

3. 2 化合物Ⅳ:黄色针状结晶, mp 182℃~ 183℃ (醋酸乙酯重结晶), 分子式为 $C_{18}H_{12}O_5$, 相对分子质量为 308 不饱和度为 13 UV λ_{max} nmr 308. 4, 251. 2, 208. 6 IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 1 640, 1 606(> C= O), 1 570, 1 513 (-Ar), 1 453, 1 413, 1 375, 1 249, 1 209, 1 051 (benzofuran), 3 400~ 2 900 cm^{-1} (-OH). MS m/z (%): 307($M^+ - H$, 100), 308(M^+ , 95), 266($M^+ + H$, CH_3-CO , 15), 279($M^+ - H - CO$, 23), 160($M^+ - HO - phC \equiv OCH_3$, RDA, 55), 132 (160- CO, 25), 121, 116, 105, 76, 44 $^1H-NMR \delta_H$ 8. 20(1H, d, $J_{5,6} = 9$ Hz, H-5), 7. 54(1H, d, $J_{5,6} = 9$ Hz, H-6), 7. 73(1H, d, $J_{2'',3''} = 2$ Hz, H-2''), 7. 17(1H, dd, $J_{2'',3''} = 2$ Hz, $J_{3'',6'} = 1. 5$ Hz, H-3''), 7. 85(1H, t, $J_{2',6''} = 5$ Hz, $J_{2',4'} = 2$ Hz, H-2'), 7. 65(1H, d, $J_{5',6'} = 8$ Hz, H-6'), 7. 43(1H, t, $J_{5',6'} = J_{5',4'} = 8$ Hz, H-5'), 7. 10(1H, dd, $J_{4',5'} = 8$ Hz, $J_{4',6'} = J_{4',2'} = 2. 5$ Hz, H-4'), 3. 89(3H, s, 3- OCH_3), 3. 81(1H, s, 3'-OH) $^{13}C-NMR$ (CDCl₃) δ_C : 155. 3(C-2), 141. 8(C-3), 175. 6(C-4), 121. 8(C-5), 110. 2(C-6), 158. 3(C-7), 117. 0(C-8), 150. 1(C-9), 120. 2(C-10), 145. 8(C-2''), 104. 3(C-3''), 131. 9(C-1'), 129. 9(C-2'), 118. 4(C-6'), 156. 1(C-3'), 119. 4(C-

5'), 115. 7(C-4'), 60. 3(C- OCH_3 , C'-OH). 结合 HMBC和 1H QC谱确定了化合物的结构

3. 3 化合物Ⅴ:淡黄色方晶, mp 182℃~ 183℃, EI-MS, ^1H-NMR , $^{13}C-NMR$ 确定其分子式为 $C_{18}H_{12}O_4$, 相对分子质量为 292, 不饱和度为 13 碳谱与氢谱数据与文献^[4,5]报道的水黄皮根素一致

致谢: 中国医学科学院药物研究所国家药物及代谢产物分析中心测定 MS, NMR 波谱。

References

- [1] Zhou Z, Wei Z Q, Li Z Q, *et al.* Study on the extract of Shuiluosan (*Fordia cauliflora*) to influence learning memory [J]. *Guangxi J Tradit Chin Med* (广西中医药), 2003, 26 (2): 47-48.
- [2] Dai B, Qin C C, Dai X D, *et al.* Chemical components of dried root Shuiluosan (*Fordia cauliflora*) I [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 3(1): 21-22.
- [3] Dai X D, Yang D A, Dai B, *et al.* Chemical components of Shuiluosan (*Fordia cauliflora*) II [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(5): 401-402.
- [4] Talapatra S K, Maillik A K, Talapatra B. Carbon-13-NMR spectra of angular and linear furanoflavones [J]. *J Indian Chem Soc*, 1982, 8 534-535.
- [5] Talapatra S K, Mallik A K, Talapatra B. Isopongaglabol and 6-methoxyisopongaglabol, two new hydrofuranoflavones from *Pongamia glabra* [J]. *Phytochemistry*, 1982, 21 761-766.

大豆胚芽中新异黄酮化合物的研究

徐德平¹, 肖凯², 谷文英¹, 霄霖^{1*}

(1. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214036 2 第二军医大学 海医系, 上海 200433)

摘要: 目的 分离鉴定大豆胚芽中异黄酮的组成。方法 利用柱色谱技术从大豆胚芽中分离异黄酮, 利用 MS, ^1H-NMR , $^{13}C-NMR$ 鉴定得到的异黄酮化合物的结构。结果 分离到两个新异黄酮化合物, 这 2 个异黄酮化合物互为同分异构体, 相对分子质量为 564, 经鉴定为 6'' β -D-阿拉伯糖-染料木素葡萄糖苷(I), 6'' β -D-木糖-染料木素葡萄糖苷(II)。结论 这两个化合物在大豆中为首次分离到, 也是两个新化合物。

关键词: 大豆胚芽; 异黄酮; 结构鉴定

中图分类号: R284. 1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)12-1065-03

Isolation of a new isoflavone from soybean germ

XU De-ping¹, XIAO Kai², GU Wen-ying¹, DING Xiao-lin¹

(1. School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China; 2. Department of Navy Medicine, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

Abstract **Object** To separate and characterize the chemical constituents of soybean germ. **Methods** Column chromatogram, MS spectroscopy, and nuclear magnetic resonance spectroscopy were employed.

* 收稿日期: 2003-03-24

作者简介: 徐德平 (1965-), 男, 安徽宣城人, 博士后, 从事天然产物化学研究。

Results Two new isoflavones were isolated from soybean germ. They were isomer and relative molecular weight was 564. Compound I was 6'' β -D-arabinose-genistin, compound II was 6'' β -D-xylose-genistin.

Conclusion The two new isoflavones are first discovered in soybean.

Key words soybean germ; isoflavone; structural identification

目前普遍认为大豆中有 12 种异黄酮,分别是黄豆黄素、大豆苷元、染料木素、黄豆素葡萄糖苷、大豆苷元葡萄糖苷、染料木素葡萄糖苷和相应的 6''-乙酰化和丙酰化的葡萄糖苷^[1]。近年来不断有从大豆中发现新异黄酮的报道^[2], 1999 年 Hosny 等^[3]报道从大豆乳清中分离出 3 种新异黄酮,但大多数研究者认为这不是大豆中天然存在的而是加工过程中产生的衍生物。2000 年谷利伟利用 HPLC-MS 发现了 3 个新丙二酰异黄酮,它们的丙二酰基不是连在 6''位而是连在 2'', 3'', 4''位中的某一位点。由于未能分离到这 3 种化合物没有核磁共振数据,其结果有待进一步证实。本研究在对大豆胚芽异黄酮的分离过程中得到了 2 个未曾在大豆中报道过的新异黄酮化合物,经鉴定为 6'' β -D-阿拉伯糖-染料木素葡萄糖苷(I), 6'' β -D-木糖-染料木素葡萄糖苷(II)。

1 材料与方法

1.1 试验材料:大豆胚芽:由维维集团提供。试剂:甲醇、石油醚(30℃~60℃)、二甲基亚砜(DMSO)、正丁醇皆为 AR 级,上海化学试剂采购供应站出品;GF₂₅₄硅胶板由山东烟台芝罘化工厂生产;层析柱:聚酰胺(60目)浙江台州化工厂生产, Sephadex LH-20, HW-40 为进口分装。仪器: HPLC-MS Micro-mass limited, UK, 核磁共振仪(500 MHz) Bruker Avance-500。

1.2 试验方法

1.2.1 异黄酮提取:将 2.5 kg 大豆胚芽,放入 10 L 玻璃瓶中,加入甲醇至满,不定期搅拌,浸提 72 h 后,将甲醇滤出,回收甲醇。将回收甲醇后的浓缩液加入玻璃瓶中,并补充新甲醇至满,不时搅拌,浸提 72 h 滤出甲醇,反复 3 次,合并甲醇提取物,蒸发温度 $\leq 40^\circ\text{C}$ 。

1.2.2 甲醇提取物处理:将甲醇提取物用石油醚萃取脱脂,直至石油醚层无色时止。将脱脂后的物质用 3 倍体积的醋酸乙酯萃取,反复多次,直至醋酸乙酯相无色时止。将醋酸乙酯提取后的剩余物用水饱和和正丁醇提取多次,直至正丁醇相无色时止。合并正丁醇相,蒸发正丁醇,得正丁醇提取物。

1.2.3 异黄酮分离:将正丁醇提取物用 DMSO 溶解,抽滤,滤液上聚酰胺柱(60 mm $\times$ 600 mm),先用

去离子水洗脱,再用甲醇梯度洗脱(20%, 40%, 60%),分步收集。40% 甲醇溶液洗脱得馏份 I, 60% 甲醇溶液洗脱得馏份 II,将馏份 I 蒸干后再溶解,上 Sephadex LH-20 柱(35 mm $\times$ 500 mm),先用去离子水洗脱,再用甲醇梯度洗脱,15 mL 收集一管,可得到 4 个组份,分别为 A~D,将 C 组份用 DMSO 溶解,反复上 HW-40 柱(35 mm $\times$ 500 mm),并用甲醇梯度洗脱,可得 2 个较纯化合物,再将这两个化合物分别上硅胶柱(15 mm $\times$ 250 mm)得 2 个纯化合物。

1.2.4 异黄酮的结构鉴定:将所得 2 个化合物进行 MS, ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 等分析。

2 结果与分析

化合物 I:紫红色粉末,易溶于甲醇、乙醇,可溶于水。LC-MS 见图 1, m/z : 587[M+Na], 565[M+1]⁺, 433([M-132+1]⁺, genistin), 271(基峰, [M-132-162+1]⁺, genistein), 从 MS 结果可见化合物 I 可能为 genistin 上连接一个五碳糖 [M=132]。¹H-NMR(DMSO-d₆, 400 MHz) δ 8.37(1H, s, H-2), 7.38(1H, d, J = 7.87 Hz, H-2', 6'), 6.85(2H, d, J = 7.82 Hz, H-3', 5'), 6.68(1H, s, H-8), 6.42(1H, s, H-6), 5.0(1H, d, J = 6.78 Hz, H-1''), 4.82(1H, d, J = 6.21 Hz, H-1'''), 3.61~3.15 为糖上氢。从氢谱数据可知化合物 I 的芳香质子信号与染料木素一致, δ 5.0(1H, d, J = 6.78)为葡萄糖端基质子, δ 4.82(1H, d, J = 6.21)为另一糖的端基质子。由于两个端基质子的偶合常数值都大于 4.8,因此两个糖都是 β -连接。¹³C-NMR(DMSO-d₆, 100 MHz) δ 180.5(s, C-4), 162.9(s, C-7), 161.6(s, C-5), 57.5(s, C-4'), 157.3(s, C-8a), 154.5(s, C-2), 130.2(d, C-2', 6'), 122.2(s, C-3), 121.0(s, C-1'), 115.1(d, C-3', 5'), 109.4(s, C-4a), 106.2(d, C-1''), 100.1(d, C-1'''), 99.7(d, C-6), 94.6(d, C-8), 78.7(d, C-3''), 76.3(s, C-5''), 75.6(d, C-2''), 69.6(C-4''), 69.8(d, C-2'', 3'', 4'', 6''), 63.2(C-5''')。从碳谱数据可知化合物 I 共 26 个碳,其中芳香区 15 个碳信号与染料木素的一致, δ 106.2 为葡萄糖端基碳(C-1''), δ 100.1 为另一糖端基碳(C-1'''), 剩余信号分别与葡萄糖和阿拉伯糖相吻合。而葡萄糖的 6'' 碳向低场偏移, 5'' 碳向

高场偏移,因此判定阿拉伯糖连接在葡萄糖的 6'-位。根据以上数据推断并参照文献^[4-9]确定化合物 I 为 6''-阿拉伯糖 染料木素葡萄糖苷。结构式见图 2

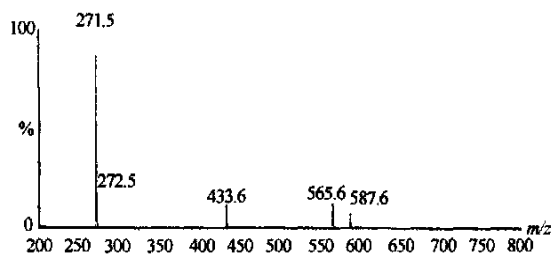


图 1 化合物 I 的 LC-MS 质谱图

Fig. 1 LC-MS spectrum of compound I

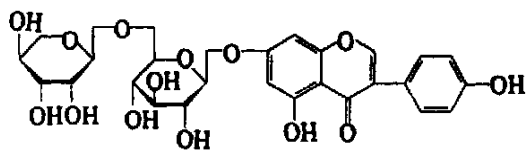


图 2 化合物 I 的结构式

Fig. 2 Structure of compound I

化合物 II: 红色粉末,易溶于甲醇、乙醇,可溶于水。LC-MS 见图 3 m/z : 587 [M+ Na], 565 [M+ 1], 433 ([M- 132+ 1], genistin), 271 (基峰, [M- 132- 162+ 1], genistein) 从 MS 结果可见化合物 II 也可能为 genistin 上连接一个五碳糖 [M= 132] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 8.37 (1H, s, H-2), 7.38 (2H, d, J = 7.87 Hz, H-2', 6'), 6.85 (2H, d, J = 7.82 Hz, H-3', 5'), 6.68 (1H, s, H-8), 6.42 (1H, s, H-6), 5.31 (1H, d, J = 6.27 Hz, H-1''), 5.0 (1H, d, J = 6.78 Hz, H-1'''), 3.61~ 3.15 为糖上氢。从氢谱数据可知化合物 II 的芳香质子信号与染料木素一致, δ 5.0 (1H, d, J = 6.78) 为葡萄糖端基质子, δ 5.31 (1H, d, J = 6.27) 为另一糖的端基质子。由于两个端基质子的偶合常数都大于 4.8, 因此两个糖都是 β 连接 $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ 180.5 (s, C-4), 162.9 (s, C-7), 161.6 (s, C-5), 157.5 (s, C-4'), 157.3 (s, C-8a), 154.5 (s, C-2), 130.2 (d, C-2', 6'), 122.6 (s, C-3), 121.0 (s, C-1'), 115.1 (d, C-3', 5'), 109.4 (s, C-4a), 106.2 (d, C-1''), 99.8 (d, C-1'''), 99.7 (d, C-6), 94.6 (d, C-8), 78.7 (d, C-3''), 76.3 (s, C-5''), 75.6 (d, C-2''), 73.3 (d, C-3'''), 72.9 (d, C-4''), 72.2 (d, C-2'''), 69.8 (d, C-6''), 69.6 (d, C-4'''), 60.2 (C-5''') 从碳谱数据可知化合物 II 共 26 个碳,其中芳香区 15 个碳信号与染料木素的一致, δ 106.2 为葡萄糖端基碳 (C-1''), δ 99.8 为

另一糖端基碳 (C-1'''), 剩余信号分别与葡萄糖和阿拉伯糖相吻合。而葡萄糖的 6'' 碳向低场偏移, 5'' 碳向高场偏移, 因此判定木糖连接在葡萄糖的 6'' 位。根据以上数据推断并参照文献^[4-9]确定化合物 II 为 6''-木糖 染料木素葡萄糖苷。结构式见图 4

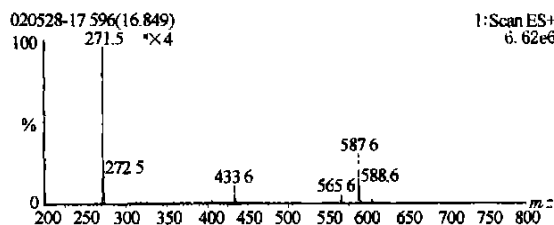


图 3 化合物 II LC-MS 分析的质谱图

Fig. 3 LC-MS spectrum of compound II

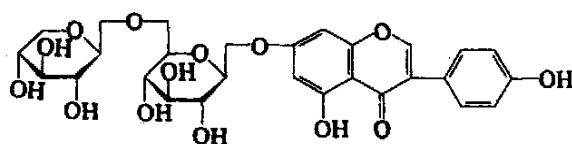


图 4 化合物 II 的结构式

Fig. 4 Structure of compound II

3 结论

本研究从大豆胚芽中分离的 6''-阿拉伯糖 染料木素葡萄糖苷和 6''-木糖 染料木素葡萄糖苷两个异黄酮化合物,在大豆中为首次分离到,也是两个新化合物。

References

- [1] Wang H J, Murphy P A. Isoflavone content in commercial soybean foods [J]. *J Agr Food Chem*, 1994, 42: 1666-1673.
- [2] Gu L W. Studies of isoflavones and soyaasaponins in soybean [D]. *Dissertation of Doctor Degree of Wuxi University of Light Industry*, 2000.
- [3] Hosny M H, Rosazza P N. Novel isoflavone, cinnamic acid and triterpenoid glycosides in soybean molasses [J]. *J Nat Prod*, 1999, 62: 853-858.
- [4] Xu D P. Isolation and determination of isoflavones from Temph [J]. *Food Ferment Ind*, 2001, 27(3): 1-3.
- [5] Shigemitsu K, Makoto S, Takashi I, et al. A new isoflavone glycoside in soybean seed glycitein 7-O- β -D (6''-O-acetyl)-glucopyranoside [J]. *Agr Biol Chem*, 1991, 55(3): 859-860.
- [6] Mabry P J, Markham K R, Thomas M B. *The Systematic Identification of Flavonoids* [M]. New York: Springer-Verlag, 1970.
- [7] Farmakalidis E, Patricia A M. Isolation of 6''-O-acetyl-genistin and 6''-O-acetylaidzin from toasted defatted soyflakes [J]. *J Agr Food Chem*, 1985, 33: 385-389.
- [8] Pawan K A. Review article number 70-NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(10): 3307-3330.
- [9] Hem C J, Fritz Z. Carbon-13 chemical shift assignments of chromones and isoflavones [J]. *Can J Chem*, 1980, 58: 1211-1219.