5] Dolle F, Hetru C, Rousseau B, et al. Synthesis of a tritiated 3-dehydroecdysteriod putative precursor of ecdysteriod biosynthesis [J]. *Tetrahedron*, 1993, 49(12): 2485-2498.
- [6] Yamaguchi S, Qian Z Z, Nohara T. Bile acids of *Fel Urus* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1998, 46(10): 1653-1655.
- [7] 洪承权, 朴香兰, 楼彩霞. 泽泻化学成分分离与鉴定 [J]. 重庆工学院学报: 自然科学版, 2008, 22(4): 78-81.
- [8] Waterhous D V, Barnes S, Muccio D D. Nuclear magnetic resonance spectroscopy of bile acids. Development of two-dimensional NMR methods for the elucidation of proton resonance assignments for five common hydroxylated bile acids, and their parent bile acid, 5 β -cholan-20-ic acid [J]. *J Lipid Res*, 1985, 26(9): 1068-1078.
- [9] 李 敏, 郭顺星, 王春兰, 等. 手参块茎化学成分研究 [J]. 中国药理学杂志, 2008, 43(6): 409-412.