

甘草废渣中 1 个新的香豆素类化合物

路静静¹, 曹家庆¹, 李巍¹, 牛秀丽¹, 赵余庆^{1,2*}

1. 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016

2. 沈阳药科大学 基于靶点的药物设计与研究教育部重点实验室, 辽宁 沈阳 110016

摘要: 目的 研究甘草 *Glycyrrhiza uralensis* 废渣的化学成分。方法 采用硅胶吸附柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱、高效液相色谱等分离手段进行分离纯化, 根据化合物的理化性质和波谱数据鉴定化合物的结构。结果 从新疆产甘草废渣 75% 乙醇提取物中分离得到了 5 个化合物, 分别鉴定为槐香豆素 C (1)、3 β -O-对羟基-反-肉桂酰-齐墩果酸 (2)、3-羧基甘草次酸 (3)、3 β ,18-O-异丙叉-8(14),15-异右松脂烷二烯 (4)、3 β ,18-O-异丙叉-7,15-异右松脂烷二烯 (5)。结论 化合物 1 为新的香豆素类化合物, 命名为槐香豆素 C; 化合物 2、4、5 为首次从该属植物中分离得到。

关键词: 甘草; 废渣; 香豆素; 槐香豆素 C; 3 β -O-对羟基-反-肉桂酰-齐墩果酸; 3-羧基甘草次酸; 3 β ,18-O-异丙叉-8(14),15-异右松脂烷二烯; 3 β ,18-O-异丙叉-7,15-异右松脂烷二烯

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)02-0174-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.02.004

A new coumarins from residue of *Glycyrrhiza uralensis*

LU Jing-jing¹, CAO Jia-qing¹, LI Wei¹, NIU Xiu-li¹, ZHAO Yu-qing^{1,2}

1. School of Traditional Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

2. Key Laboratory of Structure-Based Drug Design & Discovery, Ministry of Education, Shenyang Pharmaceutical University Shenyang 110016, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from the residue of *Glycyrrhiza uralensis*. **Methods** Five compounds were separated and purified by silica gel, Sephadex LH-20, and preparative HPLC. The structures were identified by physicochemical properties and spectral analyses. **Results** Five compounds were obtained from 75% ethanol extract of *G. uralensis* residue and identified as sophoracoumestan C (1), 3 β -O-(*p*-hydroxy-(*E*)-cinnamoyl)-1-oleanen-28-oic acid (2), 3-oxo-glycyrrhetic acid (3), sandaracopimaradiene-3 β ,18-diol acetonide (4), and isopimaradiene-3 β ,18-diol acetonide (5). **Conclusion** Compound 1 is a new coumarin named sophoracoumestan C. Compounds 2, 4, and 5 are obtained from the plants of *Glycyrrhiza* Linn. for the first time.

Key words: *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.; residue; coumarin; sophoracoumestan C; 3 β -O-(*p*-hydroxy-(*E*)-cinnamoyl)-1-oleanen-28-oic acid; 3-oxo-glycyrrhetic acid; sandaracopimaradiene-3 β ,18-diol acetonide; isopimaradiene-3 β ,18-diol acetonide

甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 为豆科 (Leguminosae) 甘草属 *Glycyrrhiza* Linn. 植物的根和根茎^[1], 是我国重要的大宗药材之一。现代药理学研究表明, 甘草具有抗氧化、降糖、抗菌、保肝、抗癌、抗炎和抗血小板凝集等多种活性^[2-3], 除作为传统中药材外, 甘草作为矫味剂添加到饼干、面包、糖果、饮料中, 亦具有一定的食用保健价值。其化学成分主要为三萜皂苷和黄酮类化合物^[4]。

甘草废渣是以甘草为原料, 在工业生产甘草酸

过程中排出的废弃物, 大量的甘草废渣被遗弃或发霉变质, 不仅造成资源浪费也污染环境, 对甘草废渣化学成分的研究具有一定的医用和经济价值^[5-8]。本实验对新疆乌拉尔产甘草废渣 75%乙醇提取物进行化学成分研究, 分离得到 5 个化合物, 分别鉴定为槐香豆素 C (sophoracoumestan C, 1), 3 β -O-对羟基-反-肉桂酰-齐墩果酸 [3 β -O-(*p*-hydroxy-(*E*)-cinnamoyl)-1-oleanen-28-oic acid, 2]、3-羧基甘草次酸 (3-oxo-glycyrrhetic acid, 3)、3 β ,18-O-异丙叉-

收稿日期: 2014-09-30

基金项目: 辽宁省天然药物活性成分工业化色谱制备公共服务平台 (2011412004-7)

作者简介: 路静静 (1988—), 女, 在读硕士研究生。Tel: 18604019736 E-mail: LUJINGJING1211@126.com

*通信作者 赵余庆 Tel/(Fax): (024)23986521 E-mail: zyuq4885@126.com

8(14),15-异右松脂烷二烯(sandaracopimaradiene-3 β ,18-diol acetonide, **4**)、3 β ,18-*O*-异丙叉-7,15-异右松脂烷二烯(isopimaradiene-3 β ,18-diol acetonide, **5**)。化合物**1**为1个新香豆素类化合物,命名为槐香豆素C。化合物**2**、**4**、**5**为首次从该属植物中分离得到。

1 仪器与材料

HR-ESI-MS 质谱仪(美国 Finnigan 公司), Bruker ARX-600 型核磁共振仪(德国 Bruker 公司), LC-3000 型高效液相色谱仪(北京创新通恒有限责任公司),制备型高效液相色谱柱为 C₁₈ 柱(250 mm×20 mm, 5 μ m, Inertsil Pak)。薄层色谱硅胶 GF₂₅₄ 和柱色谱硅胶(青岛海洋化工厂), Sephadex LH-20 填料(GE 公司), 色谱纯甲醇(天津康科德科技有限公司), 分析纯化学试剂(天津博迪化工有限公司)。

药材由新疆天山药业有限公司提供, 经沈阳药科大学中药学院路金才教授鉴定为甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的根及根茎。

2 提取与分离

将干净干燥的甘草根、茎粉碎过筛后放于反应器中, 加入5倍量的水于90℃加热回流2.5 h, 滤过, 滤渣加3倍量的水重复提取1次, 最后所得滤渣为本实验所用甘草废渣。取甘草废渣约35 kg, 粉碎后以75%乙醇150 L回流提取3次, 每次2 h, 滤过, 减压浓缩至无醇味, 得粗提物670 g。用适量蒸馏水混匀粗提物, 依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取, 减压回收溶剂, 得醋酸乙酯萃取物350 g。醋酸乙酯萃取物(350 g)经硅胶柱色谱分离, 石油醚-丙酮(100:3→100:10)梯度洗脱。石油醚-丙酮(100:5)洗脱流分(30 g)经硅胶柱色谱分离, 石油醚-丙酮(100:3→100:10)梯度洗脱, 石油醚-丙酮(100:3)洗脱部分经丙酮重结晶得到化合物**3**(433.2 mg), 石油醚-丙酮(100:5)洗脱部分经制备液相(甲醇-水90:10)分离得到化合物**4**(7.2 mg)、**5**(8.5 mg), 石油醚-丙酮(100:9)洗脱部分经 Sephadex LH-20 分离得到化合物**1**(8.4 mg)。石油醚-丙酮(100:7)洗脱流分经 Sephadex LH-20 分离得到化合物**2**(5.8 mg)。

3 结构鉴定

化合物**1**: 白色针晶(甲醇), HR-ESI-MS m/z : 335.092 5 [M+H]⁺ (计算值 335.091 9, C₂₀H₁₄O₅)。

结合 ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) 和 ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) 谱, 推测其分子式为 C₂₀H₁₄O₅。在 ¹H-NMR 谱中, δ 7.90 (1H, d, J = 8.6 Hz), 6.95 (1H, dd, J = 8.6, 2.2 Hz), 6.92 (1H, d, J = 2.2 Hz) 提示存在1组 ABX 耦合苯氢信号; δ 7.59 (1H, d, J = 8.3 Hz), 6.91 (1H, d, J = 8.3 Hz); δ 6.88 (1H, d, J = 9.9 Hz), 6.01 (1H, d, J = 9.9 Hz) 相互耦合, 提示可能存在2对顺式双键。化合物**1**的NMR数据与化合物 coumestrol^[9]相近, 从 ¹³C-NMR 中可见, 2个化合物的A、B、C环基本一致, 区别在于D、E环。在 HMBC 谱(图1)可以观察到如下信号: δ_H 1.43 (3H, s, H-5') 和 δ_C 27.8 (C-6'), δ_C 77.3 (C-2'), δ_C 133.1 (C-3') 相关, δ_H 6.01 (1H, d, J = 9.9 Hz, H-3') 和 δ_C 77.3 (C-2'), δ_C 114.9 (C-4'), δ_C 104.5 (C-10) 相关, δ_H 6.88 (1H, d, J = 9.9 Hz, H-4') 和 δ_C 133.1 (C-3'), δ_C 104.5 (C-10), δ_C 150.9 (C-9) 相关, δ_H 7.59 (1H, d, J = 8.3 Hz, H-7) 和 δ_C 114.7 (C-8), δ_C 116.9 (C-6b), δ_C 150.9 (C-9) 相关, δ_H 6.91 (1H, d, J = 8.3 Hz, H-8) 和 δ_C 150.9 (C-9), δ_C 104.5 (C-10), δ_C 120.1 (C-7) 相关, 以上信号确证了D、E环的结构。通过上述光谱学手段, 确定了化合物**1**的结构(图1), 为一新化合物, 命名为槐香豆素C。化合物**1**的数据归属见表1。

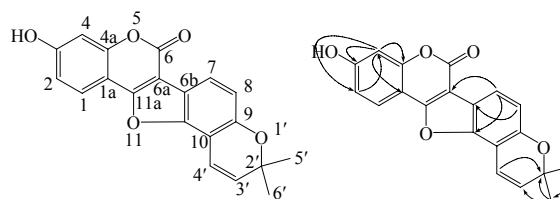


图1 化合物**1**的结构和主要 HMBC 相关图

Fig. 1 Structure and key HMBC correlations of compound **1**

化合物**2**: 白色粉末(甲醇)。¹H-NMR (600 MHz, C₅D₅N) δ : 8.07 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-2'), 7.70 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-2'' 6''), 7.20 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-3'', 5''), 6.75 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-3'), 5.50 (1H, s, H-12), 1.31 (3H, s, H-27), 1.03 (3H, s, H-30), 1.02 (3H, s, H-26), 1.00 (6H, s, H-24, 25), 0.98 (3H, s, H-23), 0.87 (3H, s, H-29); ¹³C-NMR (150 MHz, C₅D₅N) δ : 180.0 (C-28), 167.1 (C-1'), 161.3 (C-4''), 144.8 (C-3'), 144.6 (C-13), 130.5 (C-2'', 6''), 126.0 (C-1''), 122.2 (C-12), 116.7 (C-3'', 5''), 115.6 (C-2'), 80.3 (C-3), 55.3 (C-5), 47.7 (C-9), 46.4 (C-17), 46.2 (C-19), 41.9 (C-14), 41.7 (C-18), 39.5 (C-8), 38.0 (C-1),

表1 化合物1的¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)、¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆)、HMBC 波谱数据Table 1 ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆), ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) data and HMBC correlations of compound 1

碳位	δ _C	δ _H	HMBC (H→C)
1	123.4	7.90 (1H, d, <i>J</i> = 8.6 Hz)	C-11a
1a	107.1	—	—
2	114.3	6.95 (1H, dd, <i>J</i> = 8.6, 2.2 Hz)	C-4
3	161.9	—	—
4	103.5	6.92 (1H, d, <i>J</i> = 2.2 Hz)	C-1a, 2, 3, 4a
4a	155.3	—	—
6	158.0	—	—
6a	102.6	—	—
6b	116.9	—	—
7	120.1	7.59 (1H, d, <i>J</i> = 8.3 Hz)	C-6a, 10a
8	114.7	6.91 (1H, d, <i>J</i> = 8.3 Hz)	C-6b
9	150.9	—	—
10	104.5	—	—
10a	151.6	—	—
11a	160.5	—	—
2'	77.3	—	—
3'	133.1	6.01 (1H, d, <i>J</i> = 9.9 Hz)	C-2'
4'	114.9	6.88 (1H, d, <i>J</i> = 9.9 Hz)	C-2'
5'	27.8	1.43 (3H, s)	C-2', 3'
6'	27.8	1.43 (3H, s)	C-2', 3'
3-OH	10.81 (1H, brs)		

37.9 (C-4), 36.9 (C-10), 34.0 (C-22), 33.0 (C-7, 29), 32.8 (C-21), 30.7 (C-20), 28.0 (C-15, 23), 26.0 (C-27), 23.9 (C-2), 23.5 (C-11, 30), 23.4 (C-16), 18.3 (C-6), 17.1 (C-26), 16.9 (C-24), 15.2 (C-25)。以上数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **2** 为 3β-*O*-对羟基-反-肉桂酰-齐墩果酸。

化合物 **3**: 白色结晶(甲醇)。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) 谱中给出 1 个烯氢信号, 7 个甲基信号: δ 5.44 (1H, s, H-12), 1.36 (3H, s, H-17), 1.14 (3H, s, H-25), 1.09 (3H, s, H-29), 1.07 (3H, s, H-26), 1.01 (3H, s, H-23), 0.96 (3H, s, H-24), 0.77 (3H, s, H-28); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) 给出 30 个碳信号: δ 216.4 (C-3), 199.0 (C-11), 178.1 (C-30), 170.1 (C-13), 127.7 (C-12), 60.7 (C-9), 54.3 (C-5), 48.5 (C-4), 47.5 (C-18), 45.2 (C-20), 43.5 (C-19, C-14), 41.1 (C-8), 39.4 (C-1), 38.0 (C-22), 36.6 (C-10), 34.1 (C-7), 32.0 (C-17), 31.8 (C-21), 30.8 (C-2), 28.9

(C-29), 28.3 (C-28), 26.6 (C-15), 26.2 (C-16), 26.2 (C-23), 23.4 (C-27), 21.4 (C-24), 18.8 (C-26), 18.5 (C-6), 16.0 (C-25)。以上数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 **3** 为 3-羰基甘草次酸。

化合物 **4**: 白色针晶(甲醇)。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) 谱中给出 4 个烯氢质子信号: δ 5.23 (1H, s, H-14), 5.77 (1H, dd, *J* = 17.3, 10.6 Hz, H-15), 4.92 (1H, dd, *J* = 17.3, 1.6 Hz, H-16a), 4.88 (1H, dd, *J* = 10.6, 1.6 Hz, H-16b), 由此可知含有 1 个末端双键; 5 个甲基质子信号: δ 0.85 (3H, s, H-17), 1.03 (3H, s, H-20), 1.08 (3H, s, H-19), 1.42 (3H, s, H-23), 1.45 (3H, s, H-22); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 148.9 (C-15), 136.3 (C-8), 129.3 (C-14), 110.2 (C-16), 99.1 (C-21), 77.8 (C-3), 72.7 (C-18), 50.6 (C-9), 50.4 (C-5), 38.3 (C-10), 37.6 (C-1), 37.4 (C-13), 37.0 (C-4), 35.3 (C-12), 34.4 (C-7), 29.2 (C-22), 26.1 (C-17), 24.1 (C-2), 21.4 (C-6), 19.3 (C-23), 18.6 (C-11), 15.7 (C-20), 12.6 (C-19)。以上数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 **4** 为 3β,18-*O*-异丙叉-8(14),15-异右松脂脞二烯。

化合物 **5**: 白色针晶(甲醇)。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) 谱中给出 4 个烯氢质子信号: δ 5.32 (1H, s, H-7), 5.80 (1H, dd, *J* = 17.4, 10.8 Hz, H-15), 4.92 (1H, dd, *J* = 17.4, 1.2 Hz, H-16a), 4.87 (1H, dd, *J* = 10.8, 1.2 Hz, H-16b), 由此可知含有 1 个末端双键; 5 个甲基质子信号: δ: 0.86 (3H, s, H-17), 1.16 (3H, s, H-19), 0.93 (3H, s, H-20), 1.42 (3H, s, H-23), 1.45 (3H, s, H-22); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 150.4 (C-15), 136.4 (C-8), 120.9 (C-7), 109.5 (C-16), 99.1 (C-21), 77.5 (C-3), 72.7 (C-18), 52.2 (C-9), 46.4 (C-5), 46.1 (C-14), 38.3 (C-1), 36.4 (C-4), 36.8 (C-13), 36.2 (C-12), 35.6 (C-10), 30.0 (C-22), 24.1 (C-2), 22.6 (C-6), 21.6 (C-17), 20.1 (C-11), 19.4 (C-23), 15.9 (C-20), 12.8 (C-19)。以上数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 **5** 为 3β,18-*O*-异丙叉-7,15-异右松脂脞二烯。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 张明发, 沈雅琴. 甘草及其活性成分抗炎与抗过敏机制的研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2011, 26(4): 261-268.
- [3] Yang R, Wang L Q, Liu Y. Antitumor activities of widely-used Chinese herb—*Licorice* [J]. *Chin Herb Med*,

- 2014, 6(4): 274-281.
- [4] 王巧娥, 任红, 曹学丽. 甘草研究开发与利用现状 [J]. 中国农学通报, 2011, 27(4): 290-295.
- [5] 王芸芸, 刘利军, 王丹, 等. 甘草废渣的综合利用 [J]. 饲料工业, 2009, 30(3): 44-45.
- [6] 马子娇, 徐颖, 刘佳, 等. 甘草废渣中甘草黄酮提取工艺研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(15): 15-19.
- [7] 李霞, 李巍, 张化, 等. HPLC测定3中甘草废渣中光甘草定的含量 [J]. 中国现代中药, 2011, 13(16): 24-26.
- [8] 高发奎, 张树蔚, 杨晓辉, 等. 甘草废渣的开发利用技术 [J]. 甘肃环境研究与检测, 2002, 15(1): 27-28.
- [9] Kshirsagar U A, Parnes R, Goldshtein H, *et al.* Aerobic iron-based cross-dehydrogenative coupling enables efficient diversity-oriented synthesis of coumestrol-based selective estrogen receptor modulators [J]. *Chemistry*, 2013, 40(19): 13575-13583.
- [10] 郭新东, 安林坤, 徐迪, 等. 山芝麻中的新三萜化合物 [J]. 高等学校化学学报, 2003, 24(11): 2022-2023.
- [11] 孙琳, 李占山, 韩国华, 等. 千斤拔化学成分研究 [J]. 中国药物化学杂志, 2009, 5(19): 364-367.
- [12] San Feliciano A, Medarde M, Lopez J L, *et al.* Terpenoids from leaves of *Juniperus thurifera* [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27(7): 2241-2248.