

藏药熏倒牛化学成分研究

王维恩^{1,2}, 张晓峰^{1*}, 沈建伟¹, 娄灯吉^{1,2}

¹中国科学院西北高原生物研究所藏药中心, 西宁 810008; ²中国科学院研究生院, 北京 100049

摘要:利用色谱对藏药熏倒牛进行化学成分研究。从藏药熏倒牛(*Biebersteinia heterostemon* Maxim.)中分离鉴定了6个化合物,采用波谱技术分别鉴定为hypolaetin 7-O- β -xylopyranoside (1)、山羊豆碱(2)、反式-4-羟基山羊豆碱(3)、甘露糖醇(4)、伞形花内脂(5)、槲皮素(6)。对化合物1的¹H、¹³C NMR信号进行了准确归属,化合物1~4均为首次从该植物中分离得到。

关键词:熏倒牛; hypolaetin 7-O- β -xylopyranoside; 山羊豆碱

中图分类号: R284.1; Q946

文献标识码: A

Chemical Constituents in Aerial Parts of *Biebersteinia heterostemon* Maxim.

WANG Wei-en^{1,2}, ZHANG Xiao-feng^{1*}, SHEN Jian-wei¹, LOU Deng-ji^{1,2}

¹The Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China;

²Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: Six compounds were isolated from the aerial parts of *Biebersteinia heterostemon* Maxim. (Geraniaceae) by column chromatography. Upon spectroscopic evidence they were identified as hypolaetin 7-O- β -xylopyranoside (1), galegine (2), trans-4-hydroxygalegine (3), mannitol (4), umbelliferone (5) and quercetin (6).

Key words: *Biebersteinia heterostemon* Maxim.; hypolaetin 7-O- β -xylopyranoside; galegine

熏倒牛(*Biebersteinia heterostemon*)的藏名译音为明见赛保,民间又称臭花椒、狼尾巴,是蔷薇纲牻牛儿苗亚纲熏倒牛科的植物。熏倒牛科(Biebersteiniaceae)是一单型科,仅有一属即熏倒牛属*Biebersteinia*。熏倒牛*B. heterostemon*为甘、宁、青、川西北(诺尔盖)特有,于1000~3200 m间黄土草原河滩偶见,浓烈腥臭^[1]。其味辛、苦,性寒,具有消炎止痛,清热解毒,清血热,祛风毒的作用,用于治疗各种炎症、结核症、丹毒、疟疾、咽喉肿痛、胃痛、全身水肿、中风、虫蛇咬伤等^[2]。藏医认为所有的炎症及热病都是“赤巴”引起的^[3],而熏倒牛也常在藏医药中用来治疗“赤巴”病。我们在体外抗菌药效的跟踪研究中分离获得了六个化合物,根据理化性质和波谱数据分别鉴定为hypolaetin 7-O- β -xylopyranoside (1)、山羊豆碱(2)、反式-4-羟基山羊豆碱(3)、甘露糖醇(4)、伞形花内脂(5)、槲皮素(6)。文献曾

报道化合物1(hypolaetin 7-O- β -xylopyranoside)的波谱特征^[3,4],但对C-2'、C-5'的¹H、¹³C NMR信号归属有错误,本文对其进行了分析纠正,并首次报道化合物3的核磁共振数据,由X-ray射线单晶衍射确定其为反式-4-羟基山羊豆碱。张晓峰等曾报道在藏药熏倒牛中分得7个化合物^[5],而本文分得的化合物1~4均为首次从该植物中分离。

1 仪器与材料

XT4A数字显示双目显微熔点仪(北京泰克仪器有限公司);NOVA-600(加拿大NOVA公司)或Bruker AV-400核磁共振仪(瑞士Bruker公司),TMS为内标;APEX. II FT-ICR型质谱仪(瑞士Bruker公司);Bio-Rad FT-IR-40型红外光谱仪(美国Bio-Rad公司),KBr压片;高效薄层板GF₂₅₄(烟台化工科技开发试验厂);Sephadex LH20、反相RP-18柱料(Sigma公司);D 101大孔吸附树脂(天津南开大学化工厂);200~300目柱色谱硅胶(青岛海洋化工厂);所有试剂均为光谱纯或分析纯。

熏倒牛全草于2006年8月采集于青海省黄南

收稿日期:2007-12-13 接受日期:2008-03-21

基金项目:国家高科技研究发展863计划基金项目

*通讯作者 E-mail:xfzhang@nwipb.ac.cn

州同仁县,中国科学院西北高原生物研究所卢学峰研究员鉴定为 *Biebersteinia heterostemon* Maxim, 标本保存在西北高原生物研究所藏药中心标本室。

2 提取与分离

取熏倒牛全草 10 kg, 粉碎成粗粉, 用 6 倍量 90% 的乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h, 过滤, 合并滤液, 回收乙醇得浸膏。将 90% 乙醇回流提取浸膏加适量水溶解, 依次用石油醚、氯仿、醋酸乙脂及正丁醇萃取, 醋酸乙脂萃取物浓缩后得到黄色沉淀 3.5 g, 沉淀部分 40 °C 温水溶解后上 Sephadex LH20 柱, 用水-乙醇(1:0~0:1)洗脱, 得到纯化的化合物 1 (960 mg); 剩余醋酸乙脂萃取物(130 g)经硅胶柱色谱, 以氯仿-丙酮(20:1~1:1)洗脱得化合物 2 (430 mg); 正丁醇萃取物(230 g)用 D101 大孔吸附树脂以水和不同浓度的乙醇为洗脱剂, 对得到的 50% 乙醇洗脱部位经硅胶柱色谱, 以氯仿-甲醇洗脱, 经薄层色谱鉴定, 合并大致相同部分得到 A~D 部分, B 部分用 RP-18 柱分离, 甲醇-水(6:4~8:2)洗脱, 经重结晶后得到化合物 3 (120 mg); D 部分经重结晶后得到化合物 4 (60 mg)。氯仿萃取物(14 g)经硅胶柱色谱, 以石油醚-醋酸乙脂为洗脱剂, 得到的洗份经重结晶得化合物 5 (250 mg) 和 6 (220 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1 黄色粉末, mp. 204~205 °C, $[\alpha]_D^{25} + 12.5$ (10% 水溶液), 盐酸镁粉反应及 Molish 反应皆呈阳性, 高效薄层板 GF₂₅₄ 点样, 于醋酸乙脂: 吡啶: 水: 甲醇(80:20:10:5)中展开, 碘蒸气显色, 薄层色谱 R_f 为 0.68; FTIR_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3419 (-OH), 1661, 1612, 1579, 1513, 1384, 1051, 834, 625; HRESI-MS m/z : 435.0725 $[M + H]^+$ 。核磁共振氢谱数据和碳谱数据与文献报道的 hypolaetin 7-O- β -xylopyranoside 基本一致^[4], 推测化合物 1 分子式为 C₂₀H₁₈O₁₁, 结构被确定为 5, 8, 3', 4'-四羟基黄酮-7-O- β -D-木糖苷, 即 hypolaetin 7-O- β -xylopyranoside, 文献对 C-2'、C-5' 的 ¹H、¹³C NMR 信号归属有错误, 根据 ¹H-¹H COSY 和 HMQC 谱来看, C-5' 对应 δ_c 116.2, C-2' 对应 δ_c 113.7; H-5' 和 H-2' 在 δ_H 6.91 (dd, $J = 8.3$ Hz, H) 处有同核位移相关, 而且在 δ 6.91 (dd, $J = 8.3$ Hz, H) 和 7.46 (dd, $J = 8.3$ Hz, H) 处的两对双峰也证实了 δ_H 6.91 归属在 H-5', 而 δ_H 7.48 (br s, H)

归属在 H-2', 所以本文分析纠正后的信号归属更为合理。具体信号归属见表 1, 其化学结构式见图 1, HMBC 相关见图 2。

表 1 5, 8, 3', 4'-四羟基黄酮-7-O- β -D-木糖苷(1) 的 NMR 数据

Table 1 NMR data of 5, 8, 3', 4'-tetrahydroxyflavon-7-yl- β -D-xylopyranoside(1)

碳原子编号 No.	δ_H	δ_C	DEPT
2		164.4	C
3	6.68 (s)	102.8	CH
4		182.4	C
5	12.35 (s, OH)	152.4	C
6	6.56 (s)	98.6	CH
7		151.1	C
8	8.76 (s, OH)	127.2	C
9		144.7	C
10		105.4	C
1'		121.8	C
2'	7.48 (br s)	113.7	CH
3'	10.46 (s, OH)	145.9	C
4'	10.87 (s, OH)	150.1	C
5'	6.91 (br d, 8.3)	116.2	CH
6'	7.46 (br d, 8.3)	119.4	CH
Xyl1"	4.96 (d, 7.8)	101.8	CH
2"	3.36-3.33°	73.2	CH
	5.40 (d, 4.2, OH)		
3"	3.26-3.33°	75.8	CH
	5.15 (d, 4.2, OH)		
4"	3.38-3.40°	69.5	CH
	5.12 (d, 4.2, OH)		
5"	3.81 (br d, 10.8)	65.9	CH ₂
	3.38-3.33°		

Note: Measured in DMSO- d_6 at 600 MHz. ° overlapping with other signals.

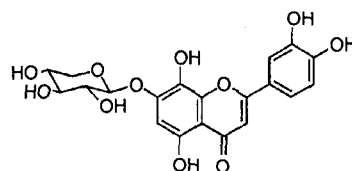


图 1 5, 8, 3', 4'-四羟基黄酮-7-O- β -D-木糖苷(1) 的结构
Fig. 1 Structure of 5, 8, 3', 4'-tetrahydroxyflavon-7-yl- β -xylopyranoside (1)

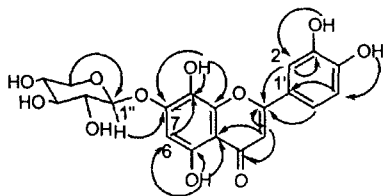


图2 5,8,3',4'-四羟基黄酮-7-O-β-木糖苷的HMBC
Fig. 2 Selected ^1H - ^1H COSY, HMBC correlations of 1

化合物2 无色针晶(甲醇), mp. 104 ~ 105 °C, 改良碘化铋钾反应及坂口反应皆呈阳性, 高效薄层板 GF₂₅₄点样, 于氯仿: 甲醇: 乙酸: 水(13: 5: 1: 1)中展开, 碘蒸气显色, 薄层色谱 R_f 为 0. 76; FTIR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3357 (-NH₂), 3178 (-NH-), 1680 (-C = CH-), 1645 (-C = NH); 核磁共振氢谱和碳谱的具体信号归属见表2。HRESI-MS m/z : 128. 1192 [M + H]⁺, 综合上述理化性质及结合 HRESI-MS, ^1H 、 ^{13}C NMR 数据, 推测其分子式为 C₆H₁₃N₃, 数据与文献报道^[6,7]基本一致, 故化合物2 鉴定为 3-甲基-2-丁烯基胍, 即山羊豆碱, 其化学结构见图3。

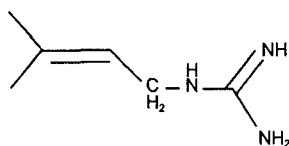


图3 3-甲基-2-丁烯基胍
Fig. 3 Structure of galegine

化合物3 无色针晶(甲醇), mp. 118. 5 ~ 120. 5 °C, 改良碘化铋钾反应及坂口反应皆呈阳性, 表明其为胍类生物碱; 高效薄层板 GF₂₅₄点样, 于氯仿: 甲醇: 乙酸: 水(13: 5: 1: 1)中展开, 碘蒸气显色, 薄层色谱 R_f 为 0. 82; FTIR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3428 (-OH), 3347 (-NH₂), 3157 (-NH-), 1680 (-C = CH-), 1645 (-C = NH); 核磁共振氢谱和碳谱的具体信号归属见表2。HRESI-MS m/z : 144. 1238 [M + H]⁺, 综合上述理化性质及结合 HRESI-MS, ^1H 、 ^{13}C NMR 数据和 X-Ray 单晶衍射图推测其分子式为 C₆H₁₃N₃O, 化合物3 被确定为反式-4-羟基-3-甲基-2-丁烯基胍, 即反式-4-羟基山羊豆碱。有文献报道曾在蝶形花科植物山羊豆(*Galega officinalis*)中分离得到4-羟基山羊豆碱^[8], 本文首次报道化合物3 的核磁共振数据, 并由 X-ray 射线单晶衍射确定其为反式-4-羟基山羊豆碱, 化学结构见图4, X-ray 射线单晶衍射见图5。

表2 3-甲基-2-丁烯基胍(2)和反式-4-羟基-3-甲基-2-丁烯基胍(3)的NMR数据

Table 2 NMR data of galegine (2) and trans-4-hydroxygalegine (3)

碳原子编号 No.	2		3	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	3. 69(d, 6. 4)	40. 1	3. 92(d, 6. 3)	38. 6
2	5. 17 br t	118. 9	5. 19 br t	120. 9
3		136. 3		140. 3
4	1. 69 br s	25. 2	3. 95 br d	60. 2
BH ₃ (-CH ₃)	1. 63 br s	17. 7	1. 71 s	14. 1
C = NH	7. 50 br s	156. 5	7. 76 br s	157. 4

Note: Recorded in DMSO- d_6 (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz).

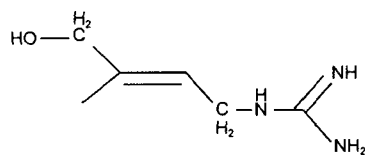


图4 反式-4-羟基-3-甲基-2-丁烯基胍
Fig. 4 Structure of trans-4-hydroxygalegine

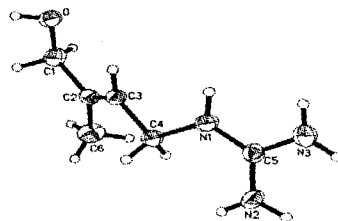


图5 反式-4-羟基山羊豆碱的 X-ray 单晶衍射结构图
Fig. 5 ORTEP diagram of trans-4-hydroxygalegine

化合物4 无色方晶(甲醇), mp. 161 ~ 162 °C, $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -0. 40 (10% 水溶液)。FTIR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3271 (-OH), 2935, 1462, 1378, 1088, 1026, 932, 713, 890, 624; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 3. 32 ~ 3. 60 (8H, m); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 63. 81, 69. 60, 71. 25; HRESI-MS m/z : 205. 0702 [M + Na]⁺, 其分子式为 C₆H₁₄O₆。以上数据与文献报道的甘露醇糖一致^[9], 故化合物4 鉴定为甘露醇糖。

化合物5 无色针晶(甲醇), 紫外下显蓝色荧光, mp. 230 ~ 232 °C。FTIR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3153 (-OH), 1706, 1680 (C = O), 1603, 1570, 1569 (C-O), 1508, 1455, 1408, 1324 (C-O), 1235 (C = O), 1136, 902, 837; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 6. 19 (d, J = 9. 4 Hz, H), 7. 93 (d, J = 9. 4 Hz, H), 7. 52 (d, J = 8. 4 Hz, H), 6. 78 (dd, J = 8. 4 Hz, H), 6. 70 (d, J =

0.16 Hz, H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 102.1, 111.3, 111.4, 113.1, 129.7, 144.5, 155.5, 160.4, 161.3。HRESI-MS m/z : 163.0396 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 其分子式为 $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3$ 。以上数据与文献报道的伞形花内脂一致^[10,11], 故化合物 5 鉴定为伞形花内脂。

化合物 6 黄色针晶(甲醇), mp. 310 ~ 315 °C。IR $_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3330 (-OH), 1663 (C=O), 1603, 1518, 1436, 1370, 1289, 1252, 1222 (C-O), 1050, 831, 711, 696, 558。红外数据与有机物谱图库槲皮素红外数据基本吻合^[12]; 与槲皮素标准品(Sigma 公司)混和点样共薄层, 于醋酸乙酯: 吡啶: 水: 甲醇(80: 20: 10: 5)中展开, 碘蒸气显色, 薄层色谱 R_f 为 0.78, 显示一个点, 故鉴定化合物 6 为槲皮素。

参考文献

- 1 The Editorial Board of the Flora of China of Chinese Academy of Sciences(中国科学院中国植物志编辑委员会). Flora of China (中国植物志). Vol. 1. Beijing: Science Press, 2004. 415.
- 2 Yang YC(杨永昌). Tibetan Medicine Glossary(藏药志). Xinning: Qinghai People's Publishing House, 1991. 263-264.
- 3 Markham KR, Franke A, Molloy Brian PJ, et al. Flavonoid profiles of new Zealand *libocedrus* and related genera. *Phytochemistry*, 1990, 29: 501-507.
- 4 Tsutomu N, Naoki I, Yuka I, et al. Neolignan and flavonoid glycosides in *Juniperus communis* var. *depressa*. *Phytochemistry*, 2004, 65: 207-213.
- 5 Zhang XF(张晓峰), Hu BL(胡伯林), Zhou BN(周炳南). Studies on the active constituents of Tibetan herb *Biebersteinia heterostemon* Maxim. . *Acta Pharm Sinica*, 1995, 30: 211-214.
- 6 Eichholzer JV, Lewis IAS, Macleod JK, et al. Galegine and a new dihydroxyalkylacetamide from *Verbesina encelooides*. *Phytochemistry*, 1982, 21: 97-99.
- 7 Delle MG, Rita VA, Delle MF, et al. Further hypotensive metabolites from *Verbesina caracasana*. *Bioorg & Med Chem Letters*, 1999, 9: 3249-3254.
- 8 Desvages G, Olomucki M. Research of guanidine derivative from *Galega officinalis* L. : galegine and hydroxygalegine. *Bull Soc Chim*, 1969, 9: 3229-3232.
- 9 Yang NY(杨念云), Duan JA(段金殿), Qian SH(钱世辉), et al. Studies on chemical constituents of *Tagetes erecta* L. . *J Shenyang Pharm Univ*(沈阳药科大学学报), 2003, 20: 258-259.
- 10 Khalighi-Sigaroodi F, Hadjiakhoondi A, Shafiee A, et al. Phytochemical analysis of *Ferulago bernardii* Tomk & M. pimen. *Pharm Mat Med(DARU)*, 2006, 14: 214-221.
- 11 Shi Y(施瑶), Li DX(李定祥), Min ZD(闵知大). Chemical constituents of *Zanthoxylum dimorphophyllum*. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2006, 37: 13-15.
- 12 SDBS (Spectral Database for Organic Compounds, NIMC) (有机物谱图库, 日本). [DB/OL]. SDBS NO 2621.