

## 假地蓝化学成分研究

李林珍<sup>1,2</sup>, 杨小生<sup>1\*</sup>, 朱海燕<sup>1</sup>, 石京山<sup>2</sup>

(1. 贵州省、中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵州 贵阳 550002; 2. 遵义医学院, 贵州 遵义 563003)

**摘要:** 目的 研究假地蓝 *Crotalaria ferruginea* 全草的化学成分。方法 采用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱进行成分分离纯化, UV、NMR、MS 等方法进行结构鉴定。结果 从假地蓝全草的醋酸乙酯萃取部分中分离并鉴定了 12 个化合物, 分别为  $\beta$ -谷甾醇(I)、高山金链花素(II)、染料木素(III)、正四十二烷酸(IV)、正三十二烷酸(V)、正三十一烷醇(VI)、(2S, 3S, 4R, 12E, 2R)-2-(2'-羟基-二十二碳酰胺基)二十碳-1, 3, 4-三羟基-12-烯(VII)、胡萝卜苷(VIII)、白桦脂酸(IX)、3', 5'-二羟基-4'-甲氧基-2'', 2''-二甲基吡喃-(5'', 6'', 6, 7)-isoflavone(X)、12-oleanene-3 $\beta$ , 22 $\beta$ , 24-triol(soyasapogenol B, XI)、laburnetin[4', 5, 7-trihydroxy-6-(2-hydroxy-3-methyl-3-butenyl) isoflavone, XII]。结论 所有化合物均为首次从该植物中分离得到。

**关键词:** 假地蓝; 异黄酮; 神经酰胺; soyasapogenol B

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)02-0173-03

### Chemical constituents of *Crotalaria ferruginea*

LIL Lin-zhen<sup>1,2</sup>, YANG Xiao-sheng<sup>1</sup>, ZHU Hai-yan<sup>1</sup>, SHI Jing-shan<sup>2</sup>

(1. Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China; 2. Zunyi Medical College, Zunyi 563003, China)

**Abstract:** **Objective** To study the chemical constituents of *Crotalaria ferruginea*. **Methods** The compounds were isolated by silica gel and Sephadex LH-20 chromatography and their structures were identified by the spectra evidences of UV, NMR, and MS. **Results** Twelve compounds were isolated from ethyl acetate extract and their structures were identified as  $\beta$ -sitosterol (I), alpinum isoflavone (II), genistein (III), dotetracontanoic acid (IV), dotriacontanoic acid (V), 1-hentriacontanol (VI), (2S, 3S, 4R, 12E, 2R)-2-(2'-hydroxyl-docosanoylamino) eicosane-1, 3, 4-trihydroxy-12-ene (VII), daucosterol (VIII), betulinic acid (IX), 3', 5'-dihydroxy-4'-methoxy-2'', 2''-dimethylpyrano-(5'', 6'', 6, 7)-isoflavone (X), 12-oleanene-3 $\beta$ , 22 $\beta$ , 24-triol (soyasapogenol B, XI) and laburnetin [4', 5, 7-trihydroxy-6-(2-hydroxy-3-methyl-3-butenyl) isoflavone, XII]. **Conclusion** All these compounds are reported in this plant for the first time.

**Key words:** *Crotalaria ferruginea* Grah.; isoflavone; ceramide; soyasapogenol B

假地蓝 *Crotalaria ferruginea* Grah. 为豆科猪屎豆属植物, 灌木状多年生草本, 分布于江苏、安徽、浙江、江西、福建、台湾、湖北、湖南、广东、广西、四川、贵州、云南、西藏等地。因种子“摇之有声, 如响铃”, 又名响铃草。味苦、微酸, 性平, 归肺、肝、肾经。具有滋肾养肝, 止咳平喘, 利湿解毒之功效。主治耳鸣、耳聋、遗精、月经过多、哮喘、肾炎、扁桃体炎、腮腺炎、疔疮肿毒等症<sup>[1]</sup>。猪屎豆属植物主要化学成分为吡咯里西啶生物碱<sup>[2]</sup>和异黄酮<sup>[3]</sup>, 具有抗肿瘤<sup>[4]</sup>、

抗炎<sup>[5]</sup>等多种生物活性。吡咯里西啶生物碱是该属植物主要活性成分, 但许多实验已经证明该类生物碱是目前已知的最重要的植物性肝毒成分, 能够诱发多种肿瘤<sup>[6]</sup>。迄今, 假地蓝植物化学成分的系統研究尚未见报道。在贵州少数民族地区, 假地蓝被广泛用作治疗耳鸣和滋补强壮的草药。在预试验中, 没有发现该属植物的毒性成分吡咯里西啶生物碱, 并且经初步的抗炎试验(小鼠耳廓肿胀实验, 氢化可的松为阳性对照), 75% 乙醇提取物有抗炎活性。因此, 该

收稿日期: 2007-05-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(30460150); 国家重大基础研究前期研究专项(“973”前期)(2004CCA03800)

作者简介: 李林珍(1977-), 男, 湖南安化人, 执业药师, 在读硕士研究生, 研究方向为天然产物化学与药理学。

E-mail: lilinzheng@163.com

\* 通讯作者 杨小生 Tel: (0851) 3805459 E-mail: gzcnp@yahoo.com.cn

植物的主要化学成分和活性成分引起了笔者关注。笔者从假地蓝全草乙醇提取物的醋酸乙酯萃取部分分离得到12个化合物,分别为 $\beta$ -谷甾醇( $\beta$ -sitosterol, I)、高山金链花素(alpinum isoflavone, II)、染料木素(genistein, III)、正四十二烷酸(dotetracanoic acid, IV)、正三十二烷酸(dotriconcanoic acid, lacceric acid, V)、正三十一烷醇(VI)、(2S, 3S, 4R, 12E, 2R)-2-(2'-羟基-二十二碳酰胺基)-二十碳-1, 3, 4-三羟基-12-烯(VII)、胡萝卜苷(daucosterol, VIII)、白桦脂酸(betulinic acid, IX)、3', 5'-二hydroxy-4'-methoxy-2'', 2''-dimethylpyrano-(5'', 6'', 6, 7)-isoflavone(X)、12-oleanene-3 $\beta$ , 22 $\beta$ , 24-triol(soyasapogenol B, XI)、laburnetin[4', 5, 7-trihydroxy-6-(2-hydroxy-3-methyl-3-butenyl)] isoflavone, XII]。所有化合物均为首次从该植物中分离得到。经查阅文献, $\beta$ -谷甾醇和白桦脂酸有一定的抗炎活性<sup>[7,8]</sup>,该部分成分为该植物的抗炎活性成分之一。大极性成分的研究工作正在进行中。

### 1 仪器与材料

X-4 数字显微熔点仪(北京泰克仪器有限公司制造);美国Varian NOVA-400型核磁共振波谱仪(TMS为内标);美国HP公司MS973型质谱仪;德国Brucker公司傅里叶变换红外光谱仪(Brucker Vector 22);Sephadex LH-20为Pharmacia产品;薄层色谱、柱色谱用硅胶均为青岛海洋化工集团产品。所用溶剂如石油醚、氯仿、醋酸乙酯、丙酮、甲醇、乙醇、正丁醇等均为工业试剂经重蒸处理,其余均为分析纯试剂。

假地蓝样品采自贵州兴义,经贵阳中医学院陈德媛教授鉴定为豆科植物假地蓝*Crotalaria ferruginea* Grah.,标本保存在贵州省、中国科学院天然产物化学重点实验室八号实验室。

### 2 提取与分离

假地蓝全草8.7 kg用75%乙醇回流提取3次,合并提取液浓缩至无醇味,用适量水分散,用3倍量的醋酸乙酯萃取5次,得到醋酸乙酯萃取物115 g。将醋酸乙酯萃取物用硅胶柱色谱分离,石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱,所得洗脱物经反复硅胶柱色谱和Sephadex LH-20柱色谱,分别得到化合物I(572 mg)、II(112 mg)、III(53 mg)、IV(119 mg)、V(61 mg)、VI(8 mg)、VII(91 mg)、VIII(644 mg)、IX(42 mg)、X(17 mg)、XI(22 mg)、XII(12 mg)。

### 3 结构鉴定

化合物I: 无色针状结晶, mp 136~138。

Liebermann-Burchard 反应阳性, TLC与标准品对照一致,混合熔点不下降,故该化合物确定为 $\beta$ -谷甾醇。

化合物II: 黄色针状结晶, mp 209~211。EIMS ( $m/z$ ): 336 [ $M$ ]<sup>+</sup>, 321 (100), 203, 160, 118, <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>)  $\delta$  13.44 (1H, s, 5-OH), 8.18 (1H, s, H-2), 7.45 (2H, d,  $J$  = 8.4 Hz, H-2', 6'), 6.90 (2H, d,  $J$  = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.67 (1H, d,  $J$  = 10.0 Hz, H-4'), 6.36 (1H, s, H-8), 5.77 (1H, d,  $J$  = 10.0 Hz, H-3'), 1.46 (6H, s, 2'-Me<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>)  $\delta$  181.8 (C-4), 160.2 (C-7), 158.5 (C-5), 158.1 (C-9), 157.7 (C-4'), 154.4 (C-2), 131.1 (C-3'), 129.4 (C-2', 6'), 124.0 (C-1'), 122.8 (C-3), 115.9 (C-4'), 115.7 (C-3', 5'), 106.6 (C-6), 106.0 (C-10), 95.4 (C-8), 78.8 (C-2'), 28.4 (Me<sub>2</sub>-2')。化合物II的波谱数据与文献对照基本一致<sup>[9,10]</sup>,故鉴定该化合物为高山金链花素。

化合物III: 黄色针状结晶, mp 263~266。<sup>1</sup>H-NMR和<sup>13</sup>C-NMR波谱数据与文献对照基本一致<sup>[10~12]</sup>,故鉴定该化合物为染料木素。

化合物IV: 白色粉末, EIMS ( $m/z$ ): 620 [ $M$ ]<sup>+</sup>, 并出现396, 382, 368, 354, 340; 213, 199, 185, 171; 85, 71, 57(100), 43, 29, 15等递减14的碎片峰以及129, 185, 241, 297等相差56的含羧基碎片峰[(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOH]<sup>+</sup>。以上数据表明该化合物具有链状脂肪酸的一系列特征峰。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  2.35 (2H, brs, CH<sub>2</sub>COOH, H-2), 1.64 (2H, brs, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH, H-3), 0.89 (3H, brs, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>, H-42), 根据以上数据确定该化合物为正四十二烷酸。

化合物V: 白色粉末, mp 90~92。EIMS ( $m/z$ ): 480 [ $M$ ]<sup>+</sup>, 并出现452, 438, 424, 410, 396; 353, 339, 325, 311, 297, 283; 111, 97, 85, 71, 57(100), 43, 29等递减14的碎片峰以及129, 185, 241等相差56的含羧基碎片峰[(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOH]<sup>+</sup>, 具有链状脂肪酸的一系列特征峰。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  2.35 (2H, t,  $J$  = 7.6 Hz, CH<sub>2</sub>COOH, H-2), 1.63 (2H, t,  $J$  = 6.4 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH, H-3), 0.88 (3H, t,  $J$  = 6.0 Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>, H-32), 根据以上数据确定该化合物为正三十二烷酸。

化合物VI: 白色粉末, mp 45~47。EIMS ( $m/z$ ): 452 [ $M$ ]<sup>+</sup>, 406, 392, 97, 57(100)。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  3.62 (2H, t,  $J$  = 6.8 Hz, H-1), 1.56 (2H, m, H-2), 1.23 (56H, brs), 0.85 (3H, t,  $J$  = 6.4 Hz, H-31)。<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  63.1 (C-1), 32.8 (C-2),

14.1(C-31)。以上数据与文献对照基本一致<sup>[13]</sup>,故鉴定该化合物为正三十一烷醇。

化合物VII: 白色无定形粉末, mp 125~126。ESI-MS, <sup>1</sup>H-NMR和<sup>13</sup>C-NMR波谱数据与文献报道<sup>[14]</sup>的(2*S*, 3*S*, 4*R*, 12*E*, 2*R*)-2-(2'-羟基-二十二碳酰胺基)二十碳-1, 3, 4-三羟基-12-烯一致。

化合物VIII: 白色粉末, mp 286~288。Molish反应阳性, Liebermann-Burchard显阳性。TLC与标准品对照一致, 混合熔点不下降, 故该化合物确定为胡萝卜苷。

化合物IX: 白色针状结晶, mp 284~286。ESI-MS, <sup>1</sup>H-NMR和<sup>13</sup>C-NMR光谱数据与文献对照基本一致<sup>[15]</sup>, 故该化合物确定为白桦脂酸。

化合物X: 黄色针状结晶, mp 155~157。ESI-MS (*m/z*): 366([M]<sup>+</sup>), 351[M-15]<sup>+</sup>(100), 335, 207, 149, 69, 43。<sup>1</sup>H-NMR(CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>) δ 13.46(1H, s), 8.02(1H, s, H-2), 7.12(1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-6), 6.66(1H, d, *J* = 10.0 Hz, H-5), 6.55(1H, s, H-2), 6.48(1H, d, *J* = 10.0 Hz, H-4), 6.35(1H, s, H-8), 5.76(1H, d, *J* = 10.0 Hz, H-3), 3.73(3H, s, OCH<sub>3</sub>), 1.46(6H, s, 2 × CH<sub>3</sub>)。 <sup>13</sup>C-NMR(CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>) δ 181.7(C-4), 160.1(C-7), 160.1(C-5), 159.8(C-9), 158.1(C-2), 157.6(C-4'), 155.8(C-3), 133.1(C-3'), 129.4(C-1), 121.9(C-3), 115.8(C-6), 111.7(C-4'), 107.7(C-5'), 106.6(C-2), 106.0(C-6), 100.1(C-10), 95.4(C-8), 78.7(C-2'), 55.8(OCH<sub>3</sub>), 49.7(2CH<sub>3</sub>)。根据以上数据以及文献报道<sup>[16]</sup>, 确定化合物X为3', 5'-dihydroxy-4'-methoxy-2'', 2''-dimethylpyrano-(5'', 6'', 6', 7')-isoflavone。

化合物XI: 无色针状结晶, mp 254~256。根据ESI-MS, <sup>1</sup>H-NMR和<sup>13</sup>C-NMR光谱数据以及与文献对照<sup>[17~19]</sup>, 确定化合物XI为12-oleanene-3β, 22β, 24-triol(soyasapogenol B)。

化合物XII: 黄色粉末, ESI-MS (*m/z*): 354([M]<sup>+</sup>), 336, 283(100), 165, 123。<sup>1</sup>H-NMR(CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>) δ 13.52(1H, s, 5-OH), 8.56(1H, s, 4'-OH), 8.15(1H, s, H-2), 7.44(2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2', 6'), 6.89(2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3', 5'), 6.43(1H, s, H-8), 4.92(1H, brs, H-4'), 4.75(1H, brs, H-4'), 4.42(1H, d, *J* = 4.4 Hz, H-2'), 3.30(1H, m, H-1'), 3.06(1H, dd, *J* = 2.4, 2.8 Hz, H-1'), 1.82(3H, s, H-5')。 <sup>13</sup>C-NMR(CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>) δ 181.7(C-

4), 164.2(C-7), 161.1(C-5), 158.4(C-4), 157.3(C-9), 154.2(C-2), 148.1(C-3'), 131.2(C-2', 6'), 123.8(C-1'), 123.1(C-3), 115.9(C-3', 5'), 110.4(C-4'), 110.2(C-6), 105.8(C-10), 94.9(C-8), 76.4(C-2'), 29.2(C-1'), 18.3(C-5')。根据以上光谱数据, 并结合文献报道的数据<sup>[20]</sup>, 确定化合物XII为laburnetin[4', 5, 7-trihydroxy-6-(2-hydroxy-3-methyl-3-butenyl)isoflavone]。

致谢: NMR和MS由贵州省、中国科学院天然产物化学重点实验室代测, 解谱得到了贵州省、中国科学院天然产物化学重点实验室汪治博士的帮助。

#### 参考文献

- [1] 胡熙明, 张文康, 朱庆生. 中华本草(第四册) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
- [2] 赵显国, 王峰涛, 张勉. 肝毒吡咯里西啶生物碱与中草药 [J]. 中草药, 1998, 29(5): 341-346.
- [3] 尹朝玲. 异黄酮类化合物在植物界中的分布. 药理及分析方法研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2003, 14(3): 178-178.
- [4] Kupchan SM, Doskotch RW, Wanevenhoren PW. Tumor inhibitors 3 monocrotaline, the active principle of *Crotalaria spectabilis* [J]. *J Pharm Sci*, 1964, 53: 343-345.
- [5] 黄琪珍, 杨春屏, 杨秀英. 黄花地丁的部分药效学实验研究 [J]. 云南中医学院学报, 1999, 22(1): 19-21.
- [6] Schoental R, Head MA. Pathological changes in rats as a result of treatment with monocrotaline [J]. *Br J Cancer*, 1955, 9: 229-237.
- [7] 孙文基, 绳金房. 天然活性成分简明手册 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1998.
- [8] 陈蕙芳. 植物活性成分辞典 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2001.
- [9] Stewart M, Bartholomew B, Currie F, et al. Pyranisoflavones from *Rhinorea wewitschii* [J]. *Fitoterapia*, 2000, 71: 595-597.
- [10] 余冬蕾, 杨学东, 郭剑. 乔木刺桐化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2000, 25(6): 353-354.
- [11] 黄文哲, 段金殿, 李正亮. 怀槐的化学成分研究 [J]. 中国药科大学学报, 2000, 31(1): 8-10.
- [12] 张淑萍, 张尊听. 野葛花异黄酮化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(5): 595-597.
- [13] 张雷红, 殷志琦, 叶文才, 等. 海金沙草化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(19): 1522-1524.
- [14] 冯玲, 沈月毛. 滑桃树茎皮的化学成分 [J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(3): 294-297.
- [15] 任冬梅, 姜红祥, 季梅. 岩青兰化学成分的研究(II) [J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(22): 1695-1696.
- [16] Olivares EM, Lwande W, Monache FD, et al. A Pyranisoflavone from seeds of *Milletia thonningii* [J]. *Phytochemistry*, 1982, 21(7): 1763-1765.
- [17] Liu Y, Ma XX, Chen HB, et al. Chemical constituents of *Hedysarum gmelinii* [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2005, 14(2): 75-78.
- [18] 丁立生, 奚永泽, 张晓. 苦葛蔓中的新三萜成分 [J]. 药学报, 1999, 34(2): 125-127.
- [19] 苏亮, 楼凤昌, 赵守训. 虫草头孢菌丝体化学成分的研究 [J]. 药学进展, 2001, 25(1): 43-44.
- [20] Sato H, Tahara S, Ingham JL, et al. Isoflavones from pods of *Laburnum anagyroides* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 39(3): 674-676.