

红车轴草的化学成分研究

索志新, 斯建勇*, 沈连钢, 王瑞虎

(中国协和医科大学 中国医学科学院药用植物研究所, 北京 100094)

红车轴草 *Trifolium pratense* L. 系豆科车轴草属多年生草本植物, 又名红苜蓿、红三叶、三叶草、红花苜蓿、红花车子、红荷兰翘翘、金花菜等。原产欧洲、西亚, 现广泛分布于世界各地^[1,2]。红车轴草不仅是优良饲料和牧草, 而且在许多国家已成为人们的传统食品和调味品。

从 20 世纪 60 年代开始, 国外不断有关于红车轴草的研究报道, 从中分离鉴定了数十种化合物。红车轴草具有改善更年期综合征、治疗心血管疾病、骨质疏松症、癌症、皮肤病、百日咳、多种痉挛症等疾病, 并且红车轴草已被列入在美国 FDA 的一般认为安全 (GRAS) 名单上, 应用于多种茶饮料中, 此外, 民间也用其治疗各种疾病^[3]。所以红车轴草备受关注。

红车轴草是一种近年才引入中国的新兴中药, 我国南北各省区均有种植, 资源十分丰富。在我国民间也被用于镇痉、止咳、止喘等。国产红车轴草的化学成分研究报道较少, 为提高红车轴草的药用及其经济价值, 笔者对国产红车轴草的化学成分进行了系统研究, 从其乙醇提取物分离并鉴定了 9 个化合物, 分别为: 大豆素 (I)、红车轴草素 (II)、芒柄花素 (III)、鹰嘴甲素 (IV)、芒柄花苷 (V)、樱黄素 (VI)、(+)-4-羟基-3-甲氧基-8,9-二氧甲基紫檀烷 (VII)、(+)-高丽槐素 [(+)-玛卡尼, (+)-maackiain] (VIII)、3,24-二羟基-12-烯-齐墩果烷 (IX)。

1 仪器与材料

FISHER-JOHNS 型熔点测定仪, 温度未校正。薄层色谱硅胶 HSGF254 为烟台汇友硅胶开发有限公司出品。柱色谱硅胶 (100~200 目) 为青岛海洋化工分厂出品。Sephadex LH-20 (Pharmacia 公司)。常规溶剂均为分析纯 (北京化工厂)。NMR 测定用 Varian INOVA 600 型核磁共振仪。MS 测定用 Micromass ZabSpec 高分辨磁质谱仪。红车轴草乙醇提取的购于陕西方舟制药有限公司。

2 提取与分离

红车轴草乙醇提取物干粉 1 kg, 加适量硅藻土拌样, 置于索氏提取器中, 依次用石油醚、氯仿、醋酸乙酯、丙酮、90% 乙醇回流, 减压浓缩, 得石油醚提取物、氯仿提取物、醋酸乙酯提取物、丙酮提取物、乙醇提取物。将氯仿提取物和醋酸乙酯提取物进行硅胶柱色谱分离, 并结合葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 柱色谱纯化, 用 TLC 检查。得到化合物 I (101 mg)、II (95 mg)、III (2.9 g)、IV (3.1 g)、V (2.5 g)、VI (80 mg)、VII (30 mg)、VIII (15 mg)、IX (60 mg)。

3 结构鉴定

化合物 I: 白色粉末。mp 300 °C 以上。¹H-NMR (CD₃OD) δ: 6.84 (2H, d, J=8.4 Hz, H-3', 5'), 6.92 (1H, d, J=2.4 Hz, H-8), 6.94 (1H, dd, J=9.0, 2.4 Hz, H-6), 7.36 (2H, d, J=8.4 Hz, H-2', 6'), 8.05 (1H, d, J=9.0 Hz, H-5), 8.12 (1H, s, H-2)。¹³C-NMR (CD₃OD) δ: 103.24 (C-8), 116.23 (C-3', 5'), 116.43 (C-6), 118.23 (C-10), 124.32 (C-3), 125.98 (C-1'), 128.52 (C-5), 131.42 (C-2', 6'), 154.65 (C-2), 158.70 (C-9), 159.81 (C-4'), 164.60 (C-7), 178.19 (C-4)。以上数据与文献报道大豆素基本一致^[4], 硅胶 TLC 上与标准品 R_f 值相同。因而鉴定化合物 I 为 7,4'-二羟基异黄酮 (7,4'-dihydroxyisoflavone), 即大豆素 (daidzein)。

化合物 II: 灰白色粉末。mp 266~268 °C。¹H-NMR (CD₃OD) δ: 3.87 (3H, s, OCH₃-4'), 6.22 (1H, s, J=2.1 Hz, H-6), 6.34 (1H, s, J=2.1 Hz, H-8), 6.97 (1H, H-2'), 6.97 (1H, H-6'), 7.04 (1H, H-5'), 8.05 (1H, s, H-2)。¹³C-NMR δ: 56.42 (OCH₃-4'), 94.81 (C-8), 100.17 (C-6), 106.29 (C-10), 112.66 (C-5'), 117.32 (C-2'), 121.57 (C-6'), 124.60 (C-3), 125.23 (C-1'), 147.48 (C-3'), 149.29 (C-4'), 155.01 (C-2), 159.69 (C-9), 163.90 (C-5), 166.01 (C-7), 182.14 (C-4)。以上数据与文献报道基本一致^[4], 因而鉴定化合物 II 为 5,7,3'-三羟基-

4'-甲氧基异黄酮(5,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyisoflavone),即红车轴草素(pratensein)。

化合物Ⅲ:无色针状结晶,mp 260~262℃, ¹H-NMR和¹³C-NMR数据与文献报道芒柄花素基本一致^[4],因而鉴定化合物Ⅲ为7-羟基-4'-甲氧基异黄酮(7-hydroxy-4'-methoxyisoflavone),即芒柄花素(formononetin)。

化合物Ⅳ:淡黄色颗粒状结晶,mp 217~219℃。 ¹H-NMR和¹³C-NMR数据与文献报道鹰嘴豆芽素A(鹰嘴甲素)基本一致^[4],因而鉴定化合物Ⅳ为5,7-二羟基-4'-甲氧基异黄酮(5,7-dihydroxy-4'-methoxyisoflavone),即鹰嘴甲素(鹰嘴豆芽素A, biochanin A)。

化合物Ⅴ:白色粉末,mp 207~209℃。 ¹H-NMR和¹³C-NMR数据与文献报道基本相符^[5,6],因而鉴定化合物Ⅴ为芒柄花苷。

化合物Ⅵ:黄色粉末,mp 239~241℃。 ¹H-NMR和¹³C-NMR数据与文献报道樱黄素基本相符^[4],因而鉴定化合物Ⅵ为5,4'-二羟基-7-甲氧基异黄酮(5,4'-dihydroxy-7-methoxyisoflavone),即樱黄素(prunetin)。

化合物Ⅶ:白色絮状结晶,mp 169~171℃。 ¹H-NMR(CDCl₃)δ:7.03(1H,d,J=8.4 Hz,H-1),6.73(1H,s,H-7),6.67(1H,d,J=8.4 Hz,H-2),6.43(1H,s,H-10),5.91(2H,d,J=17.1 Hz,OCH₂O),5.52(1H,d,J=7.2 Hz,H-11a),5.46(1H,s,OH),4.34(1H,dd,J=10.8,5.4 Hz,H-6α),3.91(3H,s,OMe),3.70(1H,t,J=11.1 Hz,H-6β),3.53(1H,ddd,J=11.4,6.6,4.8 Hz,H-6a)。 ¹³C-NMR(CDCl₃)δ:40.33(C-6a),56.37(OCH₃),66.90(C-6),78.40(C-11a),93.85(C-10),101.32(OCH₂O),104.77(C-7),105.43(C-2),114.01(C-11b),117.70(C-6b),121.04(C-1),134.03(C-4),141.80(C-8),143.28(C-3),147.40(C-4a),148.19(C-9),154.25(C-10a)。以上数据与文献报道基本相符^[7],因而鉴定化合物Ⅶ为(+)-4-羟基-3-甲氧基-8,9-二氧亚甲基紫堇烷[(+)-4-hydroxy-3-methoxy-8,9-methylene dioxypterocarpan]。

化合物Ⅷ:无色针状结晶,mp 181~183℃。 ¹H-NMR(CDCl₃)δ:3.57(2H,ddd,J=10.0,7.0,4.5 Hz,H-6a,6β),4.21(1H,d,J=10.5,7 Hz,H-6α),5.50(1H,d,J=7.0 Hz,H-11a),5.92(1H,d,J=18.0 Hz,OCH₂O),6.25(1H,s,H-4),6.45(1H,

d,J=8.0 Hz,H-10),6.51(1H,s,H-2),6.96(1H,s,H-7),7.23(1H,d,J=8.5 Hz,H-1),9.62(1H,s,OH)。 ¹³C-NMR(CDCl₃)δ:40.00(C-6a),65.75(C-6),77.94(C-11a),93.22(C-10),101.00(OCH₂O),102.80(C-4),105.351(C-7),109.650(C-2),111.268(C-11b),118.408(C-6b),132.008(C-1),141.01(C-8),147.42(C-9),153.71(C-10a),156.30(C-4a),158.68(C-3)。以上数据与文献报道的基本相符^[7],因而鉴定化合物Ⅷ为(+)-3-hydroxy-8,9-methylenedioxypterocarpan,即玛卡尼。

化合物Ⅸ:无色针状结晶,mp 239~241℃。 EIMS *m/z*:442[M⁺],(3),424(2),218(100),203(56),189(8)。 ¹H-NMR(CDCl₃)δ:0.82(3H,s,CH₃),0.87(6H,s,2×CH₃),0.89(3H,s,CH₃),0.93(3H,s,CH₃),1.13(3H,s,CH₃),1.24(3H,s,CH₃),3.34(1H,d,J=11.5 Hz,H-24a),3.44(1H,dd,J=11.5,5.5 Hz,H-3),4.21(1H,d,J=11.5 Hz,H-24b),5.18(1H,t,J=3.5 Hz,H-12)。 ¹³C-NMR(CDCl₃)δ:16.15(C-25),16.88(C-26),18.45(C-6),22.40(C-23),23.76(C-11),23.76(C-30),25.90(C-16),25.904(C-27),27.70(C-2),27.70(C-15),28.20(C-28),30.53(C-20),32.81(C-7),32.81(C-17),33.12(C-21),33.12(C-29),36.69(C-10),37.40(C-22),38.43(C-1),39.70(C-8),41.504(C-14),42.83(C-4),46.18(C-19),47.73(C-18),47.73(C-9),55.88(C-5),64.52(C-24),80.92(C-3),122.31(C-12),143.93(C-13)。以上数据与文献报道基本一致^[8],因而鉴定化合物Ⅸ为12-烯-3β,24-二羟基齐墩果烷(olean-12-en-3β,24-diol)。

References:

- [1] Editorial Board of China Herbal, State Administration of Traditional Chinese Medicine, China. *China Herbal* (中华本草) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1999.
- [2] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1975.
- [3] Zeng H Y, Zhou P H, Hou T Z. Review on the development of active chemical components of *Trifolium pratense* L. [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(2): 189-190.
- [4] Huang S Y, Tu P F. Isolating and identifying of Isoflavones from *Trifolium pratense* L. [J]. *Peking Univ: Nat Sci* (北京大学学报:自然科学版), 2004, 40(4): 544-549.
- [5] Yuang S Y, Liu Y L. Chemical constituents of *Glycyrrhiza inflata* Bat. [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1988, 30(2): 176-182.

- [6] Ma Q, Lei H M, Zhou Y X, *et al.* Study on chemical constituents of *Trifolium pratense* L. [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2005, 40(14): 1057.
- [7] Swapqn K, Chaudhuri, Li H A, *et al.* Isolation and structure identification of an active DNA strand-scission agent, (+)-3, 4-dihydroxy-8, 9-methylene dioxyterocarpan [J]. *J Nat Prod*, 1995, 58(12): 1966-1969.
- [8] Tanaka R, Tabuse M, Matsunaga S. Triterpenes from the stem bark of *Phyllanthus flexuosus* [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27(11): 3563-3567.

战骨茎的化学成分研究

戴春燕^{1,2}, 陈光英^{2,3}, 朱国元², 方宏勋^{2*}, 蒋才武^{1*}

(1. 广西中医学院, 广西南宁 530001; 2. 香港城市大学深圳研究院, 广东深圳 518057;
3. 海南师范大学化学系, 海南海口 571158)

战骨是一种常用的壮族药, 植物名为黄毛豆腐柴, 系马鞭草科豆腐柴属植物 *Premna fulva* Craib, 又名土霸王、穿云箭, 具有活血散淤、强筋健骨、祛风止痛之功效, 广西民间壮族常用于治疗腰痛、跌打扭伤、风湿性关节炎和类风湿性关节炎、肝区疼痛等, 为广西道地药材^[1]。战骨茎的提取液(商品名健骨注射液)具有抗炎消肿、镇痛作用, 用于治疗肥大性脊椎炎(即腰椎骨质增生症), 总有效率为 97.37%, 显效率为 62.7%, 并已申请了专利^[2]。曾途等^[3]从黄毛豆腐柴茎皮的石油醚部分分离得到木栓酮、木栓醇、羽扇豆烯-3-酮; 从醋酸乙酯部分分离出柚皮素、香草酸^[4]。为充分利用该药用资源, 对黄毛豆腐柴的茎皮进行了化学成分研究, 从其醋酸乙酯部位中分离到 6 个化合物, 鉴定为香草酸(I)、丁香酯素(II)、柚皮素(III)、对羟基苯甲酸(IV)、芹菜素(V)和牡荆素(VI)。其中 II、IV、V 首次从该植物中分离得到, II 为首次从该属植物中分离得到。

1 仪器与材料

熔点用 PHMK79/2212 型熔点测定仪测定, 温度未校正。红外光谱用 Perkin-Elmer 983 红外光谱仪测定(KBr 压片); 核磁共振谱用 Bruker AV-400 型核磁共振仪测定; EI-MS 用 HP5973 质谱仪, FAB-MS 用 VG-70EHF 双聚焦质谱(Micromass 公司); 柱色谱硅胶(200~300 目)、硅胶 H 及 GF₂₅₄ 硅胶板由青岛海洋化工厂生产; Sephadex LH-20 由上海亚东核级树脂有限公司生产。溶剂甲醇、正丁醇、丙酮、醋酸乙酯、氯仿、石油醚, 均为分析纯。

药材采集于广西靖西县, 经广西中医学院刘寿养副教授鉴定为马鞭草科豆腐柴属植物黄毛豆腐柴

Premna fulva Craib 的茎, 样品标本存放于广西中医学院药学院。

2 提取与分离

取干燥黄毛豆腐柴茎皮 15 kg, 粉碎, 以 70% 乙醇加热回流提取 3 次, 合并滤液, 减压浓缩得棕色浸膏。浸膏加适量水, 分别用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取, 将各萃取部位减压浓缩得浓浸膏, 将醋酸乙酯部分用硅胶柱色谱、凝胶柱色谱等多种色谱方法得到化合物 I~VI。

3 结构鉴定

化合物 I: 白色针晶。mp 210~212 °C。3% FeCl₃ 反应为阳性, 表明存在酚羟基。¹H-NMR(CDCl₃, 400 MHz)δ: 7.71(1H, dd, J=8, 1.2 Hz, H-6), 7.59(1H, s, H-2), 6.97(1H, d, J=8 Hz, H-5), 3.96(3H, s, OMe)。以上数据与文献报道的化合物香草酸一致^[5], 鉴定化合物 I 为香草酸(vanillic acid)。

化合物 II: 白色固体。mp 174~176 °C。IR ν_{max} (cm⁻¹): 3 438 (-OH), 1 612, 1 520, 1 456 (benzene)。EI-MS *m/z* (%): 418[M]⁺(100), 388(10), 251(6), 235(11), 226(8), 210(18), 193(26), 182(35), 181(75), 167(61), 161(25), 154(17), 151(12), 1239(9), 81(6)。¹H-NMR(CDCl₃, 400 MHz)δ: 6.58(4H, s, H-2, 6, 2', 6'), 5.57(2H, s, OH-4, 4'), 4.73(2H, d, J=4.38 Hz, H-7, 7'), 4.28(2H, dd, J=6.7, 9.1 Hz, H-9e, 9'e), 3.91(2H, m, H-9a, 9'a), 3.89(12H, s, OMe-4), 3.10(2H, m, H-8, 8')。 ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃)δ: 147.11(C-3, 5, 3', 5'), 134.26(C-4, 4'), 132.01(C-1, 1'), 102.67(C-2, 6, 2', 6'), 85.98(C-7, 7'), 71.29(C-9, 9'), 56.29

收稿日期: 2006-03-16

基金项目: 广西应用基础研究项目(桂科基 0342003-5); 海南师范大学青年教师科研基金项目

* 通讯作者 方宏勋 Tel: (00852)27889789 E-mail: bhwfong@cityu.edu.hk
蒋才武 Tel: (0771)3137377 E-mail: cwjiang@gxtcmu.edu.cn