

小叶三点金化学成分研究

毛绍春¹, 李竹英¹, 李 聪²

(1. 玉溪农业职业技术学院, 云南 玉溪 653100; 2. 云南大学 应用化学系, 云南 昆明 650091)

小叶三点金 *Desmodium microphyllum* (Thunb.) DC. 又名小叶山绿豆、爬地香、小木通等, 隶属于豆科山蚂蝗属三点金亚属植物, 生长在山坡草地或灌木丛中, 分布在我国南方的大部分省区。小叶三点金味甘、性凉, 具有清热利湿、止咳平喘、消肿解毒、防治动脉粥样硬化的功效, 全草均可入药^[1]。田茂军等^[2]对小叶三点金根、茎、叶的挥发油化学成分进行了研究, 共鉴定出 46 种化学成分。为了寻找活性成分, 更好地开发和利用三点金植物资源, 本实验对小叶三点金的化学成分进行了研究, 首次鉴定出了 10 种化合物, 分别为邻羟基苯甲酸(水杨酸, I)、水杨酸十三烷酯(II)、水杨酸十六烷酯(III)、癸酸十一烷三烯酯(IV)、蒎立醇(V)、 α -D-吡喃葡萄糖基- β -L-吡喃鼠李糖苷(VI)、2-(2-甲基丁酰氧基)乙基-十四酸酯(VII)、2-甲基-3-羧基-二恶烷并-1-甲氧基-4,5,6-三羟基环己烷(VIII)、 β -谷甾醇-3- β -D-葡萄糖吡喃糖苷(IX)、辛基-4,5-二羟基-3-(壬-4-烯酰氧基)吡咯烷-2-羧酸酯(X)。

1 仪器和材料

XT-4 型熔点测定仪(北京泰克仪器有限公司, 温度计未校正); AVATAR FT-IR 型红外分光光度仪(KBr 压片); Bruker AM-500 核磁共振仪; Agilent LC/MSD TOF 型质谱仪(CDCl_3 为溶剂, TMS 为内标); Vario EL 有机元素分析仪; Bruker SMART CCD 单晶衍射仪; 柱色谱硅胶; H 硅胶、G 硅胶(100~200 目, 200~300 目)(青岛海洋化工厂)。

小叶三点金采自云南大理, 经云南大学生物系陆树刚教授鉴定。

2 提取与分离

将小叶三点金 0.5 kg 在 60 °C 下烘干, 粉碎后用 95% 乙醇在 50 °C 下浸提 4 次, 每次 3 h。合并浸提液, 减压浓缩得总浸膏 110 g, 再将浸膏溶解并加入等量的粗硅胶(100~200 目), 挥干后上柱, 依次用石油醚、氯仿、醋酸乙酯、甲醇进行萃取, 分别得到石油醚、

氯仿、醋酸乙酯、甲醇 4 部分萃取物。4 部分萃取物分别经硅胶柱色谱分离, 石油醚部分(16 g)以石油醚-氯仿、石油醚-醋酸乙酯溶剂系统梯度洗脱, 得化合物 I (60 mg); 氯仿部分(9 g)用硅胶柱色谱分离, 经石油醚-氯仿、石油醚-醋酸乙酯、氯仿-醋酸乙酯及丙酮等溶剂系统梯度洗脱, 得化合物 II (45 mg) 及化合物 III (50 mg); 醋酸乙酯部分(13 g)经石油醚-醋酸乙酯、氯仿-醋酸乙酯、氯仿-甲醇等溶剂系统梯度洗脱, 得化合物 IV (60 mg)、化合物 V (10 mg)、化合物 VI (30 mg) 和化合物 VII (25 mg); 甲醇部分(30 g)用氯仿-甲醇、丙酮-甲醇等溶剂洗脱, 得化合物 VIII (40 mg)、化合物 IX (15 mg) 和化合物 X (20 mg)。

3 结构鉴定

化合物 I: 白色针晶(醋酸乙酯)。mp 145~148 °C。IR、 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 光谱数据与文献数据^[3~6]对照, 确定该化合物为邻羟基苯甲酸(水杨酸)。

化合物 II: 白色针晶(醋酸乙酯)。mp 72~75 °C。IR、 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 光谱数据与文献数据^[3,7,8]对照, 确定该化合物为水杨酸十三烷酯。

化合物 III: 白色针晶(醋酸乙酯)。分子式为 $\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{O}_3$, mp 71~73 °C。IR、 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 光谱数据与文献数据^[7,8]对照, 确定该化合物为水杨酸十六烷酯。

化合物 IV: 白色针晶(石油醚), 分子式为 $\text{C}_{23}\text{H}_{48}\text{O}_3$, mp 40~42 °C。IR、 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 光谱数据与文献数据^[7,8]对照, 确定该化合物为癸酸十一烷三烯酯。

化合物 V: 白色粉末(甲醇), 分子式为 $\text{C}_7\text{H}_{14}\text{O}_6$, mp 185~186 °C。IR、 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据与文献数据^[4,5]对照, 确定该化合物为蒎立醇。

化合物 VI: 淡黄色黏稠状液体; 分子式为 $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_{16}$ 。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}(\text{cm}^{-1})$: 3 174, 2 985, 2 930, 1 400, 1 073, 1 036, 888, 627; $^1\text{H-NMR}(\text{CD}_3\text{OD}) \delta$: 5.77 (1H, d, $J=4.0$ Hz), 5.70 (1H, d, $J=4.1$ Hz), 5.60

收稿日期: 2006-12-29

基金项目: 云南省省院省校科技合作项目(2000YK-01)

作者简介: 毛绍春(1963-), 男, 云南玉溪人, 副教授, 学士, 主要从事烟草化学教学及天然产物的开发研究。

E-mail: yxnzymc@yahoo.com.cn

(1H, d, $J=4.4$ Hz), 5.26 (1H, s), 4.61 (2H, s), 4.32 (3H, d, $J=7.75$ Hz), 3.96 (3H, m), 3.90 (3H, m), 3.82 (1H, m), 3.70 (4H, m), 3.64 (2H, m), 3.54 (3H, m), 3.44 (2H, m), 3.36 (3H, m), 3.22 (4H, t, $J=8.50$ Hz), 1.26 (6H, t, $J=7.5$ Hz); $^{13}\text{C-NMR}$ (TMS/ CDCl_3) δ : 103.5, 99.5, 99.3, 77.5, 77.3, 74.6, 74.5, 73.1, 72.9, 71.8, 71.0, 70.5, 69.7, 65.9, 64.1, 62.2, 15.2, 15.1。纸色谱显色反应: 5%的 H_2SO_4 水解, 用各种糖与水解的单糖参照对比展开, 展开剂(醋酸乙酯-水-甲醇-醋酸 4:1:1:1), 苯胺-邻苯二甲酸显色, 表明糖含有葡萄糖和鼠李糖。经与文献对照^[6,8], 确定该化合物为 α -D-吡喃葡萄糖基- β -L-吡喃鼠李糖苷。

化合物 VII: 无色固体, mp 31~33 °C。IR $_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 135, 2 919, 2 850, 1 456, 1 400, 723; $^1\text{H-NMR}$ (TMS/ CDCl_3) δ : 4.11 (4H, q, $J=6.8$ Hz), 2.16 (1H, s), 2.03 (6H, s), 1.25 (28H, m, CH_2 长链偶合), 0.86 (3H, t); $^{13}\text{C-NMR}$ (TMS/ CDCl_3) δ : 172.0 (s), 61.2 (t), 32.8 (t), 30.6 (t), 30.2 (t), 23.6 (t), 21.9 (q), 15.1 (q), 15.0 (q)。EI-MS (+TOF) m/z : 357 [M^+], 301 [$\text{M}+1-\text{C}_4\text{H}_9$]⁺, 256 [$\text{M}-\text{C}_4\text{H}_9-\text{CO}_2$]⁺, 174 [$\text{M}-\text{C}_{13}\text{H}_{27}$]⁺, 146 [$\text{M}-\text{C}_{13}\text{H}_{27}-\text{CO}$]⁺。通过对质谱等数据的分析, 结合文献报道^[7], 确定该化合物为 2-(2-甲基丁酰氧基)乙基-十四酸酯。

化合物 VIII: 白色晶体(甲醇), 分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_7$, mp 183~185 °C。IR $_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 393, 3 130, 1 784, 1 711, 1 533, 1 282, 1 187, 1 128, 1 104, 1 072, 1 052, 962, 859; $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$): 4.70 (3H, q, brs), 3.61 (6H, CH, s), 3.48 (1H, d, $J=9.25$ Hz), 3.43 (3H, CH, s), 3.00 (3H, t, $J=9.3$ Hz); $^{13}\text{C-NMR}$ (TMS/ CDCl_3) δ : 158.6, 85.1, 73.9, 73.6, 73.2, 72.2, 71.4, 63.6, 61.0, 39.8; EI-MS m/z : 249 [$\text{M}+\text{H}$]⁺, 217 [$\text{M}-\text{OCO}_3$], 203, 165, 153, 101。经查阅文献报道^[3~5], 确定该化合物为 2-甲基-3-羰基-二恶烷并-1-甲氧基-4,5,6-三羟基环己烷。

化合物 IX: 白色固体(甲醇), mp 31~33 °C。IR $_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 135, 2 919, 2 850, 1 456, 1 400, 723; $^1\text{H-NMR}$ (TMS/ CDCl_3) δ : 4.11 (4H, q, $J=6.8$ Hz), 2.16 (1H, s), 2.03 (6H, s), 1.25 (28H, m, CH_2 长链偶合), 0.86 (3H, t); $^{13}\text{C-NMR}$ (TMS/ CDCl_3) δ : 172.0 (s), 61.2 (t), 32.8 (t), 30.6 (t), 30.2 (t), 23.6 (t), 21.9 (q), 15.1 (q), 15.0 (q)。EI-MS (+FOT) m/z : 357 [M^+], 301 [$\text{M}+1-\text{C}_4\text{H}_9$]⁺, 256 [$\text{M}-$

$\text{C}_4\text{H}_9-\text{CO}_2$]⁺, 174 [$\text{M}-\text{C}_{13}\text{H}_{27}$]⁺, 146 [$\text{M}-\text{C}_{13}\text{H}_{27}-\text{CO}$]⁺。与文献数据^[9]比较, 确定该化合物为 β -谷甾醇-3- β -D-葡萄糖吡喃糖苷。

化合物 X: 白色固体(甲醇), mp 123~125 °C。IR $_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 323, 3 203, 3 114, 2 921, 2 851, 1 624, 1 542, 1 463, 1 400, 1 066, 1 023, 964, 729; $^1\text{H-NMR}$ (TMS/ CDCl_3) δ : 7.34 (1H, brs), 5.44 (1H, brs), 4.15 (1H, brs), 3.92 (1H, brs), 3.84 (1H, brs), 3.65 (1H, s), 2.02 (2H, d), 1.63 (2H, m), 1.30 (m, CH_2 长链偶合), 1.15 (1H, s), 0.91 (3H, t); $^{13}\text{C-NMR}$ (TMS/ CDCl_3) δ : 14.9 (q), 23.5 (t), 26.1 (t), 26.7 (t), 30.2 (t), 30.6 (t), 32.1 (q), 32.8 (t), 33.3 (t), 33.5 (d), 35.7 (t), 53.4 (d), 62.8 (t), 73.4 (d), 73.7 (d), 76.9 (d), 130.4 (d), 132.0 (d), 177.1 (s)。EI-MS (+TOF) m/z : 413 [M^+] (100), 362 [$\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3\text{OH}$]⁺, 330 [$\text{M}-\text{CO}-\text{C}_4\text{H}_7$]⁺, 318 [$\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3\text{OH}-\text{CO}_2$]⁺, 274 [$\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3\text{OH}-2\text{CO}_2$]⁺, 301 [$\text{M}-\text{C}_8\text{H}_{16}$]⁺, 279 [$\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3\text{OH}-\text{CO}_2-\text{C}_3\text{H}_3$]⁺, 249 [$\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3\text{OH}-\text{CO}_2-\text{C}_5\text{H}_9$]⁺。与文献数据^[10]对比, 确定该化合物为辛基-4,5-二羟基-3-(壬-4-烯酰氧基)吡咯烷-2-羧酸酯。

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] Tian M J, Guo M B, Zhang J C, et al. Volatile compounds from *Desmodium microphyllum* [J]. *Yunnan Chem Technol* (云南化工), 2005, 32(5): 89-90.
- [3] Yu D Q. *Handbook of Analysis Chemistry: Analysis of NMR Spectrum* (分析化学手册, 第七分册) [M]. Fascicle 7. Beijing: Chemical Industry Press, 1999.
- [4] Rong G B. *Spectrum Data Sheet—Organic Compound Structure Analysis* (有机化合物结构解析) [M]. Shanghai: East China University of Science and Technology Publishing Press, 2002.
- [5] Cheng Y G, Yu L L. *Studies on the Chemical Constituents of Aristolochia contorta* [J]. *J Yunnan Norm Univ* (云南师范大学学报), 2005, 25(3): 41-44.
- [6] Zhang W J. *Biochemistry Research Technology of Complex Polysaccharide* (复合多糖生化研究技术) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1987.
- [7] Ning Y C. *Organic Compound Structural Identification and Organic Spectroscopy* (有机化合物结构鉴定与有机波谱学) [M]. Shanghai: East China University of Science and Technology Publishing Press, 2002.
- [8] Gong Y H. *Chemical Shift from ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance of Natural Organic Compound* (天然有机化合物的 ^{13}C 核磁共振化学位移) [M]. Kunming: Yunnan Science and Technology Press, 1986.

- [9] Cheng Y G, Zhan E Y, Chen H F. Saponins with low sugar chain from the leaves of *Panax notoginseng* (Burk) F. [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2002, 25(3): 176-178.
- [10] Jin K, Zhang R, Peng Q J, et al. Spectrum characterization

of structure and composition for typical surfactants: Spectra of sorbitan carboxylic esters and polyoxyethylene sorbitan carboxylic esters [J]. *J Instrum Anal* (分析测试学报), 2002, 21(1): 31-36.

超临界 CO₂ 萃取石菖蒲精油的化学成分研究

金建忠^{1,2}, 哈成勇²

(1. 浙江树人大学生物与环境工程学院, 浙江 杭州 310015; 2. 中国科学院广州化学研究所, 广东 广州 510650)

石菖蒲为天南星科植物石菖蒲 *Acorus tatarinowii* Schott 的干燥根茎。其味辛, 性微, 入心、肝、脾经, 具有化湿和胃、开窍豁痰、醒神益智之功效^[1]。临床上被广泛应用于癫痫、痰厥、热病神昏、健忘、中风失语、耳鸣、老年性痴呆等病症, 提示石菖蒲既有定志宁神之功, 又有通关复苏、益智健脑之效^[2]。石菖蒲的药效主要体现在对中枢神经系统(CNS)作用方面。

国内关于水蒸气蒸馏法提取石菖蒲挥发油的化学成分分析^[3,4]及石菖蒲水煎液化学成分分析^[5]有多篇文献报道, 而采用超临界萃取技术(SFE)萃取石菖蒲精油的成分分析报道较少。本实验采用超临界 CO₂ 流体萃取技术从石菖蒲中萃取分离精油, 并用 GC-MS 测定精油的化学成分。

1 材料与仪器

石菖蒲产地为广州。经广州中医药大学姜红宇博士鉴定为正品石菖蒲, 自然阴干, 粉碎(过 40 目筛)。

自制 0.3 L 萃取釜的超临界萃取装置, 岛津 GCMS-QP2010 气质联用仪。

2 实验方法

2.1 超临界 CO₂ 流体萃取法: SFE 流程: CO₂ 钢瓶→冷冻系统→高压泵→萃取釜→解析釜 I→解析釜 II→冷冻系统(循环)。将 80 g 粉碎后的石菖蒲投入自制的 0.3 L 超临界萃取釜中, 打开 CO₂ 气瓶送气, 当温度、压力达到预定值时, 开始循环萃取, 调节流量为 10 L/h, 恒温恒压萃取 2 h 出料。油收率为 4.5%。

2.2 GC/MS 分析条件: 气相色谱条件: DB-5 弹性石英毛细管柱 30 m×250 μm×0.25 μm, 初始柱温 50 ℃, 在 50 ℃保持 1 min, 再以 5 ℃/min 升温至

240 ℃, 并在 240 ℃保持 15 min, 进样口温度 250 ℃, 载气为 99.999% 的氮气, 柱前压 68.1 kPa, 载气流量 1.20 mL/min, 分流比 1:50。

质谱条件: EI 离子源, 电子能量 70 eV, 离子源温度 200 ℃, 接口温度 230 ℃, 扫描范围 29~400 amu, 电子倍增电压 2 400 V。

3 结果与讨论

3.1 超临界流体 CO₂ 萃取条件的选择: 为了尽量减少对非挥发性组分的共萃取^[6], 对萃取条件进行了优化; 通过实验考察了萃取压力 8~14 MPa 和萃取温度 35~55 ℃, 发现在萃取压力 10 MPa 和萃取温度 45 ℃时挥发油品质较好。

优化了分离条件, 发现最佳分离压力为 4.4 MPa, 分离温度为 40 ℃。通过超临界流体 CO₂ 萃取很好地收集到高品质的挥发油, 油收率达 4.5%, 远高于水蒸气蒸馏法。

3.2 石菖蒲精油中各组分相对量的测定: 用毛细管气相色谱法对石菖蒲精油进行分析, 采用气相色谱数据处理系统, 以面积归一化法测得精油各组分相对质量分数(见表 1)。

3.3 石菖蒲精油中化学成分的确认: 按上述的 GC/MS 条件对石菖蒲的超临界 CO₂ 萃取精油进行分析, 得其总离子流色谱图。对总离子流图中的各峰经质谱扫描后所得各成分质谱图, 经 NIST、NBS 谱库检索和人工解谱^[7], 并尽可能用对照品的保留时间加以鉴定, 分析确定各化学成分(见表 1)。

3.4 石菖蒲精油的化学成分分析: 石菖蒲的超临界 CO₂ 萃取产物经 GC-MS 分析共鉴定出了 37 种成分, 占精油总成分的 85.31%。其主要成分 β-细辛醚在所提挥发油中的质量分数为 40.46%, 其次为马

收稿日期: 2006-10-10

作者简介: 金建忠(1962—), 男, 江苏省吴江市人, 浙江树人大学应用化学教研室主任, 副教授, 长期从事有机化学及分析化学的教学工作, 研究方向为天然产物化学, 现为中国科学院广州化学研究所高级访问学者。

Tel: (0571)88297172 Fax: (0571)88297097 E-mail: hzjz@163.com