

马桑叶中黄酮类化合物的分离提取及结构鉴定

张雁冰, 王克让, 刘宏民, 徐向军, 朱献民

(郑州大学 化学系, 河南 郑州 450052)

马桑叶为马桑科植物马桑 *Coriaria sinica* Maxim. 的叶子, 主要产于山西、陕西、甘肃、河南、湖北、湖南、四川、广西、贵州、云南等地, 主治痈疽、肿毒、疥癣、黄水疮、烫伤等^[1]。国内外对马桑叶的研究主要集中在马桑内酯、羟基马桑内酯、马桑亭等。笔者对马桑叶中黄酮类化合物进行了系统研究, 从马桑叶乙醇提取物浸膏的氯仿、丙酮、水相中一共分离了 9 个黄酮类化合物, 并鉴定了结构, 分别是山柰酚 (kaempferol, I)、山柰酚-3-O- α -L-鼠李糖苷 (kaempferol-3-O- α -L-rhamnoside, II)、山柰酚-3-O- β -D-半乳糖苷 (kaempferol-3-O- β -D-galactoside, III)、山柰酚-3-O- α -L-阿拉伯糖苷 (kaempferol-3-O- α -L-arabinoside, IV)、山柰酚-3-O- β -D-葡萄糖苷 (kaempferol-3-O- β -D-glucoside, V)、槲皮素 (quercetin, VI)、槲皮素-3-O- α -L-阿拉伯糖苷 (quercetin-3-O- α -L-arabinoside, VII)、槲皮素-3-O- β -D-半乳糖苷 (quercetin-3-O- β -D-galactoside, VIII)、槲皮素-3-O- β -D-葡萄糖苷 (quercetin-3-O- β -D-glucoside, IX)。化合物 I、II、IV、V、VIII、IX 为首次从马桑叶中分到。

1 仪器和材料

旋转蒸发器: 德国 BÜCHI Rotavapor R-200; 熔点仪: 上海市安亭电子仪器厂 2F-2 型; 紫外灯: 上海顾村电光仪器厂 ZF-I 型三用紫外分析仪; 超导核磁共振光谱仪: DPX-400; 红外光谱仪: Thermo Nicolet IR200 Spectrometer; ODS 反相柱: 德国 Waters 公司 Preparative C₁₈ 55~105 μ m; 大孔树脂: 天津南开大学化工厂 AB-8 大孔吸附树脂; 硅胶: 青岛海洋化工厂产品; 植物原料从河南省西峡县采集, 经河南中医学院鉴定。

2 提取和分离

马桑叶用工业乙醇回流提取, 旋转蒸发回收乙醇, 浸膏用正丁醇溶解后, 加水用氯仿萃取。氯仿萃取段过硅胶柱, 分成氯仿、醋酸乙酯、丙酮段。剩余水

相先过大孔吸附树脂, 再过 ODS 反相柱, 分成 30%、50%、80%、100% 甲醇 4 部分, 将 50% 甲醇过硅胶柱, 氯仿-甲醇溶液梯度洗脱, 得到化合物 III、VII、VIII、IX; 将 80% 甲醇的沉淀过硅胶柱, 氯仿-甲醇溶液梯度洗脱得到化合物 I、II、VI; 氯仿段得到 IV、V; 丙酮段得到 V。

3 结构鉴定

化合物 I: 淡黄色粉末, 紫外灯下显黄色荧光。mp 275~276 °C; HCl-Mg 反应呈阳性。¹H-NMR ((CD₃)₂CO): 12.61 (1H, s, OH-5), 8.15 (2H, dd, $J=11.8$ Hz, H-2', 6'), 7.02 (2H, dd, $J=14.6$ Hz, H-3', 5'), 6.54 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 6.26 (1H, d, $J=1.9$ Hz, H-6), ¹³C-NMR 与文献报道^[2]基本一致, 数据见表 1, 故鉴定为山柰酚。

化合物 II: 黄色针状晶体, mp 172~174 °C; HCl-Mg 反应呈阳性。¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 12.27 (1H, s, OH-5), 7.74 (2H, dd, $J=8.7$ Hz, H-2', 6'), 6.91 (2H, dd, $J=8.7$ Hz, H-3', 5'), 6.40 (1H, d, $J=1.9$ Hz, H-8), 6.20 (1H, d, $J=1.9$ Hz, H-6), 5.29 (1H, s, H-1''), 3.97 (1H, s, H-2''), 0.78 (3H, d, $J=5.8$ Hz, H-6''), 与文献报道^[3]基本一致。¹³C-NMR 数据与文献报道^[4]中的山柰酚-3,7-O- α -L-二鼠李糖的山柰酚-3-O- α -L-鼠李糖基本一致, 数值见表 1, 故鉴定为山柰酚-3-O- α -L-鼠李糖。

化合物 III: 黄色针状晶体, mp 238~240 °C, 紫外灯下显黄色荧光, HCl-Mg 反应呈阳性。IR ν_{max} cm⁻¹: 3400~3200, 1656, 1605, 1496。¹H-NMR (DMSO-d₆): 12.62, 10.86, 10.16 (3 个 OH), 8.07 (2H, dd, $J=8.8$ Hz, H-2', 6'), 6.86 (2H, dd, $J=8.8$ Hz, H-3', 5'), 6.44 (1H, d, $J=1.9$ Hz, H-8), 6.21 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 5.40 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-1''), 与文献报道^[5]数据基本一致, ¹³C-NMR 数据见表 1, 故鉴定为山柰酚-3-O- β -D-半乳糖。

化合物 IV: 黄色粉末, mp 231~232 °C, 紫外灯

收稿日期: 2005-05-26

基金项目: 河南省自然科学基金资助项目 (031104900)

作者简介: 张雁冰 (1958-), 女, 教授, 硕士生导师, 郑州大学化学系在读博士, 研究方向: 天然产物化学。

E-mail: Zhuangyb@zzu.edu.cn

下显黄色荧光, HCl-Mg 反应呈阳性。IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$: 3 400~3 200, 1 655, 1 606, 1 507。¹H-NMR (DM-SO- d_6): 12.63, 10.87, 10.19 (3 个 OH), 8.02 (2H, dd, $J=8.8 \text{ Hz}$, H-2', 6'), 6.89 (2H, dd, $J=8.8 \text{ Hz}$, H-3', 5'), 6.44 (1H, d, $J=1.9 \text{ Hz}$, H-8), 6.20 (1H, d, $J=1.9 \text{ Hz}$, H-6), 5.62 (1H, s, H-1''), 与文献报道^[2]数据基本一致, ¹³C-NMR 数据见表 1, 故鉴定为山柰酚-3-O- α -L-阿拉伯糖。

化合物 V: 淡黄色粉末, mp 246~247 °C, HCl-Mg 反应呈阳性。IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$: 3 400~3 200, 1 658, 1 603, 1 493。¹H-NMR (MeOD): 8.07 (2H, dd, $J=12.0 \text{ Hz}$, H-2', 6'), 6.88 (2H, dd, $J=11.2 \text{ Hz}$, H-3', 5'), 6.38 (1H, d, $J=2.0 \text{ Hz}$, H-8), 6.19 (1H, d, $J=2.0 \text{ Hz}$, H-6), 5.12 (1H, d, $J=8.0 \text{ Hz}$, H-1''), 3.40~5.82 (5H, m, H-2'', 6''), 与文献报道^[4]数据基本一致, ¹³C-NMR 数据见表 1, 故鉴定为山柰酚-3-O- β -D-葡萄糖。

化合物 VI: 黄色针状晶体, mp 312~315 °C, HCl-Mg 反应呈阳性。IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$: 3 400~3 300, 1 663, 1 609, 1 519。¹H-NMR ((CD_3)₂CO): 12.17 (1H, s, OH-5), 7.78 (1H, d, $J=2.0 \text{ Hz}$, H-2'), 7.68 (1H, dd, $J=2.0 \text{ Hz}$, H-6'), 6.97 (1H, d, $J=8.4 \text{ Hz}$, H-5'), 6.50 (1H, d, $J=1.9 \text{ Hz}$, H-8), 6.24 (1H, d, $J=1.9 \text{ Hz}$, H-6), 与文献报道^[6]数据基本一致, ¹³C-NMR 数据见表 1。故鉴定为槲皮素。

化合物 VII: 黄色粉末, mp 196~197 °C, HCl-Mg 反应呈阳性。IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$: 3 400~3 300, 1 653, 1 606, 1 504。¹H-NMR (DMSO- d_6): 12.64, 10.87, 9.72, 9.26 (4 个 OH), 7.56 (1H, dd, $J=10.4 \text{ Hz}$, H-6'), 7.48 (1H, d, $J=2.0 \text{ Hz}$, H-2'), 6.86 (1H, d, $J=8.4 \text{ Hz}$, H-5'), 6.41 (1H, d, $J=2.0 \text{ Hz}$, H-8), 6.21 (1H, d, $J=2.0 \text{ Hz}$, H-6), 5.59 (1H, d, $J=5.6 \text{ Hz}$, H-1''), 与文献报道^[2,7]数据基本一致, ¹³C-NMR 数据见表 1, 故鉴定为槲皮素-3-O- α -L-阿拉伯糖。

化合物 VIII: 黄色结晶, mp 245~246 °C, HCl-Mg 反应呈阳性。IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$: 3 400~3 300, 1 655, 1 606, 1 504。¹H-NMR (DMSO- d_6): 12.63 (1H, OH-5), 10.85, 9.71, 9.14 (3 个 OH), 7.67 (1H, dd, $J=10.4 \text{ Hz}$, H-6'), 7.52 (1H, d, $J=2.0 \text{ Hz}$, H-2'), 6.81 (1H, d, $J=8.4 \text{ Hz}$, H-5'), 6.40 (1H, d, $J=2.4 \text{ Hz}$, H-8), 6.20 (1H, d, $J=2.0 \text{ Hz}$, H-6), 5.37 (1H, d, $J=7.6 \text{ Hz}$, H-1''), 与文献报道^[8]数据基本一致, ¹³C-NMR 数据见表 1, 故鉴定为槲皮素-3-O- β -D-半乳糖。

化合物 IX: 黄色结晶, mp 229~231 °C, HCl-Mg 反应呈阳性。¹H-NMR (DMSO- d_6): 12.64 (1H, OH-5), 7.64 (1H, dd, $J=10.8 \text{ Hz}$, H-6'), 7.58 (1H, d, $J=2.4 \text{ Hz}$, H-2'), 6.86 (1H, d, $J=8.4 \text{ Hz}$, H-5'), 6.45 (1H, d, $J=1.6 \text{ Hz}$, H-8), 6.23 (1H, d, $J=2.0 \text{ Hz}$, H-6), 5.36 (1H, d, $J=7.6 \text{ Hz}$, H-1''), 与文献报

表 1 化合物 I~IX 的 ¹³C-NMR

Table 1 ¹³C-NMR Data of compounds I-IX

碳位	I [(CD_3) ₂ CO]	II (DMSO)	III (DMSO)	IV (DMSO)	V (MeOD)	VI [(CD_3) ₂ CO]	VII (DMSO)	VIII (DMSO)	IX (DMSO)
2	146.9	156.9	156.5	156.5	158.5	146.8	156.5	156.4	156.5
3	133.4	134.3	133.4	133.5	135.6	136.6	133.5	133.6	133.8
4	176.4	177.8	177.8	177.8	179.6	176.4	177.8	177.6	177.7
5	162.1	161.4	161.3	161.3	163.0	157.6	161.4	161.4	161.5
6	98.9	98.9	98.8	98.8	99.9	99.0	98.8	98.8	99.1
7	164.9	164.3	164.3	164.3	166.0	164.9	164.3	164.2	164.8
8	94.3	93.9	93.8	93.8	94.7	94.2	93.7	93.6	93.9
9	157.6	160.1	156.5	156.9	159.1	162.1	157.1	156.4	156.6
10	103.9	104.6	104.1	104.1	105.6	103.9	104.1	104.0	104.1
1'	123.9	120.6	121.0	120.8	122.7	123.6	121.1	122.1	122.3
2'	130.2	130.7	131.1	130.9	132.3	115.5	115.7	115.5	115.5
3'	116.1	115.5	115.2	115.5	116.1	145.7	145.2	145.0	145.1
4'	160.1	157.3	160.1	160.1	161.5	148.2	148.6	148.6	148.8
5'	116.1	115.5	115.2	115.5	116.1	116.0	115.7	116.1	116.5
6'	130.2	130.7	131.1	130.9	132.3	121.3	121.8	121.2	121.9
1''		101.9	101.8	108.2	105.0		108.0	101.9	101.2
2''		70.7	71.3	82.3	73.0		82.3	71.3	74.4
3''		70.5	73.2	77.2	75.0		77.1	73.3	76.8
4''		71.3	68.0	86.5	70.0		86.0	68.0	70.2
5''		70.2	75.9	61.0	77.1		60.8	76.0	77.9
6''		17.6	60.3		61.9			60.3	61.3

道^[9]数据基本一致,¹³C-NMR数据见表 1,故鉴定为槲皮素-3-O-β-D-葡萄糖。

4 结果与讨论

通过研究发现,马桑叶中黄酮醇及其苷类的量比较大,种类比较多,主要集中在水相中,其基本骨架为山柰酚和槲皮素。

References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1977.
- [2] Zhao A H, Zhao Q S, Lin Z W, et al. Chemical studies on *Polygonum aviculare* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2002, 14(5): 29-32.
- [3] Yang X F, Fu H Z, Lei H M, et al. Chemical constituents from the leaves of *Koeleruteria panichlata* Laxm [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 1999, 34(6): 457-462.
- [4] Ouyang M A. Studies on lignans and flavonoid glycosides of *Ligustrum sinense* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(3): 196-198.
- [5] Qian S H, Yang N Y, Duan J A, et al. Study on the flavonoids of *Eupatorium lindleyanum* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2004, 29(1): 50-52.
- [6] Kong L Y, Min Z D. Studies on chemical constituents of roots of *Euphorbia pekinensis* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 1996, 31(7): 524-529.
- [7] Liu Y Z, Wang C F, Zhang Z Z, et al. Studies on chemical constituents of *Chamaenerion angustifolium* L. Flavonoids from *Chamaenerion angustifolium* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(4): 289-291.
- [8] Zhang P C, Xu S X. Chemical constituents from the leaves of *Crataegus pinnatifida* Bge. var *major* N. E. Br [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 2001, 36(10): 754-757.
- [9] Su Y F, Liu J S, Guo D A, et al. Seven flavonoids from aerial parts of *Conyza blinii* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(6): 496-497.

黄花夹竹桃内生真菌产细胞松弛素的研究

彭小伟^{1,2}, 杨丽源¹, 李绍兰¹, 周 斌¹, 李治滢¹, 陈有为^{1*}

(1. 云南大学 云南省微生物研究所, 云南 昆明 650091; 2. 中国科学院过程工程研究所 生化工程国家重点实验室, 北京 100080)

植物内生真菌是指生活在植物体内或生活史的一定阶段处于植物体内的真菌,其涵盖面相当广,包括菌根真菌和植物病原菌^[1,2]。也有人认为内生真菌是指存在于健康植物的茎叶中,不形成明显病症的真菌^[1,2]。在内生菌-植物宿主-食草动物生态系统中,植物内生菌扮演重要生态学作用,发挥这些作用的物质基础是内生菌产生的丰富多样的次生代谢产物,它们具有多种生物活性,在农业和(或)医药业中具有重要的应用潜力^[3]。黄花夹竹桃 *Thevetia peruviana* (Pers.) K. Schum. 是夹竹桃科植物,剧毒,它是一种药用植物,全株各部位都含有药用成分黄夹苷,果仁中质量分数最高,有强心、利尿、祛痰、发汗、催吐等作用。YM38338 菌株分离自黄花夹竹桃植物茎韧皮部,在筛选过程中,其发酵提取物经薄层色谱分离,发现它能产生一种次生代谢产物,对该菌株进行扩大发酵,用乙醇萃取发酵物,经硅胶柱色谱分离纯化,首次分离到两个化合物。通过波谱方法鉴定化合物结构:细胞松弛素 H(I) 和细胞松弛素 O(II)。

1 材料

1.1 菌种:菌株 YM38338 分离自黄花夹竹桃植物茎韧皮部,菌种保藏在云南省微生物研究所真菌资源与菌种保藏室。

1.2 培养基:PDA 液体培养基:马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,蒸馏水 1 000 mL,pH 值自然。

1.3 试剂与仪器

醋酸乙酯、氯仿、甲醇、丙酮、石油醚,均为分析纯;硅胶 GF₂₅₄ 薄层色谱板(青岛海洋硅胶厂);柱色谱用 200~300 目硅胶(Silica G)(青岛海洋硅胶厂);核磁共振谱用 Burker AM500 核磁共振仪测定;质谱用 Autospec VG-3000 质谱仪测定。

2 方法

2.1 发酵和提取:配 10 L 液体 PDA 培养基,分装于 100 个三角瓶(规格 500 mL),取活化 72~96 h 的 YM38338 菌种,接种于装有液体 PDA 培养基的三角瓶中,置于 25~28 ℃,300 r/min 摇床发酵 5 d。

发酵结束后,用纱布滤过,使菌体与发酵液分开,菌体用氯仿浸泡,浸泡 24 h 后用滤纸滤过,滤液减压浓缩,再用新鲜氯仿浸泡菌体,重复 3 次,发酵液用醋酸乙酯萃取 3 次,减压浓缩萃取液,分别得浓

收稿日期:2005-05-31

作者简介:彭小伟(1975-),男,江西人,博士生,主要从事微生物资源与应用研究。 E-mail:xiaowpp@hotmail.com

* 通讯作者 陈有为 Tel:(0871)5033539 E-mail:ywchen@ynu.edu.cn