

## 虫类中药蛴螬的酚性成分

王 静<sup>1,2</sup>, 晏永明<sup>2</sup>, 谭 睿<sup>1\*</sup>, 程永现<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>西南交通大学生命科学与工程学院, 成都 610031; <sup>2</sup>中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 昆明 650204

**摘要:** 从虫类中药蛴螬的乙酸乙酯提取物中分离得到 6 个化合物, 其结构经波谱鉴定为 3,5-二甲氧基-4-羟基苯甲酸(1), 水杨酸(2), 对羟基苯甲酸(3), 香草酸(4), 对羟基苯丙酸(5) 和对羟基苯丙酸甲酯(6)。化合物 1~6 均为首次从该种动物药中分离得到。

**关键词:** 虫类中药; 蛴螬; 金龟子科; 酚性成分

中图分类号: Q284.2

文献标识码: A

## Phenolic Compounds from *Holotrichia diomphalia* Bates

WANG Jing<sup>1,2</sup>, YAN Yong-ming<sup>2</sup>, TAN Rui<sup>1\*</sup>, CHENG Yong-xian<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Institute of Life Science and Engineering, Southwest JiaoTong University, Chengdu 610031; <sup>2</sup>State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China

**Abstract:** Six compounds were isolated from the ethyl acetate extract of a medicinal insect, *Holotrichia diomphalia* Bates. They were identified as 3,5-dimethoxy-4-hydroxybenzoic acid (1), salicylic acid (2), 4-hydroxybenzoic acid (3), 3-hydroxy-4-methoxybenzoic acid (4), 4-hydroxyphenylpropionic acid (5), and 4-hydroxyphenylpropionic methyl ester (6) by using spectroscopic methods. All these compounds were isolated from this species for the first time.

**Key words:** medicinal insects; *Holotrichia diomphalia* Bates; Scarabaeoidea; phenolic compounds

蛴螬为节肢动物门昆虫纲鞘翅目金龟子科昆虫朝鲜黑金龟子 *Holotrichia diomphalia* Bates 等同属近缘昆虫的干燥幼体<sup>[1]</sup>, 又称地蚕、白地蚕、应条、乳齐、土蚕、白土蚕、大头虫、老母虫、核桃虫等。具有破血逐淤、明目退翳的功效, 对妇女经闭、癥瘕尤著, 外用可治丹毒、疔疽、痔漏、跌打损伤等<sup>[2]</sup>。蛴螬治疗目疾, 自《神农本草经》即有记载。临床上将蛴螬制成滴眼液, 用于治疗白内障、眼角膜翳等有较好的疗效<sup>[3]</sup>。现代药理研究证明蛴螬具有抗肿瘤、保肝、抗菌等作用<sup>[4]</sup>, 如蛴螬石油醚提取物对人宫颈癌 Hela 细胞具有抑制增殖和诱导凋亡的作用<sup>[5]</sup>。韩国学者 Oh WY 等以水飞蓟素作阳性对照, 发现蛴螬的保肝作用要强于水飞蓟素, 在一定程度上可降低对肝脏细胞的损害<sup>[6]</sup>。

有关蛴螬化学成分, 国内外研究相对较少, 主要

有脂肪酸类<sup>[7,8]</sup>, 阳长明等对蛴螬化学成分进行了预试表明其主要含有氨基酸、多肽或蛋白质、糖类、生物碱、有机酸盐、甾体化合物等<sup>[9]</sup>。王玉亮等通过 GC-MS 分析了蛴螬石油醚提取物的化学成分, 主要为挥发油类, 如反油酸、十六酸、硬脂酸等<sup>[10]</sup>。此外, 国外学者报道了蛴螬含有两种酚氧化酶原(Propo-I 和 Propo-II) 和三种酚氧化酶原活化因子(PPAF-I、PPAF-II 和 PPAF-III)<sup>[4]</sup>。我们为了揭示蛴螬药用的化学物质基础, 从中寻找有生物活性及药用前景的天然产物, 对该中药进行了研究, 从其乙酸乙酯提取物中分离得到 6 个化合物, 经波谱学方法鉴定其结构为 3,5-二甲氧基-4-羟基苯甲酸, 水杨酸, 对羟基苯甲酸, 香草酸, 对羟基苯丙酸和对羟基苯丙酸甲酯。

## 1 仪器与材料

核磁共振波谱用 Bruker AM-400 核磁共振仪测定, TMS 作为内标。薄层层析硅胶 GF<sub>254</sub> 和柱层析硅胶(200~300 目) 均为青岛海洋化工厂产品; Sephadex LH-20 和反相硅胶 RP-18 分别为 Pharmacia 公司和日本 Daiso 公司生产。

收稿日期: 2010-11-04 接受日期: 2011-03-22  
基金项目: 云南省中青年学术技术带头人与后备人才基金项目(2007PY01-48); 云南省科技强省中德国际合作项目(2009AC011)  
\* 通讯作者 Tel: 86-28-87600993, E-mail: rui\_tan@yahoo.com.cn; yxcheng@mail.kib.ac.cn

## 2 提取与分离

蛴螬(18 kg)购自安徽省亳州药材交易中心,经湖南中医药大学中药鉴定教研室周小江副教授鉴定为朝鲜黑金龟子(*Holotrichia diomphalia* Bates)的干燥幼虫,将药材粉碎后用95%乙醇冷浸提取三次,每次3 d,减压回收溶剂得浸膏2 kg,加水混悬,以乙酸乙酯萃取。乙酸乙酯萃取物55 g经硅胶柱层析(600 g,氯仿:甲醇10:0~1:1),分为四段Fr.1-Fr.4。Fr.2和Fr.3分别进行反复硅胶柱层析、反相柱层析和Sephadex LH-20柱层析得化合物1(21 mg)、3(40 mg)、4(5 mg)和5(32 mg)。Fr.2-2经Sephadex LH-20(甲醇)柱色谱和反相RP-18(甲醇-水:30%、40%、50%、60%)洗脱后在甲醇中反复重结晶,得化合物2(70 mg)。Fr.3-4经反相柱层析和Sephadex LH-20柱层析后,硅胶制备薄层(石油醚:丙酮2:1)纯化得化合物6(20 mg)。

## 3 结构鉴定

**3-5-二甲氧基-4-羟基苯甲酸(1)** 白色固体;<sup>1</sup>H NMR(CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ: 7.32(2H, s, H-2, 6), 3.87(6H, s, 2 × OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR(CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz) δ: 122.1(s, C-1), 108.2(d, C-2, 6), 148.8(s, C-3, 5), 141.6(s, C-4), 170.2(s, COOH), 56.7(q, OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献数值相符<sup>[11]</sup>。

**水杨酸(2)** 无色针状结晶;<sup>1</sup>H NMR(CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ: 6.82(1H, dd, J = 8.0, 1.7 Hz, H-3), 7.39(1H, d, J = 1.7 Hz, H-4), 6.87(1H, brd, J = 7.6 Hz, H-5), 7.81(1H, brd, J = 7.6 Hz, H-6); <sup>13</sup>C NMR(CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz) δ: 113.9(s, C-1), 163.2(s, C-2), 118.1(d, C-3), 136.6(d, C-4), 120.1(d, C-5), 131.6(d, C-6), 173.6(s, COOH)。以上数值与文献数值相符<sup>[11]</sup>。

**对羟基苯甲酸(3)** 白色固体;<sup>1</sup>H NMR(CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>, 400 MHz) δ: 7.93(2H, brd, J = 8.5 Hz, H-2, 6), 6.92(2H, d, J = 8.5 Hz, H-3, 5), 7.44(1H, brs, OH); <sup>13</sup>C NMR(CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>, 100 MHz) δ: 122.4(s, C-1), 132.8(d, C-2, 6), 116.0(d, C-3, 5), 162.7(s, C-4), 168.6(s, COOH)。以上数值与文献数值相符<sup>[12]</sup>。

**香草酸(4)** 白色固体;<sup>1</sup>H NMR(CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ: 7.55(1H, brs, H-2), 6.83(1H, brd, J = 8.2 Hz, H-5), 7.54(1H, brd, J = 8.2 Hz, H-6), 3.89

(3H, s, OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR(CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz) δ: 123.6(s, C-1), 113.8(d, C-2), 152.4(s, C-3), 148.6(s, C-4), 115.8(d, C-5), 125.2(d, C-6), 171.2(s, CO), 56.4(q, OCH<sub>3</sub>)。以上数值与文献数值相符<sup>[13]</sup>。

**对羟基苯丙酸(5)** 白色固体;<sup>1</sup>H NMR(CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ: 7.01(2H, brd, J = 8.2 Hz, H-2, 6), 6.68(2H, brd, J = 8.2 Hz, H-3, 5), 2.79(2H, t, J = 7.8 Hz, H-1'), 2.49(2H, d, J = 7.8 Hz, H-2'); <sup>13</sup>C NMR(CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz) δ: 133.4(s, C-1), 130.2(d, C-2, 6), 116.2(d, C-3, 5), 156.6(s, C-4), 38.3(t, C-1'), 31.7(t, C-2') , 178.4(s, C-3')。以上数值与文献数值相符<sup>[14]</sup>。

**对羟基苯丙酸甲酯(6)** 白色固体;<sup>1</sup>H NMR(CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ: 7.04(2H, brd, J = 8.2 Hz, H-2, 6), 6.77(2H, brd, J = 8.2 Hz, H-3, 5), 2.90(2H, t, J = 7.8 Hz, H-1'), 2.62(2H, d, J = 7.8 Hz, H-2'), 3.69(3H, s, OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR(CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz) δ: 132.1(s, C-1), 129.3(d, C-2, 6), 115.3(d, C-3, 5), 154.4(s, C-4), 36.1(t, C-1'), 30.1(t, C-2'), 174.1(s, C-3'), 51.8(q, OCH<sub>3</sub>)。以上数值与文献数值相符<sup>[14]</sup>。

蛴螬临床上对眼部疾患和口腔溃疡有良效,本研究获得的水杨酸以及苯甲酸衍生物是否分别从抗炎和抗菌方面对上述疾病起作用,值得进一步研究。

### 参考文献

- 1 Pharmacopoeia Commission (药典委员会). A Chinese Pharmacopoeia(《中国药典》一部) 2010 Ed. Beijing: China Medical Science and Technology Press 2010. Appendix 26.
- 2 Yang CL (杨仓良), Qi JY (齐杰英). Herbal Animals (动物本草) 1st Ed. Beijing: Chinese Ancient Books Publishing House 2001. 915-916.
- 3 Yang CM (阳长明), Hou SX (侯世祥). Study on preparation procedure of grub eye drops. *Chin Trad Patent Med* (中成药) 2001 23: 235-237.
- 4 Dong QF (董庆凤), Zhang CX (张崇禧). The chemical constituents from *Holotrichia diompha* and its pharmacological research progress. *J Pharmaceut Prac* (药学实践杂志), 2008 26: 14-16.
- 5 Li D (李丹), Song LL (宋莲莲), Yang WS (杨万山). Inducing apoptosis effects and mechanism on hela human cervical carcinoma cells by grub extract. *Cancer Res Prev Treat* (肿瘤防治研究) 2008 35: 91-94.

(下转第626页)

9	1.54 (1H <i>m</i> )	34.7	C-8 ,C-11
10		33.2	
11	1.65 (1H <i>m</i> ) 1.54 (1H <i>m</i> )	22.6	C-9 ,C-12 ,C-13
12	2.51 (1H <i>m</i> ) 2.48 (1H <i>m</i> )	40.1	C-9 ,C-13
13		42.2	C-12 ,C-17 ,C-19
14	2.13 (1H <i>brs</i> )	55.8	C-8 ,C-13 ,C-15 ,C-16
15		217.8	
16	2.79 (1H <i>dd</i> $\rho$ .9 $\phi$ .8) 2.24 (1H <i>dd</i> $\rho$ .9)	41.4	C-14 ,C-15 ,C-17
17	2.69 (1H <i>brd</i> $\phi$ .8)	42.6	C-13 ,C-16 ,C-20 ,C-21 ,C-22
18	0.79 (3H <i>s</i> )	21.0	C-12 ,C-13 ,C-14 ,C-17
19	0.81 (3H <i>s</i> )	23.7	C-1 ,C-5 ,C-9 ,C-10
20		120.9	
21	7.68 (1H <i>d</i> $\rho$ .1)	149.8	C-20 ,C-22
22	7.58 (1H <i>dd</i> $\rho$ .6 $\rho$ .1)	146.5	C-20 ,C-21 ,C-23
23	6.28 (1H <i>d</i> $\rho$ .6)	115.0	C-20 ,C-22
24		161.1	
3 $\beta$ -OH	4.13 (1H <i>s</i> )		

### Acknowledgements

The authors thank Mr. Sha Yi and Ms. Li Wen for the measurements of NMR spectra.

### References

- Ye M ,Han J ,Guo HZ ,*et al.* Structural determination and complete NMR spectral assignments of a new bufadienolide glycoside. *Mag Res Chem* 2002 40: 786-788.
- Nogawa T ,Kamano Y ,Yamashita A ,*et al.* Isolation and structure of five new cancer cell growth inhibitory bufadienolides from the Chinese traditional drug Ch'an Su. *J Nat Prod* , 2001 64: 1148-1152.
- Linde H ,Meyer K. Toad poisons. XVII. Constitution of resibufogenin. *Helv Chim Acta* ,1959 42: 807-826.
- Oh WY ,Pyo S ,Lee KR ,*et al.* Effect of *Holotrichia diomphalia* larvae on liver fibrosis and hepatotoxicity in rats. *J Ethnopharmacol* 2003 87( 2-3) : 175.
- Dong QF ,Wang JL ,Zhang SF ,*et al.* Chemical constituents of the petroleum ether extract of *Holotrichia diomphalia* larvae. *Chem Nat Compds* 2009 45: 79-80.
- Dong QF ,Zhang SF ,Wang YL ,*et al.* The fat-soluble constituents of *Holotrichia diomphalia* larvae. *Chem Nat Compds* , 2009 45: 530-531.
- Yang CM( 阳长明) ,Hou SX( 侯世祥) ,Wang XC( 王新春) ,*et al.* Chemical constituents of grub and grub eye drops. *J Chin Med Mat* ( 中药材) 2000 23: 769-771.
- Wang YL( 王玉亮) ,Dong QF( 董庆峰) ,Zhang L( 张磊) ,*et al.* Chemical constituents in *Holotrichia diomphalia* by GC-MS. *Central South Pharmacy*( 中南药学) 2007 5: 522-524.
- Jia L( 贾陆) . Study on chemical constituents of *Urena lobata* L. II . Phenolic acid constituents. *Chin J Pharm*( 中国医药工业杂志) 2009 40: 746-749.
- Giang PM ,Son PT ,Matsunami K ,Otsuka H. New megastigmane glucosides from *Excoecaria cochinchinensis* Lour. var. *cochinchinensis*. *Chem Pharm Bull* 2005 12: 1600-1603.
- Yang XZ( 杨新洲) ,Liu LG( 林理根) ,Tang CP( 唐春萍) ,*et al.* Non-alkaloid constituents from *Stemona sessilifolia*. *Nat Prod Res Dev*( 天然产物研究与开发) 2008 20: 56-59.
- Liu DL( 刘岱林) ,Pang FG( 庞发根) ,Zhang JX( 张家欣) ,*et al.* Studies on the chemical constituents of *Bulbophyllum odoratissimum* Lindl. *Chin J Med Chem*( 中国药物化学杂志) 2005 2: 103-107.