

且盐酸益母草碱峰型较好，因而最终选择乙腈-0.1% 甲酸。

3.3 结果分析 结果表明不同产地之间 4 种成分含有量差异较大，对于芦丁、金丝桃苷和异槲皮苷，建立总含有量不少于 0.05%^[16]。产地结合 GRA 分析结果可知，各产地益母草药材成分含有量差异较大，其中河南-南阳和福建-龙岩益母草药材综合评价较好，四川-南充和湖北-益母草药材综合评价较低，各大产区并没有表现出规律性。由于盐酸水苏碱化学性质的特殊，本方法并不能测定其含有量，故而在比较益母草药材样品的角度与方法上或许存在缺陷。本实验仅以测得的 4 种化学成分为指标评价各产地益母草药材的品质，尚需进一步研究益母草多种成分的含有量测定方法。

参考文献：

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2015 年版一部 [S]. 北京：中国医药科技出版社，2015.

[2] 高学敏. 中药学 [M]. 北京：中国中医药出版社，2013，325.

[3] 罗淑荣，麦 路，朱兆仪. 益母草中生物碱的分离及含量测定[J]. 中国中药杂志，1985，10(1)：32.

[4] 邓 岫，王 涛，吴春华，等. 益母草黄酮类成分的分离与鉴定[J]. 中国药物化学杂志，2013，23(3)：209-212，234.

[5] 周勤梅，彭 成，刘 娟，等. 益母草属二萜类化合物的研究进展[J]. 中药材，2014，37(9)：1691-1695.

[6] Xiong L, Peng C, Zhou Q M, *et al.* Chemical composition and

antibacterial activity of essential oils from different parts of *Leonurus japonicus* Houtt [J]. *Molecules*, 2013, 18(1)：963-973.

[7] 杨 槐，周勤梅，彭 成，等. 益母草香豆素类化学成分与抗血小板聚集活性[J]. 中国中药杂志，2014，39(22)：4356-4359.

[8] 熊 亮，彭 成. 基于中药质量标志物（Q-Marker）的基本条件研究益母草和赶黄草的 Q-Marker[J]. 中草药，2016，47(13)：2212-2220.

[9] 张铁军，许 浚，韩彦琪，等. 中药质量标志物（Q-marker）研究：延胡索质量评价及质量标准研究[J]. 中草药，2016，47(9)：1458-1467.

[10] 刘昌孝，陈士林，肖小河，等. 中药质量标志物（Q-Marker）：中药产品质量控制的新概念[J]. 中草药，2016，47(9)：1443-1457.

[11] 李素云，姜水印，卫洪昌，等. 益母草生物碱和黄酮成分抗大鼠心肌缺血药效学研究[J]. 上海中医药大学学报，2006，20(1)：61-63.

[12] 林 萍，易宏伟，张 斐. 金丝桃苷药理作用研究进展[J]. 中国现代中药，2012，14(10)：23-26.

[13] 陈军华，周光明，邓永利，等. 超声辅助萃取-高效液相色谱同时测定益母草中 8 种有效成分[J]. 食品科学，2016，37(8)：86-90.

[14] 翁爱彬，郑荔莉，方剑英. HPLC 法测定益母草中的黄酮类化合物[J]. 河北医药，2013，33(6)：926-927.

[15] 胡 鹏，张园娇，蔡 静，等. 高分离度快速液相色谱质谱联用同时测定不同部位和不同加工方法的罗摩中氨基酸和核苷类成分含量[J]. 中国药学杂志，2017，52(13)：1177-1182.

[16] 李可强. 北豆根等五味中药材的质量与评价研究[D]. 沈阳：辽宁中医药大学，2008.

蛞蝓化学成分的研究

黄永林¹， 韦用琼²， 何瑞杰¹， 李 岳²， 唐培德²， 阮 俊²， 王亚凤^{1,3}， 李典鹏¹
(1. 广西壮族自治区中国科学院，广西植物研究，所广西植物功能物质研究与利用重点实验室，广西 桂林 541006；2. 广西久福生物科技有限公司，广西 南宁 530012)

摘要：目的 研究蛞蝓 *Agriolimax agrestis* Linnaeus 的化学成分。方法 蛞蝓正己烷提取物采用结晶、半制备柱进行分离纯化，根据理化性质及波谱数据鉴定所得化合物的结构。结果 从中分离得到 6 个化合物，分别鉴定为胆固醇（1）、β-谷甾醇（2）、链甾醇（3）、菜籽甾醇（4）、麦角甾醇（5）、豆甾醇（6）。结论 所有化合物均为首次从蛞蝓中分离得到。

关键词：蛞蝓；化学成分；分离鉴定

中图分类号：R284.1 文献标志码：A 文章编号：1001-1528(2018)11-2471-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.11.022

收稿日期：2017-12-01

基金项目：国家自然科学基金项目（21562008）；南宁市科技型中小企业技术创新资金项目（1298014-10）

作者简介：黄永林（1974—），男，博士，研究员，主要从事天然产物化学及开发利用研究。E-mail: hyl@gxib.cn

Chemical constituents from *Agriolimax agrestis*

HUANG Yong-lin¹, WEI Yong-qiong², HE Rui-jie¹, LI Yue², TANG Pei-de², RUAN Jun², WANG Ya-feng^{1,3}, LI Dian-peng¹

(1. Guangxi Key Laboratory of Functional Phytochemicals Research and Utilization, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, China; 2. Guangxi Jiufu Biotechnology Co., Ltd, Nanning 530012, China)

ABSTRACT: AIM To study the chemical constituents from *Agriolimax agrestis* Linnaeus. **METHODS** The hexane extract from *A. agrestis* was isolated and purified by crystallization and semi-preparative column, then the structures of obtained compounds were identified by physicochemical properties and spectral data. **RESULTS** Six compounds were isolated and identified as cholesterol (**1**), β -sitosterol (**2**), desmosterol (**3**), ergosta-5, 22-dien-3 β -ol (**4**), ergosterol (**5**) and stigmasterol (**6**). **CONCLUSION** All the compounds are first isolated from *A. agrestis* for the first time.

KEY WORDS: *Agriolimax agrestis* Linnaeus; chemical constituents; isolation and identification

蛞蝓 *Agriolimax agrestis* Linnaeus 为有肺的软体动物, 属腹足类腹足纲蛞蝓科, 因其体表布满粘液, 形似蜗牛而无壳, 又俗称“黏虫”“鼻涕虫”, 广西主要分布有黄蛞蝓、黑蛞蝓、灰蛞蝓等^[1]。作为传统中药, 《神农本草经》《本草纲目》《中药大辞典》等医药史书记载“味咸寒, 无毒。清热祛风、水肿解毒、破瘀通经, 治中风喎僻、筋脉挛、惊痫、喘息、喉痹、咽肿、痈肿”^[2-4]; 现代药理学研究证明, 以蛞蝓对腹水型 (ARS) 肉瘤、Lewis 肿瘤、人非小细胞肺癌等癌细胞具有明显的抑制作用, 同时对治疗慢性支气管炎和支气管哮喘具有很好的疗效^[5-7]。在化学成分方面, 对其研究较少, 目前仅有对其多糖进行研究的报道^[8]。为了全面掌握蛞蝓的物质基础, 本实验从其正己烷提取物中分离得到 6 个化合物, 所有化合物均为首次从其中分离得到。

1 仪器与材料

Brucker Avance 500 MHz 超导核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司, 氢谱 500 MHz、碳谱 125 MHz, CDCl₃, 25 °C); LCMS-IT-TOF 质谱仪 (日本岛津公司); LC12 型半制备液相色谱仪 (北京赛谱锐思科技有限公司); HT-3501 C₁₈ 半制备柱 (10 mm × 250 mm, 苏州汇通公司); N-1100 型旋转蒸发仪 (东京理化公司); CA-1111 型冷却水循环 (东京理化公司); WFH-203 紫外分析仪 (上海精科实业有限公司)。正己烷、乙酸乙酯、甲醇等试剂均为分析纯。

蛞蝓 2016 年 7 月购于南宁市五塘镇, 经李岳执业药师鉴定为正品, 凭证样品存放于广西久福生物科技有限公司。

2 提取与分离

干蛞蝓 500 g, 加 5 倍量正己烷回流提取 2 h, 过滤, 滤渣再提取 2 次, 合并滤液, 减压浓缩得到浸膏 35.9 g。浸膏中加入 100 mL 水进行乳化后, 再加入 400 mL 乙酸乙酯萃取 4 次, 合并萃取液, 回收溶剂得到乙酸乙酯提取物 8.2 g。向乙酸乙酯提取物中加入 50 mL 无水甲醇, 水浴加热溶解, 冷却, 静置, 析出结晶, 滤出结晶得粗结晶样品 1.8 g。晶体用甲醇重新溶解, 经半制备液相制备柱, 得化合物 **1** (0.92 g)、**2** (35 mg)、**3** (0.12 g)、**4** (12 mg)、**5** (9 mg)、**6** (16 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色无晶形粉末, 易溶于氯仿。LC-MS-IT-TOF m/z : 367.3 [M-H]⁻。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 0.68 (3H, s, H-18), 0.86 (3H, d, J = 2.2 Hz, H-26), 0.87 (3H, d, J = 2.2 Hz, H-27), 0.91 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-21), 1.01 (3H, s, H-19), 3.51-3.53 (1H, m, H-3), 5.35 (1H, d, J = 5.2 Hz, H-6)。¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 11.9 (C-18), 18.7 (C-21), 19.4 (C-19), 21.1 (C-11), 22.6 (C-26), 22.8 (C-27), 23.9 (C-23), 24.3 (C-15), 28.0 (C-25), 28.2 (C-16), 31.7 (C-2), 31.9 (C-7), 31.9 (C-8), 35.8 (C-20), 36.2 (C-22), 36.5 (C-10), 37.3 (C-1), 39. (C-24), 39.8 (C-12), 42.3 (C-13), 42.4 (C-4), 50.2 (C-9), 56.2 (C-17), 56.8 (C-14), 71.8 (C-3), 121.7 (C-6), 140.8 (C-5)。以上数据与文献 [9-10] 基本一致, 故鉴定为胆固醇。

化合物 **2**: 白色无晶形粉末, 易溶于氯仿。LC-MS-IT-TOF m/z : 413.3 [M-H]⁻。¹H-NMR

(500 MHz, CDCl_3) δ : 0.68 (3H, s, H-18), 0.80 (3H, $J = 6.5$ Hz, H-27), 0.83 (3H, $J = 6.6$ Hz, H-26), 0.92 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21), 1.01 (3H, s, H-19), 1.28 (3H, s, H-29), 3.34-3.35 (1H, m, H-3), 5.35 (1H, brs, H-6)。 ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 11.9 (C-18), 12.0 (C-26), 18.8 (C-29), 19.1 (C-25), 19.4 (C-21), 19.8 (C-19), 21.1 (C-28), 22.4 (C-23), 23.1 (C-27), 24.3 (C-23), 26.1 (C-15), 28.3 (C-11), 29.7 (C-16), 31.7 (C-2), 31.9 (C-7), 31.9 (C-8), 34.0 (C-20), 36.2 (C-10), 36.3 (C-22), 37.3 (C-1), 39.8 (C-24), 42.3 (C-12), 45.9 (C-4), 50.2 (C-9), 56.1 (C-17), 56.8 (C-14), 71.8 (C-3), 121.7 (C-6), 140.8 (C-5)。以上数据与文献[11]基本一致, 故鉴定为 β -谷甾醇。

化合物 3: 白色无晶形粉末, 易溶于氯仿。LC-MS-IT-TOF m/z : 383.3 [M-H]⁻。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.68 (3H, s, H-18), 0.94 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21), 1.00 (3H, s, H-19), 1.60 (3H, s, H-26), 1.68 (3H, s, H-27), 3.49-3.55 (1H, m, H-3), 5.09 (1H, t, $J = 6.5$ Hz, 24), 5.35 (1H, brs, H-6)。 ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 12.0 (C-18), 17.8 (C-26), 18.8 (C-21), 19.5 (C-19), 21.2 (C-11), 24.5 (C-15), 24.9 (C-23), 25.9 (C-27), 28.6 (C-16), 31.8 (C-2), 32.1 (C-8), 32.1 (C-7), 35.8 (C-22), 36.2 (C-20), 36.7 (C-10), 37.4 (C-1), 39.9 (C-12), 42.4 (C-4), 42.5 (C-13), 50.3 (C-9), 56.2 (C-14), 56.9 (C-17), 72.0 (C-3), 122.0 (C-6), 125.4 (C-24), 131.1 (C-25), 140.9 (C-5)。以上数据与文献[12-13]基本一致, 故鉴定为链甾醇。

化合物 4: 白色无晶形粉末, 易溶于氯仿。LC-MS-IT-TOF m/z : 397.4 [M-H]⁻。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.69 (3H, s, H-18), 0.82 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-26), 0.83 (3H, $J = 6.5$ Hz, H-27), 0.91 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-28), 0.98 (3H, s, H-21), 1.01 (3H, s, H-19), 3.52 (1H, m, H-3), 5.13-5.20 (2H, m, H-22, 23), 5.35 (1H, brs, H-6)。 ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 12.1 (C-18), 17.6 (C-28), 19.4 (C-27), 19.6 (C-26), 19.9 (C-19), 21.0 (C-21), 21.1 (C-11), 24.3 (C-15), 28.5 (C-16), 31.8 (C-2), 33.2 (C-25), 33.1 (C-8), 32.3 (C-7), 37.3 (C-1), 39.7 (C-10), 40.2 (C-20), 42.3 (C-12), 42.3 (C-13), 42.8 (C-

4), 43.0 (C-24), 50.2 (C-9), 56.0 (C-17), 56.9 (C-14), 71.8 (C-3), 121.7 (C-6), 131.7 (C-23), 135.9 (C-22), 140.8 (C-5)。以上数据与文献[14]基本一致, 故鉴定为菜籽甾醇。

化合物 5: 白色无晶形粉末, 易溶于氯仿。LC-MS-IT-TOF m/z : 395.3 [M-H]⁻。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.68 (3H, s, H-18), 0.83 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-27), 0.85 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-26), 0.92 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-28), 0.94 (3H, s, H-19), 1.00 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-21), 5.17 (1H, dd, $J = 15.0, 7.9$ Hz, H-22), 5.20 (1H, dd, $J = 15.0, 6.7$ Hz, H-23), 5.35 (1H, brs, H-6)。 ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 11.9 (C-18), 16.4 (C-19), 17.4 (C-28), 19.2 (C-21), 20.0 (C-27), 20.1 (C-26), 21.0 (C-11), 22.7 (C-15), 28.1 (C-16), 32.0 (C-2), 33.1 (C-25), 37.2 (C-10), 38.3 (C-1), 38.9 (C-12), 39.4 (C-20), 40.2 (C-4), 40.3 (C-24), 42.7 (C-13), 46.4 (C-9), 54.3 (C-14), 55.5 (C-17), 70.6 (C-3), 116.0 (C-7), 119.3 (C-6), 131.7 (C-23), 135.3 (C-22), 139.5 (C-8), 141.1 (C-5)。以上数据与文献[15-16]基本一致, 故鉴定为麦角甾醇。

化合物 6: 白色无晶形粉末, 易溶于氯仿。LC-MS-IT-TOF m/z : 411.3 [M-H]⁻。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.68 (3H, s, H-18), 0.80 (3H, d, $J = 6.8$, H-26), 0.79 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-27), 0.85 (3H, t, $J = 5.7$ Hz, H-29), 1.01 (3H, s, H-21), 1.02 (3H, s, H-19), 3.52 (1H, m, H-3), 5.01 (1H, dd, $J = 15.1, 8.7$, Hz, H-23), 5.16 (1H, dd, $J = 14.8, 8.7$ Hz, H-22), 5.35 (1H, brs, H-6)。 ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 11.8 (C-18), 11.8 (C-29), 19.0 (C-27), 19.4 (C-21), 19.5 (C-19), 21.1 (C-11), 24.3 (C-15), 24.5 (C-28), 25.4 (C-26), 28.2 (C-16), 32.0 (C-7), 31.5 (C-2), 31.7 (C-8), 31.8 (C-25), 35.9 (C-10), 37.3 (C-1), 39.8 (C-12), 39.9 (C-20), 42.3 (C-4), 42.4 (C-13), 50.1 (C-9), 50.2 (C-24), 56.1 (C-14), 56.7 (C-17), 71.8 (C-3), 121.7 (C-6), 129.3 (C-23), 138.3 (C-22), 140.8 (C-5)。以上数据与文献[17-18]基本一致, 故鉴定为豆甾醇。

4 讨论

本实验从蛞蝓中分离得到 6 个甾醇化合物, 均

为首次从蛞蝓中分离得到，此类化合物广泛分布于生物界。据报道，胆固醇、 β -谷甾醇有降血脂、抗炎、抗肿瘤活性^[19]，菜籽甾醇具有降血脂活性^[20]，麦角甾醇及豆甾醇具有抗氧化、抗肿瘤活性^[21-23]。这些化合物可能是医药史书记载蛞蝓具有“清热祛风、水肿解毒、破瘀通经、治中风喎僻、筋脉免挛、惊痫、喘息、喉痹、咽肿、痈肿”等功效的物质基础。

参考文献：

[1] 林吕何. 广西药用动物 [M]. 南宁: 广西科技出版社, 1991.

[2] 吴 普, 孙星衍. 神农本草经 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1963.

[3] 李时珍. 本草纲目 (校点本) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982.

[4] 江苏新医学院. 中药大辞典. 下册 [M]. 上海: 科学技术出版社, 2002.

[5] 王淑敏, 于德伟. 抗癌动物药蛞蝓的研究概况 [J]. 基层中药杂志, 1995, 9 (1) : 42-43.

[6] 焦智民, 张艳敏, 杜景富. 蛞蝓胶囊为主综合治疗中晚期肺癌的临床研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 1995, 15 (6) : 362-363.

[7] 陈根林. 蛞蝓的药理研究进展 [J]. 北方药学, 2013, 10 (10) : 55-56.

[8] 蔡 霞, 刘群红. 蛞蝓多糖提取工艺的优选 [J]. 中国医药指南, 2008, 6 (23) : 253-255.

[9] 张佳佳, 戴静波, 陈莉莉, 等. 黑乳海参化学成分的研究 [J]. 中药材, 2008, 31 (4) : 538-539.

[10] Zhang X T, Zhang L H, Wang Y, *et al.* Chemical constituents from *Thalictrum fortunei* [J]. *Chin J Nat Med*, 2009, 38 (1) :

21-24.

[11] 孙 萌, 杨宇萍, 李拥军, 等. 姜炭化学成分的初步研究 [J]. 中药材, 2016, 39 (2) : 307-311.

[12] 王静怡, 董阳阳, 戚楚露, 等. 木棉树皮的化学成分 [J]. 中国药科大学学报, 2016, 47 (5) : 570-574.

[13] Sright J L C, Mcinnes A G, Shimizu S, *et al.* Identification of C-24 alkyl epimers of marine sterols by 13 C nuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. *Can J Chem*, 1978, 56 (14) : 1898-1903. .

[14] 麻兵继, 申进文, 余海尤, 等. 马鞍菌子实体化学成分研究 [J]. 西北植物学报, 2009, 29 (10) : 2115-2117.

[15] 李宛霏, 邹 娟, 李继新, 等. 岩凤尾蕨化学成分的研究 [J]. 中草药, 2016, 47 (8) : 1278-1281.

[16] 黄周锋, 黄建猷, 卢文杰, 等. 裸花水竹草化学成分 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22 (21) : 73-76.

[17] 张文静, 翁连进, 易立涛, 等. 猫眼草化学成分的研究 [J]. 中草药, 2016, 47 (4) : 554-558.

[18] 杨孟妮, 张 慧, 刘 娟, 等. 叶下珠化学成分研究 [J]. 中草药, 2016, 47 (20) : 3573-3577.

[19] 肖志彬, 贾韩学, 刘小雷. β -谷甾醇药理活性的研究现状 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2015, 15 (8) : 66-68.

[20] 金青哲, 齐 策, 沈 华, 等. 菜籽甾醇酯降血脂研究 [J]. 粮油加工, 2007 (10) : 92-94.

[21] 高 虹, 史德芳, 杨 德, 等. 巴西菇麦角甾醇抗肿瘤活性及作用机理初探 [J]. 中国食用菌, 2011, 30 (6) : 35-39.

[22] 张 娴, 黄 羽, 曾 星. 麦角甾醇对肝癌细胞 HepG2 增殖及 p21 表达的影响 [J]. 中药药理与临床, 2011, 27 (5) : 26-29.

[23] 李庆勇, 姜春菲, 张 黎, 等. β -谷甾醇、豆甾醇诱导人肝癌细胞 SMMC-7721 凋亡 [J]. 时珍国医国药, 2012, 23 (5) : 1173-1175.