

天然产物研究中的掺杂组分

——以毛鼠刺为例

徐芳芳*, 罗国勇#

贵州中医药大学药学院, 贵州 贵阳

收稿日期: 2023年2月18日; 录用日期: 2023年3月20日; 发布日期: 2023年3月29日

摘要

目的: 以毛鼠刺为例, 分析总结天然产物研究中掺杂组分产生的原因。方法: 采用色谱技术进行化学成分研究, 基于波谱数据分析化合物结构, 通过文献分析总结掺杂组分产生的原因。结果: 从毛鼠刺枝叶的乙酸乙酯部位中共分离鉴定5个掺杂组分, 分别为吲哚美辛(1)、吲哚美辛甲酯(2)、吲哚美辛乙酯(3)、邻苯二甲酸二丁酯(4)、对苯二甲酸二(2-乙基)己酯(5)。结论: 化合物1~5均为掺杂组分, 推测化合物1~3主要为农残引入, 4~5为主要为提取过程中引入。

关键词

掺杂组分, 毛鼠刺, 吲哚美辛, 苯二甲酸酯

Doped Components in Study of Natural Products

—A Case Study of *Itea Indochinensis*

Fangfang Xu*, Guoyong Luo#

School of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

Received: Feb. 18th, 2023; accepted: Mar. 20th, 2023; published: Mar. 29th, 2023

Abstract

Objective: To analyze and summarize the reasons for the generation of doped components in the natural products study of *Itea indochinensis*. **Methods:** Various chromatographic methods were ap-

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 徐芳芳, 罗国勇. 天然产物研究中的掺杂组分[J]. 药物资讯, 2023, 12(3): 102-106.

DOI: 10.12677/pi.2023.122013

plied during separation process; the structures were elucidated based on extensive spectral analyses; the reasons for the production of doped components were proposed via literature analyses. Results: Five compounds were isolated and identified as indometacin (1), indometacin methyl ester (2), indometacin ethyl ester (3), dibutyl phthalate (4), terephthalic acid bis (2-ethyl-hexyl) ester (5) from the EtOAc fraction of *I. indochinensis* ethanol extract. Conclusion: Compounds 1~5 were determined as doped components from *I. indochinensis*. It was speculated that compounds 1~3 were introduced by pesticide residues and 4~5 were mainly introduced during the extraction process.

Keywords

Doped Components, *Itea Indochinensis*, Indometacin, Phthalate

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

我国中药民族药资源丰富。据统计,我国的中药资源种类有 12,807 种,药用植物占全部种类的 87%,共计 11,146 种,其中民族药约为 85% [1] [2]。中药民族药所含的次生代谢产物,是其发挥功效的主要物质基础。因此,阐明药效物质基础对明确中药民族药的科学内涵意义重大,并有利于促进中药民族药的现代化进程[3]。然而,在中药民族药的药效物质基础研究过程中,往往发现一些非天然成分的存在。一方面,由于化合物本身的不稳定性,以及分离过程中酸碱处理、硅胶柱层析等操作,往往会导致非天然产物的发现,如从三七茎叶中发现的人参皂苷 C-Mx,就被认为是由于微生物转化而得到的人工产物[4];另一方面,人为或非人为因素也会导致非天然产物的出现。该类成分往往被视为掺杂组分,如降糖药山芪参胶囊中发现了盐酸丁二胍的存在,是不法商家为提升中成药的降糖疗效人为添加的,属于违法行为[5];郎天琼在民族药牛尾巴草中发现的邻苯二甲酸酯衍生物,作者指出因药材浸泡提取过程中采用塑料桶当容器,这可能是掺杂成分出现的主要原因[6],分析原因可能是由于药材在浸提过程中以塑料桶为容器进行样品提取,而在分离过程中使用的溶剂为塑料桶进行溶剂储存,可能是引入苯二甲酸酯类掺杂成分的主要原因。因此,在天然产物研究过程中,客观评价所得成分的人工属性或掺杂属性,有利于准确阐明中药民族药的药效物质基础。

毛鼠刺 *Itea indochinensis* Meer 俗名黔鼠刺,为虎耳草科鼠刺属植物,主要分布于广东、广西、贵州、云南等地,其茎用于风湿痛、跌打损伤[7]。目前,关于毛鼠刺的化学成分研究尚未见报道。因此,为促进该药用植物资源的有效利用,本实验室对毛鼠刺枝叶乙醇提取物的乙酸乙酯部位开展了化学成分研究,并从中分离鉴定了 5 个掺杂组分。同时,结合文献分析,对所得掺杂成分的产生原因进行了讨论。

2. 材料

2.1. 主要仪器

Bruker Avance III 600 MHz 和 Avance Neo 400 MHz 核磁共振波谱仪(德国 Bruker 公司,TMS 为内标); N-1300D 旋转蒸发仪(东京理化器械株式会社); ZF-1 三用紫外分析仪(郑州良表仪器设备有限公司); ME204102 电子天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司); HDG-9240A 电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司); DL5318 可调温热风枪(宁波-得力集体有限公司)。

2.2. 主要药品与试剂

实验用毛鼠刺于 2019 年 9 月采自湖南省通道县, 经贵州中医药大学王志威副教授鉴定为虎耳草科鼠刺属植物毛鼠刺 *Itea indochinensis* Meer, 凭证样品(SC-201909)保存于贵州中医药大学中药民族药重点实验室; Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶(GE Healthcare Bio Sciences AB 公司); MCI 树脂(东京 - 日本三菱化学); 柱色谱硅胶及薄层色谱 GF₂₅₄ 板均购自青岛海洋化工有限公司; 其余试剂均为工业级, 经蒸馏处理后使用。

3. 方法与结果

3.1. 提取分离

取干燥的毛鼠刺枝叶 30 Kg 粉碎后, 用适量 95% EtOH 常温浸提 3 次, 每次 7 d。完毕, 合并提取液后减压浓缩, 得总浸膏 3.58 Kg。将总浸膏分散于适量水中稀释成悬浊液, 使用等比例石油醚、乙酸乙酯、正丁醇依次萃取, 减压浓缩后分别得到石油醚部位浸膏 40 g、乙酸乙酯部位浸膏 670 g、正丁醇部位浸膏 40 g。

取乙酸乙酯部位经硅胶柱色谱分离, 以石油醚 - 乙酸乙酯、乙酸乙酯 - 二氯甲烷两个溶剂系统进行梯度洗脱, 通过 TLC 检测后合并浓缩, 得到 9 个组分 Fr.1~9。Fr.4 反复经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱、硅胶柱色谱、制备薄层色谱分离得到化合物 **2** (4.3 mg)、**3** (32 mg)、**4** (4.9 mg)。Fr.5 经 MCI 柱色谱分离, 以甲醇 - 水梯度洗脱, 得到 8 个组分 Fr.5.1~5.8。Fr.5.4 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离, 以二氯甲烷 - 甲醇(1:1)等度洗脱, 得到 3 个组分 Fr.5.4.1~5.4.3, Fr.5.4.2 反复经硅胶柱色谱分离, 得到化合物 **5** (14.3 mg)。Fr.6 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离, 以二氯甲烷 - 甲醇(1:1)等度洗脱, 得到 11 个组分 Fr.6.1~6.11。Fr.6.5 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离, 以二氯甲烷 - 甲醇(1:1)等度洗脱, 自流出分中析出微黄色固体, 为化合物 **1** (78.3 mg)。

3.2. 结构鉴定

化合物 **1**: 微黄色粉末; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃), 7.47 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-2/6), 6.95 (1H, d, *J* = 2.5 Hz, H-12), 6.85 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-9), 6.67 (1H, dd, *J* = 9.0, 2.5 Hz, H-10), 3.83 (3H, s, H-19), 3.70 (2H, s, H-16), 2.39 (3H, s, H-18); ¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 175.0 (C-17), 168.6 (C-7), 156.3 (C-11), 139.5 (C-1), 136.4 (C-15), 133.9 (C-4), 131.3 (C-3/5), 130.9 (C-8), 130.6 (C-13), 129.3 (C-2/6), 115.2 (C-9), 112.0 (C-14), 111.9 (C-10), 101.3 (C-12), 55.9 (C-19), 29.9 (C-16), 13.5 (C-18)。以上数据与文献[8]报道基本一致, 故鉴定化合物 **1** 为吡啶美辛。

化合物 **2**: 白色粉末; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.67 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3/5), 7.47 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-2/6), 6.95 (1H, d, *J* = 2.5 Hz, H-9), 6.85 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-12), 6.67 (1H, dd, *J* = 9.0, 2.5 Hz, H-10), 3.84 (3H, s, H-20), 3.70 (3H, s, H-18), 3.67 (2H, s, H-16), 2.39 (3H, s, H-19); ¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 171.5 (C-17), 168.5 (C-7), 156.2 (C-11), 139.4 (C-1), 136.1 (C-15), 134.0 (C-4), 131.3 (C-3/5), 130.9 (C-13), 130.8 (C-8), 129.3 (C-2/6), 115.1 (C-9), 112.6 (C-10), 111.7 (C-14), 101.4 (C-12), 55.9 (C-20), 52.3 (C-18), 30.3 (C-16), 13.5 (C-19)。以上数据与文献[8]报道基本一致, 故鉴定化合物 **2** 为吡啶美辛甲酯。

化合物 **3**: 白色粉末; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.66 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-3/5), 7.47 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-2/6), 6.97 (1H, d, *J* = 2.5 Hz, H-9), 6.87 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-12), 6.67 (1H, dd, *J* = 9.0, 2.5 Hz, H-10), 4.16 (2H, q, *J* = 7.1 Hz, H-18), 3.84 (3H, s, H-21), 3.65 (2H, s, H-16), 2.38 (3H, s, H-20), 1.26 (3H, t, *J* = 7.1 Hz, H-19); ¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 171.0 (C-17), 168.5 (C-7), 156.2 (C-11), 139.4 (C-1), 136.1 (C-15), 134.1 (C-4), 131.3 (C-3/5), 130.9 (C-13), 130.8 (C-8), 129.3 (C-2/6), 115.1 (C-9), 112.9 (C-10), 111.8 (C-14), 101.4 (C-12), 61.2 (C-18), 55.8 (C-21), 30.6 (C-16), 14.4 (C-19), 13.5 (C-20)。以上数据与文献[8]报道基

本一致, 故鉴定化合物 **3** 为吡啶美辛乙酯。

化合物 **4**: 无色油状物; $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 7.71 (1H, dd, $J = 5.7, 3.3$ Hz, H-2), 7.52 (1H, dd, $J = 5.7, 3.3$ Hz, H-3), 4.30 (2H, t, $J = 6.7$ Hz, H-6), 1.74 – 1.68 (2H, m, H-7), 1.47 – 1.40 (2H, m, H-8), 0.95 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, H-9); $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3) δ 167.8 (C-4); 132.4 (C-1); 131.0 (C-3); 129.0 (C-2); 65.7 (C-6); 0.7 (C-7); 19.4, 19.3 (C-8); 13.8 (C-9)。以上数据与文献[9]报道基本一致, 故鉴定化合物 **4** 为邻苯二甲酸二丁酯。

化合物 **5**: 黄色油状物; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.09 (4H, s, H-2/3/4/6), 4.27 (4H, m, H-1'), 1.73 (2H, m, H-2'), 1.52 – 1.28 (16H, m, H-3'/4'/5'/7'), 0.95 (6H, t, $J = 7.5$ Hz, H-8'), 0.90 (6H, t, $J = 7.0$ Hz, H-6'); $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3) δ 166.1 (-COO-), 134.4 (C-1/4), 129.6 (C-2/3/5/6), 67.9 (C-1'), 39.0 (C-2'), 30.7 (C-3'), 29.1 (C-4'), 24.1 (C-7'), 23.1 (C-5'), 14.2 (C-6'), 11.2 (C-8')。以上数据与文献[10]报道基本一致, 故鉴定化合物 **5** 为对苯二甲酸二(2-乙基)己酯。

4. 讨论

从毛鼠刺乙醇提取物的乙酸乙酯部位中共分离鉴定掺杂组分 5 个, 包括吡啶美辛及其衍生物 3 个和苯二甲酸酯类衍生物 2 个。其中, 吡啶美辛又名消炎痛, 是典型的非甾体类抗炎药, 用于治疗关节炎、癌性疼痛和痛风等疾病[11]。进一步的文献调研发现, 吡啶美辛对植物病原真菌具有良好的抑制活性, 具有高效低毒的优点, 适用于植物病害化学防治的要求, 具有制备成植物病原菌杀菌剂的潜力[12]。尽管分离纯化步骤繁杂, 涉及面广, 但不排除在毛鼠刺中发现的吡啶美辛, 可能为添加了吡啶美辛的植物病原菌杀菌剂的残留。此外, 吡啶美辛甲酯和吡啶美辛乙酯的出现可能与分离过程中使用甲醇和乙醇有关[13][14]。

苯二甲酸酯类物质是公认的工业增塑剂[15]。尽管该类成分时常出现在天然产物研究的报道中[16], 但从毛鼠刺中分离鉴定的 2 个该类衍生物邻苯二甲酸二丁酯和对苯二甲酸二(2-乙基)己酯应当被定义为掺杂组分。以塑料桶为容器进行样品提取和溶剂储存, 可能是引入苯二甲酸酯类掺杂成分的主要原因。

基金项目

国家自然科学基金地区项目(81860764); 贵州中医药大学学术新苗培养基创新探索专项(黔科合平台人才[2017]5735 号-23); 贵州省高层次人才创新创业择优资助项目(高层次人才择优资助合同(2021)07 号)。

参考文献

- [1] 张惠源, 赵润怀, 袁昌齐, 等. 我国的中药资源种类[J]. 中国中药杂志, 1995(7): 387-390.
- [2] 谭宁华. 云南中药和民族药研发及启示[C]. 第九届全国药用植物及植物药学术研讨会论文集. 2010: 31.
- [3] 陈凯先, 张卫东. 中药现代化与中药创新[J]. 中国食品药品监管, 2022(8): 4-13.
- [4] 韩颖. 壤微生物转化三七茎叶资源化利用的研究[D]: [博士学位论文]. 沈阳: 东北大学, 2008.
- [5] 黄宝斌, 许明哲, 杨青云, 等. 中成药和中药材添加化学物质补充检验方法分析[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(9): 1701-1708.
- [6] 郎天琼, 陈飞, 王剑, 等. 民族药牛尾巴菜的化学成分研究[J]. 中国民族民间医药, 2018, 27(21): 40-42.
- [7] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1995: 274.
- [8] 柳亚玲, 陈泳, 李正全, 等. 吡啶美辛的波谱学数据与结构确证[J]. 广东化工, 2018, 45(19): 44-46.
- [9] 路新华, 张金娟, 梁鸿, 等. 当归化学成分的研究[J]. 中国药学(英文版), 2004, 13(1): 1-3.
- [10] 徐燕, 田沙沙, 朱华结. 海洋真菌灰黄青霉 *Penicillium griseofulvum* 次级代谢产物中一个新的内酯醛结构[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(4): 559-561.
- [11] 姜伟化, 王东凯, 王翔林. 吡啶美辛新剂型研究进展[J]. 中国新药杂志, 2012, 21(24): 2899-2902.

- [12] 梁文星, 郑邦贤, 王光远, 等. 吡啶美辛在制备用于防治由植物病原菌引起的植物病害的杀菌剂中的用途[P]. 中国专利, 201610190702.X. 2016.
- [13] 陈赟, 田景奎, 程翼宇. 猫爪草化学成分的研究(II) [J]. 中国药学杂志, 2005(18): 1373-1375.
- [14] 王彦志, 刘阳, 赵会丽, 等. 九节菖蒲中的酚酸类化合物[J]. 中国药学杂志, 2016, 51(10): 798-801.
- [15] 毛娜. 增塑剂的发展及应用[J]. 广州化工, 2013, 41(16): 35-37.
- [16] 李敏. 川滇蔷薇根、叶化学成分研究[D]: [硕士学位论文]. 成都: 四川师范大学, 2013.