



## 1 材料

### 1.1 仪器和试剂

X4 型显微熔点测定仪 (北京第三光学仪器厂, 温度计未校正); UV-3010 紫外可见双光束扫描分光光度计 (日本日立集团); IR-27G 型红外分光光度计 (日本岛津公司); ARX-300 型核磁共振光谱仪、ARX-600 型核磁共振光谱仪 (瑞士 Bruker 公司); LCQ 型液相色谱-质谱联用仪 (美国 Angilent 公司); BP 211D 型电子分析天平 (德国赛多利斯公司); JASCO-20 旋光仪 (日本 JASCO 公司); J805 型圆二色光谱仪 (日本 JASCO 公司); Diaion HP20 大孔吸附树脂 (日本三菱化学公司); Sephadex LH-20 (瑞典 Pharmacia 公司); 薄层层析用硅胶 GF254, 200~300 目柱色谱硅胶 (青岛海洋化工厂); 纯净水 (杭州娃哈哈集团有限公司); 其他试剂均为分析纯, 由天津市科密欧化学试剂有限公司生产。

### 1.2 厌氧培养液

取 37.5 mL 溶液 A (0.78%  $K_2HPO_4$ ), 37.5 mL 溶液 B [0.47%  $KH_2PO_4$ , 1.18% NaCl, 1.20%  $(NH_4)_2SO_4$ , 0.12%  $CaCl_2$ , 0.25%  $MgSO_4 \cdot H_2O$ ], 0.5 g L-半胱氨酸, 25% L-抗坏血酸 2 mL, 8%  $Na_2CO_3$  50 mL, 牛肉膏 1 g, 蛋白胨 1 g 和营养琼脂 1 g, 加蒸馏水至 1 L, 最后调 pH 值 7.5~8.0<sup>[3]</sup>。

## 2 实验方法

### 2.1 离体实验

取青年健康志愿者的新鲜粪便 5 g, 加入厌氧培养液 100 mL, 混匀, 待固体完全沉淀时, 倾析出上清液, 即得到肠菌培养液。取此新鲜配制的肠菌培养液, 向其中加入浓度为 615 g/L 的牛蒡苷置于 37°C 厌氧培养罐中培养 24 h。

### 2.2 样品处理

24 h 后倾出全部样品液, 过滤, 滤液用水饱和正丁醇萃取, 萃取液减压蒸干。

### 2.3 样品分离

正丁醇萃取物加水混悬, 经 HP-20 大孔吸附树脂柱, 依次用水、50% 甲醇水溶液、甲醇洗脱。其中, 甲醇洗脱物通过 Sephadex LH-20 上用甲醇-水 (6:4→10:0) 梯度洗脱, 洗脱物通过硅胶色谱柱用氯仿-甲醇 (100:0→100:4) 梯度洗脱, 得到 67 个流分 (10 mL/流分), 以薄层色谱法 (thin-layer chromatography, TLC) 检测合并相同流分。从流分 12~28 中分离并纯化得到化合物 I (213 mg), 从流分 34~47 分离并纯化得到化合物 II (135 mg), 从流分 55~64 分离并纯化得到化合物 III (63 mg)。

## 3 结果与讨论

化合物 I: 白色无定形粉末 (丙酮-石油醚), mp 110~112°C.  $[\alpha]_D^{25}$ -52.5°. UV $_{\lambda_{max}}$  (MeOH): 206, 228, 278 nm. IR(KBr)  $cm^{-1}$ : 3 450 (羟基), 1 778 ( $\gamma$ -内酯羰基) 和 1 600, 1 518 (芳环).  $^1H$ -NMR ( $CD_3OD$ , TMS)  $\delta$ : 6.61 (1H, s, H-2), 6.59 (1H, s, H-5), 6.82 (1H, d, J=8.6 Hz, H-6), 2.93 (1H, dd, J=5.3 Hz, 14 Hz, H-7 $\alpha$ ), 2.85 (1H, dd, J=7.3 Hz, 14 Hz, H-7 $\beta$ ), 2.70 (1H, m, H-8), 6.75 (1H, d, J=1.4 Hz, H-2'), 7.05 (1H, d, J=8.2 Hz, H-5'), 6.65 (1H, dd, J=1.4 Hz, 8.2 Hz, H-6'), 2.58 (2H, m, H-7'), 2.52 (1H, m, H-8'), 4.20 (1H, t, J=8.5 Hz, H-9' $\alpha$ ), 3.96 (1H, t, J=8.5 Hz, H-9' $\beta$ ), 3.75 (1H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3.79 (1H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3.79 (1H, s, -OCH<sub>3</sub>), 4.85 (1H, d, J=7.0 Hz, Glc-1), 3.38~3.86 (5H, Glc).  $^{13}C$ -NMR ( $CD_3OD$ , TMS)  $\delta$ : 124.8 (C-1), 104.2 (C-2), 141.0 (C-3), 137.4 (C-4), 105.4 (C-5), 113.6 (C-6), 26.0 (C-7), 38.2 (C-8), 171.9 (C-9), 123.3 (C-1'), 103.6 (C-2'), 141.2 (C-3'), 139.7 (C-4'), 108.4 (C-5'), 112.7 (C-6'), 29.5 (C-7'), 33.1 (C-

8'), 63.5 (C-9'), 47.0, 47.1, 47.3 (—OCH<sub>3</sub>), 93.5 (Glc-1), 68.7~53.1 (Glc). MS: 551 (M<sup>+</sup>+NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), 372 (M<sup>+</sup>-Glu). <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR 和 MS 谱数据与文献[4]报道的牛蒡苷基本一致, 故确定化合物 I 为牛蒡苷 (C<sub>27</sub>H<sub>34</sub>O<sub>11</sub>)。化合物 I 的结构如图 1 所示。

化合物 II: 白色块状结晶, mp 89~91°C (甲醇). [α]<sub>D</sub>-37.4°. UV λ<sub>max</sub> (MeOH): 208, 230, 280 nm. IR(KBr) cm<sup>-1</sup>: 3 410 (羟基), 1 760 (γ-内酯羰基), 1 607, 1 515 (芳环), MS 显示其分子离子峰为 372. <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, TMS) δ: 6.64 (1H, d, J=2.0 Hz, H-2), 6.82 (1H, d, J=8.0 Hz, H-5), 6.61 (1H, dd, J=2.0 Hz, 8.0 Hz, H-6), 2.89 (1H, dd, J=6.0 Hz, 14 Hz, H-7<sub>α</sub>), 2.94 (1H, dd, J=6.0 Hz, 14 Hz, H-7<sub>β</sub>), 2.54 (1H, m, H-8), 6.46 (1H, d, J=2.0 Hz, H-2'), 6.75 (1H, d, J=8.2 Hz, H-5'), 6.57 (1H, dd, J=2.0 Hz, 8.2 Hz, H-6'), 2.48 (2H, dd, J=14.0 Hz, 8.0 Hz, H-7'<sub>α</sub>), 2.64 (2H, dd, J=14.0 Hz, 6.0 Hz, H-7'<sub>β</sub>), 2.54 (1H, m, H-8'), 3.88 (1H, dd, J=9.0 Hz, 7.0 Hz, H-9'<sub>α</sub>), 4.14 (1H, dd, J=9.0 Hz, 7.0 Hz, H-9'<sub>β</sub>), 3.85 (1H, s, —OCH<sub>3</sub>), 3.81 (1H, s, —OCH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, TMS) δ: 130.4 (C-1), 111.4 (C-2), 149.0 (C-3), 146.6 (C-4), 115.4 (C-5), 124.6 (C-6), 33.8 (C-7), 44.8 (C-8), 179.9 (C-9), 128.6 (C-1'), 111.1 (C-2'), 147.9 (C-3'), 143.6 (C-4'), 111.5 (C-5'), 122.8 (C-6'), 40.2 (C-7'), 41.3 (C-8'), 72.4 (C-9'), 55.7, 55.9 (—OCH<sub>3</sub>). <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR 和 MS 谱数据与文献[4]报道的牛蒡苷元吻合, 故确定化合物 II 为牛蒡苷元 (C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>O<sub>6</sub>)。化合物 II 的结构如图 1 所示。

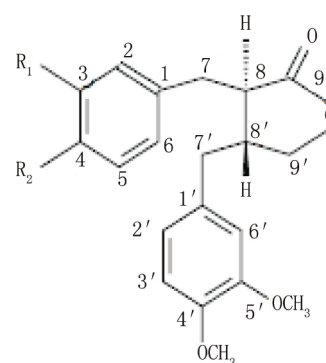
化合物 III: 无定形粉末. [α]<sub>D</sub>-42.1°. UV λ<sub>max</sub>(MeOH) 228, 281 nm. IR(KBr) cm<sup>-1</sup>: 3 433 (羟基), 1 758 (γ-内酯羰基). MS: 358 [M]<sup>+</sup>. <sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, TMS) δ: 131.6 (C-1), 116.5 (C-2), 146.2 (C-3), 144.4 (C-4), 116.3 (C-5), 123.2 (C-6), 33.3 (C-7), 44.6 (C-8), 181.1 (C-9), 128.3 (C-1'), 111.5 (C-2'), 148.1 (C-3'), 143.6 (C-4'), 111.5 (C-5'), 123.1 (C-6'), 40.3 (C-7'), 41.3 (C-8'), 72.9 (C-9'), 55.8, 56.0 (—OCH<sub>3</sub>). CD (MeOH): Δε<sub>282</sub>-0.62, Δε<sub>233</sub>-3.01 (dm<sup>3</sup>·mol<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup>). MS 谱与文献[5]报道的基本一致. 故确定化合物 III 按系统命名为 (8R,8R')-3,4-二羟基-4',5'-二甲氧基-9-氧代-8-8',9-O-9'-木脂素 (C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>O<sub>6</sub>)。化合物 III 的结构如图 1 所示。

牛蒡苷的代谢产物牛蒡苷元的活性多有报道[2], 而化合物 III (8R,8R')-3,4-二羟基-4',5'-二甲氧基-9-氧代-8-8',9-O-9'-木脂素的活性尚无报道, 与其结构类似的化合物 (8R,8R')-3-羟基-4',5'-二羟基-9-氧代-8-8',9-O-9'-木脂素在高浓度 (10 μmol/L) 时能够抑制雌二醇诱导的人乳腺癌 MCF-7 细胞增殖[5]。化合物 III 是否具有抑制肿瘤细胞增殖、抗病毒、扩张血管等活性, 其活性与牛蒡子疏散风热、宣肺透疹、解毒利咽的功效是否相关尚无报道, 因此有必要对 (8R,8R')-3,4-二羟基-4',5'-二甲氧基-9-氧代-8-8',9-O-9'-木脂素的药理和药效做更深入的研究, 以进一步阐明牛蒡苷发挥药效的真正有效成分。

## 4 结论

实验证明, 牛蒡苷在人肠内菌群作用下被代谢成牛蒡苷元和 (8R,8R')-3,4-二羟基-4',5'-二甲氧基-9-氧代-8-8',9-O-9'-木脂素。

从牛蒡苷及其代谢产物的结构上看, 牛蒡苷在人肠内菌群的代谢途径可能为: 牛蒡苷的糖苷键先



注: I: R<sub>1</sub>=OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>=OGlc; II: R<sub>1</sub>=OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>=OH; III: R<sub>1</sub>=OH, R<sub>2</sub>=OH

图 1 化合物 I~III 的结构图  
Fig.1 Structure of compound I - III

断裂，得到牛蒡苷元，随后牛蒡苷元在 3 位脱—CH<sub>3</sub>，得到 (8R,8R')-3,4 -二羟基-4',5'-二甲氧基-9-氧代-8-8',9-O-9'-木脂素。

### [参考文献] (References)

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (2005 版) (一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.  
State Pharmacopoeia Committee. Chinese pharmacopoeia(2005)(Vol. 1)[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005. (in Chinese)
- [2] 王潞, 赵烽, 刘珂. 牛蒡子苷及牛蒡子苷元的药理作用研究进展[J]. 中草药, 2008, 39 (3): 467-470.  
WANG L, ZHAO F, LIU K. Advances in studies on pharmacological effect of arctiin and arctigenin[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2008, 39(3): 467-470. (in Chinese)
- [3] 王毅, 刘铁汉, 王巍, 等. 肠内菌群对人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 的代谢转化作用的研究[J]. 中国中药杂志, 2001, 26 (3): 44-46.  
WANG Y, LIU T H, WANG W, et al. Research on the transformation of *Ginsenoside* Rg<sub>1</sub> by intestinal flora[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2001, 26(3): 44-46. (in Chinese)
- [4] 王海燕, 杨峻山. 牛蒡子化学成分的研究[J]. 药学学报, 1993, 28 (12): 911-917.  
WANG H Y, YANG J S. Studies on the chemical constituents of *Arctium lappa* L. [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 1993, 28(12): 911-917. (in Chinese)
- [5] XIE L H, AHN E M, AKAO T, et al. Transformation of arctiin to estrogenic and antiestrogenic substances by human intestinal bacteria[J]. Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 2003, 51(4): 378-384.