

短叶决明的化学成分研究

胡碧辉*, 岑乐定(奉化市中医院中药房, 浙江 奉化 315500)

中图分类号 R284.1;R914 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)19-1774-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.19.15

摘要 目的:研究豆科决明属植物短叶决明的化学成分,为扩大药用资源提供依据。方法:采用柱色谱和重结晶方法分离纯化短叶决明的乙醇提取物,运用波谱技术鉴定化合物结构。结果:一共分离得到了7个化合物,经鉴定为大黄素-8-*O*- β -*D*-龙胆二糖苷(1)、2-甲氧基大黄酚-8-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷(2)、甾醇-3-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷(3)、 β -谷甾醇(4)、甾醇(5)、橙黄决明素(6)、和熊果酸(7)。结论:化合物1、2、3、6、7为首次从该植物中得到。本试验结果可为短叶决明的进一步研究提供依据。
关键词 短叶决明;化学成分;分离;鉴定

Chemical Constituents of *Cassia leschenaultiana*

HU Bi-hui, CEN Le-ding (TCM Pharmacy, Fenghua Municipal Hospital of TCM, Zhejiang Fenghua 315500, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the chemical constituents from *Cassia leschenaultiana*, and to provide basis for expanding medicinal resources. METHODS: The ethanol extract was isolated and purified by column chromatograph and recrystallization method; the structures were identified by spectrometer. RESULTS: 7 compounds were isolated from *C. leschenaultiana*, and identified as emodin-8-*O*- β -*D*-gentiobioside (1), 2-methoxy-chrysoflavone-8-*O*- β -*D*-glucopyranoside (2), stigmasterol-3-*O*- β -*D*-glucopyranoside (3), β -sitosterol (4), stigmasterol (5), aurantio-obtusin (6) and ursolic acid (7). CONCLUSIONS: Compounds 1, 2, 3, 6, 7 are isolated from this plant for the first time. The study provide reference for the further study of *C. leschenaultiana*.

KEYWORDS *Cassia leschenaultiana*; Chemical constituents; Isolation; Identification

短叶决明 *Cassia leschenaultiana* DC. 为豆科决明属植物, 又名夜合草、野皂角、大叶山扁豆、土柴胡, 生于海拔 500~2 200 m 的山坡、草地、灌丛, 多见于浙江、江苏、广东、广西等长江和珠江流域各省区。其根入药, 具有清热解毒、平肝安神、

消肿排脓的功效, 被用于治疗腹痛下痢、咽喉肿痛、夜盲症、失眠、湿疹、疔疮等^[1]。目前, 国内外对于短叶决明的化学成分已经有了较为系统的研究报道, 证实其化学成分主要包括蒽醌、甾醇、各种烷烃及其衍生物等; 然而, 确定短叶决明各单一化

C_{18} 柱色谱峰易拖尾, 加大磷酸和三乙胺的浓度可以使峰形减少拖尾; 但随着加入浓度的升高, 对仪器和色谱柱的损害也在增大^[8]。赵华等^[9]在对苦参药材生物碱成分的指纹图谱研究中发现, 苦参生物碱碱性较强, 酸性流动相条件下, 它们在 C_{18} 柱上的色谱峰拖尾严重。在水相中添加氨水可显著抑制峰拖尾, 同时可提高保留强度。可见, 使用 C_{18} 柱对生物碱的指纹图谱研究都存在色谱峰的拖尾问题, 而且在流动相中到底是加酸还是加碱能够较有效地抑制拖尾等问题也有待研究。

按照上述实验条件对购买的苦参生物碱类成份进行分析, 发现苦参生物碱类成分的色谱峰都集中在 25~40 min 之间, 各色谱峰之间分离度较好, 也证明了生物碱极性都较大, 如果采用 C_{18} 柱梯度洗脱分离, 生物碱类成分都较集中出现在前半段, 对色谱峰的分离效果较差。

通过查阅文献, 未见采用氨基柱测定生物碱类指纹图谱的报道, 故本研究拟在解决 C_{18} 柱拖尾问题的同时, 也为生物碱类成分的指纹图谱研究提供另一种方法, 故只对 3 批苦参生物碱类成分进行了指纹图谱的研究, 以后需要增进 10 批苦参生物碱类成分进行系统的指纹图谱考察。

参考文献

- [1] 张力, 李海英, 吴式琇, 等. 苦参碱对人鼻咽癌 CNE₂ 细胞增殖的抑制作用研究[J]. 江西中医药, 2009, 21(6): 75.
- [2] 徐广伟, 满世军, 王志生, 等. 氧化苦参碱对荷瘤小鼠免疫功能的影响[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2001, 8(5): 10.
- [3] 蒋莲芳, 蒋亚生. 苦参药理研究进展[J]. 时珍国医国药, 2000, 11(3): 278.
- [4] 赵华, 宋敏, 赵画, 等. 苦参药材生物碱成分的 HPLC 指纹图谱[J]. 中国医科大学学报, 2009, 40(2): 139.
- [5] 王莹, 向孙敏, 王森, 等. 苦参生物总碱纯化工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(7): 1 634.
- [6] 刘文, 蒋世云. 中药指纹图谱研究与应用进展[J]. 中国药房, 2011, 22(19): 1 819.
- [7] 黄颖, 王乃平, 陈勇. 广西产山豆根 HPLC 指纹图谱测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(14): 66.
- [8] 宋洁瑾, 陈涛, 李进. 梯度洗脱方法在中药指纹图谱中的应用[J]. 天津药学, 2007, 19(6): 70.
- [9] 赵华, 宋敏, 赵画, 等. 苦参药材生物碱成分的 HPLC 指纹图谱[J]. 中国医科大学学报, 2009, 40(2): 139.

(收稿日期: 2013-12-09 修回日期: 2014-01-20)

* 主管中药师。研究方向: 中药鉴别。E-mail: sanren8@126.com

学成分分子结构的研究较少。为进一步阐明其化学成分,扩大药用资源,本研究通过波谱学技术对其化学成分进行结构鉴定,确定了7种化合物的分子结构。

1 材料

1.1 仪器

Finnigan LCQDEcA 型质谱仪(美国 Thermo 公司);Bruker AM-600Hz 型核磁共振(NMR)仪(瑞士 Bruker 公司);ZF-1 型三用紫外分析仪(上海精科实业有限公司);硅胶薄层板、ODS 反相薄层板(德国 Merck 公司);N-1001 型旋转蒸发器(日本 Eyela 公司);KQ-300DE 型超声波清洗仪(昆山市仪器有限公司);FA2004 型分析天平(上海天平仪器厂)。

1.2 试剂

柱色谱硅胶(160~200 目和 200~300 目,青岛海洋化工厂);石油醚(沸程 60~90 °C)、正丁醇、乙酸乙酯、氯仿等均为分析纯。

1.3 药材

短叶决明药材(根)于 2012 年 10—11 月采自浙江省东阳市,经金华职业技术学院医学院陈坚波中医师鉴定为豆科决明属植物短叶决明。

2 方法与结果

2.1 提取与分离

将 5.0 kg 短叶决明切段,粉碎成粗粉,用 95% 乙醇加热回流提取 3 次,每次 2 h。提取液减压回收溶剂,浓缩成膏状物(1.1 kg)。取 0.55 kg 浸膏用水混悬,水悬浮液用正丁醇萃取,得到正丁醇萃取物(132.7 g)。正丁醇萃取物经聚酰胺柱色谱,以乙醇和水梯度洗脱,洗脱液浓缩后反复用硅胶柱色谱分离,得到化合物 1、2、3。取剩余 0.55 kg 浸膏,用水混悬浸膏后分别以石油醚(60~90 °C)、氯仿、乙酸乙酯萃取,得到石油醚萃取物(157.6 g)、氯仿萃取物(93.1 g)、乙酸乙酯萃取物(118.5 g)。石油醚萃取物经硅胶柱色谱分离,以石油醚-乙酸乙酯(100:1→2:1)梯度洗脱,薄层色谱检测,合并相同组分,再反复经硅胶柱色谱分离得到化合物 4、5。乙酸乙酯萃取物经硅胶柱色谱分离,梯度洗脱的系统溶剂分别为石油醚-乙酸乙酯(92:8,86:14,50:50, V/V),得到 7 个流分,然后经过重结晶,最后得到化合物 6。氯仿部分萃取物经硅胶柱色谱分离,氯仿-丙酮系统(80:1→1:1)梯度洗脱,得化合物 7。

2.2 结构鉴定

化合物 1:红色粉末(甲醇),相对分子质量 608。Borntrager 反应呈粉红色,醋酸镁反应呈橙红色,示为蒽醌类物质^[2];Molish 反应呈阳性,示为苷类化合物。¹H-NMR(CD₃OD)δ(ppm):7.65(1H, s, H-7),7.62(1H, s, H-6),6.92(1H, d, J=1.6 Hz, H-4),6.30(1H, d, J=1.7 Hz, H-2),4.95(1H, d, J=7.6 Hz, H-1'),4.39(1H, d, J=7.8 Hz, H-1''),2.4(3H, CH₃),4.06~3.10(葡萄糖上的 12 个 H)。根据¹H-NMR 可知:在苯环上共有 4 个 H,7.65 和 7.62 为单峰,而 6.92 和 6.30 为双峰,表明有两个 OH 在一个苯环上;4.95 和 4.39 处的 H 应为糖上端基质子 H,且 J>5 Hz,表明两个糖以 β 键连接。

¹³C-NMR(CD₃OD)δ(ppm):186.9(C-9),184.5(C-10),171.1(C-3),167.5(C-1),160.4(C-8),148.4(C-6),136.5(C-4a),135.9(C-5a),126.4(C-5),124.3(C-7),121.5(C-8a),111.8(C-4),110.5(C-1a),110.2(C-2),22.8(CH₃),105.7(C-1''),104.2(C-3'),78.5(C-3', 3''),77.9(C-5'),77.7(C-5''),75.5(C-2'),75.2(C-2''),71.9(C-4'),71.6(C-4''),70.8(C-6'),62.9(C-6'')。从¹³C-NMR 可见:苯环上共有 14 个碳,2 个羰基,表明该化合物为蒽醌母核类化合物;有两个糖信号区,105.7 和 104.2 为 2 个端基信号;有 1 个 70.8 碳信号,在¹³⁵Dept 谱上为负信号,表明有 1 个葡萄糖,在 6 位成苷,即两个糖之间为 1→6 连接,有 3 个连氧取代基团。以上数据与文献报道^[3-4]的大黄素-8-O-β-d-龙胆二糖苷基本一致,故确定该化合物为大黄素-8-O-β-d-龙胆二糖苷。

化合物 2:黄色针状结晶(甲醇),相对分子质量 494。Borntrager 反应呈粉红色,醋酸镁反应呈橙红色,示为蒽醌类物质;Molish 反应呈阳性,示为苷类化合物。¹H-NMR(CD₃OD)δ(ppm):7.95(1H, s, H-4),7.70(1H, dd, J=1.4 Hz, 7.2, H-5),7.68(1H, t, J=8.1 Hz, H-6),7.30(1H, dd, J=1.3, 7.9 Hz, H-7),5.15(1H, d, J=7.6 Hz, H-1'),3.95(3H, OCH₃),2.48(3H, CH₃),3.60~3.18(葡萄糖上的 6 个 H)。根据¹H-NMR 可知:有 3 个 H 在一个苯环上,且连续相邻,7.68 处的 H 在中间,7.95 处的 H 在另一个苯环上。¹³C-NMR(CD₃OD)δ(ppm):190.7(C-9),182.8(C-10),163.9(C-8),157.3(C-2),155.1(C-1),143.6(C-3),137.6(C-6a),134.5(C-5a),132.0(C-4a),126.9(C-5),125.7(C-8 a),123.3(C-4),120.5(C-7),118.2(C-1a),104.8(C-1'),78.8(C-3'),77.9(C-5'),74.2(C-2'),71.5(C-4'),62.9(C-6'),62.6(OCH₃),184.9(CH₃)。从¹³C-NMR 可见:芳香环上共有 14 个碳,其中 2 个为羰基,且含有 1 个 β 连接的葡萄糖,1 个 OCH₃ 和 1 个 CH₃。以上数据与文献报道^[5-6]的 2-甲氧基大黄酚-8-O-β-d-吡喃葡萄糖苷基本一致,故确定该化合物为 2-甲氧基大黄酚-8-O-β-d-吡喃葡萄糖苷。

化合物 3:白色小片状结晶(甲醇),熔点 165~167 °C。Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应均呈阳性。¹H-NMR(CD₃OD)δ(ppm):5.40(1H, d, J=3.5, H-2);5.25(1H, dd, J=9.0 Hz, 15.0);5.11(1H, dd, J=9.0, 15.0 Hz, H-3);5.03(1H, d, J=7.5 Hz)。根据¹H-NMR 可知:5.11 为 3 个烯氢质子,5.03 为糖上的质子信号。¹³C-NMR(CD₃OD)δ(ppm):37.5(C-1),30.4(C-2),78.7(C-3),40.2(C-4),41.6(C-5),121.9(C-6),31.9(C-7),32.3(C-8),50.5(C-9),38.3(C-10),21.4(C-11),41.8(C-12),40.8(C-13),56.9(C-14),24.8(C-15),29.7(C-16),56.2(C-17),12.3(C-18),19.6(C-19),36.5(C-20),19.2(C-21),138.9(C-22),129.6(C-23),46.2(C-24),29.7(C-25),20.1(C-26),19.4(C-27),23.6(C-28),12.1(C-29),102.7(C-1'),75.3(C-2'),78.5(C-3'),71.9(C-4'),78.3(C-5'),62.9(C-6')。以上数据与文献报道^[7]的豆甾醇-3-O-β-d-吡喃葡萄糖苷基本一致,故确定该化合物为豆甾醇-3-O-β-d-吡喃葡萄糖苷。

化合物4:无色针状结晶(石油醚),熔点134~136℃。硫酸-乙醇显色为紫红色,Liebermann-Burchard反应和Molish反应均呈阳性。¹H-NMR(CD₃OD)δ(ppm):0.80(3H,d,J=6.6 Hz);0.85(6H,d,J=6.6 Hz);0.89(3H,d,J=6.4 Hz);0.93(3H,d,J=6.6 Hz);35.5(1H,m)。¹³C-NMR(CD₃OD)δ(ppm):30.2(C-1),31.8(C-2),71.9(C-3),42.0(C-4),141.2(C-5),121.9(C-6),30.2(C-7),32.3(C-8),50.9(C-9),37.8(C-10),22.9(C-11),37.5(C-12),44.1(C-13),56.7(C-14),27.9(C-15),27.4(C-16),58.5(C-17),20.9(C-18),23.5(C-19),36.1(C-20),19.4(C-21),33.6(C-22),30.4(C-23),45.9(C-24),26.1(C-25),12.7(C-26),31.5(C-27),21.2(C-28),21.2(C-29)。以上数据与文献报道^[8]的β-谷甾醇基本一致,并且与β-谷甾醇标准品对照,混合熔点不下降,薄层色谱R_f值在多种溶剂系统中与对照品一致,故确定该化合物为β-谷甾醇。

化合物5:无色片状结晶(氯仿),熔点147~149℃。Liebermann-Burchard反应阳性。¹H-NMR(CD₃OD)δ(ppm):5.38(1H,s,H-6),5.23(1H,dd,J=15.2,8.8 Hz,H-22),5.08(1H,dd,J=15.2,8.4 Hz,H-23),3.54(1H,m,H-3)。¹³C-NMR(CD₃OD)δ(ppm):36.5(C-1),31.9(C-2),72.0(C-3),42.3(C-4),140.8(C-5),121.9(C-6),31.9(C-7),29.5(C-8),50.4(C-9),36.6(C-10),21.3(C-11),39.7(C-12),42.5(C-13),56.9(C-14),24.6(C-15),31.8(C-16),56.3(C-17),12.0(C-18),20.1(C-19),39.7(C-20),21.4(C-21),138.5(C-22),129.4(C-23),50.5(C-24),29.3(C-25),21.5(C-26),19.2(C-27),28.4(C-28),12.1(C-29)。以上数据与文献报道^[9]的豆甾醇基本一致,并且与豆甾醇标准品对照,混合熔点不下降,薄层色谱R_f值在多种溶剂系统中与对照品一致,故确定该化合物为豆甾醇。

化合物6:橙黄色真晶(甲醇),熔点275~277℃。醋酸镁薄层显色为橙红色,Borntrager反应为橙红色。¹H-NMR(CD₃OD)δ(ppm):7.75(1H,s,H-4),7.14(1H,s,H-5),10.25(1H,s,2-OH),10.95(1H,s,6-OH),13.31(1H,s,8-OH),3.87(3H,s,1-OCH₃),3.81(3H,s,7-OCH₃),2.26(3H,s,3-CH₃)。 ¹³C-NMR(CD₃OD)δ(ppm):147.3(C-1),155.7(C-2),132.5(C-3),126.0(C-4),107.8(C-5),157.2(C-6),140.1(C-7),156.9(C-8),187.3(C-9),180.6(C-10),125.1(C-4a),111.1(C-8a),123.8.5(C-9a),128.7(C-10a),16.9(CH₃-3),60.5(OCH₃-1),61.2(OCH₃-7)。以上数据与文献报道^[10]的橙黄决明素基本一致,并且与橙黄决明素标准品对照,混合熔点不下降,薄层色谱R_f值在多种溶剂系统中与对照品一致,故确定该化合物为橙黄决明素。

化合物7:白色晶体(甲醇),熔点276~278℃。MS(m/

z,%):456(M⁺,9),438(5),423(7),410(11),395(3),300(8),248(100),219(6),208(12),207(25)。其MS数据与文献报道^[11]的熊果酸基本一致,与对照品混合熔点不下降,薄层色谱R_f值在多种溶剂系统中与对照品一致,故确定该化合物为熊果酸。

3 讨论

在中药化学成分的提取、分离、鉴定过程中,利用先进的分析方法,包括红外、紫外、核磁共振、质谱以及联用技术,对于快速发现天然产物中有效单体的工作有着重要的意义。本研究利用上述技术从短叶决明中分离得到了7个化合物,经鉴定为大黄素-8-O-β-d-龙胆二糖苷(1)、2-甲氧基大黄酚-8-O-β-d-吡喃葡萄糖苷(2)、豆甾醇-3-O-β-d-吡喃葡萄糖苷(3)、β-谷甾醇(4)、豆甾醇(5)、橙黄决明素(6)、和熊果酸(7),其中化合物1、2、3、6、7为首次从该植物中得到。

参考文献

- [1] 吴征镒,周太炎,肖培根,等.新华本草纲要:第2册[M].上海:上海科学技术出版社,1991:112.
- [2] 王莹,马金刚,王青,等.UPLC-MS/MS法测定大鼠血浆中决明子特有蒽醌类成分及其药动学研究[J].中国药房,2013,24(43):4 053.
- [3] 周斌,卢文杰,陈家源,等.短叶决明石油醚部位的化学成分分析[J].广西科学,2010,17(3):242.
- [4] 黄毅斌,陈志彤,陈恩,等.决明属牧草研究进展[J].福建农业学报,2006,21(3):257.
- [5] Zhang C, Li GL, Xiao YQ, et al. Two new glycosides from the seeds of *Cassia obtusifolia*[J]. *Chin Chem Lett*, 2009,20(1):1 097.
- [6] 谢红刚,张宏武,张江,等.羊耳菊的化学成分[J].中国天然药物,2007,5(3):193.
- [7] 贾振宝,丁霄霖.决明子中蒽醌类成分研究[J].中药材,2006,29(1):28.
- [8] Li CH, Wei XY, Li XE, et al. A new anthranquinone glycoside from the seeds of *Cassia obtusifolia*[J]. *Chin Chem Lett*,2004,12(15):1 448.
- [9] 陈秋东,徐蓉,徐志南,等. P决明子中蒽醌类化学成分及其生物活性研究进展[J].中国现代应用药学,2003,20(2):120.
- [10] 陈家源,卢文杰,谭晓,等.短叶决明的化学成分研究[J].华西药学杂志,2013,28(2):166.
- [11] 徐秀芝,田暄.提宗龙胆化学成分的研究(I)[J].中国中药杂志,2000,25(4):33.

(收稿日期:2013-12-27 修回日期:2014-02-24)

《中国药房》杂志——中国科技论文统计源期刊,欢迎投稿、订阅