

• 实验研究 •

葶毛木蓝化学成分研究

傅建^{1,2}, 梁光义^{1,2}, 张建新², 张永萍¹, 刘莉³, 潘卫东², 曹佩雪^{2*}

1. 贵阳中医学院, 贵州 贵阳 550002
2. 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵州 贵阳 550002
3. 贵阳德昌祥药业有限公司, 贵州 贵阳 550001

摘要: **目的** 研究少数民族用药葶毛木蓝的化学成分。**方法** 采用硅胶柱色谱、薄层色谱、Sephadex LH-20 柱色谱等方法进行分离纯化, 根据理化性质和波谱数据鉴定单体化合物的结构。**结果** 从葶毛木蓝中分离得到 10 个化合物, 分别鉴定为 β -谷甾醇 (1)、羽扇烯酮 (2)、棕榈酸甲酯 (3)、羽扇豆醇 (4)、豆甾烷-3-酮 (5)、表儿茶素 (6)、7,3',5'-三羟基二氢黄酮 (7)、胡萝卜苷 (8)、豆甾-4-烯-3-酮 (9) 和 β -香树精 (10)。**结论** 所有化合物均首次从该植物中分离得到, 其中化合物 3、5、6、7、9、10 为首次从该属植物中分离得到。

关键词: 葶毛木蓝; 棕榈酸甲酯; 豆甾烷-3-酮; 7,3',5'-三羟基二氢黄酮

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2013)03-0265-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2013.03.001

Chemical constituents in *Indigofera stachyoides*FU Jian^{1,2}, LIANG Guang-yi^{1,2}, ZHANG Jian-xin², ZHANG Yong-ping¹, LIU Li³, PAN Wei-dong², CAO Pei-xue²

1. Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China
2. The Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China
3. Guiyang De Changxiang Pharmaceutical Co., Ltd., Guiyang 550001, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from ethnic drug *Indigofera stachyoides*. **Methods** The compounds were isolated and repeatedly purified by silica gel, TLC, and Sephadex LH-20 column chromatography, and their structures were identified by their spectral analyses and physicochemical properties. **Results** Ten compounds were isolated and identified as β -sitosterol (1), lup-20(29)-en-3-one (2), methyl hexadecanoate (3), lupeol (4), stigmastan-3-one (5), epicatechin (6), 7,3',5'-trihydroxyflavanone (7), daucosterol (8), stigmast-4-en-3-one (9), and β -amyrin (10) respectively. **Conclusion** All these compounds are isolated from this plant for the first time, and compounds 3, 5, 6, 7, 9, and 10 are isolated from the plants in *Indigofera* Linn. for the first time.

Key words: *Indigofera stachyoides* Lindl.; methyl hexadecanoate; stigmastan-3-one; 7,3',5'-trihydroxyflavanone

葶毛木蓝又名铁刷子、山红花、红苦刺, 来源于豆科木兰属植物葶毛木蓝 *Indigofera stachyoides* Lindl. 的干燥根, 是《贵州省中药材、民族药材质量标准》(2003 年版) 收载品种, 为贵州苗族用药, 也载于《贵州民间药物》及《云南中成药》, 味甘、苦, 性温^[1], 具有滋阴补虚、舒血舒筋功效, 主要用于崩漏、体虚久痢、肠风下血、溃疡不敛、跌打

损伤、肝硬化、痞积等^[2-3]。根据贵州少数民族苗族民间验方, 以葶毛木蓝为主要原料的中成药有芪胶升白胶囊, 对人体气血亏损引起的免疫能力低下, 以及治疗肿瘤放疗化疗后引起的白细胞减少症具有疗效。由于国内外对葶毛木蓝的化学成分研究较少, 为了阐明其药效物质基础, 本实验对葶毛木蓝干燥根的化学成分进行了较为系统的研究, 并从其乙醇

收稿日期: 2013-04-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81160390); 贵州省优秀青年科技人才培养计划项目 (黔科合人字[2011]33 号); 中国科学院“西部之光”人才培养计划项目 (2010); 贵州省创新能力建设项目 (黔科合院所创能[2009]4010 号)

作者简介: 傅建 (1987—), 男, 浙江金华市人, 硕士研究生, 主要从事中药新药研发与天然药物化学研究。E-mail: fu_jian2008@163.com

*通信作者 曹佩雪 Tel: (0851)3807713 E-mail: snowcpx@126.com

提取物中分离鉴定了 10 个化合物, 分别为 β -谷甾醇 (1)、羽扇烯酮 (2)、棕榈酸甲酯 (3)、羽扇豆醇 (4)、豆甾烷-3-酮 (5)、表儿茶素 (6)、7,3',5'-三羟基二氢黄酮 (7)、胡萝卜苷 (8)、豆甾-4-烯-3-酮 (9) 和 β -香树精 (10), 其中化合物 3、5、6、7、9、10 为首次从该属植物中分离得到。

1 仪器与材料

INOVA—400 型核磁共振仪 (Varian 公司); HP1100 MSD 型质谱仪、HP—5973 型质谱仪 (HP 公司); Waters—600 半制备高效液相色谱仪 (Waters 公司); XT—2 型双目显微熔点测定仪 (北京泰克仪器有限公司); 柱色谱用硅胶 (40~80、200~300、300~400 目)、硅胶 H、薄层色谱用硅胶、GF254 薄层色谱板 (青岛海洋化工厂分厂); 反相材料 RP-18 (40~63 μm)、RP-18 薄层板 (德国 Merck 公司); Sephadex LH-20 (瑞典 Amersham Biosciences 公司)。

药材经贵阳中医学院何顺志教授鉴定为豆科木蓝属茸毛木蓝 *Indigofera stachyoides* Lindl. 的干燥根。

2 提取与分离

茸毛木蓝干燥根 9.0 kg 粉碎, 90%乙醇回流提取 2 次, 每次 3 h, 药渣用 60%乙醇回流提取 2 h, 合并 3 次提取液, 减压回收乙醇, 得浓缩液 1 000 mL, 以水稀释分散, 依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取, 减压回收溶剂, 分别得石油醚浸膏 113 g、醋酸乙酯浸膏 491 g、正丁醇浸膏 30 g。取石油醚浸膏 113 g, 用硅胶柱色谱石油醚-醋酸乙酯 (100:0~0:100) 梯度洗脱, 得到 6 个组分 Fr.1~Fr.6, Fr.1 再经硅胶柱色谱石油醚-醋酸乙酯 (8:1) 梯度洗脱, 得到化合物 1 (120 mg)、2 (25 mg); Fr.3 经硅胶柱色谱石油醚-醋酸乙酯 (5:1) 洗脱, 得到化合物 3 (12 mg)、4 (27 mg)。取醋酸乙酯浸膏 491 g, 经硅胶柱色谱氯仿-甲醇 (100:0~0:100) 梯度洗脱, 得到 5 个组分 Fr.1~Fr.5, Fr.1 再经硅胶柱色谱石油醚-醋酸乙酯 (4:1) 洗脱得到化合物 5 (13 mg)、6 (100 mg); Fr.2 经半制备高效液相色谱甲醇-水 (73:27) 洗脱得到化合物 7 (11 mg); Fr.3 经 Sephadex LH-20 三氯甲烷-甲醇 (1:1) 洗脱得到化合物 8 (23 mg); Fr.4 用丙酮重结晶得到化合物 9 (15 mg); Fr.5 用丙酮重结晶得到化合物 10 (70 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 无色针晶 (石油醚-丙酮), mp 138~

142 $^{\circ}\text{C}$; EI-MS m/z : 414 $[\text{M}]^+$, 382, 369, 351, 329, 271, 255, 213, 159, 81, 55, 43。该化合物与 β -谷甾醇对照品共薄层色谱, Rf 值及显色情况均相同。以上数据与文献报道^[4]一致, 故鉴定化合物 1 为 β -谷甾醇。

化合物 2: 白色针晶 (氯仿), mp 170~172 $^{\circ}\text{C}$; EI-MS m/z : 424 $[\text{M}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 4.70 (1H, brs, H-29a), 4.57 (1H, brs, H-29b), 2.35 (1H, m, H-19), 1.60 (3H, s, CH_3 -30), 1.20 (3H, s, CH_3 -26), 1.07 (3H, s, CH_3 -24), 1.05 (3H, s, CH_3 -23), 0.98 (3H, s, CH_3 -27), 0.96 (3H, s, CH_3 -25), 0.85 (3H, s, CH_3 -28); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 216.3 (C-3), 151.0 (C-20), 109.6 (C-29), 55.5 (C-5), 49.8 (C-9), 48.3 (C-18), 47.7 (C-19), 47.6 (C-4), 43.1 (C-17), 42.7 (C-14), 40.8 (C-8), 40.0 (C-22), 38.6 (C-1), 37.6 (C-13), 36.3 (C-10), 35.8 (C-16), 34.2 (C-2), 33.8 (C-7), 29.7 (C-21), 27.6 (C-15), 27.6 (C-23), 25.1 (C-12), 21.0 (C-11), 19.9 (C-24), 19.3 (C-30), 19.0 (C-6), 18.0 (C-28), 15.9 (C-25), 15.8 (C-26), 14.5 (C-27)。以上数据与文献报道^[5]基本一致, 故鉴定化合物 2 为羽扇烯酮。

化合物 3: 白色无定型粉末, EI-MS m/z : 270 $[\text{M}]^+$, 239, 227, 213, 185, 171, 143, 129, 121, 111, 87, 74, 67, 55; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 3.36 (3H, s, OCH_3), 2.28 (2H, t, $J=6.0$ Hz, CH_2), 1.24~1.62 (26H, brs, CH_2), 0.88 (3H, t, $J=6.0$ Hz, CH_3)。以上数据与文献报道^[6]一致, 故鉴定化合物 3 为棕榈酸甲酯。

化合物 4: 无色晶体 (醋酸乙酯), mp 202~204 $^{\circ}\text{C}$; EI-MS m/z : 426 $[\text{M}]^+$, 411, 218, 189, 175, 161, 147, 135, 121, 109; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 在低场处有 3 个氢 4.66 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-29), 4.58 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-29), 3.20 (1H, dd, $J=11.2, 4.4$ Hz, H-3), 在高场观察到 7 个单峰的甲基 1.68 (3H, s, H-30), 1.03 (3H, s, H-26), 0.97 (3H, s, H-23), 0.94 (3H, s, H-27), 0.83 (3H, s, H-25), 0.78 (3H, s, H-28), 0.76 (3H, s, H-24); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 150.9 (C-20), 109.4 (C-29), 79.0 (C-3), 55.3 (C-5), 50.8 (C-9), 48.2 (C-18), 48.0 (C-19), 43.0 (C-17), 42.3 (C-14), 40.8 (C-8), 40.0 (C-22), 38.8 (C-4), 38.6 (C-1), 38.1 (C-13), 37.2 (C-10), 35.6 (C-16), 34.3 (C-7),

29.8 (C-21), 27.9 (C-23), 27.4 (C-2), 27.3 (C-15), 25.2 (C-12), 20.9 (C-11), 19.3 (C-30), 18.3 (C-6), 17.9 (C-28), 16.1 (C-25), 15.9 (C-26), 15.3 (C-24), 14.5 (C-27)。以上数据与文献报道^[7]基本一致, 故鉴定化合物 **4** 为羽扇豆醇。

化合物 **5**: 白色无定型粉末, EI-MS m/z : 414 $[M]^+$, 399, 317, 273, 246, 231, 217, 163, 123, 95; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 0.98 (3H, s, H-19), 0.90 (3H, d, $J=6.4$ Hz, H-21), 0.83 (3H, t, $J=8.4$ Hz, H-29), 0.82 (3H, d, $J=7.0$ Hz, H-26), 0.80 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-27), 0.65 (3H, s, H-18); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 212.2 (C-3), 56.2 (C-17), 56.1 (C-14), 53.8 (C-9), 46.7 (C-5), 45.8 (C-24), 44.7 (C-4), 42.6 (C-13), 39.9 (C-12), 38.5 (C-1), 38.2 (C-2), 36.1 (C-20), 35.6 (C-10), 35.4 (C-8), 33.9 (C-22), 31.7 (C-7), 29.1 (C-25), 28.9 (C-6), 28.2 (C-16), 26.0 (C-23), 24.2 (C-15), 23.0 (C-28), 21.4 (C-11), 19.8 (C-26), 19.0 (C-27), 18.7 (C-21), 12.0 (C-18), 11.9 (C-29), 11.4 (C-19)。以上数据与文献报道^[8]一致, 故鉴定化合物 **5** 为甾甙烷-3-酮。

化合物 **6**: 无色针晶 (氯仿-甲醇), mp 246~247 °C; 1%三氯化铝显黄色; ESI-MS m/z : 291 $[M+H]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 400 MHz,) δ : 6.92 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2'), 6.74 (1H, dd, $J=8.0$ 、2.0 Hz, H-6'), 6.69 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-5'), 5.88 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 5.86 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 4.76 (1H, s, H-2), 4.11 (1H, m, H-3), 2.80 (1H, dd, $J=17.0$ 、4.4 Hz, H-4), 2.68 (1H, dd, $J=17.0$ 、3.0 Hz, H-4); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 158.0 (C-5), 157.6 (C-5), 157.3 (C-9), 145.9 (C-3'), 145.7 (C-4'), 132.3 (C-1'), 119.4 (C-6'), 115.9 (C-2'), 115.3 (C-5'), 100.0 (C-10), 96.3 (C-6), 95.9 (C-8), 79.8 (C-2), 67.5 (C-3), 29.3 (C-4)。以上数据与文献报道^[4]一致, 故鉴定化合物 **6** 为表儿茶素。

化合物 **7**: 黄色晶体 (甲醇); mp 223~225 °C; ESI-MS m/z : 273 $[M+H]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 400 MHz) δ : 7.72 (1H, d, $J=8.8$ Hz, H-5), 6.93 (1H, d, $J=1.7$ Hz, H-4'), 6.80 (1H, d, $J=1.6$ Hz, H-2'), 6.79 (1H, brs, H-6'), 6.49 (1H, dd, $J=8.8$ 、2.4 Hz, H-6), 6.36 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-8), 5.32 (1H, dd, $J=3.0$ 、13.2 Hz, H-2), 3.01 (1H, dd, $J=13.2$ 、17.2 Hz, H-3b), 2.70 (1H, dd, $J=3.0$ 、17.2 Hz,

H-3a); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 193.5 (C-4), 165.5 (C-9), 164.8 (C-7), 146.8 (C-5'), 146.5 (C-3'), 132.1 (C-1'), 129.8 (C-5), 119.2 (C-2'), 116.3 (C-6'), 115.0 (C-10), 114.7 (C-4'), 111.7 (C-6), 103.8 (C-8), 81.1 (C-2), 45.0 (C-3)。以上数据与文献报道^[9]一致, 故鉴定化合物 **7** 为 7, 3', 5'-三羟基二氢黄酮。

化合物 **8**: 白色粉末, 10%硫酸乙醇溶液显色呈紫红色斑点; $^1\text{H-NMR}$ (pyridine- d_5 , 400 MHz) δ : 5.32 (1H, d, $J=4.5$ Hz, H-6), 4.22 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-1'), 3.64 (1H, m, H-3), 3.43 (1H, dd, $J=5.2$ 、10.8 Hz, H-6), 3.42 (2H, m, H-6'), 3.12 (1H, q, $J=4.7$ Hz, H-4'), 3.05 (2H, q, $J=5.0$ Hz, H-3', 2'), 2.90 (1H, m, H-5'); $^{13}\text{C-NMR}$ (Pyridine- d_5 , 100 MHz) δ : 141.0 (C-5), 122.0 (C-6), 102.7 (C-1'), 78.6 (C-3), 78.0 (C-5'), 76.9 (C-3'), 73.4 (C-2'), 71.9 (C-4'), 62.1 (C-6'), 57.0 (C-14), 56.4 (C-17), 50.5 (C-9), 46.7 (C-24), 42.6 (C-13), 40.1 (C-12), 39.4 (C-4), 37.6 (C-1), 37.0 (C-10), 36.7 (C-20), 34.3 (C-7), 32.3 (C-2), 32.2 (C-8), 30.8 (C-22), 29.4 (C-25), 28.7 (C-16), 26.6 (C-23), 24.7 (C-15), 23.3 (C-28), 21.4 (C-11), 20.1 (C-27), 19.7 (C-21), 19.5 (C-19), 19.4 (C-26), 12.4 (C-29), 12.2 (C-18)。该化合物与胡萝卜苷对照品共薄层色谱, Rf 值及显色情况均相同。以上数据与文献报道^[10]基本一致, 故鉴定化合物 **8** 为胡萝卜苷。

化合物 **9**: 无色针晶 (甲醇), mp 95~97 °C; EI-MS m/z : 412 $[M]^+$, 229, 124, 107, 95, 81, 69, 55, 43; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 5.72 (1H, s, H-4), 1.20 (3H, s, CH_3 -19), 0.93 (3H, d, $J=6.4$ Hz, CH_3 -21), 0.87 (3H, t, $J=8.0$ Hz, CH_3 -29), 0.85 (3H, d, $J=8.0$ Hz, CH_3 -26), 0.83 (3H, d, $J=8.0$ Hz, CH_3 -27), 0.73 (3H, s, CH_3 -18); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 199.7 (C-3), 171.7 (C-5), 123.7 (C-4), 56.0 (C-17), 55.8 (C-14), 53.8 (C-9), 45.8 (C-24), 42.4 (C-13), 39.6 (C-12), 38.6 (C-10), 36.1 (C-20), 35.7 (C-1), 35.6 (C-8), 34.0 (C-2), 33.8 (C-22), 32.9 (C-6), 32.0 (C-7), 29.1 (C-25), 28.2 (C-16), 26.0 (C-23), 21.0 (C-11), 24.2 (C-15), 23.0 (C-28), 19.8 (C-26), 19.0 (C-27), 18.7 (C-21), 17.4 (C-19), 12.0 (C-29), 11.9 (C-18)。以上数据与文献报道^[11]一致, 故鉴定化合物 **9** 为甾甙烷-4-烯-3-酮。

化合物 **10**: 无色针晶(甲醇), mp 196~198 °C; EI-MS m/z : 426 $[M]^+$, 411, 218, 203, 189, 135, 121, 109, 69, 55; ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ : 145.2 (C-13), 121.7 (C-12), 79.1 (C-3), 55.2 (C-5), 47.7 (C-9), 47.3 (C-18), 46.9 (C-19), 41.8 (C-14), 39.8 (C-8), 38.6 (C-1), 38.6 (C-4), 37.2 (C-22), 37.2 (C-10), 34.8 (C-21), 33.3 (C-29), 32.7 (C-17), 32.7 (C-7), 31.1 (C-20), 28.4 (C-15), 28.1 (C-23), 27.3 (C-28), 27.0 (C-2), 26.2 (C-16), 26.0 (C-27), 23.7 (C-11), 23.7 (C-30), 18.4 (C-6), 16.8 (C-26), 15.6 (C-25), 15.5 (C-24)。以上数据与文献报道^[12]一致, 故鉴定化合物 **10** 为 β -香树精。

致谢: 核磁和质谱数据分别由贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室张建新研究员和王道平老师测定。

参考文献

- [1] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准 [M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2003: 176.
- [2] 汪毅. 中国天然药物彩色图集(一) [M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2010: 344.
- [3] 南京中医药大学. 中药大辞典(下) [M]. 第 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2001: 2085.
- [4] 胡婷, 李军, 屠鹏飞. 布渣叶的化学成分研究 [J]. 中草药, 2012, 43(5): 844-846.
- [5] 董建勇, 田丽莉, 林晨, 等. 菜头肾的化学成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2010, 45(19): 1460-1462.
- [6] Ollis W D, Redman B T, Roberts R J. Neoflavonoids and the cinnamylphenol kuhlmannistyrene from *Machaerium kuhlmannii* and *M. nictitans* [J]. *Phytochemistry*, 1978, 17(9): 1383-1388.
- [7] Furukawa S, Takagi N, Ikeda T, *et al.* Two novel long-chain alkanolic acid esters of lupeol from alecrim-propolis [J]. *Chem Pharm Bull* (Tokyo), 2002, 50(3): 439-440.
- [8] 赵友兴, 李承森, 罗晓东, 等. 上新世华山松化石中的甾体化合物 [J]. 有机化学, 2005, 25(9): 1100-1102.
- [9] 施蛟, 陈博, 孙智华, 等. 中间锦鸡儿黄酮类成分的研究 [J]. 药学学报, 2003, 38(8): 599-602.
- [10] 朱小迪, 李永慈, 王建忠, 等. 黄心卫矛化学成分的分离与鉴定 [J]. 中成药, 2011, 33(1): 107-110.
- [11] Gaspar E M M, das Neves H J C. Steroidal constituents from mature wheat straw [J]. *Phytochemistry*, 1993, 34(2): 523-527.
- [12] 李云森, 王峥涛, 张勉, 等. 干崖子橐吾的萜类成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2002, 37(1): 12-14.