细梗胡枝子全草中5种黄酮化合物的结构解析

谭莉¹, 张秀凤², 刘扬², 严宝珍^{1*}

(1. 北京化工大学理学院, 北京 100029; 2. 中国科学院化学研究所, 北京 100080)

细梗胡枝子 *Lespedeza virgata* (Thunb.) DC. 为豆科胡枝子属植物, 药用全草。据《中华本草》^[1]记载, 胡枝子的枝叶具有清热润肺, 利尿通淋, 止血的功效; 胡枝子根具有祛风除湿, 活血止痛, 止血止带, 清热解毒的功效; 胡枝子花具有清热止血, 润肺止咳的功效。国内外关于胡枝子属植物有效成分的分离提取研究^[2~8]都是以它的根与树皮为原料, 而分离得到的化合物主要是黄酮类和多羟基酚类物质。考虑到细梗胡枝子全草入药的特点, 本实验室首次针对细梗胡枝子全草提取分离具有活性的黄酮组分, 通过紫外光谱、质谱(ESI-MS)及核磁共振谱等方法分别解析了槲皮素-3-O- α -L-鼠李糖苷(I), 山柰酚-3, 7-O- α -L-二鼠李糖苷(II), 槲皮素-7-O- β -D-葡萄糖苷(III), 山柰酚-3-O- α -L-鼠李糖苷(IV)和山柰酚-3-O- β -D-葡萄糖苷(V)的分子结构。虽然这5种化合物不是新化合物, 但文献中对它们都未见详尽的核磁数据归属^[9~14], 尤其对化合物I、III和IV在该属植物中尚属首次发现。

1 材料 仪器与试剂

细梗胡枝子于2005年4月采自湖北恩施, 由湖北沙石制药厂提供。经中国科学院植物研究所李振宇教授鉴定为细梗胡枝子 *L. virgata* (Thunb.) DC. 的全草。AV 600MHz 型超导液体核磁共振仪(德国Bruker公司, TMS为内标); LC-MS 2010电喷雾质谱仪(美国Waters公司); 薄层色谱硅胶预制板(烟台市化学工业研究所); XT4A显微熔点测定仪、显微镜(北京市科仪电光仪器厂); U-3310紫外检测仪(日本日立高新技术公司), 柱色谱用聚酰胺(浙江台州市路桥四甲生化塑料厂)。

2 提取和分离

细梗胡枝子全草10 kg, 粉碎, 用95%乙醇回流提取, 提取温度50℃, 每次3 h, 共提取3次, 合并提取液后减压浓缩成浸膏405 g, 出膏率为4.05%, 然后把浸膏悬浮于水中, 依次用石油醚(A段)、氯仿(B

段)、正丁醇(C段)萃取。C段减压浓缩成浸膏160 g, 用60~80目的粗硅胶拌样, 经200~300目硅胶柱色谱分离, 采用三氯甲烷-甲醇(4:1)全部浸湿柱子, 但是要保持洗脱剂不对柱子进行洗脱, 平均切柱子, 共得到13个小分段。用甲醇洗脱下每小段物质, 浓缩, 取C7段(11 g)经硅胶柱色谱(200~300目), 分别用氯仿-甲醇混合体系比例分别为100:0, 95:5, 90:10, 80:20, 70:30, 60:40, 20:80, 0:100梯度洗脱分为8段, 取80:20流份C7-4(2.0 g), 经硅胶柱色谱分离, 洗脱剂为氯仿-甲醇-水-乙酸(8:2:0.3:0.01)。C7-4分离后取流份C7-4-4(0.241 g), 经聚酰胺柱色谱分离, 洗脱剂为乙醇-水(3:7), 取流份C7-4-4-6(62 mg), 通过自制硅胶板纯化, 氯仿-甲醇-水-乙酸(4:1:0.1:0.01)作展开剂, 得化合物I C7-4-4-6-2(6 mg); C7-4分离后取流份C7-4-7(0.1544 g), 经聚酰胺柱色谱分离, 乙醇-水(3:7)洗脱, 得到化合物II C7-4-7-1(10 mg)和化合物III C7-4-7-5(5 mg)。取流份C7-4-3(58 mg), 经自制硅胶板分离, 展开剂为氯仿-甲醇-水-乙酸(4:1:0.1:0.01), 经反复纯化得到化合物IV C7-4-3-3-2(3 mg)和化合物V C7-4-3-4-2(4 mg)。

3 结构鉴定

3.1 NMR 分析条件: AV 600MHz 型超导液体核磁共振仪, 以 $C_5H_5N-d_5$ 和 CH_3OH-d_4 为溶剂, TMS为内标物。

3.2 ESI-MS 分析条件: LC-MS 2010电喷雾质谱仪, 喷雾电压1.6 kV, 雾化气为 N_2 , 负离子扫描方式。

3.3 结构鉴定

化合物I: 黄色粉末, mp 184~185℃, 盐酸-镁粉反应呈阳性。UV λ_{max}^{OH} nm: 256.5, 350.5。ESI-MS (m/z): 447.1 ($[M-H]^-$, 100)。 ^1H-NMR (CD_3OD , 600 MHz) δ 7.350 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-2), 7.320 (1H, dd, $J=2.4, 8.4$ Hz, H-6), 6.922 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5), 6.376 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-8),

收稿日期: 2007-05-15

基金项目: 国家自然科学基金(30570446); 中国科学院海外杰出青年基金资助(2005-1-12)

作者简介: 谭莉(1981-), 女, 黑龙江人, 现为北京化工大学分析化学专业硕士研究生, 主要从事天然产物活性成分研究。

* 通讯作者 严宝珍 Tel: (010) 64421755 E-mail: yanbz1941@163.com

6. 207 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-6), 5. 364 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-1), 4. 236 (1H, d, $J = 3$ Hz, H-2), 3. 766 (1H, dd, $J = 3.6, 9.6$ Hz, H-3), 3. 482 (1H, m, H-5), 3. 362 (1H, m, H-4), 0. 954 (3H, d, $J = 6$ Hz, H-6)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CD₃OD, 600 MHz) 数据见表 1。所有 $^1\text{H-NMR}$ 与 $^{13}\text{C-NMR}$ 化学位移数据与槲皮素-3- α -L-鼠李糖苷一致^[9]。

表 1 化合物 I ~ V 的 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据 (四甲基硅烷 TMS 为内标)

Table 1 $^{13}\text{C-NMR}$ Data of compounds I - V (tetramethylsilane as internal standard)

碳位	I	II	III	IV	V
2	148.5	158.20	145.24	157.7	157.64
3	134.8	135.86	134.41	134.8	134.11
4	134.8	178.94	178.10	178.1	177.91
5	161.9	162.20	157.49	162.0	162.07
6	98.5	100.14	98.59	97.5	99.01
7	164.8	162.57	164.72	165.4	166.62
8	93.3	94.63	93.25	93.5	93.83
9	157.9	156.87	157.12	157.3	157.27
10	104.5	106.82	104.05	104.1	103.82
1	121.52	121.36	121.42	121.3	121.37
2	115.5	131.34	116.35	130.5	130.85
3	141.5	116.21	144.45	115.1	114.73
4	157.2	161.64	148.63	160.2	160.27
5	115.0	116.21	114.09	115.1	114.73
6	121.45	131.34	121.60	130.5	130.85
1	102.1	103.62	103.98	102.1	103.08
2	70.5	71.73	71.74	70.6	70.21
3	70.7	72.30	73.70	71.8	76.63
4	71.9	73.01	68.70	70.5	74.23
5	70.6	71.89	75.69	70.7	76.95
6	16.3	18.08	60.59	16.2	61.16
1'''		99.79			
2'''		71.37			
3'''		72.15			
4'''		73.33			
5'''		71.23			
6'''		18.38			

化合物 II: 浅黄色粉末, mp 226~ 228, 盐酸-镁粉反应呈阳性。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{M}^{\text{OH}}}$ nm: 265.5, 343.5。ESI-MS (m/z): 577.1 ([M - H]⁺, 100)。 $^1\text{H-NMR}$ (CD₃N, 600 MHz) δ 13.184 (1H, s, 5-OH), 12.437 (1H, s, 4-OH), 8.039 (2H, d, $J = 9$ Hz, H-2, 6), 7.249 (2H, d, $J = 9$ Hz, H-3, 5), 6.942 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-8), 6.763 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-6), 6.268 (1H, s, H-1), 6.222 (1H, s, H-1'''), 5.059 (1H, s, H-2), 4.674 (1H, s, H-2'''), 4.619 (1H, dd, $J = 3.6, 9$ Hz, H-3'''), 4.575 (1H, dd, $J = 3.0, 9.6$ Hz, H-3), 4.354 (1H, t, $J = 9$ Hz, H-4'''), 4.24~ 4.28 (2H, m, H-4, 5'''), 4.136 (1H, m, H-5), 1.624 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-6'''), 1.412 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-6)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CD₃N, 600 MHz) 数据见表

1。所有 $^1\text{H-NMR}$ 与 $^{13}\text{C-NMR}$ 化学位移数据与山柰酚-3, 7- α -L-二鼠李糖苷一致^[10-12]。

化合物 III: 黄色粉末, mp 212~ 214, 盐酸-镁粉反应呈阳性。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{M}^{\text{OH}}}$ nm: 257.5, 356.5。ESI-MS (m/z): 463.1 ([M - H]⁺, 100)。 $^1\text{H-NMR}$ (CD₃OD, 600 MHz) δ 7.858 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2), 7.608 (1H, dd, $J = 1.8, 9$ Hz, H-6), 6.878 (1H, d, $J = 9$ Hz, H-5), 6.417 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-8), 6.219 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-6), 5.182 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1), 3.884 (1H, d, $J = 3$ Hz, H-4), 3.847 (1H, t, $J = 9$ Hz, H-2), 3.582 (2H, m, H-6), 3.619 (1H, m, H-3), 3.498 (1H, t, $J = 6$ Hz, H-5)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CD₃OD, 600 MHz) 数据见表 1。所有 $^1\text{H-NMR}$ 与 $^{13}\text{C-NMR}$ 化学位移数据与槲皮素-7- β -D-葡萄糖苷一致^[13]。

化合物 IV: 黄色粉末, mp 173~ 175, 盐酸-镁粉反应呈阳性。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{M}^{\text{OH}}}$ nm: 265.5, 343.5。ESI-MS (m/z): 431.1 ([M - H]⁺, 100)。 $^1\text{H-NMR}$ (CD₃OD, 600 MHz) δ 7.781 (2H, dd, $J = 1.8, 7.2$ Hz, H-2, 6), 6.950 (2H, dd, $J = 1.8, 7.2$ Hz, H-3, 5), 6.374 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-8), 6.220 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-6), 5.388 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-1), 4.236 (1H, dd, $J = 1.8, 3$ Hz, H-2), 3.730 (1H, dd, $J = 3.6, 9$ Hz, H-3), 3.356 (1H, m, H-4), 3.341 (1H, m, H-5), 0.932 (3H, br, $J = 3$ Hz, H-6)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CD₃OD, 600 MHz) 数据见表 1。所有 $^1\text{H-NMR}$ 与 $^{13}\text{C-NMR}$ 化学位移数据与山柰酚-3- α -L-鼠李糖苷一致^[14]。

化合物 V: 黄色粉末, mp 175~ 177, 盐酸-镁粉反应呈阳性。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{M}^{\text{OH}}}$ nm: 257.5, 351.5。ESI-MS (m/z): 447.2 ([M - H]⁺, 100)。 $^1\text{H-NMR}$ (CD₃OD, 600 MHz) δ 8.068 (2H, d, $J = 9$ Hz, H-2, 6), 6.903 (1H, d, $J = 9$ Hz, H-3, 5), 6.389 (1H, s, H-8), 6.914 (1H, s, H-6), 5.176 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1), 3.695 (1H, d, $J = 1.8, 11.4$ Hz, H-6), 3.555 (1H, d, $J = 5.4, 11.4$ Hz, H-6), 3.472 (1H, t, $J = 9$ Hz, H-2), 3.426 (1H, t, $J = 9$ Hz, H-3), 3.361 (1H, br, H-4), 3.215 (1H, br, H-5)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CD₃OD, 600 MHz) 数据见表 1。所有 $^1\text{H-NMR}$ 与 $^{13}\text{C-NMR}$ 化学位移数据与山柰酚-3- β -D-葡萄糖苷一致^[14]。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局编委会. 中华本草 [M]. 上海: 科学技术出版社, 1999.

- [2] Miyase T, Sano M, Yoshino K, *et al.* Antioxidants from *L espedeza ham oloba* (II) [J]. *Phytochemistry*, 1999, 52: 311-319.
- [3] Maximov O B, Kulesh N I, Stepanenko L S, *et al.* New prenylated isoflavanones and other constituents of *L espedeza bicolor* [J]. *Fitoterapia*, 2004, 75: 96-98.
- [4] Miyase T, Sano M, Nakai H, *et al.* Antioxidants from *L espedeza ham oloba* (I) [J]. *Phytochemistry*, 1999, 52: 303-310.
- [5] 王威, 闫喜英, 王永奇, 等. 胡枝子属植物化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中草藥, 2000, 31(2): 144-146.
- [6] 王永奇, 吕琳, 姜妍, 等. 绒毛胡枝子的化学成分研究 [J]. 中草藥, 1992, 23(2): 63-65.
- [7] 王永奇, 吕琳, 姜妍, 等. 兴安胡枝子化学成分的研究 [J]. 中草藥, 1992, 23(7): 341-343.
- [8] 申文吉, 李景荣, 丁南开, 等. 大叶胡枝子化学成分的研究 [J]. 中国药科大学学报, 1991, 22(3): 148-149.
- [9] 刘兴宽, 郁建平, 古练权. 贵州金丝桃中黄酮类成分研究 [J]. 中草藥, 2005, 28(10): 893-894.
- [10] 李崇前, 张国林, 张成刚. 苦竹叶的化学成分研究 [J]. 中草藥, 2004, 35(7): 737-739.
- [11] 斯建勇, 陈迪华, 常琪, 等. 泉七化学成分研究 [J]. 药学报, 1994, 29(2): 158-160.
- [12] 陈全斌, 杨建香, 程忠泉, 等. 罗汉果叶黄酮甙的分离与结构鉴定 [J]. 广西科学, 2006, 13(1): 35-36, 42.
- [13] Bertrand A, Olivier D. Quercetin (= 2-(3, 4-dihydroxyphenyl)-3, 5, 7-trihydroxy-4H-1-benzopyran-4-one) glycosides and sulfates: chemical synthesis, complexation, and antioxidant properties [J]. *Helv Chim Acta*, 2001, 84: 1133-1156.
- [14] 王开金, 陈烈忠, 李宁, 等. 加拿大一枝黄花黄酮类成分及抗氧化与自由基清除活性研究 [J]. 中国药理学杂志, 2006, 41(7): 493-496.

大叶白蜡树种子化学成分研究

肖正华¹, 蔡玉鑫², 阿依别克·马力克²

(1. 四川理工学院 化学系, 四川 自贡 643000; 2. 新疆大学化学化工学院, 新疆 乌鲁木齐 830046)

木樨科^栎属大叶白蜡树 *Fraxinus am ericana* L. var. *juglandifolia* Rehd., 又名亚生(维吾尔语), 为城市绿化树种, 全新疆均有分布。其皮(秦皮)苦, 寒, 清热燥湿, 收敛; 其种子辛, 温, 镇静安神, 为常用维吾尔医药^[1]。国内外对秦皮化学成分的研究较深入, 但对其种子的研究, 未见报道。为了弄清其种子的药理活性成分, 笔者对其进行了较系统地研究。从 90% 乙醇提取物中分离出 13 个化合物。经理化常数检测, 标准品对照, 文献比较和波谱学等方法鉴定为: 七叶苷(I)、七叶内酯(II)、槲皮素(III)、槲皮素-3-O-β-D-半乳糖苷(IV)、木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷(V)、黄芩素(VI)、4-羟基汉黄芩素(VII)、丁香苷(VIII)、β-谷甾醇(IX)、胡萝卜苷(X)、熊果酸(XI)、(+)-儿茶素(XII)、没食子酸(XIII)。化合物 III~VII, IX, XII, XIII 均为首次从该属植物中分得。

1 仪器和材料

实验材料(种子)由新疆大学阿依别克·马力克副教授从新疆维吾尔民族医院药房购得并鉴定, 标本现存于新疆大学有机化学实验室。日本 Yanaco MP-S3 型熔点仪(温度计未校正); Yarian Inova-400 超导核磁共振仪(TM S 为内标); HP1100LC-MS (ESI) 型质谱仪; Bruker Equinox55FT-IR (KBr 压片) 红外光谱仪; Perkin-Elmer Lambda17UV/VIS 型紫外光谱仪。薄层和柱色谱用硅胶

系青岛海洋化工厂产品; 所用试剂均为分析纯。

2 提取和分离

取大叶白蜡树种子 0.5 kg, 粉碎, 用 90% 乙醇渗漉, 减压浓缩至适量, 加水分散, 冷置。滤液依次用石油醚、氯仿、醋酸乙酯、正丁醇抽提, 得石油醚提取物 8.5 g、氯仿提取物 34 g、醋酸乙酯提取物 19 g、正丁醇提取物 21.5 g。各部分上硅胶柱(100~200 目)反复分离, 制备色谱, 甲醇反复重结晶。氯仿部分用石油醚-醋酸乙酯洗脱, 得化合物 IX、X、XI; 正丁醇部分用氯仿-甲醇洗脱得化合物 I、II、VIII, 其余化合物由醋酸乙酯部分用氯仿-甲醇、醋酸乙酯-甲醇梯度洗脱而得。

3 结构鉴定

化合物 I: 无色针状结晶(甲醇), mp 269~270, 紫外灯光(365 nm)下呈蓝色荧光, 异羟肟酸铁反应呈红色, 根据 UV、IR、¹H-NMR、¹³C-NMR 数据及文献对照^[2], 确定化合物 I 为七叶内酯。

化合物 II: 白色针晶(甲醇), mp 213~215, 紫外灯光(365 nm)下呈天蓝色荧光, 其分子式、mp、UV、IR、TLC 的 R_f 值与对照品一致, 故确定为七叶苷。

化合物 III: 黄色晶体(醋酸乙酯), mp 313~315, 紫外灯光(365 nm)下显黄绿色荧光, Mg-HCl 反应呈阳性, 浓硫酸反应呈黄色。其 TLC 的 R_f