

# 大豆茎化学成分研究

杜成林, 杏芭\*

(山东省医学科学院药物研究所, 山东 济南 250062)

大豆茎为豆科植物大豆的地上茎。大豆作为中药和食品被广泛地应用,大豆的栽培遍及世界各地<sup>[1,2]</sup>。《本草纲目》中记载,大豆有消水肿、逐水胀、长肌肤、填骨髓等作用。近年来的深入研究发现,大豆具有更广泛的生理活性,其中大豆异黄酮的抗癌活性及大豆皂苷的抗心血管疾病作用尤其突出。大豆异黄酮不仅对乳腺癌、前列腺癌和结肠直肠癌显著有效,而且尚对胃癌、肝癌和白血病及其他一些癌细胞系的生长、增殖具有抑制作用。大豆皂苷则可防治血栓,降低血脂,降低或清除自由基。此外,大豆皂苷尚有免疫调节作用和减肥作用。

目前,对大豆的研究主要集中于大豆的种子,而对大豆茎的研究尚未见报道。为全面研究大豆植物的活性成分,充分利用自然资源,我们对大豆茎进行了系统的化学成分研究。

## 1 仪器与材料

X T4-10G 型显微熔点测定仪(未校正); Perkin-Elmer 783型红外分光光度计; Nicolet Nexus 470型傅立叶红外分光光度计; VG ZAB-2F型质谱仪; Autospec-Ultima ETO F型质谱仪; Mercury-300型核磁共振仪; INOV A-500型核磁共振仪。薄层及柱层析硅胶均为青岛海洋化工厂产品;试剂均为 AR 或 CR级。

## 2 提取与分离

将大豆茎粗粉置于多效提取罐中,80%乙醇提取3次,每次2h。提取液合并,减压回收乙醇,浓缩得总浸膏。硅胶拌样,上硅胶柱,石油醚-丙酮梯度洗脱,薄层层析监控,相同流份合并,共得4部分。每一部分再分别用硅胶拌样,上硅胶柱,氯仿-甲醇梯度洗脱,薄层层析监控,相同流份合并。分离、纯化,得化合物I~X V。

## 3 鉴定

化合物I:白色片状结晶(CHCl<sub>3</sub>), mp 280℃~283℃。质谱与已知化合物蒲公英脑的质谱一致<sup>[3]</sup>。其<sup>13</sup>C NMR谱中低场117.0和158.4两个C

信号为C<sub>5</sub>和C<sub>4</sub>,与蒲公英烷型三萜化合物烯碳的化学位移规律相符合<sup>[4]</sup>。故鉴定化合物I为蒲公英脑(taraxerol)。

化合物II:白色片状结晶(CHCl<sub>3</sub>), mp 155℃~157℃。其红外光谱图同已知化合物β-谷甾醇的红外光谱图对照,两者一致<sup>[5]</sup>,共薄层色谱显示一个斑点,故鉴定化合物II为β-谷甾醇。

化合物III:白色粉末(CHCl<sub>3</sub>), mp 75℃~76℃。质谱数据同已知化合物正三十四烷酸的质谱数据相一致<sup>[6]</sup>,故鉴定化合物III为正三十四烷酸(tetratriacontanoic acid)。

化合物IV:白色针晶(CHCl<sub>3</sub>), mp 258℃~260℃。化合物IV与已知物大豆皂醇B的<sup>13</sup>C NMR谱比较基本一致<sup>[4]</sup>,根据以上数据,鉴定化合物IV为大豆皂醇B(soyasa-pogenol B)。

化合物V:白色针状结晶(CHCl<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>OH 5:5), mp 271℃~273℃。其IR,<sup>1</sup>H NMR和<sup>13</sup>C NMR与已知化合物芒柄花素的光谱数据比较基本一致<sup>[4]</sup>,根据以上数据分析,鉴定化合物V为芒柄花素(formononetin)。

化合物VI:暗黄色粉末(无水乙醇), mp 350℃。盐酸-镁粉反应(+),提示化合物VI可能为黄酮类化合物。IR, EI-MS,<sup>1</sup>H NMR光谱数据与文献基本一致<sup>[7]</sup>,鉴定化合物VI为洋芹素(apigenin)。

化合物VII:淡黄色针晶(无水乙醇), mp 320℃。IR, EI-MS,<sup>1</sup>H NMR光谱数据与文献基本一致<sup>[6]</sup>,鉴定化合物VII为大豆素(daidzein)。

化合物VIII:黄色针晶(无水乙醇), mp 318℃~320℃。盐酸-镁粉反应(+),提示化合物VIII可能为黄酮类化合物。其IR,<sup>1</sup>H NMR,<sup>13</sup>C NMR数据与已知化合物4',7-二羟黄酮的光谱数据比较基本一致<sup>[4]</sup>。根据以上数据分析,鉴定化合物VIII为4',7-二羟黄酮(4',7-dihydroxyflavone)。

化合物IX:白色粉末(80%乙醇), mp 270℃~272℃。LiBerman-Burchard反应阳性, Molish反应

\* 收稿日期: 2002-03-12

作者简介:杜成林(1971-),男,助理研究员,山东大学博士在读,主要从事天然药物活性成分研究及新药开发。Tel (0531) 2919967

Fax (0531) 2615996 E-mail: dcl-2001@sohu.com

阳性,其 IR光谱图与已知物 $\beta$ -胡萝卜苷的红外光谱图一致<sup>[8]</sup>,与已知品共薄层显示一个斑点,故鉴定化合物IX为 $\beta$ -胡萝卜苷( $\beta$ -daucosterol)

化合物X:浅黄色针晶(80%乙醇),mp 218 $^{\circ}$ C~220 $^{\circ}$ C。盐酸-镁粉反应阳性,Molish反应阳性。该化合物用0.5 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>煮沸1h,水解液中薄层检出葡萄糖 IR<sub>max</sub><sup>KBr</sup>(cm<sup>-1</sup>):3416(OH),2926,2890,1633(C=O),1593,1515,1446(苯环),1248,1095,1080,1051;EI-MS(m/z):254(苷元,100%),225,137,118,108,89,80,63 FAB-MS 417[(M+H)<sup>+</sup>],255[(苷元+H)<sup>+</sup>] <sup>1</sup>HNM R(DMSO-d<sub>6</sub>):3.20~3.71为葡萄糖C<sub>2-6</sub>上的H信号,5.07(d,J=7.2)为糖的端基H信号,由其偶合常数可知,苷键构型为 $\beta$ 型。6.81(dd,J=2.7,11.4,H-3',5'),7.14(dd,J=2.1,8.7,1H,H-6),7.71(d,J=2.1,1H,H-8),7.40(dd,J=2.7,11.4,2H,H-2',6'),8.05(d,J=8.7,1H,H-5),8.34(s,1H,H-2),9.38(s,1H,4'-OH,D<sub>2</sub>O交换消失)。化合物X与化合物VII的氢谱相比,6位H和8位H信号明显向低场位移,且10.68处的H信号消失,说明葡萄糖是和7-OH成苷,因此,推定化合物X为大豆素-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷,即大豆苷(daidzin)。

化合物XI:白色棒状结晶(80%乙醇),mp 238 $^{\circ}$ C~240 $^{\circ}$ C。该化合物<sup>1</sup>HNM R谱与已知物尿囊素的<sup>1</sup>HNM R谱比较基本一致<sup>[9]</sup>。化合物XI与已知物尿囊素共薄层显示一个斑点。根据以上分析,鉴定化合物XI为尿囊素(allantoin)。

化合物XII:白色针晶(80%乙醇),mp 255 $^{\circ}$ C。盐酸-镁粉反应阳性,Molish反应阳性。酸水解,水解液薄层检出葡萄糖,提示化合物XII为黄酮的葡萄糖苷。<sup>1</sup>HNM R谱中5.03为糖端基H信号,d峰,J=7.2,说明苷键为 $\beta$ 型。化合物XII的<sup>13</sup>CNM R谱与染料木素的<sup>13</sup>CNM R谱<sup>[4]</sup>相比,C<sub>6</sub>和C<sub>8</sub>均向低场位移近 $\delta$ 1.00,而其余C信号基本一致,提示化合物XII为染料木素的葡萄糖苷,糖在7位。化合物XII的波谱数据如下:EI-MS(m/z):270(苷元,100%),252,227,207,178,153,138,118,90,73;<sup>1</sup>HNM R(DMSO-d<sub>6</sub>):3.16-3.70,糖C<sub>2-6</sub>上H信号,5.03(d,J=7.2),糖端基H信号,6.46(1H,d,J=2.4,H-6),6.70(1H,d,J=2.4,H-8),6.82(2H,dd,J=2.1,6.6,H-3',5'),7.38(2H,dd,J=2.1,6.6,H-2',6'),8.38(1H,s,H-2),9.60(1H,s,4'-OH,D<sub>2</sub>O交换消失),12.92(1H,s,5-OH,D<sub>2</sub>O交换消失);<sup>13</sup>CNM R(DMSO-d<sub>6</sub>):154.5(C-2),120.9(C-3),180.4(C-

4),157.4(C-5),99.5(C-6),162.9(C-7),94.5(C-8),157.1(C-9),106.0(C-10),122.5(C-1'),130.1(C-2'),115.0(C-3'),161.5(C-4'),115.0(C-5'),130.1(C-6'),99.8(C-1''),73.1(C-2''),76.4(C-3''),69.6(C-4''),77.2(C-5''),60.6(C-6'');根据以上分析,鉴定化合物XII为染料木素-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷,即染料木苷(gemistin)。

化合物XIII:白色粉末状结晶,mp 235 $^{\circ}$ C~238 $^{\circ}$ C。醋酐-硫酸反应呈红色,最后呈兰色,水溶液剧烈振摇产生丰富持久的泡沫,15 min不消失,提示该化合物可能是皂苷类化合物。IR<sub>max</sub><sup>KBr</sup>(cm<sup>-1</sup>):3412(OH),2946,1612,1461,1420,1380,1293,1134,1076,1047,980,894;红外光谱1047-1134 cm<sup>-1</sup>的强峰进一步验证其为苷类化合物(含有多个C-O键)将该化合物进行酸水解,CHCl<sub>3</sub>萃取,萃取液与化合物IV共薄层显示一个斑点。另在酸水液中检出葡萄糖醛酸,鼠李糖和半乳糖;初步断定化合物XIII为大豆皂醇B的苷。化合物XIII的<sup>13</sup>CNM R谱与化合物IV的<sup>13</sup>CNM R谱比较,除C<sub>3</sub>信号(80.9)明显向低场位移外,其余母核碳信号基本一致,说明化合物XIII为大豆皂醇B的单链糖苷,糖与母核三位羟基成苷。由化合物XIII的ESI-MS(m/z):965[(M+Na)<sup>+</sup>],943[(M+H)<sup>+</sup>],797[(M+H-鼠李糖)<sup>+</sup>],635[(M+H-鼠李糖-半乳糖)<sup>+</sup>],458(苷元),得知化合物XIII的基本结构与推断相符。与已知物soyasaponin I的<sup>13</sup>CNM R对照。两者基本一致<sup>[10]</sup>。根据以上数据分析,鉴定化合物XIII为大豆皂苷I(soyasapoin I),即3-O-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-galactopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl]-soyasapogenol B。

致谢:山东大学药学院中心实验室、国家药物及代谢产物分析研究中心代测红外、质谱及核磁共振谱。  
参考文献:

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴(第一册)[M]. 北京: 科学出版社, 1972.
- [2] 第二军医大学药系生药学教研室. 中国药用植物图鉴[M]. 上海: 上海教育出版社, 1960.
- [3] 中国医学科学院药物研究所. 中草药有效成分的研究(第1分册)[M]. 人民卫生出版社, 1972.
- [4] 于德泉, 杨峻山. 分析化学手册-第七分册(第二版)[M]. 北京: 化学工业出版社, 1999.
- [5] Sadtler Research Laboratories Inc. The Standard Infrared Prism Spectra [J]. 1980 74913.
- [6] 丛浦珠. 质谱学在天然有机化学中的应用[M]. 北京: 科学出版社, 1987.
- [7] Markham K R, Hrshman J L, Kupfermann H, et al. Microchemical investigation of medicinal plants. VII. Proposed structure and crystal forms of yellow compound I from the catalpa seed [J]. Mikrohchim Acta, 1970, (3): 590-595.
- [8] 周俊. 滇产箭根薯的化学成分研究[J]. 植物学报, 1983, 25

(6): 568-572.

[9] Sadtler Research Laboratories Inc. The Standard N M R Spectra [J]. 1983: 23073.

[10] Yoshikawa M, Wang H K, Kayakiri H, et al. Saponin and

sapogenol. XL structure of sophoraflavoside I, a bisdesmoside of soyasapogenol B from *Sophorae Radix*, the root of *Sophora flavescens* AITON [J]. Chem Pharm Bull, 1985, 33 (10): 4267-4274.

## 不同方法提取的知母总皂苷元气相-质谱分析

梁 卫文<sup>1</sup>, 赵邦爱<sup>1</sup>, 杨淑华<sup>1</sup>, 吴惠勤<sup>2\*</sup>

(1. 深圳太太药业股份有限公司, 广东 深圳 518057; 2. 中国广州分析测试中心, 广东 广州 510070)

知母为百合科植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bge. 的干燥根茎, 知母总皂苷元由知母药材经水解提取的总皂苷元精制而成, 具有清热泻火, 生津润燥, 止渴除烦作用<sup>[1,2]</sup>, 知母总皂苷元能明显降低衰老小鼠脑 $\beta$ 受体-cAMP系统的反应性, 重现知母的下调作用<sup>[3]</sup>, 并且能提高衰老小鼠脑内受体密度<sup>[4]</sup>, 知母总皂苷元是深圳太太药业股份有限公司开发研究的中药二类新药, 主治现代医学中早、中期老年性痴呆症及脑功能减退(学习、记忆减退, 或某些性格改变)等见有以上症侯者。知母总皂苷元传统的提取法为: 先用酸水解, 再用汽油提取精制

近年来中草药的超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取已引起人们的广泛重视<sup>[5]</sup>, 我们开展了知母总皂苷元的超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取研究工作, 利用气相毛细管柱将各种成分分开, 并采用气相色谱-质谱分析超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取的知母总皂苷元的组成, 并与汽油提取的知母总皂苷元进行了比较。由于其组分中皂苷元相对分子质量均较大(416), 沸点高, 给色谱分离带来一定困难。经过摸索, 用耐高温非极性毛细管色谱柱, 选择较佳分离条件, 成功将其中异构体分开, 共鉴定了 7 个组份, 并以内标法测定了相对含量。

### 1 实验部分

1.1 仪器: HP6890GC/5973MS

1.2 实验条件: 色谱柱: HP-1(15 m $\times$  0.25 mm, 0.25  $\mu$ m); 柱头压为 50 kPa; 分流比为 20:1; 柱温初始温度为 200 $^{\circ}$ C, 然后以 10 $^{\circ}$ C/min 的升温速率升至 285 $^{\circ}$ C; 进样口温度为 285 $^{\circ}$ C; GC-MS 接口温度为 280 $^{\circ}$ C; EI 离子源, 离子源温度为 230 $^{\circ}$ C, 电子能量为 70 eV; 电子倍增器电压为 1900 V; 质谱扫描范围为 29~450

1.3 试剂及供试品: 溶剂: 分析纯苯; 内标物: 胆甾醇; 菝葜皂苷元对照品(含量测定用)由中国药品生

物制品检定所提供; 知母总皂苷元由深圳太太药业股份有限公司制备; 980604 批为将知母药材经酸水解后用华安超临界萃取公司生产的 5 L 超临界萃取装置萃取; 980601, 980602, 980603 批为将知母药材经酸水解后汽油提取精制而成。

1.4 溶液配制: 标准溶液配制: 精密称取 15 mg 胆甾醇和 25 mg 菝葜皂苷元, 用苯定容至 1.0 mL 供试品液配制: 精密称取 15 mg 胆甾醇和 25 mg 供试品, 用苯定容至 1.0 mL

### 2 结果与讨论

2.1 知母总皂苷元的气相色谱-质谱总离子流图。针对每一个峰相应的质谱图, 利用计算机检索, 确定其化学结构, 见表 1

2.2 用内标法测定含量, 以胆甾醇为内标物, 准确测定菝葜皂苷元含量, 其他几种同分异构体因无对照品, 故以菝葜皂苷元为参照, 测定含量, 结果见表 1

表 1 3 批知母总皂苷元成分及含量表

标号	组份名称	含量 (%)			
		980601	980602	980603	980604
1	二十五烷	0.074	0.064	0.061	0.19
2	二十七烷	0.54	0.52	0.53	1.03
3	二十九烷	0.64	0.63	0.60	0.80
4	异菝葜皂苷元	9.64	9.46	9.91	9.64
5	菝葜皂苷元	76.59	75.98	76.68	76.87
6	新替告皂苷元	2.45	2.40	2.04	2.20
7	替告皂苷元	1.20	1.15	1.00	0.96
1S	胆甾醇	内标物	内标物	内标物	内标物

2.3 本法分离效率高, 测定结果准确可靠。测定了知母总皂苷元约 90% 的成分, 其余 10% 或者未气化, 或者含量太低, 未能检出。

2.4 薄层色谱分离能力较差, 而且鉴定成分需要对照品, 作为测定单一成分如菝葜皂苷元还可用<sup>[6]</sup>, 分离多成分分离能力就较差; 液相色谱-质谱分离力虽

(下转第 1101 页)

\* 收稿日期: 2002-02-03

作者简介: 梁卫文(1969-), 中山大学硕士研究生毕业, 主要从事新药开发研究工作, 承担和完成多个新药的开发研究。