

## 葛根正丁醇部位的化学成分研究

付爱珍<sup>1</sup>, 吴学芹<sup>1,2</sup>, 董娟<sup>1</sup>, 马建<sup>1,2</sup>, 栾晓莹<sup>1,2</sup>, 陈颖<sup>1,2</sup>, 张鹏<sup>1\*</sup>

1. 天津中医药大学 中医药研究院 天津市现代中药重点实验室, 天津 300193

2. 天津国际生物医药联合研究院 中药新药研发中心, 天津 300457

**摘要:** **目的** 研究葛根正丁醇萃取物的化学成分。**方法** 采用聚酰胺柱色谱、反相 ODS 柱色谱、凝胶柱色谱、制备液相色谱等方法进行分离纯化, 根据化合物的理化性质及波谱数据鉴定其结构。**结果** 分离鉴定了 12 个化合物, 分别为葛酚苷元 A (1)、葛酚苷元 B (2)、染料木素 (3)、3'-甲氧基葛根素 (4)、3'-羟基葛根素 (5)、葛根素芹糖苷 (6)、葛根素木糖苷 (7)、大豆苷元 (8)、大豆素 7,4'-二葡萄糖苷 (9)、大豆苷 (10)、葛根素 (11)、胡萝卜苷 (12)。**结论** 其中化合物 1、2 为首次从葛属植物中分离得到。

**关键词:** 葛根; 葛酚苷元 A; 葛酚苷元 B; 3'-甲氧基葛根素

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2013)04-0484-03

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2013.04.004

## Chemical constituents in *n*-butanol fraction of *Puerariae Radix*

FU Ai-zhen<sup>1</sup>, WU Xue-qin<sup>1,2</sup>, DONG Juan<sup>1</sup>, MA Jian<sup>1,2</sup>, LUAN Xiao-ying<sup>1,2</sup>, CHEN Ying<sup>1,2</sup>, ZHANG Peng<sup>1</sup>

1. Tianjin State Key Laboratory of Modern Chinese Medicine, Institute of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. Research and Development Center of Traditional Chinese Medicine, Tianjin International Joint Academy of Biotechnology and Medicine, Tianjin 300457, China

**Abstract: Objective** To study the chemical constituents in *n*-butyl alcohol fraction of *Puerariae Radix*. **Methods** The compounds were isolated by Polyamide, ODS, and Sephadex LH-20 column chromatographies, and preparative HPLC, and their structures were identified by spectral analyses and physicochemical properties. **Results** Twelve compounds were isolated and identified as puerol A (1), puerol B (2), genistein (3), 3'-methoxy puerarin (4), 3'-hydroxyl puerarin (5), mirificin (6), puerarin xylosidde (7), daidzein (8), daidzein 7,4'-diglucoside (9), daidzin (10), puerarin (11), and daucosterol (12). **Conclusion** Compounds 1—2 are isolated from the plants of *Pueraria* DC. for the first time.

**Key words:** *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi; puerol A; puerol B; 3'-methoxy puerarin

葛根 *Puerariae Radix* 为豆科葛属植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 的干燥根, 习称野葛, 主产于河南、湖南、浙江、四川等地。其性凉, 味甘、辛, 归脾胃经, 具有解肌退热、生津止渴、透疹、升阳止泻等功效, 为中医临床中治疗表证发热、头疼项强、斑疹不透、脾虚泄泻及消渴的药物<sup>[1-2]</sup>。目前报道的葛根化学成分主要有异黄酮类、三萜及皂苷类、香豆素类及葛酚苷类化合物<sup>[3-4]</sup>。本研究对葛根正丁醇萃取物进行了系统的分离纯化, 鉴定了 12 个化合物, 分别为葛酚苷元 A (1)、葛酚苷元 B

(2)、染料木素 (3)、3'-甲氧基葛根素 (4)、3'-羟基葛根素 (5)、葛根素芹糖苷 (6)、葛根素木糖苷 (7)、大豆苷元 (8)、大豆素 7,4'-二葡萄糖苷 (9)、大豆苷 (10)、葛根素 (11)、胡萝卜苷 (12)。其中化合物 1、2 为首次从该属植物中分离得到。

### 1 仪器与材料

Bruker AV III 型核磁共振波谱仪 (瑞士 Bruker 公司); Waters Quattro Premier XE 质谱仪 (美国 Waters 公司); Agilent 1260 制备液相色谱仪、Agilent Zorbax Eclipse XDB—C<sub>18</sub> 制备柱 (美国 Agilent 公

收稿日期: 2013-06-01

基金项目: 科技部 973 计划研究专项 (2011CB512008)

作者简介: 付爱珍 (1986—), 女, 药物分析专业研究生, 研究方向为中药有效成分的提取、分离及结构鉴定。E-mail: fuaizhenytu@163.com

\*通信作者 张鹏, 女, 副研究员, 研究方向为中药有效成分的提取、分离及结构鉴定。E-mail: zhp8270@sina.com.cn

司); SHZ-D (III) 循环水式多用真空泵、PLSB 型低温冷却液循环泵(巩义市予华仪器厂); RE—52AA 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂); ZF—20D 暗箱式紫外分析仪(上海顾村电光仪器厂); TH-II 型薄层加热器(上海科哲生化科技有限公司)。

Sephadex LH—20 凝胶(瑞士 GE Healthcare 公司); 键和硅胶 ODS-A-HG (50  $\mu\text{m}$ , YMC 公司); 柱色谱用聚酰胺(80~100 目, 浙江台州市路桥四甲生化塑料厂); 薄层色谱硅胶 GF254 和柱色谱用硅胶(200~300 目, 青岛海洋化工厂)。

葛根药材由吉林康奈尔药业有限公司提供, 由天津中医药大学李天祥副教授鉴定为野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 的干燥根。

## 2 提取与分离

取葛根药材 5 kg, 用 8 倍量 90% 乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h, 合并提取液, 减压浓缩至无乙醇, 得混悬液 2.5 L。将混悬液依次用石油醚、醋酸乙酯和正丁醇萃取, 得石油醚萃取物 40 g, 醋酸乙酯萃取物 95.5 g, 正丁醇萃取物 547 g。

正丁醇萃取物经聚酰胺柱色谱分离, 甲醇-水(1:20~0:100) 梯度洗脱, 得到 5 个流分(Fr.1~Fr.5)。Fr.1 经聚酰胺柱色谱分离, 以甲醇-水(1:20~1:10) 梯度洗脱, 再经制备液相分离得到化合物 6、7、9、10。Fr.2 经 ODS 柱色谱与制备液相分离得到化合物 4、5、11, Fr.3 经 ODS 柱色谱与制备液相分离得到化合物 8。Fr.4 经 ODS 柱色谱分离, 以甲醇-水系统梯度洗脱, 再经凝胶柱色谱二氯甲烷-甲醇系统反复洗脱得到化合物 1~3。Fr.5 经凝胶柱色谱二氯甲烷-甲醇系统梯度洗脱, 二氯甲烷重结晶得到化合物 12。

## 3 结构鉴定

化合物 1: 白色粉末, 10% 硫酸乙醇溶液显色呈暗紫色斑点, 紫外 254 nm 下有暗斑。ESI-MS  $m/z$ : 298.91  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 296.97  $[\text{M}-\text{H}]^-$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 7.35 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H-6''), 6.86 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-2'、6'), 6.62 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-3'、5'), 6.46 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-3''), 6.37 (1H, dd,  $J=8.8$ 、2.4 Hz, H-5''), 6.18 (1H, d,  $J=0.8$  Hz, H-2), 5.83 (1H, dd,  $J=6.0$ 、2.0 Hz, H-4), 3.15 (1H, dd,  $J=14.8$ 、3.2 Hz, H-4a), 2.62 (1H, dd,  $J=14.8$ 、7.2 Hz, H'-4a);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 173.1 (C-1), 111.3 (C-2), 165.2 (C-3), 82.9 (C-4), 38.6 (C-4a),

126.3 (C-1'), 130.3 (C-2'、6'), 114.8 (C-3'、5'), 156.0 (C-4'), 108.8 (C-1''), 158.3 (C-2''), 102.9 (C-3''), 161.4 (C-4''), 107.9 (C-5''), 131.1 (C-6'')。以上数据与文献报道<sup>[5]</sup>基本一致, 确定化合物 1 为葛酚苷元 A。

化合物 2: 白色粉末, 10% 硫酸乙醇溶液显色呈暗紫色斑点, 紫外 254 nm 下有暗斑。ESI-MS  $m/z$ : 312.83  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 310.88  $[\text{M}-\text{H}]^-$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 7.46 (1H, d,  $J=9.2$  Hz, H-6''), 6.84 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-2'、6'), 6.61 (2H, d,  $J=8$  Hz, H-3'、5'), 6.56 (1H, dd,  $J=9.6$ 、2.0 Hz, H-5''), 6.55 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-3''), 6.26 (1H, br s, H-2), 5.87 (1H, dd,  $J=6.4$ 、2.8 Hz, H-4), 3.78 (3H, s, OMe-4''), 3.14 (1H, dd,  $J=14.4$ 、3.2 Hz, H-4a), 2.63 (1H, dd,  $J=14.4$ 、6.8 Hz, H'-4a);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 172.9 (C-1), 112.4 (C-2), 164.8 (C-3), 82.8 (C-4), 38.4 (C-4a), 126.0 (C-1'), 130.3 (C-2'、6'), 114.7 (C-3'、5'), 155.9 (C-4'), 110.2 (C-1''), 158.1 (C-2''), 101.5 (C-3''), 162.6 (C-4''), 106.3 (C-5''), 131.0 (C-6''), 55.2 (OMe-4'')。以上数据与文献报道<sup>[6]</sup>基本一致, 因此鉴定化合物 2 为葛酚苷元 B。

化合物 3: 白色粉末, 三氯化铁-铁氰化钾反应呈阳性。ESI-MS  $m/z$ : 271.10  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 268.88  $[\text{M}-\text{H}]^-$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 12.95 (1H, s, 5-OH), 8.30 (1H, s, H-2), 7.37 (2H, d,  $J=8.8$  Hz, H-2'、6'), 6.82 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-3'、5'), 6.37 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-8), 6.22 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-6)。以上数据与文献报道<sup>[7]</sup>基本一致, 因此鉴定化合物 3 为染料木素。

化合物 4: 白色粉末, 三氯化铁-铁氰化钾反应呈阳性。ESI-Q-TOF MS  $m/z$ : 447.1286  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 445.1160  $[\text{M}-\text{H}]^-$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 8.40 (1H, s, H-2), 7.94 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H-5), 7.16 (1H, d,  $J=1.6$  Hz, H-2'), 7.03 (1H, dd,  $J=8.0$ 、2.0 Hz, H-6'), 6.98 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H-6), 6.81 (1H, d,  $J=8.4$  Hz, H-5'), 3.80 (3H, s, OMe-4'), 4.81 (1H, d,  $J=9.6$  Hz) 为糖端基氢信号。以上数据与文献报道<sup>[8]</sup>基本一致, 故鉴定化合物 4 为 3'-甲氧基葛根素。

化合物 5: 白色粉末, 三氯化铁-铁氰化钾反应呈阳性。ESI-Q-TOF MS  $m/z$ : 433.1043  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 431.0994  $[\text{M}-\text{H}]^-$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )

$\delta$ : 8.24 (1H, s, H-2), 7.89 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H-5), 7.03 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-2'), 6.93 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H-6), 6.80 (1H, dd,  $J=8.0, 2.0$  Hz, H-6'), 6.75 (1H, d,  $J=8.4$  Hz, H-5'), 4.80 (1H, d,  $J=10.0$  Hz) 为糖端基氢信号。以上数据与文献报道<sup>[7]</sup>基本一致,故鉴定化合物 **5** 为 3'-羟基葛根素。

化合物 **6**: 白色粉末, 三氯化铁 - 铁氰化钾显色呈阳性。ESI-Q-TOF MS  $m/z$ : 549.1594  $[M+H]^+$ 、547.1483  $[M-H]^-$ ;  $^1H$ -NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 8.33 (1H, s, H-2), 7.94 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H-5), 7.41 (2H, d,  $J=8.8$  Hz, H-2', 6'), 6.99 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H-6), 6.81 (2H, d,  $J=8.8$  Hz, H-3', 5'), 4.81 (1H, d,  $J=10.0$  Hz) 为糖端基氢信号。以上数据与文献报道<sup>[9]</sup>基本一致,故鉴定化合物 **6** 为葛根素芹糖苷。

化合物 **7**: 白色粉末, 三氯化铁 - 铁氰化钾显色为阳性。ESI-Q-TOF MS  $m/z$ : 549.1588  $[M+H]^+$ 、547.1462  $[M-H]^-$ ;  $^1H$ -NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 8.27 (1H, s, H-2), 7.88 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H-5), 7.39 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-2', 6'), 6.91 (1H, d,  $J=8.4$  Hz, H-6), 6.79 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-3', 5'), 4.78 (1H, d,  $J=9.6$  Hz) 为糖端基氢信号。以上数据与文献报道<sup>[9]</sup>基本一致,故鉴定化合物 **7** 为葛根素木糖苷。

化合物 **8**: 白色粉末, 三氯化铁 - 铁氰化钾反应呈阳性;  $^1H$ -NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 8.28 (1H, s, H-2), 7.97 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H-5), 7.39 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-2', 6'), 6.94 (1H, dd,  $J=8.8, 2.0$  Hz, H-6), 6.86 (1H, d,  $J=1.6$  Hz, H-8), 6.81 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-3', 5')。以上数据与文献报道<sup>[10]</sup>基本一致,故鉴定化合物 **8** 为大豆苷元。

化合物 **9**: 白色粉末, 三氯化铁 - 铁氰化钾显色呈阳性; ESI-MS  $m/z$ : 579.29  $[M+H]^+$ 、623.31

$[M+HCOO]^-$ ;  $^1H$ -NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 8.46 (1H, s, H-2), 8.06 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H-5), 7.53 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-2', 6'), 7.25 (1H,  $J=2.0$  Hz, H-8), 7.16 (1H, dd,  $J=8.8, 2.0$  Hz, H-6), 7.10 (2H, d,  $J=8.8$  Hz, H-3', 5')。以上数据与文献报道<sup>[8]</sup>基本一致,故鉴定化合物 **9** 为大豆素 7,4'-二葡萄糖苷。

化合物 **10**、**11**、**12** 分别与相应对照品共薄层色谱, 其 Rf 值一致, 故分别鉴定为大豆苷、葛根素、胡萝卜苷。

#### 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 柳航, 李占林, 郭婕, 等. 葛根的化学成分 [J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 29(11): 882-885.
- [3] 董英, 徐斌, 林琳, 等. 葛根的化学成分研究 [J]. 食品与机械, 2005, 21(6): 85-88.
- [4] 尤春雪, 张振秋, 李峰, 等. HPLC 波长切换技术对葛根中 8 种成分的测定及指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2013, 44(5): 616-621.
- [5] Hirakura K, Morita M, Nakajima K, et al. Phenolic glucosides from the root of *Pueraria lobata* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 46(5): 921-928.
- [6] Nohara T, Kinjo J, Furusawa J, et al. But-2-enolides from *Pueraria lobata* and revised structures of puerosides A, B and sophoroside A [J]. *Phytochemistry*, 1993, 33(5): 1207-1210.
- [7] 张晓璐, 王明奎, 彭树林, 等. 葛根的化学成分研究 [J]. 中草药, 2002, 33(1): 11-14.
- [8] 迟霁菲, 张国刚, 李萍, 等. 安徽产葛根的化学成分研究 [J]. 中国药物化学杂志, 2007, 17(1): 47-49.
- [9] Kinjo J E, Furusawa J I, Baba J, et al. Study on the constituents of *Pueraria lobata*. Isoflavonoids and related compounds in the roots and the voluble stems [J]. *Chem Pharm Bull*, 1987, 35(12): 4846-4850.
- [10] 史海明, 闵知大. 食用葛根的化学成分研究 [J]. 中国药科大学学报, 2000, 31(6): 411-413.