

藏药薰倒牛的活性物质研究*

张晓峰 胡伯林 周炳南**

(中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001;

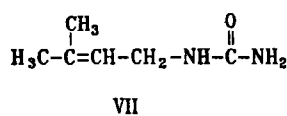
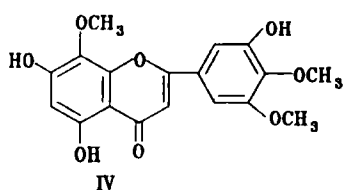
**中国科学院上海药物研究所, 新药研究国家重点实验室, 上海 200031)

摘要 从植物藏药薰倒牛(*Biebersteinia heterostemon* Maxim.)中首次分离得7个化合物,经化学方法和光谱解析鉴定为:β-谷甾醇(I)、胡萝卜甙(II)、伞形花内酯(III)、5,7,3'-三羟基-8,4',5'-三甲氧基黄酮(IV)、木犀草素-7-葡萄糖甙(V)、槲皮素-7-葡萄糖甙(VI)和N-3-甲基-2-丁烯基脲(VII)。其中IV和VII是二个新的天然产物。药理实验表明化合物VII有镇痛、降压等活性。

关键词 薰倒牛; 黄酮甙; 5,7,3'-三羟基-8,4',5'-三甲氧基黄酮; N-3-甲基-2-丁烯基脲

藏药薰倒牛(*Biebersteinia heterostemon* Maxim.)是牻牛儿苗科植物,为青藏高原特有植物之一。生于海拔2200~3700米的路边、河滩、山坡等地。藏药名为明见赛保,苦、辛、寒,治痈疖、丹毒、喉痛、胃痛、全身水肿和中风等症。全草醇提物药理实验有镇静、镇痛、解痉挛和短时的降压作用^[1]。为了寻找其生理活性物质,我们对该植物进行了初步化学成分的分离鉴定及部分药理工作。首次从中分离鉴定出7个化合物,经化学和光谱解析为:β-谷甾醇(β-sitosterol, I),胡萝卜甙(daucosterol, II),伞形花内酯(umbelliferone, III),5,7,3'-三羟基-8,4',5'-三甲氧基黄酮(5,7,3'-trihydroxy-8,4',5'-trimethoxyflavone, IV),木犀草素-7-葡萄糖甙(glucoluteolin, V),槲皮素-7-葡萄糖甙(quercimeritrin, VI),N-3-甲基-2-丁烯基脲(N-3-methyl-2-butenyl urea, VII)。其中IV与VII是二个新的天然产物。化合物VII药理试验:用血管条筛选有钙拮抗剂样作用,体外30 μg·ml⁻¹有效;镇痛,体内10 mg·kg⁻¹有效;对大鼠戊巴比妥钠10 mg·kg⁻¹麻醉颈动脉插管,测血压有降压作用,并有一定增强免疫功能的作用。

化合物III, V和VI的mp, IR, MS和¹HNMR光谱数据与已知化合物对照及文献报道^[2~4]数据一致。



化合物IV为黄色针状晶, mp 248~250 C, HCl-Mg反应, FeCl₃反应及 AlCl₃反应均为阳性。UVλ_{max}^{MeOH} nm: 275, 300, 322; 加 MeOH + AlCl₃与 MeOH + AlCl₃/HCl 比较无变化, 提示化合物IV

本文于1994年6月23日收到。

*中国科学院上海药物研究所新药研究国家重点实验室资助课题

的5位可能有羟基;加 MeOH+NaOAc 带 II 红移9 nm,提示7位有羟基。质谱给出 $m/z(\%)$: 360 (M^+ , 54), 345 ($M^+ - 15$, 100), 结合元素分析确定分子式为 $C_{18}H_{16}O_8$ 。核磁共振氢谱(DMSO- d_6 , TMS 为内标)显示三个甲氧基(OCH_3) δ 3.89, 3.88, 3.78和三个羟基(OH) δ 12.55, 10.82, 9.80, 其黄酮化合物为六氧取代类型,另外显示两个单峰氢质子和一对间位氢质子($J=2.1$ Hz)信号。按黄酮类化合物羟基的经验归属 δ 12.55和10.82两个羟基应为 A 环的5位和7位取代,结合质谱分子离子峰与碎片峰丰度的比, A 环为5,7-二羟基-8-甲氧基取代^[5,6],该化合物 A 环的碳谱数据与文献^[7]报道完全吻合。IV 在硅胶薄层板上显暗紫色斑点,熏氨后颜色不变,说明4'位没有游离羟基,假如4'位有羟基取代,则应为4'-羟基-3',5'-二甲氧基或4'-羟基-2',6'-二甲氧基,那么 B 环应有两组化学环境相同的碳谱信号存在^[8],实际测得 B 环取代无对称性。根据以上分析,以及与氢谱和碳谱数据对照解析(详见实验部分),B 环为3'-羟基-4',5'-二甲氧基,该化合物的结构为5,7,3'-三羟基-8,4',5'-三甲氧基黄酮。以上推断被 NOE 测定结果证实(见图1)。

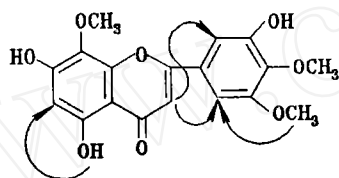


Fig 1 NOE enhancement data of compound IV.

化合物 VII 为无色针状晶, mp 104~105 C。对双缩脲反应呈阳性。IR (KBr) cm^{-1} : 示有氨基(3400), 酯基(1670)和酰胺键(1625和1590)。FAB-MS m/z 128(M^+), 结合元素分析确定分子式为 $C_6H_{12}N_2O$ 。 1H NMR 示有一个氨基 [δ 7.35(2H, br), D_2O 交换消失], 一个亚氨基 [δ 3.15(1H, s), D_2O 交换消失], 二个甲基 [δ 1.70(3H, s)和1.75(3H, s)], 一个烯质子 [δ 5.30(1H, brt, $J=6.9$ Hz)] 和一个亚甲基 [δ 3.92(2H, d, $J=6.9$ Hz)]。 ^{13}C NMR 示有一个羰基碳 (δ 158.60), 二个甲基碳 (δ 25.61, 17.89), 二个双键碳 (δ 139.22, 119.03) 和一个亚甲基 (δ 40.40)。表明 VII 为 N-取代的脒, 其取代基为3-甲基-2-丁烯基。综上所述 VII 的结构定为3-甲基-2-丁烯基脒。FAB-MS 给出的碎片离子 m/z 69($CH_3-C=CH-CH_2$) 和60($H_2N-C-NH_2$) 证实了上述推断。

实验部分

熔点用 Kofler 显微熔点仪测定, 温度未校正。红外光谱用 Perkin-Elmer 599B 型红外分光光度计(KBr 压片)测定。紫外光谱用 Shimadzu UV-250型紫外光谱仪测定。质谱用 JMS-DX-302 质谱仪测定。核磁共振谱(1H NMR 和 ^{13}C NMR)用 Bruker AM-400核磁共振仪(TMS 内标)测定。柱层析用硅胶(100~200, 200~300 目)及薄层层析用硅胶 G 均为青岛海洋化工厂产品, 柱层析用聚酰胺(14~30目)为上海警备区后勤部加工厂产品, 葡聚糖凝胶(Sephadex LH-20)为瑞典产品。

薰倒牛全草采自青海省湟源县, 于花期采集。

提取与分离

阴干的实验样品3.5 kg, 切碎, 80% EtOH 热回流3次, 合并提取液后减压浓缩得流浸膏800 g。将浸膏 H_2O 稀释后过滤, 滤液分别用 $CHCl_3$ 和 n -BuOH 萃取。 $CHCl_3$ 萃取部220 g 行硅胶柱层析, 以 $CHCl_3$ -MeOH(10:1; 7:3)洗脱, 硅胶 G 薄层检查, 合并 Rf 值相同部分, 再行细硅胶柱层

析与 Sephadex LH-20 柱层析纯化, 得化合物 I (50 mg), II (65 mg), III (25 mg) 和 IV (80 mg)。n-BuOH 萃取部分 580 g 行聚酰胺柱层析, 水洗后用 H₂O—EtOH (7:3; 1:9) 洗脱, 合并 R_f 值相同部分, 再行 Sephadex LH-20 柱层析纯化, 得化合物 V (30 mg), IV (35 mg) 和 VII (150 mg)。

结构鉴定

化合物 I 白色针晶, mp 137~139 C (EtOH)。IR (KBr) cm⁻¹: 3400, 2948, 1700, 1465。与对照品 β-sitosterol 混合 mp 不下降, IR 谱图完全一致。

化合物 II 白色颗粒结晶, mp 298~300 C (EtOH)。IR (KBr) cm⁻¹: 3350, 2875, 1455, 1365, 1160, 1055。与对照品 daucosterol 混合 mp 不下降, IR 谱图完全一致。

化合物 III 白色无定形晶, mp 234~235 C (abs. EtOH)。EI-MS m/z: 162 (M⁺), 134 (M⁺ - CO), 106 (M⁺ - 2 × CO), 105, 78, 51。IR (KBr) cm⁻¹: 3150 (OH), 1710, 1680 (C=O), 1605, 1570, 1505 (芳环), 1405, 1320, 1235, 1130, 840。¹H NMR (CDCl₃) δ ppm: 7.88 (1H, d, J=9 Hz, 4-H), 6.16 (1H, d, J=9 Hz, 3-H), 7.52 (1H, d, J=8 Hz, 5-H), 6.83 (1H, dd, J=8, 2.5 Hz, 6-H), 6.74 (1H, d, J=2.5 Hz, 8-H), 10.0 (1H, s, OH)。

化合物 IV 黄色针状晶, mp 248~250 C (abs. EtOH)。HCl-Mg 反应和 FeCl₃ 反应均为阳性, AlCl₃ 反应阳性。元素分析 C₁₈H₁₆O₈。实测值%: C 59.96, H 4.38; 计算值%: C 60.00, H 4.44。EI-MS m/z (%): 360 (M⁺, 54), 345 (M⁺ - 15, 100), 330 (20), 317 (22), 179 (10), 139 (14)。UV λ_{max}^{MeOH} nm (log ε): 276 (4.15), 300 (4.05), 320 (4.03); MeOH + AlCl₃ 与 MeOH + AlCl₃/HCl 比较无变化: 286 (4.12), 310 (4.10), 342 (4.08); MeOH + NaOAc: 285 (4.18), 300 (4.09); MeOH + NaOAc/H₃BO₃: 276 (4.10), 300 (4.03), 320 (4.00)。IR (KBr) cm⁻¹: 3370 (br, OH), 1655 (C=O), 1585, 1500 (芳环), 1370, 1240, 1160, 1100, 1020。¹H NMR (DMSO-d₆) δ ppm: 7.22 (1H, d, J=2.1 Hz, 2'-H), 7.18 (1H, d, J=2.1 Hz, 6'-H), 6.98 (1H, s, 3-H), 6.30 (1H, s, 6-H), 12.55, 10.82, 9.80 (各 3H, s, 5, 7, 3'-OH), 3.78, 3.88, 3.89 (各 3H, s, 8, 4', 5'-OCH₃)。 ¹³C NMR (DMSO-d₆) δ ppm: 181.90 (C-4), 162.91 (C-2), 156.93 (C-7), 155.86 (C-5), 153.55 (C-5'), 150.80 (C-3'), 139.68 (C-4'), 127.70 (C-8), 125.85 (C-1'), 107.55 (d, C-3), 104.53 (C-5'), 149.52 (C-9), 103.63 (C-10), 102.09 (C-2'), 98.87 (C-6), 61.08, 60.03, 56.05 (3 × OCH₃, C-5', C-4', C-8)。

化合物 V 黄色无定型晶, mp 245~249 C (MeOH)。FAB-MS m/z: 446 (M⁺), 286 (M⁺ - Glu), 258, 153, 149。UV λ_{max}^{MeOH} nm: 255, 267, 348。IR (KBr) cm⁻¹: 3450 (br, OH), 1660 (C=O), 1600, 1595 (芳环), 1380, 1270, 1180, 1080。¹H NMR (DMSO-d₆) δ ppm: 6.78 (1H, d, J=1.6 Hz, 8-H), 6.44 (1H, d, J=1.6 Hz, 6-H), 6.75 (1H, s, 3-H), 6.91 (1H, d, J=8.4 Hz, 5'-H), 7.45 (1H, dd, J=2.0, 8.4 Hz, 2'-H), 7.46 (1H, d, J=2.0 Hz, 6'-H), 5.08 (1H, d, J=7.3 Hz, 1''-H), 3.15~3.75 (6H, 葡萄糖质子)。

化合物 VI 黄色无定型晶, mp 225 C (MeOH)。EI-MS m/z: 302 (M⁺ - Glu), 274, 273, 168。IR (KBr) cm⁻¹: 3240~3450 (br, OH), 1700 (C=O), 1605, 1575, 1510 (芳环), 1420, 1310, 1050。¹H NMR (DMSO-d₆) δ ppm: 7.48 (2H, d, J=8.0 Hz, 2', 6'-H), 6.92 (1H, d, J=8.0 Hz, 5'-H), 6.72 (1H, s, 8-H), 6.58 (1H, s, 6-H), 4.8 (1H, d, J=7.5 Hz, 1''-H), 3.2~3.8 (6H, 葡萄糖质子); 其水解甙元的¹H NMR 谱与标准品槲皮素的¹H NMR 谱完全一致。

化合物 VII 无色针状晶, mp 104~105 C (MeOH)。双缩脲反应呈阳性。FAB-MS m/z (%): 128(M^+ , 100), 69(8), 60(20)。元素分析 $C_6H_{12}N_2O$ 。实测值%: C 56.25, H 9.38, N 21.46; 计算值%: C 56.75, H 9.18, N 21.85。IR (KBr) cm^{-1} : 400(氨基), 1670(酯羧基), 1625, 1590(酰胺基), 1385, 1340, 1170, 600。 1H NMR ($CDCl_3$) δ ppm: 7.35(2H, br, NH_2 , D_2O 交换消失), 3.15(1H, s, NH , D_2O 交换消失), 1.75, 1.70(各3H, s, CH_3), 5.3(1H, brt, $J=6.9$ Hz, $C=CH-$), 3.92(2H, d, $J=6.9$ Hz, $-CH_2-$)。 ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ ppm: 158.60($C=O$), 25.61, 17.89($2 \times CH_3$), 139.22, 119.03($C=C$), 40.40(CH_2)。

致谢 本所植化室王生新副研究员鉴定原植物品种并参加部分研究工作, 中国科学院上海药物研究所分析室代测核磁共振谱。

参 考 文 献

- 1 中国科学院西北高原生物研究所. 藏药志. 西宁: 青海人民出版社, 1991:263
- 2 赵玉英, 李广义. 绵头雪莲花化学成分的研究. 中草药, 1986, 17:296
- 3 中国科学院上海药物研究所. 黄酮体化合物鉴定手册. 北京: 科学出版社, 1981:449,632
- 4 中国科学院自然科学名词编订室. 汉译海氏有机化合物辞典. IV册. 北京: 科学出版社, 1966:438
- 5 Nielsen JG. Flavonoids of *Lotus* L. III. Mass spectrometric detection of 6- and 8-methoxy groups in flavonols. *Acta Chem Scand*, 1970, 24:2665
- 6 Goudard M, Favre-Bonvin J, Tebreton P. Differentiation des dihydroxy-5, 7 methoxy-6 ou 8 flavones flavonols et methyl-3 flavonols par spectrometrie de masse. *Phytochemistry*, 1978, 17:145
- 7 刘永隆, 宋万志, 季庆义等. 甘肃黄芩中的新黄酮—甘黄芩甙元的结构. 药学报, 1984, 19:830
- 8 恭运淮. 天然有机化合物的 ^{13}C 核磁共振化学位移. 昆明: 云南科技出版社, 1986:163~165

STUDIES ON THE ACTIVE CONSTITUENTS OF TIBETAN HERB *BIEBERSTEINIA HETEROSTEMON* MAXIM.

XF Zhang, BL Hu and BN Zhou*

(Northwest Plateau Institute of Biology, Academia Sinica, Xining 810001; * State Key Laboratory of Drug Research, Shanghai Institute of Materia Medica, Academia Sinica, Shanghai 200031)

ABSTRACT Seven compounds have been isolated from the Tibetan herb *Biebersteinia heterostemon* Maxim. . On basis of IR, UV, NMR, MS spectral data and chemical methods, their structures were identified as: β -sitosterol (I), daucosterol (II), umbelliferone (III), 5,7,3'-trihydroxy-8,4',5'-trimethoxyflavone (IV), glucoluteolin (V), quercimeritrin (VI) and *N*-3-methyl-2-butenyl urea (VII). Compounds IV and VII are two new natural products. Compound VII is an active constituent. In pharmacological tests it showed some hypotensive, analgesic and immunity stimulating effects.

Key words *Biebersteinia heterostemon* Maxim.; Flavonoid glucosides; 5,7,3'-trihydroxy-8,4',5'-trimethoxyflavone; *N*-3-Methyl-2-butenyl urea