

引用:史佳洁,周博,丁常宏,鲁陈,张森.蓝狐胆粉的化学成分研究[J].中医药导报,2025,31(3):83-88.

蓝狐胆粉的化学成分研究*

史佳洁,周博,丁常宏,鲁陈,张森
(黑龙江中医药大学,黑龙江 哈尔滨 150040)

[摘要] 目的:研究蓝狐(*Alopex lagopus*)胆粉的化学成分。方法:采用大孔树脂、ODS色谱柱、正向硅胶色谱柱、制备型HPLC分离纯化蓝狐胆粉甲醇提取物,根据理化性质及波谱数据鉴定化合物的化学结构。结果:从甲醇提取物中分离得到5种化合物,分别鉴定为牛磺熊去氧胆酸、牛磺鹅去氧胆酸、牛磺胆酸、牛磺去氧胆酸及熊去氧胆酸。结论:牛磺熊去氧胆酸、牛磺鹅去氧胆酸、牛磺胆酸、牛磺去氧胆酸及熊去氧胆酸均为首次从蓝狐胆粉中分离获得,也是首次从该属动物中分离获得。

[关键词] 蓝狐胆粉;化学成分;结构鉴定;牛磺熊去氧胆酸;牛磺鹅去氧胆酸;牛磺胆酸;牛磺去氧胆酸;熊去氧胆酸

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2025)03-0083-06

DOI: 10.13862/j.cn43-1446/r.2025.03.014

Study on the Chemical Constituents of Alopex Lagopus Bile Powder

SHI Jiajie, ZHOU Bo, DING Changhong, LU Chen, ZHANG Miao

(Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin Heilongjiang 150040, China)

[Abstract] Objective: To study the chemical constituents of the bile powder of Alopex lagopus. Methods: The methanol extract of the bile powder of Alopex lagopus was separated and purified using macroporous resin, ODS column chromatography, forward silica gel column chromatography, and preparative HPLC. The chemical structure of the compounds was identified based on their physicochemical properties and spectral data. Results: Five compounds were isolated from methanol extract and identified as tauroursodeoxycholic acid, taurochenodeoxycholic acid, taurocholic acid, taurodeoxycholic acid, and ursodeoxycholic acid. Conclusion: Tauroursodeoxycholic acid, taurochenodeoxycholic acid, taurocholic acid, taurodeoxycholic acid and ursodeoxycholic acid were all isolated for the first time from the bile powder of Alopex lagopus and from this genus of animals.

[Keywords] bile powder of Alopex lagopus; chemical constituents; structure identification; tauroursodeoxycholic acid; taurochenodeoxycholic acid; taurocholic acid; taurodeoxycholic acid; ursodeoxycholic acid

熊胆入药历史悠久,临床用途广泛,疗效卓著,在治疗肝胆系统疾病方面具有良好的药效活性^[1]。其来源动物为珍稀濒危动物^[2-3],寻找熊胆替代品不仅可以解决熊胆资源紧缺问题,也可为保护濒危动物做出贡献。名贵毛皮动物蓝狐是犬科狐属北极狐(*Alopex lagopus*)的别称,在我国大量养殖^[4]。目前圈养蓝狐被取皮后,胆囊、胆汁成为废弃物,造成潜在的动物资源浪费。本课题组前期研究^[4-6]已证实蓝狐胆粉含有熊胆主要活性成分牛磺熊去氧胆酸(TUDCA)及特有活性成分熊去氧胆酸(UDCA),具有成为熊胆替代品的理论基础。药理实验^[4,6-12]表明,蓝狐胆粉具有护肝、抑菌、抗炎及抗氧化等药理作用。为进一步挖掘胆汁类动物药的药用价值、寻找熊胆

替代品,本研究拟分离鉴定蓝狐胆粉的化学成分,以期蓝狐胆粉后续研究提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器 Bruker-500超导核磁共振(德国Bruker公司); Triple TOF 5600+型LC液质联用仪(美国AB Sciex公司); Waters e2695型高效液相色谱仪(美国Waters公司); LC-20AR型制备液相色谱仪(日本岛津公司); 电子分析天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司); BGZ-70电热鼓风干燥箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂); ODS色谱柱(日本YMC公司); HP20大孔树脂(三菱化学株式会社)。

1.2 试剂与试药 色谱硅胶(青岛海洋化工厂); 液相色谱用

*基金项目:国家自然科学基金项目(82204562)

通信作者:丁常宏,女,教授,研究方向为中药资源学

甲醇为色谱级(迪马科技有限公司,批号:R142549);甲醇(天津市天力化学试剂有限公司,批号:20230902);乙醇(天津市富宇精细化工有限公司,批号:20230426);丙酮(西陇科学股份有限公司,批号:20230324);三氯甲烷(广东大小化工有限公司,批号:20221108)。蓝狐胆粉取自黑龙江省绥化市狐狸养殖场,将取皮后的蓝狐尸体解剖取出胆囊,用一次性注射器抽取胆汁,37℃烘干48h,获得蓝狐胆汁干粉。黑龙江中医药大学周博副教授鉴定为犬科狐属动物蓝狐的胆粉。

2 方法与结果

2.1 提取分离 取蓝狐胆粉300.0g,甲醇超声溶解提取3次后,合并提取液蒸干得总提物278.4g,取蓝狐胆粉甲醇提取物270.0g,用2L蒸馏水溶解,过滤,滤液经大孔树脂HP20柱,依次用蒸馏水、20%乙醇、50%乙醇、70%乙醇、95%乙醇梯度洗脱,得到5个流分Fr.1~Fr.5。取20%乙醇洗脱部分(90.0g),以甲醇-水为溶剂系统,采用ODS柱色谱分离,得到9个流分Fr2.1~Fr2.9。分别对2个流分Fr2.2、Fr2.7采用甲醇-丙酮混合溶剂溶解,析出化合物1(8.3g)及化合物2(24.9g)。取50%乙醇洗脱部分(65.0g)适量甲醇溶解,经ODS柱色谱分离,得到5个流分Fr3.1~Fr3.5。Fr3.1、Fr3.4经制备HPLC(40%甲醇)纯化,得到化合物3(72.8mg)及化合物4(33.1mg)。取大孔树脂95%乙醇洗脱部分(40.0g)硅胶柱色谱分离得到8个流分Fr5.1~Fr5.8,以氯仿-甲醇为流动相,薄层色谱硅胶为填料对Fr5.7进行分离,得到化合物5(4.5mg)。

2.2 结构鉴定 化合物1:白色粉末,ESI-MS: m/z 500[M+H]⁺,确定分子式为C₂₆H₄₅NO₆S,计算不饱和度为7。紫外图谱在202nm处显示最大吸收,提示可能存在羰基。

¹H-NMR(600MHz,DMSO-d₆)高场区中显示出3个甾体母核特征的甲基质子信号,分别为δ 0.88(3H,d,J=6.0Hz),0.87(3H,s),0.61(3H,s);中场区中显示出特征质子信号有δ 3.29(1H,m),3.28(1H,d,J=3.8Hz),3.26(2H,m),3.17(1H,s),2.52(2H,t,J=1.9Hz),2.05(1H,ddd,J=14.8,10.1,5.2Hz);低场区中显示了酰胺结构N上所连接的氢δ 7.66(1H,t,J=5.6Hz)。其中,2个特征亚甲基信号δ 3.26(2H,m)和δ 2.52(2H,t,J=1.9Hz),分别为NH-CH₂和SO₃-CH₂;H-3和H-7的连氧氢化学位移值分别为δ 3.29(1H,m)和δ 3.28(1H,d,J=3.8Hz)。

¹³C-NMR(150MHz,DMSO)谱中显示出26个碳信号。其中1个酰胺碳信号为δ 172.04(C-24);2个连氧的次甲基碳信号分别为δ 69.75(C-3)、69.46(C-7);1个连N的亚甲基碳信号为δ 34.93(C-25);1个连SO₃的亚甲基信号为δ 54.67(C-26);其余10个亚甲基碳信号分别为δ 34.86(C-1)、30.26(C-2)、37.29(C-4)、37.74(C-6)、20.85(C-11)、42.20(C-12)、26.73(C-15)、28.17(C-16)、31.53(C-22)及32.61(C-23);6个次甲基碳信号分别为δ 43.02(C-5)、38.71(C-8)、43.08(C-9)、55.86(C-14)、48.60(C-17)及35.49(C-20);2个季碳信号分别为δ 33.77(C-10)及50.62(C-13);3个甲基碳信号分别为δ 12.05(C-18)、23.33(C-19)及18.48(C-21)。综合碳氢核磁数据分析该化合物母核为甾体类化合物。

结合HMBC图谱(见图1),δ_H 0.87(H-19)与δ_C 34.86(C-1)、38.71(C-8)、33.77(C-10)及42.20(C-12)有明显相关,提示19位甲基的连接位置为C-10;δ_H 0.61(H-18)与δ_C 55.86(C-14)

有明显相关,提示C-13位连接一个甲基。同时化合物甾体母核结构的部分特征相关信号,如δ_H 1.46(H-4)与δ_C 69.75(C-3)、69.46(C-7)及33.77(C-10)有明显相关;δ_H 3.28(H-7)与δ_C 50.62(C-13)有明显相关。化合物侧链中δ_H 1.15(H-22),23位亚甲基上两个氢δ_H 1.92(H-23)、2.05(H-23),以及25位亚甲基上氢δ_H 3.26(H-25)均与δ_C 172.04(C-24)有明显相关,δ_H 7.66(N-H)与δ_C 172.04(C-24)有明显相关,提示侧链中存在酰胺键。

综合以上信息,与文献^[13-14]数据基本一致,确定该化合物为牛磺熊去氧胆酸。化合物1的¹H-NMR和¹³C-NMR归属见表1。

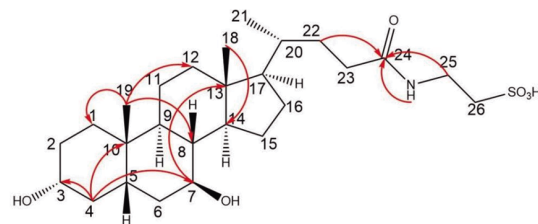


图 1 化合物 1 的主要 HMBC 图

表 1 化合物 1 的 ¹H(600 MHz,DMSO) 及 ¹³C(150MHz,DMSO)核磁数据

| 序号 | δ _H | δ _C | 序号 | δ _H | δ _C |
|----|---------------------------|----------------|----|---------------------------------|----------------|
| 1 | 0.92(1H,dd,J=14.2,3.2 Hz) | 34.86 | 15 | 1.30(1H,m) | 26.73 |
| | 1.31(1H,m) | | | 1.84(1H,m) | |
| 2 | 1.12(1H,m) | 30.26 | 16 | 1.17(1H,d,J=3.0 Hz) | 28.17 |
| | 1.48(1H,dd,J=9.2,3.6 Hz) | | | 1.74(1H,m) | |
| 3 | 3.29(1H,m) | 69.75 | 17 | 3.17(1H,s) | 48.60 |
| 4 | 1.46(1H,s) | 37.29 | 18 | 0.61(3H,s) | 12.05 |
| | 1.65(1H,s) | | | | |
| 5 | 1.32(1H,d,J=6.0 Hz) | 43.02 | 19 | 0.87(3H,s) | 23.33 |
| 6 | 1.39(1H,dt,J=12.7,3.5 Hz) | 37.74 | 20 | 1.01(1H,t,J=9.6 Hz) | 35.49 |
| | 1.67(1H,t,J=6.4 Hz) | | | | |
| 7 | 3.28(1H,d,J=3.8 Hz) | 69.46 | 21 | 0.88(3H,d,J=6.0 Hz) | 18.48 |
| 8 | 1.34(1H,m) | 38.71 | 22 | 1.15(1H,t,J=4.7 Hz) | 31.53 |
| | | | | 1.63(1H,dd,J=8.7,4.2 Hz) | |
| 9 | 1.28(1H,d,J=10.3 Hz) | 43.08 | 23 | 1.92(1H,m) | |
| | | | | 2.05(1H,ddd,J=14.8,10.1,5.2 Hz) | 32.61 |
| 10 | — | 33.77 | 24 | — | 172.04 |
| 11 | 1.19(1H,d,J=5.2 Hz) | 20.8 | 25 | 3.26(2H,m) | 34.93 |
| | 1.35(1H,m) | | | | |
| 12 | 1.36(1H,s) | 42.20 | 26 | 2.52(2H,t,J=1.9 Hz) | 54.67 |
| | 1.46(1H,s) | | | | |
| 13 | — | 50.62 | 27 | 7.66(1H,t,J=5.6 Hz) | — |
| 14 | 1.11(1H,m) | 55.86 | | | |

化合物2:白色粉末,ESI-MS: m/z 500[M+H]⁺,确定分子式为C₂₆H₄₅NO₆S,计算不饱和度为5。紫外图谱在203nm处显示最大吸收,提示可能存在酰胺基团。

¹H-NMR(600MHz,DMSO-d₆)高场区中显示出3个特征甲基质子信号δ 0.87(3H,d,J=6.6Hz),0.83(3H,s),0.59(3H,s);中场区中显示出2个连氧碳上的氢的特征质子信号δ 3.62(1H,d,J=3.1Hz),3.16(1H,m);低场区中显示了酰胺结构N上所连接的氢δ 7.67(1H,t,J=5.5Hz)。

^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO) 谱中显示出26个碳信号。其中, 1个酰胺碳信号为 δ 172.08 (C-24); 2个连氧的次甲基碳信号分别为 δ 70.36 (C-3) 及66.18 (C-7); 1个连N的亚甲基碳信号为 δ 35.49 (C-25); 1个连 SO_3 的亚甲基信号为 δ 50.63 (C-26); 其余10个亚甲基碳信号分别为 δ 35.34 (C-1)、30.58 (C-2)、39.65 (C-4)、34.83 (C-6)、20.26 (C-11)、39.37 (C-12)、23.18 (C-15)、27.81 (C-16)、31.51 (C-22) 及32.59 (C-23); 6个次甲基碳信号分别为 δ 41.45 (C-5)、39.15 (C-8)、32.27 (C-9)、50.01 (C-14)、55.55 (C-17) 及35.04 (C-20); 2个季碳信号分别为 δ 34.76 (C-10) 及41.93 (C-13); 3个甲基碳信号分别为 δ 11.68 (C-18)、22.74 (C-19) 及18.35 (C-21)。综合碳氢核磁数据分析该化合物母核为甾体类化合物。

结合HMBC图谱(见图2), δ_{H} 3.26 (H-25) 和 δ_{C} 50.63 (C-26) 有明显相关, 将磺酰基相连; δ_{H} 7.67 (N-H) 与 δ_{C} 35.49 (C-25) 有明显相关, 将C-25与酰胺基N相连; δ_{H} 3.26 (H-25) 与 δ_{C} 172.8 (C-24) 有明显相关, δ_{H} 7.67 (N-H) 与 δ_{C} 172.08 (C-24) 有明显相关, 将磺酰基片段与酰胺基片段相连; 23位亚甲基上2个氢 δ_{H} 2.05 (H-23)、1.93 (H-23), 与 δ_{C} 35.04 (C-20)、31.51 (C-22) 及172.08 (C-24) 有明显相关; 22位亚甲基上2个氢 δ_{H} 1.62 (H-22)、1.16 (H-22), 与 δ_{C} 55.55 (C-17)、18.35 (C-21) 及172.08 (C-24) 有明显相关, 将丙酰胺片段相连; δ_{H} 1.31 (H-20) 与 δ_{C} 41.93 (C-13) 及27.81 (C-16) 有明显相关, 将丙酰胺侧链连接在C-17上, 从而确定了侧链的连接位置。

综合以上信息, 与文献^[15-16]数据基本一致, 确定该化合物为牛磺鹅去氧胆酸(TCDCA)。化合物2的 ^1H -NMR及 ^{13}C -NMR归属见表2。

表2 化合物2的 ^1H (600 MHz, DMSO) 及 ^{13}C (150 MHz, DMSO) 核磁数据

| 序号 | δ_{H} | δ_{C} | 序号 | δ_{H} | δ_{C} |
|----|---------------------------------|---------------------|----|---------------------------------------|---------------------|
| 1 | 0.86(1H, d, $J=3.0$ Hz) | 35.34 | 15 | 0.97(1H, dd, $J=12.0, 6.3$ Hz) | 23.18 |
| | 1.69(1H, m) | | | 1.66(1H, m) | |
| 2 | 1.15(1H, m) | 30.58 | 16 | 1.20(1H, d, $J=13.0$ Hz) | 27.81 |
| | 1.46(1H, t, $J=4.5$ Hz) | | | 1.78(1H, m) | |
| 3 | 3.16(1H, m) | 70.36 | 17 | 1.05(1H, m) | 55.55 |
| 4 | 1.45(1H, d, $J=4.2$ Hz) | 39.65 | 18 | 0.59(3H, s) | 11.68 |
| | 2.19(1H, td, $J=13.4, 11.3$ Hz) | | | | |
| 5 | 1.24(1H, m) | 41.45 | 19 | 0.83(3H, s) | 22.74 |
| 6 | 1.81(1H, m) | 34.83 | 20 | 1.31(1H, q, $J=6.7, 5.6$ Hz) | 35.04 |
| | 1.36(1H, m) | | | | |
| 7 | 3.62(1H, d, $J=3.1$ Hz) | 66.18 | 21 | 0.87(3H, d, $J=6.6$ Hz) | 18.35 |
| 8 | 1.34(1H, m) | 39.15 | 22 | 1.16(1H, m) | 31.51 |
| | | | | 1.62(1H, ddd, $J=13.0, 6.7, 3.2$ Hz) | |
| 9 | 1.74(1H, dd, $J=14.0, 10.1$ Hz) | 32.27 | 23 | 1.93(1H, m) | 32.59 |
| | | | | 2.05(1H, ddd, $J=14.8, 10.0, 5.1$ Hz) | |
| 10 | — | 34.76 | 24 | — | 172.08 |
| 11 | 1.18(1H, m) | 20.26 | 25 | 3.26(2H, d, $J=3.7$ Hz) | 35.49 |
| | 1.38(1H, d, $J=2.1$ Hz) | | | | |
| 12 | 1.89(1H, m) | 39.37 | 26 | 2.51(2H, m) | 50.63 |
| | 1.09(1H, m) | | | | |
| 13 | — | 41.93 | 27 | 7.67(1H, t, $J=5.5$ Hz) | — |
| 14 | 1.40(1H, dd, $J=11.5, 6.8$ Hz) | 50.01 | | | |

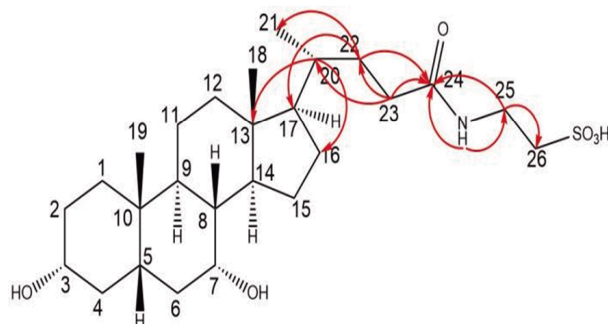


图2 化合物2的主要 HMBC 图

化合物3: 白色粉末, ESI-MS: m/z 538 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 确定分子式为 $\text{C}_{26}\text{H}_{45}\text{NO}_5\text{S}$, 计算不饱和度为6。紫外图谱在202 nm处显示最大吸收, 提示可能存在羰基。

^1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) 高场区中显示出3个特征甲基质子信号 δ 0.91 (3H, d, $J=6.5$ Hz), 0.81 (3H, s), 0.58 (3H, s); 低场区中显示了酰胺结构N上所连接的氢 δ 7.65 (1H, t, $J=5.5$ Hz), 其中3个羟基质子信号分别为 δ 4.30 (1H, d, $J=4.5$ Hz), 4.10 (1H, d, $J=3.6$ Hz), 4.01 (1H, d, $J=3.5$ Hz)。

^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO) 谱中显示出26个碳信号。其中, 1个酰胺碳信号为 δ 172.09 (C-24); 3个连氧的次甲基碳信号为 δ 70.46 (C-3)、66.25 (C-7) 及71.00 (C-12); 1个连N的亚甲基碳信号为 δ 35.49 (C-25); 1个连 SO_3 的亚甲基信号为 δ 50.61 (C-26); 其余9个亚甲基碳信号分别为 δ 35.33 (C-1)、30.42 (C-2)、40.06 (C-4)、34.87 (C-6)、28.55 (C-11)、22.82 (C-15)、27.29 (C-16)、31.60 (C-22) 及32.74 (C-23); 6个次甲基碳信号分别为 δ 41.55 (C-5)、40.06 (C-8)、26.20 (C-9)、41.35 (C-14)、46.12 (C-17) 及35.15 (C-20); 2个季碳信号分别为 δ 34.41 (C-10) 及45.76 (C-13); 3个甲基碳信号分别为 δ 12.36 (C-18)、22.64 (C-19) 及17.12 (C-21)。综合碳氢核磁数据分析该化合物母核为甾体类化合物。

结合HMBC图谱, 23位亚甲基上2个氢 δ_{H} 2.05 (H-23)、1.93 (H-23), 以及 δ_{H} 3.26 (H-25)、 δ_{H} 7.65 (N-H) 均与 δ_{C} 172.09 (C-24) 有明显相关, 提示存在酰胺片段; δ_{H} 1.78 (H-17)、0.91 (H-21) 分别与 δ_{C} 35.15 (C-20) 有明显相关, 确定侧链的连接位置为C-17位。(见图3)

综合以上信息, 与文献^[17]数据基本一致, 确定该化合物为牛磺胆酸(TCA)。化合物3的 ^1H -NMR和 ^{13}C -NMR归属见表3。

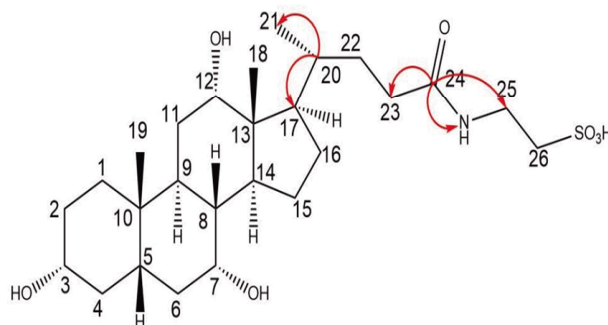


图3 化合物3的主要 HMBC 图

表3 化合物3的¹H(600 MHz,DMSO)及¹³C(150 MHz,DMSO)核磁数据

| 序号 | δ_{H} | δ_{C} | 序号 | δ_{H} | δ_{C} |
|----|----------------------------|---------------------|----|------------------------------|---------------------|
| 1 | 0.85(1H,m) | 35.33 | 15 | 0.96(1H,td, $J=12.1,5.8$ Hz) | 22.82 |
| | 1.64(1H,s) | | | 1.63(1H,s) | |
| 2 | 1.27(1H,m) | 30.42 | 16 | 1.14(1H,d, $J=3.7$ Hz) | 27.29 |
| | 1.43(1H,s) | | | 1.72(1H,m) | |
| 3 | 3.17(1H,p, $J=6.3,5.8$ Hz) | 70.46 | 17 | 1.78(1H,m) | 46.12 |
| 4 | 2.22(1H,m) | | | | |
| | 1.45(1H,s) | 40.06 | 18 | 0.58(3H,s) | 12.36 |
| 5 | 1.22(1H,s) | 41.55 | 19 | 0.81(3H,s) | 22.64 |
| 6 | 1.35(1H,d, $J=2.3$ Hz) | 34.87 | 20 | 1.27(1H,m) | 35.15 |
| | 1.79(1H,m) | | | | |
| 7 | 3.61(1H,m) | 66.25 | 21 | 0.91(3H,d, $J=6.5$ Hz) | 17.12 |
| 8 | 1.33(1H,d, $J=2.9$ Hz) | 40.06 | 22 | 1.16(1H,d, $J=5.1$ Hz) | |
| | 1.61(1H,s) | 31.60 | | | |
| 9 | 2.14(1H,m) | 26.20 | 23 | 1.93(1H,dd, $J=9.7,6.5$ Hz) | 32.74 |
| | | | | 2.05(1H,m) | |
| 10 | — | 34.41 | 24 | — | 172.09 |
| 11 | 1.37(1H,d, $J=2.7$ Hz) | 28.55 | 25 | 3.26(2H,dt, $J=8.1,6.0$ Hz) | 35.49 |
| | 1.41(1H,d, $J=3.5$ Hz) | | | | |
| 12 | 3.78(1H,d, $J=3.4$ Hz) | 71.00 | 26 | 2.51(2H,m) | 50.61 |
| 13 | — | 45.76 | 27 | 7.65(1H,t, $J=5.5$ Hz) | — |
| 14 | 1.97(1H,m) | 41.35 | | | |

化合物4:白色粉末,ESI-MS: m/z 522[M+H]⁺,确定分子式为C₂₆H₄₅NO₆S,计算不饱和度为7。紫外图谱在202 nm处显示最大吸收,提示可能存在羰基。

¹H-NMR(600 MHz,DMSO-d₆)高场区中显示出3个特征甲基质子信号 δ 0.91(3H,d, $J=6.6$ Hz),0.84(3H,s),0.59(3H,s);低场区中显示了酰胺结构N上所连接的氢 δ 7.65(1H,t, $J=5.4$ Hz),其中2个羟基质子信号分别为 δ 4.45(1H,d, $J=4.5$ Hz),4.19(1H,d, $J=4.2$ Hz)。与羟基直接相连碳的质子信号为 δ 3.78(1H,d, $J=3.8$ Hz),3.35(1H,m)。

¹³C-NMR(150 MHz,DMSO)谱中显示出26个碳信号。其中1个酰胺碳信号为 δ 172.07(C-24);2个连氧的次甲基碳信号为 δ 69.97(C-3)及71.00(C-12);1个连N的亚甲基碳信号为 δ 35.16(C-25);1个连SO₃的亚甲基信号为 δ 50.61(C-26);其余10个亚甲基碳信号分别为 δ 35.08(C-1)、30.25(C-2)、41.63(C-4)、26.99(C-6)、26.11(C-7)、29.04(C-11)、23.52(C-15)、28.60(C-16)、31.54(C-22)及35.49(C-23);6个次甲基碳信号分别为 δ 36.32(C-5)、41.63(C-8)、32.72(C-9)、46.11(C-14)、46.00(C-17)及35.65(C-20);2个季碳信号分别为 δ 35.65(C-10)及47.45(C-13);3个甲基碳信号分别为 δ 12.46(C-18)、23.11(C-19)及17.08(C-21)。综合碳氢核磁数据分析该化合物母核为甾体类化合物。

结合HMBC图谱,可以确定侧链的连接位置。 δ_{H} 0.91(H-21)与 δ_{C} 46.00(C-17)、31.54(C-22)及35.16(C-25)有明显相关,提示甲基连接在C-20位; δ_{H} 7.65(N-H)、3.26(H-25)、2.03(H-23)及1.80(H-22)与 δ_{C} 172.07(C-24)有明显相关,提示存在

酰胺片段,进而确定C-17位侧链的连接顺序。(见图4)

综合以上信息,与文献数^[14]据基本一致,确定该化合物为牛磺去氧胆酸(TDCA)。化合物4的¹H-NMR和¹³C-NMR归属见表4。

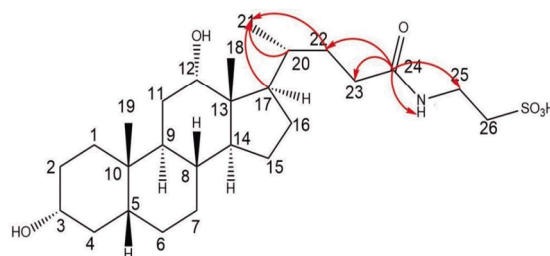


图4 化合物4的主要 HMBC 图

表4 化合物4的¹H(600 MHz,DMSO)及¹³C(150MHz,DMSO)核磁数据

| 序号 | δ_{H} | δ_{C} | 序号 | δ_{H} | δ_{C} |
|----|-----------------------------------|---------------------|----|----------------------------------|---------------------|
| 1 | 1.25(2H,m) | 35.08 | 15 | 0.98(1H,dd, $J=12.2$ Hz, 5.5 Hz) | 23.52 |
| | | | | 1.56(1H,dd, $J=10.8$ Hz, 8.6 Hz) | |
| 2 | 1.45(1H,d, $J=11.7$ Hz) | 30.25 | 16 | 1.35(2H,m) | 28.60 |
| | 1.26(1H,s) | | | | |
| 3 | 3.35(1H,m) | 69.97 | 17 | 1.75(1H,d, $J=4.9$ Hz) | 46.00 |
| 4 | 1.29(2H,m) | 41.63 | 18 | 0.59(3H,s) | 12.46 |
| 5 | 1.32(1H,s) | 36.32 | 19 | 0.84(3H,s) | 23.11 |
| 6 | 1.16(2H,s) | 26.99 | 20 | 1.62(2H,m) | 35.65 |
| 7 | 1.05(2H,m) | 26.11 | 21 | 0.91(3H,d, $J=6.6$ Hz) | 17.08 |
| 8 | 1.28(1H,s) | 41.63 | 22 | 1.80(2H,m) | 31.54 |
| 9 | 1.91(1H,ddd, $J=14.0,9.8,6.5$ Hz) | 32.72 | 23 | 2.03(2H,m) | 35.49 |
| 10 | — | 32.84 | 24 | — | 172.07 |
| 11 | 1.24(1H,s) | 29.04 | 25 | 3.26(2H,m) | 35.16 |
| 12 | 3.78(1H,d, $J=3.8$ Hz) | 71.00 | 26 | 2.39(1H,m) | |
| | 2.62(1H,m) | 50.61 | | | |
| 13 | — | 47.45 | 27 | 7.65(1H,t, $J=5.4$ Hz) | — |
| 14 | 1.51(1H,t, $J=5.0$ Hz) | 46.11 | | | |

化合物5:白色粉末,ESI-MS: m/z 393[M+H]⁺,确定分子式为C₂₄H₄₀O₄,计算不饱和度为5。紫外图谱在201 nm处显示最大吸收,提示可能存在碳氧双键。

¹H-NMR(600 MHz,DMSO-d₆)高场区中显示出3个特征甲基质子信号 δ 0.88(3H,d, $J=6.1$ Hz),0.87(3H,s),0.61(3H,s);低场区中显示出3个羟基质子信号 δ 11.94(1H,s),4.43(1H,m),3.87(1H,d, $J=6.8$ Hz)。与羟基直接相连碳的质子信号为 δ 3.31(1H,m),3.28(1H,d, $J=9.5$ Hz)。

¹³C-NMR(150 MHz,DMSO)谱中显示出24个碳信号。其中,1个sp²杂化的羰基碳信号为 δ 174.92(C-24);2个连氧的次甲基碳信号分别为 δ 69.72(C-3)及69.45(C-7);10个亚甲基碳信号分别为 δ 34.84(C-1)、30.77(C-2)、37.73(C-4)、37.27(C-6)、20.84(C-11)、40.06(C-12)、26.73(C-15)、28.17(C-16)、30.25(C-22)及30.77(C-23);6个次甲基碳信号分别为 δ 69.72(C-3)、42.17(C-5)、69.46(C-7)、43.01(C-9)、55.84(C-17)及33.77(C-20);2个季碳信号分别为 δ 34.84(C-10)及43.08(C-13);3个甲基碳信号分别为 δ 18.31(C-18)、12.04(C-

19)及23.32(C-21)。综合碳氢核磁数据分析该化合物母核为甾体类化合物。

结合HMBC图谱,23位亚甲基上2个氢 δ_{H} 2.22(H-23)、2.09(H-23),以及 δ_{H} 1.19(H-22)均与 δ_{C} 174.92(C-24)有明显相关,提示羰基与C-23相连; δ_{H} 1.93(H-12)、1.37(H-20)、0.91(H-16)及0.61(H-18)分别与 δ_{C} 55.84(C-17)有明显相关,提示2-甲基戊酸片段与环戊烷片段相连,且连接位置为母核的C-17位。(见图5)

综合以上信息,与文献^[18-19]数据基本一致,确定该化合物为熊去氧胆酸。化合物5的 ^1H -NMR和 ^{13}C -NMR归属见表5。

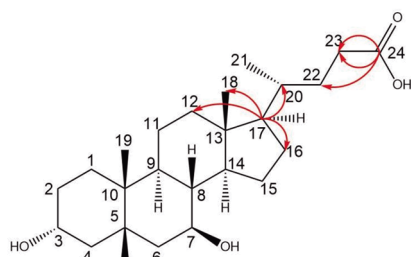


图5 化合物5的主要HMBC图

表5 化合物5的 ^1H (600 MHz,DMSO)及 ^{13}C (150 MHz,DMSO)核磁数据

| 序号 | δ_{H} | δ_{C} | 序号 | δ_{H} | δ_{C} |
|----|---------------------------|---------------------|----|-------------------------------------|---------------------|
| 1 | 1.66(1H,m) | 34.84 | 13 | — | 43.08 |
| | 1.12(1H,m) | | | | |
| 2 | 1.66(1H,m) | 30.77 | 14 | 1.01(1H,d,J=9.6 Hz) | 54.67 |
| | 1.19(1H,m) | | | | |
| 3 | 3.28(1H,d,J=9.5 Hz) | 69.72 | 15 | 1.84(1H,dddd,J=12.8,9.9,7.1,2.7 Hz) | 26.73 |
| | | | | 1.37(1H,d,J=13.0 Hz) | |
| 4 | 1.66(1H,m) | 37.73 | 16 | 1.74(1H,ddt,J=9.4,6.5,4.7 Hz) | 28.17 |
| | 1.47(1H,m) | | | 0.91(1H,d,J=3.3 Hz) | |
| 5 | 1.34(1H,t,J=4.0 Hz) | 42.17 | 17 | 1.12(1H,m) | 55.84 |
| 6 | 1.47(2H,m) | 37.27 | 18 | 0.61(3H,s) | 18.31 |
| 7 | 3.31(1H,m) | 69.45 | 19 | 0.87(3H,s) | 12.04 |
| 8 | 1.34(1H,t,J=4.0 Hz) | 38.71 | 20 | 1.37(1H,d,J=13.0 Hz) | 33.77 |
| 9 | 1.30(1H,d,J=10.0 Hz) | 43.01 | 21 | 0.88(3H,d,J=6.1 Hz) | 23.32 |
| 10 | — | 34.84 | 22 | 1.19(1H,m) | 30.25 |
| | | | | 1.40(1H,m) | |
| 11 | 1.33(1H,d,J=6.5 Hz) | 20.84 | 23 | 2.22(1H,td,J=9.9,4.8 Hz) | 30.77 |
| | 1.19(1H,m) | | | 2.09(1H,ddd,J=15.8,9.4,6.8 Hz) | |
| 12 | 1.93(1H,dt,J=12.4,3.2 Hz) | 40.06 | 24 | 11.94(1H,s) | 174.92 |
| | | | | 1.12(1H,m) | |

3 讨 论

狐胆在民间应用由来已久,其药用价值早在《本草纲目》^[20]就有记载。《本草纲目》记载其可以“辟邪疰,解酒毒”,即具有杀菌、缓解酒精中毒功效。《陆川本草》^[21]称狐胆能“泻胆火”,“治癫痫”。民间偏方以狐胆治疗晕厥、癫痫、心痛。蓝狐作为重要的经济动物,在取皮后,蓝狐胆囊、胆汁随尸体一同丢弃,造成潜在的巨大动物资源浪费。对废弃蓝狐胆囊、胆汁进行研究开发,前景十分可观。考虑到蓝狐与熊胆来源动物黑熊在生物学上亲缘关系相近,且食性相似,两者在人工饲养

过程中均以动物性混合饲料为主^[22-23],同时胆汁作为消化吸收营养物质的重要产物,富含多种生物活性成分^[4]。因此,蓝狐胆汁中可能包含与熊胆汁相同或相似的有效成分。

前期研究^[4]发现蓝狐胆粉含有10种与熊胆粉相同的物质,其中一种为熊胆主要活性成分TUDCA,同时蓝狐胆粉含有TUDCA、TCDCA、胆红素及熊胆特有活性成分UDCA。刘菁菁等^[24]利用RP-HPLC法分析狐胆粉成分,发现其含有2种结合型胆汁酸(TCA、TCDCA)。黄金野等^[25]利用HPLC法发现蓝狐胆粉含有TUDCA、TCA、TCDCA和TDCA共4种成分。蓝狐胆粉所含胆汁酸类成分与熊胆粉十分相似,具备作为熊胆替代品的成分物质基础。蓝狐胆粉已被发现的5种胆汁酸类成分,与本研究分离鉴定的成分相同。研究^[4,6-8]表明,蓝狐胆粉对CCl₄、D-Galn、酒精致肝损伤小鼠模型均具有治疗作用,可降低肝损伤小鼠血清中AST、ALT、T-CHO含量及肝组织中的MDA含量。

当前蓝狐胆汁的化学成分分离研究尚属空白。本研究在前期已证实蓝狐胆粉中含有TUDCA、TCDCA、TCA、TDCA及UDCA的基础上,利用大孔树脂、ODS柱色谱、正向硅胶柱色谱及制备型HPLC分离鉴定蓝狐胆粉的化学成分,共分离鉴定了5个化合物。化合物1~5均为首次从蓝狐胆汁中分离,也是首次从该属动物中分离得到。化合物1~5属于胆汁酸类成分。其中化合物1(TUDCA)为熊胆的主要活性成分,化合物5(UDCA)为熊胆的特有活性成分。

本实验分离鉴定了蓝狐胆粉化学成分,可为进一步揭示其药用活性物质、寻找熊胆粉替代品以及合理开发利用提供一定的理论依据。

参考文献

- [1] 李新月,苏芳芳,蒋超,等.中药熊胆资源发展历程与展望[J].中国中药杂志,2022,47(16):4284-4291.
- [2] 李新月,苏芳芳,蒋超,等.中药熊胆功效演进及成分研究概述[J].中国中药杂志,2022,47(18):4846-4853.
- [3] 张学延,王天明,吴家胜,等.熊胆及其潜在替代资源研究概况[J].上海中医药杂志,2017,51(9):114-117.
- [4] 周博.蓝狐(*Alopex lagopus*)胆汁药性物质的鉴定及胆汁药用作用的研究[D].哈尔滨:东北林业大学,2015.
- [5] 周博,贾竞波.蓝狐胆汁成分的研究[J].中医药导报,2015,21(23):38-39,46.
- [6] 周博,贾竞波,李佳铭.薄层色谱法鉴定蓝狐胆汁及其牛磺熊去氧胆酸对四氯化碳肝损伤的保护作用[J].武警医学,2015,26(8):783-786.
- [7] 周博,贾竞波.蓝狐胆汁对D-Galn肝损伤小鼠模型保护作用的研究[J].中医药导报,2016,22(4):16-19,29.
- [8] ZHOU B, WANG R, JIA J B, et al. Arctic fox bile can alleviate carbon tetrachloride-induced acute liver injury[J]. International Journal of Clinical and Experimental Medicine, 2016, 9(2):5050-5055.
- [9] 周博,贾竞波.毛皮类经济动物蓝狐胆汁生药鉴定及抑菌作用的研究[J].中医药导报,2015,21(10):45-48.
- [10] 刘杏,刘菁菁,曹苏亚,等.狐狸胆汁抗炎作用初探[J].中

- 华中医药杂志, 2014, 29(9): 2991-2993.
- [11] 刘菁菁. 狐胆汁 HPLC 分析及其对心肌抗氧化损伤的研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2013.
- [12] 薛艺, 肖向红, 张晶钰, 等. 狐胆汁对蟾蜍离体心脏功能的影响[J]. 野生动物, 2011, 32(4): 217-220.
- [13] 刘国宇, 李静, 王新莉, 等. 人工引流熊胆粉中结合胆汁酸成分的研究[J]. 西北药学杂志, 2011, 26(5): 322-323.
- [14] IJARE O B, SOMASHEKAR B S, JADEGOUD Y, et al. ^1H and ^{13}C NMR characterization and stereochemical assignments of bile acids in aqueous media[J]. *Lipids*, 2005, 40(10): 1031-1041.
- [15] 刘晓月, 陶鑫, 潘多, 等. 胆南星化学成分的研究[J]. 中成药, 2018, 40(9): 1991-1995.
- [16] 何姣. 猪胆粉中结合型胆甾酸的化学成分及生物活性研究[D]. 西安: 西北大学, 2012.
- [17] DOBSON T E, MAXWELL A R, RAMSUBHAG A. Antimicrobial cholic acid derivatives from the Pitch Lake bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* UW1-W23[J]. *Steroids*, 2018, 135: 50-53.
- [18] WANG J, GU X Z, HE L M, et al. Synthesis of ursodeoxycholic acid from plant-source (20S)-21-hydroxy-20-methylpregn-4-en-3-one[J]. *Steroids*, 2020, 157: 108600.
- [19] 张宗磊, 蔡文卿, 邓玉晓, 等. 三种熊去氧胆酸杂质的合成[J]. 精细化工中间体, 2023, 53(3): 30-33.
- [20] 李时珍. 本草纲目: 校点本[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004.
- [21] 陆川县中医药研究所. 陆川本草[M]. 玉林: 广西壮族自治区玉林专区大众报印刷厂, 1959.
- [22] 郭永佳. 动物性饲料是养好狐的基础[J]. 特种经济动植物, 2003, 6(9): 2.
- [23] 李正飞. 农家养狐常用饲料[J]. 特种经济动植物, 2004, 7(3): 28.
- [24] 刘菁菁, 肖向红, 柴龙会, 等. 狐胆汁中结合型胆汁酸成分的 RP-HPLC 检测[J]. 东北林业大学学报, 2013, 41(8): 136-138, 143.
- [25] 黄金野, 张晶钰, 柴龙会, 等. HPLC 法测定蓝狐胆汁酸成分与含量[J]. 野生动物学报, 2016, 37(2): 108-112.
- (收稿日期: 2024-07-25 编辑: 蒋凯彪)

- (上接第 44 页) 血管病变中医药防治的思路[J]. 中国中医基础医学杂志, 2024, 30(1): 32-34.
- [17] 马可可, 鞠营辉, 陈青青, 等. 黄芪甲苷对 2 型糖尿病肾病大鼠肾组织 PI3K/Akt/FoxO1 信号调控的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(2): 74-81.
- [18] TANG X Y, LI X Y, ZHANG D Y, et al. Astragaloside-IV alleviates high glucose-induced ferroptosis in retinal pigment epithelial cells by disrupting the expression of miR-138-5p/Sirt1/Nrf2[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(4): 8240-8254.
- [19] SUI Y, LIU W J, TIAN W, et al. A branched Arabinoglucan from *Angelica sinensis* ameliorates diabetic renal damage in rats[J]. *Phytother Res*, 2019, 33(3): 818-831.
- [20] 周夏慧, 王庆来, 朱雪梅, 等. 当归多糖对 DPN 大鼠 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路抑制影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2018, 23(12): 1340-1347.
- [21] 陈瑞平, 陈瑞战, 皮子凤, 等. 葛根芩连汤对糖尿病小鼠降血糖机制的研究[C]//International Industrial Electronic Center, Hong Kong. Proceedings of 2011 International Conference on Biomedicine and Engineering (ISBE 2011 V4). 2011: 4.
- [22] 李梢, 肖伟. 网络药理学应用于中药新药研发专家共识总论[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(18): 5055-5068.
- [23] 乔丽萍, 王昭博, 李梦甜, 等. 全小林教授靶辨治糖尿病微血管病变的学术思想与病案举例[J]. 吉林中医药, 2023, 43(11): 1271-1275.
- [24] 赵鹏鸣, 王俭勤, 梁耀军. 内皮细胞损伤在糖尿病肾病发病机制中的作用[J]. 中国糖尿病杂志, 2016, 24(2): 169-172.
- [25] 杨超茅, 杨志新, 马晓玲. AGEs-RAGE 信号通路在糖尿病肾病中的作用机制及中医药研究进展[J]. 中医学报, 2019, 34(9): 1864-1868.
- [26] 李静文, 李国文, 秦瑜, 等. 铁皮石斛多糖对糖尿病大鼠视网膜炎症因子表达干预的研究[J]. 中国中医眼科杂志, 2016, 26(1): 7-11.
- [27] SHARMA I, TUPE R S, WALLNER A K, et al. Contribution of myo-inositol oxygenase in AGE: RAGE-mediated renal tubulointerstitial injury in the context of diabetic nephropathy[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2018, 314(1): 107-121.
- [28] 汪四海, 方朝晖, 倪英群, 等. 丹蛭降糖胶囊对糖尿病肾病大鼠肾脏 TGF- β 1/Smad3 信号通路和 AGEs/RAGE 水平的影响[J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(4): 2019-2024.
- (收稿日期: 2024-07-18 编辑: 蒋凯彪)