

表 2 化合物 II 和 III 的  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  数据  
Table 2  $^1\text{H-NMR}$  and  $^{13}\text{C-NMR}$  Spectral data  
of compounds II and III (in  $\text{CDCl}_3$ )

位置	化合物 II		化合物 III	
	$\delta_c$	$\delta_H$	$\delta_c$	$\delta_H$
2	161.2	-	160.9	-
3	112.5	6.27 (d, $J=9.7$ Hz)	113.7	6.36 (d, $J=9.7$ Hz)
4	139.5	8.17 (d, $J=9.7$ Hz)	139.9	8.07 (d, $J=9.7$ Hz)
4a	107.4	-	109.4	-
5	148.9	-	144.4	-
6	114.1	-	114.1	-
7	158.1	-	149.8	-
8	94.1	7.15 (t)	135.1	-
8a	152.6	-	143.2	-
2	144.8	7.61 (d, $J=2.1$ Hz)	145.4	7.65 (d, $J=2.1$ Hz)
3	104.9	6.97 (d, $J=2.1$ Hz)	104.3	7.08 (d, $J=2.1$ Hz)
1	69.7	4.93 (d)	-	-
2	119.1	5.55 (t)	-	-
3	139.5	-	-	-
4	25.7	1.72 (3H, s)	-	-
5	18.2	1.82 (3H, s)	-	-
5-OCH <sub>3</sub>	-	-	62.4	4.15 (3H, s)
8-OCH <sub>3</sub>	-	-	61.2	4.03 (3H, s)

定化合物 V 为  $\beta$  谷甾醇。

化合物 VI: 白色粉末 (氯仿-甲醇), mp 296~298。TLC 上 10%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  乙醇溶液显紫红色, Liebermann-Burchard 反应呈阳性, 与胡萝卜苷对照品共薄层, R<sub>f</sub> 值一致, 混合熔点不下降, 故鉴定化

合物 VI 为胡萝卜苷。

参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海人民出版社, 1977.
- [2] 李时珍. 本草纲目 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1992.
- [3] 任周新. 椒目提取物止咳平喘作用的实验研究 [J]. 河南中医药学报, 1999, 14(2): 20-21.
- [4] 李桂华, 付黎楼, 薛开发. 花椒种籽化学成分分析研究 [J]. 郑州粮食学院学报, 1994, 15(4): 17-19.
- [5] 庄世宏, 李孟楼. 花椒籽油的成分分析 [J]. 西北农业学报, 2002, 11(2): 43-45.
- [6] Moha R, Velasco N. Chemical composition of the seed oil of *Zanthoxylum alatum* Roxb [J]. *J Essent Oil Res*, 1998, 10(20): 127-130.
- [7] 马传国. 花椒籽皮油和仁油化学成分分析 [J]. 郑州工程学院学报, 2003, 23(1): 39-42.
- [8] 王文泽, 赵余庆, 李 锐. 椒目化学成分的研究 [J]. 沈阳药科大学学报, 2006, 23(2): 91-92.
- [9] Kuo Y H, Jou M H. Two carbamates obtucarbamate A and B from the bark of *Chanacyparis Obtusa* [J]. *Chem Expr*, 1990, 5(11): 909-912.
- [10] 孙 视, 刘 彬, 孔令义, 等. 福参化学成分的研究 [J]. 中国药科大学学报, 2002, 33(3): 181-183.
- [11] Harker S, Razdan T K, Waight E S. Steroids, chromone and coumarins from *Angelica officinalis* [J]. *Phytochemistry*, 1984, 23(2): 419-426.
- [12] 陶朝阳, 陈万生, 张卫东, 等. 刺异叶花椒香豆素类化学成分 [J]. 中国中药杂志, 2003, 28(4): 344-346.
- [13] Chang C T, Doong S L, Tsai I L, et al. Coumarins and anti-HBV constituents from *Zanthoxylum schinifolium* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 45(7): 1419-1422.

## 山豆根酚性成分的研究

丁佩兰, 陈道峰\*

(复旦大学药学院 生药学教研室, 上海 200032)

山豆根为豆科槐属植物越南槐 *Sophora tonkinensis* Gapnep. 的干燥根及根茎, 主产于广西、贵州、云南、广东、江西等地, 其味苦、性寒、有毒, 具有清热解毒、消肿利咽的功效, 主治火毒蕴结、咽喉肿痛、齿龈肿痛等症<sup>[1]</sup>。其主要活性成分为喹诺里西啶类 (quinolizidine) 生物碱, 具有抗肿瘤、抗心律失常和免疫抑制等多方面的药理作用<sup>[2]</sup>。近年来的研究还发现其所含的异戊烯基 (isoprenyl) 黄酮类成分具有很好的诱导肿瘤细胞凋亡的作用<sup>[3]</sup>。为了综合利用山豆根资源, 本实验对其酚性成分进行了研

究, 分离鉴定了 8 个化合物, 分别为番石榴酸乙酯 (piscidic acid monoethyl ester, I)、芒柄花素 (formononetin, II)、8-甲基雷杜辛 (8-methylretusin, III)、(-)-三叶豆紫檀苷 [(-)-trifolirhizin, IV]、麦芽酚 (maltol, V)、香草酸 (vanillic acid, VI)、对羟基苯甲酸 (*p*-hydroxybenzoic acid, VII) 和咖啡酸十二醇酯 (docosyl caffeate, VIII)。其中化合物 I 为首次由槐属植物中分离得到, 化合物 II~VII 为首次由山豆根中分离得到。

### 1 仪器与试剂

收稿日期: 2007-05-22

基金项目: “九五”国家重点科技攻关项目 (99-929-01-31); 国家自然科学基金项目 (30672597)

作者简介: 丁佩兰 (1977-), 女, 博士, 研究方向为中草药活性成分和质量标准的研究。

Tel: (021) 38954910-3310 E-mail: dingpeilan@yahoo.com.cn

\* 通讯作者 陈道峰 Tel: (021) 54237453 Fax: (021) 64170921 E-mail: dfchen@shmu.edu.cn

XT-4 显微熔点测定仪(北京电光科学仪器厂); Shimadzu UV-260 紫外-可见光谱仪(岛津公司, 日本), 甲醇为溶剂; JASCO-1020 数字旋光仪(JASCO 公司, 日本), 甲醇为溶剂; AVATAR 360FT-IR 傅里叶变换红外光谱仪(Thermo Nicolet 公司, 美国), KBr 压片法; Bruker DRX-300、400、500 核磁共振仪(Bruker 公司, 德国), TMS 为内标; HP 5989A 质谱仪(HP 公司, 美国); 柱色谱用硅胶(200~300 目, 青岛海洋化工厂); HSGF<sub>254</sub> 预制板和制备板(烟台市芝罘黄务硅胶开发实验厂); Diaion HP-20 非极性大孔吸附树脂(Mitsubishi 化成工业株式会社, 日本); 聚酰胺(60~90 目, 中国医药集团上海化学试剂公司); 所用试剂均为分析纯。山豆根药材于 2000 年 3 月购自上海华宇药业有限公司, 经陈道峰教授鉴定为豆科槐属植物越南槐 *S. tonkinensis* Gapnep. 的根和根茎。凭证标本(山豆根: SDG-SH-0003) 保存于复旦大学药学院生药学教研室。

## 2 提取和分离

山豆根粗粉 9 kg, 经 1% 硫酸(15 L × 4) 室温冷浸至酸水液不呈生物碱反应, 合并酸水提取液, 经 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 碱化至 pH 10~11 后以氯仿等体积多次萃取完全, 减压回收氯仿得总碱浸膏 120 g (提取率 1.33%), 总碱浸膏 120 g 干法上样进行硅胶柱色谱, 以石油醚-醋酸乙酯-乙醇-氨水(80:38:10:1.8、40:30:40:3.4、30:30:60:8) 梯度洗脱得化合物 IV (10 mg)。提过生物碱后的药渣晒干, 室温下以 95% 乙醇冷浸过夜(12 L × 6), 滤液经减压回收溶剂得浸膏 1500 g。将浸膏悬浮于水中, 以乙醚等体积多次萃取完全, 常压回收乙醚得浸膏 310 g (提取率 2.60%), 取 220 g 干法上样进行硅胶柱色谱, 以石油醚-醋酸乙酯(100:1,50:1,100:3,20:1,10:1,5:1,2:1,1:1) 和醋酸乙酯梯度洗脱, 得 A~I 流份。流份 E 以石油醚-氯仿-丙酮(50:50:1) 进行硅胶柱色谱得化合物 VIII (50 mg)。流份 F 以石油醚-醋酸乙酯(10:1) 进行硅胶柱色谱得流份 F-1 和 F-2; 流份 F-1 经聚酰胺柱分离, 以甲醇水溶液梯度洗脱, 20% 甲醇洗脱部分再经硅胶柱色谱, 以石油醚-氯仿-丙酮(5:5:1) 洗脱得化合物 V (150 mg), 40% 甲醇洗脱部分再经两次硅胶柱色谱, 分别以石油醚-氯仿-丙酮(5:5:2) 和氯仿-甲醇(20:1) 洗脱得化合物 VI (34 mg) 和 VII (34 mg); 流份 F-2 以石油醚-氯仿-丙酮(50:50:3) 进行硅胶柱色谱得化合物 II (100 mg), 母液经大孔树脂 Diaion HP-20 柱分离, 以乙醇水溶液梯度洗脱, 80% 乙醇洗脱部分以氯仿-甲醇-甲

酸(20:2:1) 为展开剂进行制备薄层分离, 得化合物 III (10 mg)。流份 H 经大孔树脂 Diaion HP-20 柱分离, 以乙醇水溶液梯度洗脱, 20% 乙醇洗脱部分得化合物 I (50 mg)。

## 3 结构鉴定

化合物 I: 白色细针晶(丙酮-石油醚), mp 200~202 °C,  $[\alpha]_D^{25} + 46.9$  (c 0.20, MeOH)。红外光谱显示羟基(3531、3427 和 3331  $\text{cm}^{-1}$ )、羰基(1726  $\text{cm}^{-1}$ ) 和苯环(1618、1598、1515 和 1450  $\text{cm}^{-1}$ ) 的特征吸收峰。<sup>1</sup>H-NMR 中存在对羟苯基的芳香质子 A<sub>B</sub>2 信号 [ $\delta$  7.08 (2H, d,  $J = 8.5$  Hz) 和 6.69 (2H, d,  $J = 8.5$  Hz)] 和亚甲基 AB<sub>q</sub> 信号 [ $\delta$  3.20 和 2.99 (各 1H, AB<sub>q</sub>,  $J = 13.9$  Hz)], EIMS 也显示该基团的特征碎片离子  $m/z$  107。<sup>1</sup>H-NMR 中还存在一个与氧共碳的孤立次甲基质子  $\delta$  4.50 (1H, s) 和一组乙氧基质子信号 [ $\delta$  4.15 (2H, m) 和 1.19 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz)]。<sup>13</sup>C-NMR 中存在两个较高场的羰基碳信号( $\delta$  174.7 和 172.4)、对羟苯基的碳信号( $\delta$  157.5、132.7、127.9、115.9 和 41.6)、氧乙基碳信号( $\delta$  62.2 和 14.6) 以及两个与氧相连的季碳( $\delta$  81.3) 和叔碳( $\delta$  76.4) 信号(结合 DEPT 谱)。以上信号与文献报道<sup>[4]</sup> 的番石榴酸类衍生物相似, 除了多出一组氧乙基以外, 其余信号与番石榴酸信号基本一致, 所以推测化合物 I 为番石榴酸的乙酯衍生物。ESI-MS 给出  $[M - H]^+$  峰为  $m/z$  283, 其相对分子质量较番石榴酸多出 28 (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>) 个质量单位, 支持以上推断。HMBC 试验中乙氧基的亚甲基质子  $\delta$  4.15 和苯基的亚甲基质子  $\delta$  3.20、2.99 分别与  $\delta$  172.4 (C-1) 和  $\delta$  174.7 (C-5) 的羰基碳相关(图 1), 说明番石榴酸的 1-COOH 被乙酯化。根据 HMQC 和 HMBC 试验对所有信号进行了归属。该化合物的物理性状与文献报道<sup>[5]</sup> 的番石榴酸乙酯的物理性状一致, 因此确定化合物 I 为番石榴酸乙酯。其波谱数据如下: UV  $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$  (log  $\epsilon$ ) nm: 277 (3.08), 225 (3.82); IR  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3531, 3427, 3331, 2941, 1726, 1618, 1598, 1515, 1450, 1289, 1227, 1177, 1113, 1084; <sup>1</sup>H-NMR (Acetone-d<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$  8.06 (1H, br s, OH-4), 7.08 (2H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-2, 6), 6.69 (2H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-3, 5), 4.50 (1H, s, H-2), 4.15 (2H, m, H<sub>2</sub>-1), 3.94 (1H, br s, OH), 3.20, 2.99 (各 1H, AB<sub>q</sub>,  $J = 13.9$  Hz, H<sub>2</sub>-4), 1.19 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz, Me-2); <sup>13</sup>C-NMR (Acetone-d<sub>6</sub>, 100 MHz)  $\delta$  174.7 (C-5), 172.4 (C-1), 157.5 (C-4), 132.7 (C-2, 6), 127.9

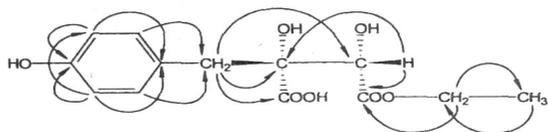


图 1 化合物 I 的 HMBC 主要相关示意图

Fig. 1 Selected HMBC correlations of compound I

(C-1), 115.9 (C-3, 5), 81.3 (C-3), 76.4 (C-2), 62.2 (C-1), 41.6 (C-4), 14.6 (C-2); EIMS  $m/z$ : 266 (1), 193 (4), 134 (3), 108 (10), 107 (100), 105 (3), 94 (3), 78 (4), 77 (15), 76 (4), 53 (3), 52 (3), 51 (4), 45 (4).

化合物 II: 白色细针晶(丙酮-甲醇), mp 258~259。UV、 $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  数据经与文献对照<sup>[6]</sup>, 确定化合物 II 为芒柄花素。

化合物 III: 白色细针晶(丙酮-石油醚), mp 220~221。UV、 $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  数据经与文献对照<sup>[7]</sup>, 确定化合物 III 为 8-甲雷杜辛。

化合物 IV: 白色针晶(甲醇), mp 202~204,  $[\alpha]_{\text{D}}^{29}$  -195.0 (c 0.10, MeOH)。UV  $\lambda_{\text{max}}^{\text{OH}}$  (log  $\epsilon$ ) nm: 309 (3.90), 284 (3.68), 208 (4.51);  $^1\text{H-NMR}$  (Acetone- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  7.40 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-1), 6.92 (1H, s, H-7), 6.79 (1H, dd,  $J = 8.5, 2.5$  Hz, H-2), 6.61 (1H, d,  $J = 2.5$  Hz, H-4), 6.41 (1H, s, H-10), 5.94, 5.91 (各 1H, ABq,  $J = 1.0$  Hz, -OCH<sub>2</sub>O-), 5.55 (1H, d,  $J = 7.0$  Hz, H-11a), 4.96 (1H, d,  $J = 7.7$  Hz, H-1), 4.32 (1H, dd,  $J = 10.8, 4.5$  Hz, H-6eq), 3.88 (1H, dd,  $J = 11.9, 2.5$  Hz, H-6), 3.62~3.75 (3H, m), 3.51~3.57 (2H, m), 3.43~3.48 (2H, m);  $^{13}\text{C-NMR}$  (Acetone- $d_6$ , 75 MHz)  $\delta$  160.0 (C-3), 157.6 (C-4a), 155.3 (C-10a), 149.0 (C-9), 142.6 (C-8), 132.8 (C-1), 119.4 (C-6b), 115.5 (C-11b), 111.5 (C-2), 105.9 (C-7), 105.4 (C-4), 102.2 (-OCH<sub>2</sub>O-), 101.9 (C-1), 94.0 (C-10), 79.2 (C-11a), 78.0 (C-5), 77.8 (C-3), 74.7 (C-2), 71.4 (C-4), 67.1 (C-6), 62.7 (C-6), 41.2 (C-6a); EIMS  $m/z$ : 446 ( $[\text{M}]^+$ , 2), 285 (19), 284 (100), 267 (12), 162 (15), 69 (12), 53 (13), 43 (13); ESIMS  $m/z$ : 469.1 ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ )。以上数据与文献报道的(-)-三叶豆紫檀苷数据一致<sup>[8]</sup>。

化合物 V: 白色细小针晶(丙酮-石油醚), mp 159~160, 加热至 93 可以升华, 微量有水果香味, 中量为焦糖香味。UV、 $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  数据与文献报道<sup>[9]</sup>的麦芽酚数据一致。

化合物 VI: 白色细针晶(丙酮-石油醚), mp 177~179。UV、 $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  数据与文献报道<sup>[10]</sup>的香草酸数据一致。

化合物 VII: 无定形粉末。UV、 $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  数据与文献报道<sup>[11]</sup>的对羟基苯甲酸数据一致。

化合物 VIII: 淡黄色无定形粉末。UV、 $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  数据与文献报道<sup>[12]</sup>的咖啡酸十二醇酯数据一致。

#### 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2005.
- [2] 丁佩兰, 陈道峰. 中药山豆根及其制剂的药理作用、临床应用与不良反应 [J]. 中国临床药学杂志, 2003, 12(5): 315-318.
- [3] Kajimoto S, Takanashi N, Kaimoto T, et al. Sophoranone, extracted from a traditional Chinese medicine Shandougen, induces apoptosis in human leukemia U937 cells via formation of reactive oxygen species and opening of mitochondrial permeability transition pores [J]. *Int J Cancer*, 2002, 99(6): 879-890.
- [4] Takahira M, Kusano A, Shibano M. Three new fukiic acid esters, cimicifugic acids A, B, and C, from *Cimicifuga simplex* Womsk [J]. *Chem Pharm Bull*, 1988, 46(2): 362-365.
- [5] Nordal A, Gether J, Haustveit V. The non-volatile acids of succulent plants exhibiting a marked diurnal oscillation in their acid content. II. Determination of piscic acid as one of the predominant acids in *Opuntia ficus-indica* L. [J]. *Acta Chem Scand*, 1966, 20(5): 1431-1432.
- [6] 吴军, 屠鹏飞, 赵玉英. 补阳还五汤中异黄酮和紫檀烷类化合物的分离和结构鉴定 [J]. 中草药, 2001, 32(7): 583-585.
- [7] Stevens L J K, Manners G. Isoflavones of the heartwood of *Dalbergia retusa* [J]. *Phytochemistry*, 1972, 11: 2535-2540.
- [8] Yagi A, Fukunaga M, Okuzako N, et al. Antifungal substances from *Sophora flavescens* [J]. *Shoyakugaku Zasshi*, 1989, 43(4): 343-347.
- [9] 孙朋悦, 徐颖, 文晔, 等. 朝鲜淫羊藿的化学成分 II [J]. 中国药物化学杂志, 1998, 8(4): 281-284.
- [10] 李波, 郑传痴, 林中文, 等. 齿苞筋骨草的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2000, 12(3): 45-47.
- [11] Dombrowicz E, Swiatek L, Guryń R, et al. Phenolic acids in herb *Melilotus officinalis* [J]. *Pharmazie*, 1991, 4: 156-157.
- [12] Gibbons S, Mathew K T, Gray A I. A caffeic acid ester from *Haloecium strobilaceum* [J]. *Phytochemistry*, 1999, 51: 465-467.