

6.48(1H, d,  $J=16$  Hz, H-1'), 6.72(2H, s, H-3, 5);  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 133.81 (C-1), 152.62 (C-2, 6), 104.39 (C-3, 5), 132.53 (C-4), 130.07 (C-1'), 128.36 (C-2'), 60.82 (C-3'), 56.27 ( $2 \times \text{OCH}_3$ ), 102.51 (glc-C-1), 74.10 (glc-C-2), 76.46 (glc-C-3), 69.86 (glc-C-4), 77.10 (glc-C-5), 61.37 (glc-C-6).  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  光谱数据与文献报道一致<sup>[14]</sup>, 故鉴定化合物 X 为紫丁香苷。

化合物 X; 黄色粉末, ESI-MS ( $m/z$ ): 557 [ $\text{M} + \text{Na}$ ]<sup>+</sup>,  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 2.89 ~ 3.88(12H, m, glc-H-2'', 2''', 3'', 3''', 4'', 4''', 5'', 5''', 6'', 6'''), 3.76(6H, s,  $2 \times \text{OCH}_3$ ), 4.08(3H, m, H-3', glc-H-1''), 4.87(1H, d,  $J=7.2$  Hz, glc-H-1''), 6.29(1H, m, H-2'), 6.44(1H, d,  $J=15.6$  Hz, H-1'), 6.69(2H, s, H-3, 5).  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 133.92 (C-1), 152.79 (C-2, 6), 104.59 (C-3, 5), 132.86 (C-4), 130.20 (C-1'), 128.68 (C-2'), 68.15 (C-3'), 56.50 ( $2 \times \text{OCH}_3$ ), 102.64, 102.95 (glc-C-1'', 1'''), 73.45, 74.01 (glc-C-2'', 2'''), 76.17, 76.24, 76.44, 76.60 (glc-C-3'', 3''', 5'', 5'''), 69.67, 69.95 (glc-C-4'', 4'''), 60.97, 61.42 (glc-C-6'', 6''').  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  光谱数据与文献报道的 sinapyl alcohol 1, 3'-di-O- $\beta$ -D-glucopyranoside 一致<sup>[14]</sup>, 故鉴定化合物 X 为 sinapyl alcohol 1, 3'-di-O- $\beta$ -D-glucopyranoside。

参考文献:

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科技出版社, 1977.  
 [2] 王明时, 玛莱娜·戈加泽. 祖师麻化学成分的研究(第二报) [J]. 中草药, 1980, 11(2): 49-54.  
 [3] Li S H, Wu L J, Gao Y H, et al. A new dicoumarinoid glycoside from *Daphne Giraldii* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2005, 7(6): 839-842.  
 [4] 王成瑞, 李士敏, 周炳南, 等. 黄瑞香生物活性二萜的研究 [J]. 化学学报, 1987, 45: 993-996.  
 [5] 周光雄, 杨永春, 石建功. 祖师麻活性化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(7): 555-557.  
 [6] 周光雄, 杨永春, 石建功, 等. 祖师麻中的双黄酮类成分研究 [J]. 中草药, 2002, 33(12): 1061-1063.  
 [7] 王明时. 祖师麻化学成分的研究 [J]. 中草药, 1980, 11(9): 389-390.  
 [8] Liao S G, Zhang B L, Wu Y, et al. New phenolic components from *Daphne Giraldii* [J]. *Helv Chim Acta*, 2005, 88: 2873-2878.  
 [9] 李茂星, 张承忠, 李冲. 云实化学成分研究 [J]. 中药材, 2002, 25(11): 794-795.  
 [10] 王璇, 隆长峰, 蔡少青, 等. 大叶马蹄香根的化学成分研究 [J]. 中草药, 2000, 31(12): 888-890.  
 [11] Mochammad S, Kazuo Y, Ryoji K. C nuclear magnetic resonance of lupane-type triterpenes. lupeol, betulin and betulinic acid [J]. *Chem Pharm Bull*, 1980, 28: 1006-1008.  
 [12] 尚明英, 蔡少青, 李军, 等. 中药胡芦巴三萜类成分研究 [J]. 中草药, 1998, 29(10): 655-657.  
 [13] Taninaka H, Takaiishi Y, Honda G, et al. Terpenoids and aromatic compounds from *Daphne oleoides* spp. *oleoides* [J]. *Phytochemistry*, 1999, 52: 1525-1529.  
 [14] Sugiyama M, Nagayama E, Kikuchi M. Lignan and phenylpropanoid glycosides from *Osmanthus asiaticus* [J]. *Phytochemistry*, 1993, 33(5): 1215-1219.

紫花苜蓿黄酮类化学成分的研究

何春年<sup>1</sup>, 高微微<sup>1\*</sup>, 徐文燕<sup>1</sup>, 佟建明<sup>2\*</sup>

(1. 中国医学科学院中国协和医科大学药用植物研究所, 北京 100094;  
 2. 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 北京 100094)

摘要: 目的 研究紫花苜蓿的化学成分。方法 利用硅胶柱色谱及 Sephadex LH-20 柱色谱分离紫花苜蓿地上部分的化学成分, 通过理化常数和波谱分析鉴定化合物的结构。结果 从该植物氯仿和正丁醇萃取部分分得 7 个化合物, 其结构分别鉴定为: 芹菜素-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷 (apigenin-7-O- $\beta$ -D-glucoside, I)、木犀草素-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷 (luteolin-7-O- $\beta$ -D-glucoside, II)、尿嘧啶核苷 (uridin, III)、 $\beta$ -甲基-吡喃葡萄糖苷 (methyl- $\alpha$ -L-glucopyranoside, IV)、芹菜素 (apigenin, V)、苜蓿素 (tricin, VI)、7,4'-二羟基黄酮 (7,4'-dihydroxyflavone, VII)。结论 化合物 I ~ IV 为首次从本属植物中分离得到。

关键词: 紫花苜蓿; 黄酮; 尿苷

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)12-1783-03

收稿日期: 2008-04-07

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划项目 (2006BAD12B05-06)

作者简介: 何春年 (1978-), 男, 助理研究员, 从事天然产物化学和化学生态学研究。

Tel: (010)62812809 E-mail: cnhe@implad.ac.cn

\* 通讯作者 高微微 Tel: (010)62899737 E-mail: wwgao@implad.ac.cn  
 佟建明 Tel: (010)62816061 E-mail: tjm606@263.net

紫花苜蓿 *Medicago sativa* L. 系豆科苜蓿属植物, 是重要的饲料植物, 世界各地广泛引种栽培<sup>[1]</sup>。在我国除作为动物饲料外, 还具有悠久的药用历史, 《名医别录》<sup>[2]</sup>对其已有记载; 《本草纲目》<sup>[3]</sup>谓其有“利五脏, 轻身健人, 洗去脾胃间邪热之气, 通小肠诸恶热毒”之功效。在民间苜蓿主要用于治疗消化不良、肺热咳嗽、黄疸、膀胱结石等症。自 20 世纪 60 年代以来国内外学者对该属植物进行了广泛的研究, 涉及资源分类、栽培、遗传育种、自毒作用、他感作用、营养成分、次生代谢产物等多个领域。在化学成分研究方面, 国外学者对紫花苜蓿化学成分进行了广泛而深入的研究, 主要为黄酮、皂苷、香豆素类, 另外还含有有机酸、甾醇、单萜、氨基酸和微量元素等物质<sup>[4,5]</sup>。而我国在紫花苜蓿次生代谢成分研究方面几乎是空白。为了促进我国学者对紫花苜蓿化学成分的研究, 利用苜蓿的丰富资源和药用价值, 本实验对北京产的紫花苜蓿进行了化学成分研究, 从中分得 7 个化合物, 分别为芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖苷 (apigenin-7-O-β-D-glucoside, I)、木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷 (luteolin-7-O-β-D-glucoside, II)、尿嘧啶核苷 (uridin, III)、β-甲基-吡喃葡萄糖苷 (methyl-α-L-glucopyranoside, IV)、芹菜素 (apigenin, V)、苜蓿素 (tricin, VI)、7,4'-二羟基黄酮 (7,4'-dihydroxyflavone, VII)。化合物 I ~ IV 为首次从本属植物中分离得到。

### 1 药材与试剂

紫花苜蓿 2004 年 7 月采集于北京昌平区, 由中国农业科学院畜牧研究所杨青川研究员鉴定为 *Medicago sativa* L. 药材标本保存于中国医学科学院药用植物研究所标本馆。

X-4 数字显示显微熔点测定仪; Bruker AM-500 型核磁共振仪, 内标为 TMS (本实验所测 <sup>1</sup>H-NMR 和 <sup>13</sup>C-NMR 分别为 500 MHz 和 125 MHz); Autospec-Ultima E TOF 质谱仪; 柱色谱分离用硅胶 (青岛海洋化工厂); GF<sub>254</sub> 和 HF<sub>254</sub> 高效薄层板 (烟台汇友硅胶开发有限公司); 实验所用试剂均为分析纯。

### 2 提取和分离

紫花苜蓿地上部分 3.0 kg, 切碎, 95% 乙醇回流法提取, 回收溶剂, 得乙醇提取物。所得浸膏按经典分离方法进行萃取粗分, 分成正己烷、氯仿、醋酸乙酯、正丁醇、水 5 部分。正丁醇部分经大孔树脂色谱分离, 95% 乙醇洗脱, 洗脱物以氯仿-甲醇-水梯度洗脱, 经反复硅胶柱色谱分离、聚酰胺柱色谱分离和

Sephadex LH-20 纯化, 分别得化合物 I (20 mg)、II (30 mg)、III (30 mg)、IV (50 mg); 氯仿部分经硅胶柱色谱分离, 得化合物 V (18 mg)、VI (32 mg)、VII (15 mg)。

### 3 结构鉴定

化合物 I: 黄色针晶, mp 176~178 °C (甲醇), HCl-Mg 反应呈阳性, Molish 反应呈阳性, 进行薄层酸水解, 与标准糖对照, 表明含有葡萄糖。UV λ<sub>max</sub><sup>MeOH</sup> (nm): 268, 334 (MeOH)。<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 12.95 (1H, s, 5-OH), 10.39 (1H, s, 4'-OH), 7.95 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2', 6'), 6.93 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3', 5'), 6.43 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-6), 6.86 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-8), 6.82 (1H, s, H-3), 5.05 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-1'')。 <sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 164.5 (C-2), 103.1 (C-3), 181.8 (C-4), 161.1 (C-5), 99.5 (C-6), 162.9 (C-7), 94.7 (C-8), 156.9 (C-9), 105.3 (C-10), 119.1 (C-1'), 128.6 (C-2', 6'), 116.0 (C-3', 5'), 161.1 (C-4'), 99.9 (C-1''), 73.1 (C-2''), 76.4 (C-3''), 69.5 (C-4''), 77.2 (C-5''), 60.6 (C-6'')。综合以上数据, 鉴定该化合物结构为芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖苷。与文献核对<sup>[6]</sup>, 各数据基本符合。

化合物 II: 黄色结晶性粉末, mp 254~256 °C (甲醇), HCl-Mg 反应呈阳性, Molish 反应呈阳性。UV λ<sub>max</sub><sup>MeOH</sup> (nm): 256, 268 (sh), 351 (MeOH)。 <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 7.44 (1H, dd, J = 8.5, 2 Hz, H-6'), 7.41 (1H, d, J = 2 Hz, H-2'), 6.89 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5'), 6.43 (1H, d, J = 2 Hz, H-6), 6.77 (1H, d, J = 2 Hz, H-8), 6.74 (1H, s, H-3), 5.07 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-1'')。 <sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 164.4 (C-2), 103.1 (C-3), 181.8 (C-4), 161.1 (C-5), 99.5 (C-6), 162.9 (C-7), 94.7 (C-8), 156.9 (C-9), 105.3 (C-10), 121.3 (C-1'), 113.5 (C-2'), 145.8 (C-3'), 150.0 (C-4'), 115.9 (C-5'), 119.1 (C-6'), 99.9 (C-1''), 73.1 (C-2''), 76.4 (C-3''), 69.5 (C-4''), 77.1 (C-5''), 60.6 (C-6'')。综合以上数据, 鉴定该化合物结构为木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷。与文献核对<sup>[7]</sup>, 各数据基本符合。

化合物 III: 白色粉末, mp 167~168 °C (甲醇), 分子式: C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>N<sub>2</sub>。FAB-MS m/z: 374 (M<sup>+</sup> + K<sup>+</sup> + 甘油 - H, 12), 284 (M<sup>+</sup> + K<sup>+</sup> + H, 44), 282 (M<sup>+</sup> + K<sup>+</sup> - H, 100), 245 (M<sup>+</sup> + H, 98), 133 (M<sup>+</sup> - 核糖 + H, 12), 113 (M<sup>+</sup> - 尿嘧啶 + H, 66)。 <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 11.28 (1H, s, NH), 7.86 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-6), 5.76 (1H, d, J = 6.0 Hz, H-1'), 5.62 (1H,

d,  $J=8.0$  Hz, H-5), 5.34(1H, s, 5'-OH), 5.06(2H, s, 2', 3'-OH), 4.00(1H, d,  $J=5.0$  Hz, H-2'), 3.94(1H, d,  $J=3.5$  Hz, H-3'), 3.82(1H, dd,  $J=3.5, 3.5$  Hz, H-4'), 3.60(1H, d,  $J=12.0$  Hz, H-5'a), 3.52(1H, d,  $J=12.0$  Hz, H-5'b).  $^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 163.08 (C-4), 150.73 (C-2), 140.70 (C-6), 101.72 (C-5), 87.66 (C-1'), 84.81 (C-4'), 73.51 (C-2'), 69.86 (C-3'), 60.83 (C-5'). 综合以上数据, 鉴定该化合物为腺嘧啶核苷, 经与文献核对<sup>[8]</sup>, 各数据基本符合。

化合物 IV: 无色方晶, mp 163~165 °C (甲醇), 分子式:  $\text{C}_7\text{H}_{14}\text{O}_6$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (pyridine- $d_6$ )  $\delta$ : 4.72 (1H, d,  $J=7.5$  Hz, H-1), 4.53 (1H, dd,  $J=2.0, 12.0$  Hz, H-6a), 4.53 (1H, dd,  $J=5.5, 12.0$  Hz, H-6b), 4.23 (2H, m), 4.01 (1H, m), 3.92 (1H, m), 3.58 (3H, -OCH<sub>3</sub>)。  $^{13}\text{C-NMR}$  (pyridine- $d_6$ )  $\delta$ : 105.73 (C-1), 78.55 (C-5), 78.47 (C-3), 75.11 (C-2), 71.63 (C-4), 62.75 (C-6), 59.70 (-OCH<sub>3</sub>)。综合以上数据, 鉴定该化合物为  $\beta$ -甲基-吡喃葡萄糖苷, 经与文献核对<sup>[9]</sup>, 各数据基本符合。

化合物 V: 淡黄色粉末 (MeOH), mp 312~314 °C (MeOH), 分子式:  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$ 。EI-MS  $m/z$ : 271 ( $\text{M}^+ + \text{H}$ , 10), 270 ( $\text{M}^+$ , 100), 242 ( $\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$ , 10), 153 ( $\text{A}_1^+ - \text{H}$ , 10)。  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 6.17 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-6), 6.47 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-8), 6.72 (1H, s, H-3), 6.92 (2H, d,  $J=8.0$  Hz, H-3', 5'), 7.89 (2H, d,  $J=8.0$  Hz, H-2', 6')。  $^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 121.5 (C-1'), 164.5 (C-2), 103.1 (C-3), 182.1 (C-4), 157.7 (C-5), 99.1 (C-6), 164.1 (C-7), 94.3 (C-8), 103.9 (C-10), 116.2 (C-3', 5'), 128.7 (C-2', 6'), 161.4 (C-4'), 161.7 (C-9)。综合以上数据, 推测该化合物为芹菜素, 经与文献核对<sup>[10]</sup>, 各数据基本符合。

化合物 VI: 淡黄色针晶 (MeOH), mp 285~286 °C (MeOH), 分子式:  $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_7$ 。EI-MS  $m/z$ : 331 ( $\text{M}^+ + \text{H}$ , 10), 330 ( $\text{M}^+$ , 100), 178 ( $\text{B}_1^+$ , 10), 153 ( $\text{A}_1^+ + \text{H}$ , 10)。  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 12.95 (5-OH), 10.82 (7-OH), 9.33 (4'-OH), 7.31 (2H, d,  $J=2.0$  Hz, H-2', 6'), 6.96 (1H, s, H-3), 6.54 (1H, d,  $J=1.5$  Hz, H-8), 6.19 (1H, d,  $J=1.5$  Hz, H-6),

3.87 (6H, s, 2  $\times$  -OCH<sub>3</sub>)。  $^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 181.8 (C-4), 164.2 (C-4'), 163.7 (C-7), 161.4 (C-5), 157.4 (C-5), 148.2 (C-3', 5'), 139.9 (C-1'), 120.42 (C-10), 104.4 (C-2', 6'), 103.8 (C-10), 103.6 (C-3), 98.8 (C-6), 94.2 (C-9), 56.4 (2  $\times$  -OCH<sub>3</sub>)。综合以上数据, 推测该化合物为苜蓿素, 经与文献核对<sup>[11,12]</sup>, 各数据基本符合。

化合物 VII: 黄白色粉末 (MeOH), mp 314~316 °C (MeOH), 分子式:  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_4$ 。EI-MS  $m/z$ : 255 ( $\text{M}^+ + \text{H}$ , 10), 254 ( $\text{M}^+$ , 100), 253 ( $\text{M}^+ - \text{H}$ , 30), 226 ( $\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$ , 30), 137 ( $\text{A}_1^+$ , 30), 118 ( $\text{B}_1^+ - \text{H}$ , 10)。  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 7.90 (2H, d,  $J=9.0$  Hz, H-2', 6'), 7.84 (1H, d,  $J=9.0$  Hz, H-5), 6.95 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-8), 6.92 (2H, d,  $J=9.0$  Hz, H-3', 5'), 6.88 (1H, dd,  $J=9.0, 2.0$  Hz, H-6), 6.70 (1H, s, H-3);  $^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 176.2 (C-4), 163.1 (C-7), 162.3 (C-2), 160.7 (C-4'), 157.3 (C-9), 128.1 (C-2', 6'), 126.4 (C-5), 121.7 (C-1'), 116.1 (C-10), 115.8 (C-3', 5'), 114.7 (C-6), 104.4 (C-3), 102.4 (C-8)。综合以上数据, 推测该化合物为 7,4'-二羟基黄酮, 经与文献核对<sup>[13]</sup>, 各数据基本符合。

#### 参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 第42卷. 北京: 科学出版社, 1998.
- [2] 陶弘景. 名医别录 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986.
- [3] 李时珍. 本草纲目 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1987.
- [4] 何春年, 李展, 高微微, 等. 苜蓿属植物的黄酮类化学成分研究概况 [J]. 中国药理学杂志, 2006, 41(8): 565-568.
- [5] 何春年, 高微微, 佟建明. 苜蓿属植物的皂苷类化学成分 [J]. 中国农学通报, 2005, 21(3): 107-111.
- [6] 任玉琳, 杨峻山. 西藏雪莲花化学成分的研究 I [J]. 中国药理学杂志, 2001, (9): 590-593.
- [7] 孙视, 石赞蓉, 孔令义, 等. 福参的苷类成分 [J]. 中草药, 2003, 34(8): 682-684.
- [8] 邓雁如, 丁兰, 武水仙, 等. 紫花野芝麻化学成分 II [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(4): 272-274.
- [9] 于德泉, 杨峻山. 分析化学手册(第七分册) [M]. 北京: 化学工业出版社, 1999.
- [10] 田菁, 赵毅民, 栾新慧. 马鞭草化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(4): 268-269.
- [11] Marco V P. Flavonoid polyphenols in alfalfa (*Medicago sativa*) [J]. *Gazzeta Chimica Italiana*, 1982, 112: 47-50.
- [12] 郭峰, 梁侨丽, 闵知大. 地胆草中黄酮成分的研究 [J]. 中草药, 2002, 33(4): 303-304.
- [13] Hun S Y, Ji S L, Chul Y, K, et al. Flavonoids of *Crotalaria sessiliflora* [J]. *Arch Pharm Res*, 2004, 27(5): 544-546.