

栽培甘草的化学成分研究

白虹, 窦德强*, 裴玉萍, 陈英杰, 吴立军

(沈阳药科大学中药学院 天然药化教研室, 辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 对栽培甘草的化学成分进行分离和鉴定。方法 采用硅胶、葡聚糖凝胶 LH-20、ODS 柱等分离手段对栽培甘草的化学成分进行分离, 利用 NMR 和 MS 等光谱技术对化合物进行鉴定。结果 分离得到 10 个化合物, 光甘草酮 (glabrone, I)、芒柄花素 (formononetin, II)、对羟基苯甲酸 (*p*-hydroxybenic acid, III)、甘草查尔酮 A (licochalcone A, IV)、6,7-二羟基香豆素 (6,7-dihydroxy coumarin, V)、甘草黄酮 A (licoflavone A, VI)、美迪紫檀素-3-O-葡萄糖苷 (medicarpin-3-O-glucoside, VII)、芒柄花苷 (ononin, VIII)、甘草素-4'-芹菜糖苷 (liquiritigenin-4'-apiosyl (1-2)-glucoside, IX)、异甘草素-葡萄糖苷 (licuraside, X)。结论 其中化合物 III、V 为本属植物首次分得, 化合物 I 为本种植物首次分得, 10 个化合物均为首次从栽培甘草中得到。

关键词:栽培甘草; 黄酮; 化学成分

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)05-0652-03

Chemical constituents of cultivated *Glycyrrhiza uralensis*

BAI Hong, DOU De-qiang, PEI Yu-ping, CHEN Ying-jie, WU Li-jun

(School of Chinese Traditional Medicine, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Key words: cultivated *Glycyrrhiza uralensis* Fisch; flavonoid; chemical constituents

甘草是常用的中药之一, 首载于我国东汉的《神农本草经》, 已有悠久的应用历史, 其主要功效是和中缓急、润肺、解毒、调和诸药等, 因而在多数方剂中都有应用。此外, 其浸膏制品还是国内外食品、饮料、化妆品等轻工业广泛应用的一种原料或添加剂。甘草在我国药材的销售中占有重要的地位, 其产量和销量居于大宗药材的前列。

自 1962 年起, 在东北和内蒙古等地就开始了甘草的引种栽培试验研究。而栽培甘草的质量又是人们关注的问题, 其是否具有与野生甘草相同的化学成分、含量如何, 是否具有同样的药用效果, 甚至是否含有新的化合物, 都值得进一步研究。鉴于目前这方面的报道较少, 笔者对栽培甘草的化学成分进行了初步的研究。

1 药材、仪器与试剂

核磁共振谱: JEOL ECP-500 型核磁共振仪; **试剂:** 柱色谱硅胶和薄层色谱用硅胶均为青岛海洋化工厂产品; 葡聚糖凝胶 Sephadex-LH20 为 Pharmacia 公司产品; 溶剂均为分析纯。药材于 2000 年采自内蒙古东盛甘草栽培基地, 经鉴定为豆科甘草属植物乌拉尔甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch。

2 提取和分离

栽培甘草干燥根 5 kg, 30 L 水加热提取 3 次, 冷冻干燥得水提取物 1 000 g, 取 800 g 加水溶解后, 分别用等体积醋酸乙酯和正丁醇萃取 3 次, 减压回收溶剂各得浸膏 45、88 g。

取醋酸乙酯提取物进行硅胶柱色谱分离, 石油醚-丙酮 (10:1~0:1)、氯仿-甲醇 (10:1~1:1) 梯度洗脱, 根据 TLC 结果合并为 16 个流分。其中流分 5 经硅胶柱色谱石油醚-丙酮 ((5:1~1:1) 洗脱, Sephadex LH-20 柱色谱 40%~80% 甲醇洗脱分别得到化合物 I (74 mg)、II (6 mg)、III (88 mg); 流分 9 经硅胶柱色谱石油醚-丙酮 (5:1~1:1) 洗脱, Sephadex LH-20 柱 80% 甲醇洗脱及 PTLC 氯仿-甲醇 (10:1) 纯化得化合物 IV (48 mg)、V (2 mg)、VI (39 mg); 流分 11 经硅胶柱色谱氯仿-甲醇 (50:1~10:1) 洗脱得化合物 VII (5 mg)。

取正丁醇提取物进行大孔树脂柱色谱分离, 分别用水、30% 乙醇、60% 乙醇、95% 乙醇洗脱; 60% 乙醇洗脱部分进行硅胶柱色谱分离, 氯仿-甲醇梯度洗脱得 6 个流分, 其中流分 3 经硅胶柱色谱氯仿-甲醇 (10:1) 洗脱, 再经 ODS 柱色谱 40%~80% 甲醇洗脱得到化合物 VIII (66 mg)、IX (50 mg)、X (37 mg)。

3 结构鉴定

化合物 I: 淡黄色结晶(甲醇)。质谱 m/z (%): 336 (20.8), 321 (100), 185 (22.6), 160 (14.7)。 $^1\text{H-NMR}$ (Acetone- d_6): 1.40(6H, s, 2 个 CH_3), 5.67 (1H, d, $J=10$ Hz, 苯并吡喃 H- β), 6.36(1H, dd, $J=8.4, 0.8$ Hz, H-5'), 6.79(1H, dd, $J=10, 0.8$ Hz, 苯并吡喃 H- α), 7.01(1H, d, $J=2.4$ Hz, H-8), 7.07 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-6'), 7.10(1H, dd, $J=8.8, 2.4$ Hz, H-6), 8.15(1H, d, $J=8.8$ Hz, H-5), 8.35 (1H, s, H-2)。根据以上数据, 鉴定化合物 I 为光甘草酮^[1]

化合物 II: 白色针晶(石油醚-醋酸乙酯)。质谱 m/z (%): 268 (100), 253 (20.1), 225 (11.8), 132 (56.7), 117 (14.6)。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): 3.79 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 6.86 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-8), 6.94 (1H, dd, $J=8.7, 2.3$ Hz, H-6), 6.99(2H, d, $J=8.7$ Hz, H-3', 5'), 7.51(2H, d, $J=8.7$ Hz, H-2', 6'), 7.97(1H, d, $J=8.7$ Hz, H-5), 8.33(1H, s, H-2)。根据以上数据, 鉴定化合物 II 为芒柄花素^[2]。

化合物 III: 无色长方体结晶(丙酮)。质谱 m/z (%): 139(66.4), 122(65.5), 65(100), 8.7(14.7)。 $^1\text{H-NMR}$ (Acetone- d_6): 6.91(2H, d, $J=8.7$ Hz, H-3, 5), 7.91(2H, d, $J=8.7$ Hz, H-2, 6)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (Acetone- d_6): 121.9(C-1), 131.9(C-2, 6), 115.1 (C-3, 5), 161.8(C-4), 166.8(C=O)。根据以上数据, 鉴定化合物 III 为对羟基苯甲酸。

化合物 IV: 桔黄色针晶(甲醇)。质谱 m/z (%): 338 (42.4), 308 (100), 277 (17.9), 93 (25.2)。 $^1\text{H-NMR}$ (Acetone- d_6): 1.49 (6H, s, 2 个 CH_3), 3.85(3H, s, $-\text{OCH}_3$), 4.98 (1H, d, $J=11$ Hz, H-3'' A), 5.02(1H, d, $J=17$ Hz, H-3''B), 6.29(1H, dd, $J=17, 11$ Hz, H-2''), 6.57(1H, s, H-3), 6.94(2H, d, $J=8.7$ Hz, H-3', 5'), 7.61(1H, s, H-6), 7.65 (1H, d, $J=15.6$ Hz, H- α), 7.99(2H, d, $J=8.7$ Hz, H-2', 6'), 8.00(1H, d, $J=15.6$ Hz, H- β)。根据以上数据, 鉴定化合物 IV 为甘草查尔酮甲^[3]。

化合物 V: 淡黄色针晶(甲醇)。质谱 m/z (%): 178 (49.8), 150 (50.6), 111 (37.1), 71 (100)。 $^1\text{H-NMR}$ (Methanol- d_6): 6.16(1H, d, $J=9.4$ Hz, H-3), 6.74(1H, s, H-8), 6.93(1H, s, H-5), 7.76 (1H, d, $J=9.4$ Hz, H-4)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (Methanol- d_6): 162.9(C-2), 111.2(C-3), 144.7(C-4), 111.7(C-5), 143.2(C-6), 150.7(C-7), 102.3(C-8), 149.2 (C-9), 111.5(C-10)。根据以上数据, 鉴定化合物 V

为 6,7-二羟基香豆素。

化合物 VI: 黄色粉末。质谱 m/z (%): 321 (95.3), 306 (100), 266 (73.4), 149 (75.0), 118 (31.8), 89 (18.9), 69 (32.0)。 $^1\text{H-NMR}$ (Acetone- d_6): 1.73 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 1.74 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 3.40 (2H, d, $J=7.3$ Hz, $=\text{CH}-\text{CH}_2-$), 5.39(1H, t, $J=7.4$ Hz, $=\text{CH}-\text{CH}_2-$), 6.58(1H, s, H-3), 6.95(2H, d, $J=8.7$ Hz, H-3', 5'), 7.05 (1H, s, H-8), 7.82 (1H, s, H-5), 7.87(2H, d, $J=8.7$ Hz, H-2', 6')。根据以上数据, 鉴定化合物 VI 为甘草黄酮^[3]。

化合物 VII: 白色粉末。质谱 m/z : 887 (2M + Na)。 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ (Pyridine- d_6)数据见表 1。根据以上数据, 鉴定化合物 VII 为美迪紫檀素-3-O-葡萄糖苷^[4]。

表 1 化合物 VII 的碳谱和氢谱数据表

Table 1 $^{13}\text{C-NMR}$ and $^1\text{H-NMR}$ data of compound III

碳位	$^{13}\text{C-NMR}$	$^1\text{H-NMR}$
1	132.4	7.53(1H, d, $J=8.3$ Hz)
2	105.1	7.07(1H, dd, $J=8.5, 2.4$ Hz)
3	159.7	
4	111.0	7.08(1H, d, $J=2.5$ Hz)
4a	157.1	4.25(1H, dd, $J=11, 4.8$ Hz)
6	66.7	3.68(1H, dd, $J=11, 4.8$ Hz)
6a	39.9	3.54(1H, m)
6b	119.7	
7	125.3	7.18(1H, d, $J=8.2$ Hz)
8	106.6	6.56(1H, dd, $J=8.2, 2.3$ Hz)
9	161.6	
10	97.1	6.68(1H, d, $J=2.3$ Hz)
10a	161.3	
11a	78.7	5.55(1H, d, $J=7.4$ Hz)
11b	114.6	
1'	101.9	5.64(1H, d, $J=7.6$ Hz)
2'	74.8	4.29(1H, m)
3'	78.4	4.36(1H, m)
4'	71.0	4.35(1H, m)
5'	78.8	4.09(1H, m)
6'	62.1	4.50(1H, dd, $J=12, 2.3$ Hz) 3.68(1H, dd, $J=12, 5.0$ Hz)
OCH_3	55.3	3.65(1H, s)

化合物 VIII: 无色结晶(甲醇)。质谱 m/z (%): 431 (M + 1)。 $^1\text{H-NMR}$ (Pyridine- d_6): 3.70 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 4.20-4.59(6H, m, 葡萄糖上的 H), 5.78 (1H, d, $J=7.3$ Hz, 葡萄糖 H-1), 7.07(2H, dd, $J=8.9, 2$ Hz, H-3', 5'), 7.29(1H, dd, $J=8.9, 2.2$ Hz, H-6), 7.43(1H, d, $J=2.3$ Hz, H-8), 7.75(2H, d, $J=8.9, 2$ Hz, H-2', 6'), 8.10(1H, s, H-2), 8.35 (1H, d, $J=8.9$ Hz, H-5)。根据以上数据, 鉴定化合物 VIII 为芒柄花苷^[3]。

化合物 IX: 白色粉末。质谱 m/z : 418 (M^+)。

¹H-NMR (Methanol-d₆): 2.75 (1H, dd, *J* = 17, 3 Hz, H-3, cis), 3.00 (1H, dd, *J* = 17, 13 Hz, H-3, trans), 5.00 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, 葡萄糖 H-1), 5.44 (1H, dd, *J* = 13, 3 Hz, H-2), 5.46 (1H, bs, 芹菜糖 H-1), 6.35 (1H, d, *J* = 2 Hz, H-8), 6.50 (1H, dd, *J* = 8.7, 2 Hz, H-6), 7.11 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, H-3', 5'), 7.43 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, H-2', 6'), 7.72 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-5)。根据以上数据, 鉴定化合物 X 为甘草素-4'-芹糖苷^[5]。

化合物 X: 黄色结晶。质谱 *m/z*: 418 (M⁺)。 ¹H-NMR (Methanol-d₆): 5.06 (1H, d, *J* = 7.4 Hz, 葡萄糖 H-1), 5.46 (1H, d, *J* = 1.6 Hz, 芹糖 H-1), 6.30 (1H, d, *J* = 2.3 Hz, H-3'), 6.42 (1H, dd, *J* = 8.7, 2.2 Hz, H-5'), 7.13 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, H-3, 5), 7.68 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, H-α), 7.71 (2H, d, *J* =

8.7 Hz, H-2, 6), 7.80 (1H, d, *J* = 15.4 Hz, H-β), 7.97 (1H, d, *J* = 8.9 Hz, H-6')。根据以上数据, 鉴定化合物 X 为异甘草素-葡萄糖芹菜糖苷。

References:

[1] Kinoshita T, Saitoh T, Shibata S, *et al.* The occurrence of an isoflavene and the corresponding isoflavone in licorice root [J]. *Chem Pharm Bull*, 1976, 24(5): 991-994.
 [2] Xu Q H, Zhu D Y, Song G Q, *et al.* Isolation and chemical structure of liconeolignan [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1983, 18(1): 45-49.
 [3] Yang S L, Liu Y L. Chemical constituents of *Glycyrrhiza inflata* Bat [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1988, 30(2): 176-182.
 [4] Kitagawa I, Chen W A, Hori K, *et al.* Chemical studies of Chinese licorice-roots I. Elucidation of five new flavonoid constituents from the root of *Glycyrrhiza glabra* L. collected in Xinjiang [J]. *Chem Pharm Bull*, 1994, 42(5): 1056-1062.
 [5] Yahara S, Nishioka I. Flavonoid glycoside from licorice [J]. *Phytochemistry*, 1984, 23(9): 2108-2109.

白毛藤多糖的分离、纯化和鉴定

毛建山¹, 吴亚林², 黄 静², 潘远江^{2*}

(1. 浙江大学医学院附属二院消化内科, 浙江 杭州 310009; 2. 浙江大学 化学系, 浙江 杭州 310027)

摘要:目的 分离、纯化和鉴定白毛藤 *Solanum lyratum* 中的多糖的成分。方法 经脱脂、沸水抽提、乙醇沉淀、酶-Sevag 法脱蛋白得到的粗多糖, 再经 DEAE-Sepharose fast flow 阴离子交换和 Sephadex G-200 葡聚糖凝胶柱色谱分离得到纯化的白毛藤多糖 (SLPS), 用红外光谱和紫外光谱分析鉴定该多糖, 凝胶渗透色谱 (GPC) 法测定其相对分子质量, 运用薄板色谱 (TLC) 和纸色谱 (PC) 法初步测其结构组成。结果 红外光谱分析具有典型的多糖特征吸收峰, 紫外光谱分析未见蛋白质 (280 nm) 与核酸 (260 nm) 的特征吸收峰。结论 本实验所提取的白毛藤多糖为单一组分的多糖。

关键词: 白毛藤; 多糖; 白毛藤多糖

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)05-0654-03

Isolation, purification, and identification of polysaccharide of *Solanum lyratum*

MAO Jian-shan, WU Ya-lin, HUANG Jing, PAN Yuan-jiang

(1. Department of Gastroenterology, Second Affiliated Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310009, China; 2. Department of Chemistry, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China)

Key words: *Solanum lyratum* Thunb.; polysaccharide; *Solanum lyratum* polysaccharide (SLPS)

白毛藤, 又名白英, 多年生草质藤本, 茎及叶密生有节长柔毛。叶互生, 多为琴形^[1]。产于黄河以南各地, 是我国的一种名贵中药材, 具有清热解毒, 利湿、祛风、抗肿瘤、调节身体免疫力之功效, 并对金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌有明显的抑菌作用^[2~4]。其主要成分为生物碱 (含 β-羟基甾体), 并有糖反应^[5]。本

实验主要进行了白毛藤多糖的提取, 并进一步纯化和鉴定了该多糖。

1 材料和仪器

白毛藤 *Solanum lyratum* Thunb., 浙江产, 购自杭州华东医药股份有限公司中药材分公司, 经浙江大学生命科学院倪世峰博士鉴定。DEAE-