

落花生茎叶醋酸乙酯部位化学成分研究

杨 杰¹, 纪瑞峰², 王丽莉^{3,4,5,6}, 张铁军^{3,4,5,6*}

1. 天津医科大学, 天津 300070

2. 天津中医药大学, 天津 300193

3. 天津药物研究院, 天津 300193

4. 天津市中药质量控制技术工程实验室, 天津 300193

5. 中药现代制剂与质量控制技术国家地方联合工程实验室(天津), 天津 300193

6. 释药技术与药代动力学国家重点实验室, 天津 300193

摘 要: **目的** 研究落花生 *Arachis hypogaea* 茎叶的化学成分。**方法** 采用硅胶柱色谱、凝胶柱色谱和 ODS 柱色谱进行分离纯化, 通过理化方法和波谱数据进行结构鉴定。**结果** 从落花生茎叶 70%乙醇提取液的醋酸乙酯萃取部位分离得到 8 个化合物, 经波谱分析鉴定其结构, 分别为肉豆蔻酸(1)、十五碳酸(2)、汉黄芩素(3)、美迪紫檀素(4)、邻苯二甲酸二丁酯(5)、异香草酸(6)、芒柄花素(7)、 β -谷甾醇(8)。**结论** 化合物 2、3、4、5、7 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 落花生; 十五碳酸; 汉黄芩素; 邻苯二甲酸二丁酯; 芒柄花素

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2013)02-0147-03

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2013.02.011

Chemical constituents from ethyl acetate fraction in stems and leaves of *Arachis hypogaea*

YANG Jie¹, JI Rui-feng², WANG Li-li^{3,4,5,6}, ZHANG Tie-jun^{3,4,5,6}

1. Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

3. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

4. Tianjin Engineering Laboratory of Quality Control Technology of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

5. National & Local United Engineering Laboratory of Modern Preparation and quality control Technology of Traditional Chinese Medicine (Tianjin), Tianjin 300193, China

6. State Key Laboratory of Drug Delivery Technology and Pharmacokinetics, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents in the stems and leaves of *Arachis hypogaea*. **Methods** The compounds were isolated and purified by silica gel column chromatography, gel chromatography, and ODS column chromatography. Their structures were elucidated by chemical and spectral analyses. **Results** Eight compounds were obtained from the ethyl acetate fraction of 70% ethanol extraction in the stems and leaves of *A. hypogaea* and their structures were identified as myristic acid (1), pentadecanoic acid (2), wogonin (3), medicarpin (4), dibutyl phthalate (5), isovanillic acid (6), formononetin (7), and β -sitosterol (8). **Conclusion** Compounds 2, 3, 4, 5, and 7 are isolated from this plant for the first time.

Key words: *Arachis hypogaea* L.; pentadecanoic acid; wogonin; dibutyl phthalate; formononetin

落花生茎叶为豆科落花生属植物落花生 *Arachis hypogaea* L. 的茎及叶, 收载于《湖南省中药材标准》。本品味甘、淡, 性平, 具有散瘀消肿、解毒、止汗的功效, 用于跌打损伤、各种疮毒、盗汗^[1]。

现代药理研究表明, 落花生枝叶具有镇静安神、降压和止血凉血作用^[2]。作为药材, 落花生茎叶质量参差不齐, 本课题组已对落花生茎叶进行了质量评价研究, 建立了其 HPLC 指纹图谱^[3]。落花生茎叶

收稿日期: 2012-12-14

作者简介: 杨 杰 (1990—), 女, 河北沧州人, 硕士研究生。Tel: 13752032110 E-mail: yongyuanhenyuan@163.com

*通信作者 张铁军, 研究方向为中药新药研发。Tel: (022)23006848 E-mail: tiezheng4@sina.com

的作用机制以及药效物质基础还不清楚,为此本实验通过硅胶柱色谱、凝胶柱色谱和 ODS 柱色谱进行分离纯化,从 70%乙醇提取液的醋酸乙酯萃取部位共分离和鉴定了 8 个化合物,分别为肉豆蔻酸(1)、十五碳酸(2)、汉黄芩素(3)、美迪紫檀素(4)、邻苯二甲酸二丁酯(5)、异香草酸(6)、芒柄花素(7)、 β -谷甾醇(8)。其中化合物 2、3、4、5、7 为首次从落花生茎叶中分离得到。

1 仪器和材料

Bruker AV400 核磁共振仪(Bruker 公司);X—4 显微熔点仪(北京泰克仪器有限公司);Finnigan—MAT 90 质谱仪(美国金泰科技公司);ODS 填料(100~200 目,北京欧亚新技术公司);SephadexLH-20 凝胶(Pharmacia 公司);薄层色谱用硅胶 GF254、柱色谱硅胶(100~200、200~300 目,青岛海洋化工厂产品),其他试剂均为分析纯。

落花生茎叶药材经天津药物研究院张铁军研究员鉴定为豆科落花生属植物落花生 *Arachis hypogaea* L. 的干燥地上部分。

2 提取与分离

落花生茎叶 30 kg,粉碎,用 70%乙醇加热回流提取 3 次,每次 2 h,首次溶剂用量为药材的 10 倍量,其余两次为药材的 8 倍量。合并提取液,减压回收溶剂至 20 L,依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取。取醋酸乙酯部位 120 g,干法上硅胶柱,用二氯甲烷—甲醇梯度洗脱,收集洗脱液,1 500 mL 为一个流分。经 TLC 检测,合并流分。其中二氯甲烷—甲醇(100:5)部分经 ODS 柱色谱、凝胶柱色谱、硅胶柱色谱分离,得化合物 1(约 90 mg)、化合物 2(约 37 mg);二氯甲烷—甲醇(100:7)部分,经 ODS 柱色谱、硅胶柱色谱分离,得化合物 3(约 88 mg);二氯甲烷—甲醇(100:10)部分,经 ODS 柱色谱、硅胶柱色谱分离,得化合物 4(约 20 mg)、化合物 8(约 600 mg);二氯甲烷—甲醇(100:20)部分,经 ODS 柱色谱、硅胶柱色谱分离,得化合物 5(约 18 mg)、化合物 6(约 100 mg);二氯甲烷—甲醇(100:30)部分,经 ODS 柱色谱、硅胶柱色谱分离,得化合物 7(约 15 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 无色鳞片状结晶(氯仿), mp 54~56 °C, 紫外 365 nm 下显蓝色荧光, 溴甲酚绿试验呈阳性。ESI-MS m/z : 228 $[M]^+$, 199, 185, 171, 157, 143, 129, 73。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, C_5DCl_3)

δ : 0.87 (3H, t, $J=3.9$ Hz, 14- CH_3), 1.64 (2H, m, β - CH_2), 2.34 (2H, t, $J=2.0$ Hz, α - CH_2); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, C_5DCl_3) δ : 178.9 (C-1), 33.8 (C-2), 31.9 (C-3), 29.6 (C-4), 29.5 (C-5), 29.4 (C-6), 29.3 (C-7), 29.0 (C-8), 24.6 (C-9), 22.6 (C-10), 14.1 (C-11)。以上数据与文献报道^[4]一致,故鉴定化合物为肉豆蔻酸。

化合物 2: 白色粉末, mp 55~57 °C, EI-MS m/z : 242 $[M]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 2.35 (2H, t, $J=6.5$ Hz, H-2), 1.64 (2H, m, H-3), 1.25~1.30 (22H, m, H-4~H-14), 0.88 (3H, t, H-15); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 180.1 (C-1), 34.0 (C-2), 31.8 (C-3), 29.7~29.0 (C-4~C-12), 24.6 (C-13), 22.7 (C-14), 14.1 (C-15)。以上数据与文献报道^[5]一致,故鉴定化合物为十五碳酸。

化合物 3: 浅黄色针状结晶(甲醇)。mp 205~207 °C, ESI-MS m/z : 284 $[M+1]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 12.48 (1H, s, 5-OH), 10.80 (1H, s, 7-OH), 8.05 (2H, m, H-2', 6'), 7.59 (3H, m, H-3', 4', 5'), 6.97 (1H, s, H-6), 6.30 (1H, s, H-3), 3.84 (3H, s, OCH_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 163.2 (C-2), 105.2 (C-3), 182.2 (C-4), 156.4 (C-5), 99.3 (C-6), 157.6 (C-7), 128.0 (C-8), 149.8 (C-9), 103.9 (C-10), 131.0 (C-1'), 126.6 (C-2'), 129.4 (C-3'), 132.3 (C-4'), 129.4 (C-5'), 126.5 (C-6'), 61.2 (OCH_3)。以上数据与文献报道^[6]一致,故鉴定为汉黄芩素。

化合物 4: 白色针晶, mp 106~107 °C, 易溶于氯仿、甲醇等有机溶剂。ESI-MS m/z : 270 $[M]^+$, 255 $[M-\text{CH}_3]$, 226, 213, 152, 148。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.37 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-1), 7.11 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-7), 6.54 (1H, q, $J=8.4$ Hz, 2.4 Hz, H-2), 6.44 (2H, m, H-8、10), 6.40 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-4), 5.47 (1H, d, $J=6.8$ Hz, H-11a), 4.23 (1H, dd, $J=6.8$ Hz, H-6eq), 3.75 (3H, s, OCH_3), 3.63 (1H, m, H-6ax), 3.52 (1H, m, H-6a); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 39.5 (C-6a), 55.5 (OCH_3), 66.5 (C-6), 78.5 (C-11a), 96.9 (C-10), 103.7 (C-4), 106.4 (C-8), 109.8 (C-2), 112.7 (C-1a), 119.1 (C-7a), 124.8 (C-7), 132.2 (C-1), 156.7 (C-3), 157.0 (C-10a), 160.7 (C-9), 161.1 (C-4a)。以上数据与参考文献^[7-8]一致,故鉴

定为美迪紫檀素。

化合物 5: 黄色油状物, ESI-MS m/z : 301 $[M+Na]^+$, 579 $[2M+Na]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.71 (2H, dd, $J=5.7, 3.3$ Hz, H-3、6), 7.61 (2H, dd, $J=5.7, 3.3$ Hz, H-4、5), 4.29 (4H, t, $J=6.6$ Hz, H-1'、1''), 1.72 (4H, m, H-2'、2''), 1.45 (4H, m, H-3'、3''), 0.98 (6H, t, $J=7.4$ Hz, H-4'、4''), ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 132.3 (C-1、2), 129.9 (C-3、6), 133.6 (C-4、5), 66.7 (C-1'、1''), 31.7 (C-2'、2''), 20.3 (C-3'、3''), 14.0 (C-4'、4''), 169.3 (C=O)。以上数据与参考文献^[9]一致, 故鉴定为邻苯二甲酸二丁酯。

化合物 6: 白色晶体 (甲醇), 硫酸乙醇显粉红色。EI-MS m/z : 168 $[M]^+$ 。分子式为 $C_8H_7O_4$ 。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 13.67 (1H, brs, COOH), 8.16 (1H, dd, $J=2.0, 1.6$ Hz, H-2), 8.06 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 7.29 (1H, d, $J=1.6$ Hz, H-5), 3.74 (1H, s, OCH_3); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 169.1 (C=O), 152.8 (C-4), 148.3 (C-3), 124.9 (C-2), 123.8 (C-6), 116.2 (C-1), 113.8 (C-5), 55.81 (OCH_3)。以上数据与参考文献^[10]一致, 故鉴定为异香草酸。

化合物 7: 白色针晶 (甲醇)。分子式 $C_{16}H_{12}O_4$ 。ESI-MS m/z : 269 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 8.45 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5), 8.15 (1H, s, H-2), 7.78 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-2'、6'), 7.21 (1H, dd, $J=8.4, 1.5$ Hz, H-6), 7.11 (1H, d, $J=1.5$ Hz, H-8), 7.06 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-3'、5'), 3.67 (3H, s, OCH_3); ^{13}C -NMR (100 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 175.6 (C-4), 164.1 (C-7), 159.9 (C-4'), 158.5 (C-9), 152.7 (C-2), 130.8 (C-2'、6'), 128.2 (C-5), 125.3 (C-1'), 124.5 (C-3), 117.9 (C-10), 115.9 (C-6), 114.2 (C-3'、5'), 103.1 (C-8), 55.2 (OCH_3)。以上数据与参考文献^[11]一致, 故鉴定为芒柄花素。

化合物 8: 无色针晶 ($CHCl_3$), mp 133~134 $^{\circ}C$ 。在紫外 (254、365 nm) 灯下无荧光或暗斑, Libermann-Burchard 反应呈阳性, 10%硫酸乙醇显色为紫红色, 磷钼酸-乙醇溶液显色为蓝色斑点。 1H -NMR (400 MHz, C_5DCl_3) δ : 5.6 (1H, d, $J=4.8$ Hz, H-6), 3.53 (1H, m, H-3), 0.66 (3H, s),

0.82 (3H, s), 0.84 (3H, s), 0.86 (3H, s), 0.92 (3H, s), 1.01 (3H, s); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 37.2 (C-1), 31.6 (C-2), 71.8 (C-3), 42.3 (C-4), 140.7 (C-5), 121.7 (C-6), 31.9 (C-7), 31.9 (C-8), 50.1 (C-9), 36.1 (C-10), 21.1 (C-11), 28.2 (C-12), 42.3 (C-13), 56.7 (C-14), 24.3 (C-15), 39.7 (C-16), 56.0 (C-17), 12.0 (C-18), 19.4 (C-19), 36.5 (C-20), 18.8 (C-21), 33.9 (C-22), 26.0 (C-23), 45.8 (C-24), 29.1 (C-25), 19.0 (C-26), 19.8 (C-27), 23.0 (C-28), 11.8 (C-29)。以上数据与参考文献^[12]一致, 故鉴定为 β -谷甾醇。

参考文献

- [1] 汪文涛, 李 波. 湖南省中药材标准 [M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2009: 312.
- [2] 王翘楚. 落花生枝叶治疗失眠症研究成果汇报 [C]. 全国第四次中医科研方法学暨花生枝叶治疗失眠症研究成果汇报学术研讨会专家讲课和学术论文集. 北京: 中华中医药学会, 2009: 107-112.
- [3] 郝子博, 王丽莉, 张铁军. 落花生茎叶 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2012, 43(10): 2050-2054.
- [4] 黄建设, 李庆欣, 吴 军, 等. 粗吻海龙化学成分的研究 [J]. 中草药, 2004, 35(5): 485-487.
- [5] Hansen R P, Shorland F B, Cooke N J. The occurrence of *n*-pentadecanoic acid in hydrogenated mutton fat [J]. *Biochem J*, 1954, 58(4): 516-517.
- [6] Min B S. Revision of structures of flavanoids from *Scutellaria indica* and their protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory activity [J]. *Nat Prod Sci*, 2006, 12(4): 205-209.
- [7] Preston N W. Induced pterocarpanes of *Psophocarpus tetragonolobus* [J]. *Phytochemistry*, 1977, 16(12): 2044-2045.
- [8] Ingham J L, Markham K R, et al. Identification of the *Erythrina phytoalexin* cristacarpin and a note on the chirality of other 6a-hydroxypterocarpanes [J]. *Phytochemistry*, 1980, 19(6): 1203-1207.
- [9] Hoang V L T, Li Y, Kim S K. Cathepsin B inhibitory activities of phthalates isolated from a marine *Pseudomonas* strain [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18(6): 2083-2088.
- [10] 解军波, 李 萍. 四季青酚酸类化学成分研究 [J]. 中国药科大学学报, 2002, 33(1): 76-77.
- [11] 向 诚, 成 军, 梁 鸿, 等. 丰城鸡血藤异黄酮类化合物的分离鉴定 [J]. 药学报, 2009, 44(2): 158-161.
- [12] 路 芳, 巴晓雨, 何永志. 仙鹤草的化学成分研究 [J]. 中草药, 2012, 43(5): 851-855.