

槐米中酚酸类化学成分的研究*

刘丽丽, 李晓霞, 陈 玥, 孙 瑾, 刘二伟, 张 玮
(天津市中药化学与分析重点实验室, 天津 300193)

摘要: [目的] 对国槐(*Sophora japonica* L.)米中的酚酸类成分进行研究, 为进一步开发利用该植物资源提供依据。[方法] 采用正相硅胶、反相 ODS、Sephadex LH-20 等柱色谱及高效液相色谱法等方法进行分离纯化, 并通过理化性质及光谱分析鉴定化合物的结构。[结果] 从国槐米 70% 的乙醇提取物中分离鉴定了 5 个酚酸类化合物, 分别为 3,4-二羟基苯甲酸(1)、原儿茶酸甲酯(2)、没食子酸(3)、4-甲氧基-3,5-羟基苯甲酸(4)、枸橼苦素(5)。[结论] 2、3、5 为从槐属中首次分离得到的化合物。

关键词: 槐米; 酚酸类成分; 结构鉴定

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 1673-9043(2014)01-0039-03

国槐(*Sophora japonica* L.)是豆目蝶形花科槐属植物, 别称槐树、槐蕊、豆槐、白槐、细叶槐、金药材、护房树及家槐, 在中国主产于河北、河南、江苏、广东、广西等地。其干燥花蕾被称为国槐米, 性微寒、味苦, 具有凉血、止血, 清肝泻火等功效, 用于便血、痔血、血痢、崩漏、吐血、衄血、肝热目赤、头痛眩晕^[1]。主要含有黄酮类化合物。笔者在对其化学成分研究的过程中, 分离得到了 5 个酚酸类单体化合物(1~5), 利用与文献类似的方法对结构进行了鉴定^[2-3]。其中, 2、3、5 为从槐属中首次分离得到的化合物。

1 仪器与材料

安捷伦 6520 Q-TOF LC/MS; Bruker 500 MR 超导核磁共振波谱仪(德国 Bruker 公司)。柱层析硅胶(200-300 目)、薄层层析硅胶 H(青岛海洋化工厂), 薄层色谱硅胶预板、高效色谱用硅胶 GF254(天津思利达科技有限公司), ODS(日本 Fuji Silisia Chemical 公司), Sephadex LH-20(瑞典 Ge Healthcare Bio-Sciences AB 公司), D101 大孔吸附树脂(天津海光化工有限公司), Cosmosil 5 C₁₈-MS-II 分析柱及制备柱(日本 Nacalai Tesque 公司)。旋转蒸发器(德国 IKA 公司, IKA RV10、上海亚荣生化仪器厂, RE52CS), 高速离心机(美国 Beckman Coulter 有限

公司, ALLEGRA-64R)。

实验所用试剂(色谱纯或分析纯)均为天津康科德科技有限公司产品。

所用药材国槐米于 2010 年 10 月购自安国市场, 由天津中医药大学中药标本馆李天祥副教授鉴定为国槐(*Sophora japonica* L.)的干燥花蕾。植物标本存放于天津中医药大学中医药研究中心。

2 提取分离

取干燥的槐米 8.0 kg, 用 5、3、3 倍量体积分数 70% 的乙醇溶液加热回流提取 3 次, 每次分别为 2、2、1.5 h, 减压回收溶剂, 得到浸膏 2.3 kg。取浸膏 670 g, 用 EtOAc-H₂O 萃取, 得到 EtOAc、EtOAc 层沉淀及 H₂O 层萃取物分别为 78、197、385 g。取上述 EtOAc 萃取物(50 g)经硅胶柱层析[CHCl₃-MeOH(100:0 → 100:2 → 100:3 → 100:5, V/V) → CHCl₃-MeOH-H₂O(10:3:1, V/V/V, 下层) → MeOH], 共得 7 个组分(Fr. 1~7)。Fraction 5(7.0 g)经 ODS 柱层析[MeOH-H₂O(30:70 → 40:60 → 50:50 → 60:40 → 70:30 → 80:20 → 100:0, V/V)], 得到 12 个组分(Fr. 5-1~12)。Fraction 5-2(152.1 mg)经制备高效液相色谱法(PHPLC)分离制备, 得到 3,4-二羟基苯甲酸(1, 104.1 mg)及 4-甲氧基-3,5-羟基苯甲酸(4, 5.0 mg)。Fraction 5-6 经 Sephadex LH-20 及硅胶柱层析, 得到枸橼苦素(5, 7.9 mg)。Fraction 6(7.5 g)经 ODS 柱层析[MeOH-H₂O(10:90 → 45:55 → 50:50 → 60:40 → 70:30 → 80:20 → 100:0, V/V)]得到 12 个组分(Fr. 6-1~12)。Fraction 6-1(139.8 mg)经 PHPLC [MeOH-H₂O(12:88, V/V)]分离制备, 得到没食子酸

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81202995); 国家科技重大专项项目-重大新药创制(2011ZX09307-002-01); 新世纪优秀人才支持计划资助项目(NCET-12-1069)。

作者简介: 刘丽丽(1986-), 女, 硕士研究生, 主要从事中药化学研究。

通讯作者: 张 玮, E-mail zhwwxzh@hotmail.com。

(3, 7.3 mg)。Fraction 7(7.0 g)经 ODS 柱层析[MeOH-H₂O (10:90 → 45:55 → 50:50 → 60:40 → 70:30 → 80:20 → 100:0, V/V)]共得到 12 个组分(Fr. 7-1~12)。Fraction 7-3(1 318.7 mg)经 PHPLC 制备,得到原儿茶酸甲酯(2, 7.3 mg)。

3 结构鉴定

从槐米中分离得到的化合物结构鉴定见图 1。

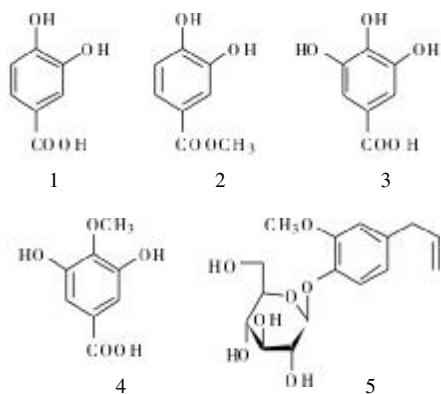


图 1 从槐米中分离得到的化合物

化合物 1: 白色粉末。高分辨电喷雾四极杆飞行时间质谱(Q-TOF-ESI-MS)给出其准分子离子峰 m/z 153.019 8 [M-H]⁻, 确定其分子式为 C₇H₆O₄(calcd for C₇H₅O₄, 153.019 3)。¹H-NMR(CD₃OD, 500 MHz) δ : 7.57(1H, br. s, H-2), 6.91(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-5), 7.55(1H, br. d, ca. $J=8$ Hz, H-6)。¹³C-NMR(CD₃OD, 125 MHz) δ : 123.0(C-1), 117.8(C-2), 145.9(C-3), 151.5(C-4), 115.9(C-5), 124.2(C-6), 170.6(C-7)。上述 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 谱数据与文献[4]中报道的 3,4-二羟基苯甲酸的数据基本一致,故鉴定化合物 1 为 3,4-二羟基苯甲酸。通过异核单量子关系(HSQC)谱的测定,纠正了文献[4]中该化合物 C-2 位(δ_c 115.7)及 C-5 位(δ_c 117.7)的化学位移值。

化合物 2: 白色粉末。高分辨 Q-TOF-ESI-MS 给出其准分子离子峰 m/z 167.035 2 [M-H]⁻, 确定其分子式为 C₈H₈O₄ (calcd for C₈H₇O₄, 167.035 0)。¹H-NMR(CD₃OD, 500 MHz) δ : 7.42(1H, br. s, H-2), 6.80(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-5), 7.41(1H, br. d, ca. $J=8$ Hz, H-6), 3.83(3H, s, 7-OCH₃)。 ¹³C-NMR(CD₃OD, 125 MHz) δ : 122.6(C-1), 117.5(C-2), 146.2(C-3), 151.8(C-4), 115.9(C-5), 123.7(C-6), 168.9(C-7), 52.3(7-OCH₃)。上述 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 谱数据与文献[5]中报道的原儿茶酸甲酯的数据基本一致,故鉴定化合物 2 为原儿茶酸甲酯。通过 HSQC 谱的测

定,纠正了文献[5]中该化合物 C-2 位(δ_c 115.9)及 C-5 位(δ_c 117.5)的化学位移值。

化合物 3: 白色粉末。高分辨 Q-TOF-ESI-MS 给出其准分子离子峰 m/z 169.013 4 [M-H]⁻, 确定其分子式为 C₇H₆O₅ (calcd for C₇H₅O₅, 169.014 2)。¹H-NMR(CD₃OD, 500 MHz) δ : 7.06(2H, s, H-2,6)。 ¹³C-NMR(CD₃OD, 125 MHz) δ : 122.2(C-1), 110.4(C-2,6), 146.4(C-3,5), 139.6(C-4), 170.6(C-7)。上述 ¹H-NMR 谱数据与文献[6]中报道的没食子酸的数据基本一致,故鉴定化合物 3 为没食子酸。

化合物 4: 白色粉末。高分辨 Q-TOF-ESI-MS 给出其准分子离子峰 m/z 183.031 2 [M-H]⁻, 确定其分子式为 C₈H₈O₅ (calcd for C₈H₇O₅, 183.029 9)。¹H-NMR(CD₃OD, 500 MHz) δ : 7.04(2H, s, H-2,6), 3.85(3H, s, 4-OCH₃)。 ¹³C-NMR(CD₃OD, 125 MHz) δ : 128.1(C-1), 110.4(C-2,6), 151.6(C-3,5), 140.9(C-4), 170.5(C-7), 60.8(4-OCH₃)。通过与化合物 3 的 ¹³C-NMR 谱数据相对照,羧基碳的数据没有发生明显的变化,提示该羧基没有甲酯化。同时,结合甲氧基碳的化学位移值[δ 60.8, 明显低于甲酯化甲氧基碳的化学位移值(~53)],推测甲氧基与 4 位相连。上述 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 谱数据与文献[7]中报道的 4-甲氧基-3,5-羟基苯甲酸的数据基本一致,故鉴定化合物 4 为 4-甲氧基-3,5-羟基苯甲酸。

化合物 5: 白色粉末。高分辨 Q-TOF-ESI-MS 给出其准分子离子峰 m/z 361.107 6 [M + Cl]⁻, 确定其分子式为 C₁₆H₂₂O₇(calcd for C₁₆H₂₂O₇Cl, 361.106 0)。¹H-NMR(CD₃OD, 500 MHz) δ : 6.82(1H, br. s, H-2), 7.08(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-5), 6.72(1H, br. d, ca. $J=8$ Hz, H-6), 3.32(2H, m, H2-7), 5.95(1H, m, H-8), [5.02(1H, br. d, ca. $J=11$ Hz), 5.05(1H, br. d, ca. $J=17$ Hz), H2-9], 4.84(1H, d, $J=7.5$ Hz, H-1'), 3.48(1H, dd, $J=7.5, 9.0$ Hz, H-2'), 3.47(1H, dd, $J=9.0, 9.0$ Hz, H-3'), 3.39(1H, dd, $J=9.0, 9.0$ Hz, H-4'), 3.38(1H, m, H-5'), [3.68(1H, dd, $J=4.0, 12.0$ Hz), 3.86(1H, br. d, ca. $J=12$ Hz), H2-6']。 ¹³C-NMR(CD₃OD, 125 MHz) δ : 136.5(C-1), 114.2(C-2), 150.8(C-3), 146.4(C-4), 118.3(C-5), 122.1(C-6), 40.8(C-7), 139.0(C-8), 115.9(C-9), 103.1(C-1'), 75.0(C-2'), 77.9(C-3'), 71.4(C-4'), 78.2(C-5'), 62.6(C-6')。上述 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 谱数据与文献[8]中报道的枸橼苦素的数据基本一致,故鉴定化合物 5 为枸橼苦素。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部)[S]. 北京: 化学工业出版社, 2010:83.
- [2] 吴 帅, 刘二伟, 张 祎, 等. 川续断中化学成分的研究[J]. 天津中医药大学学报, 2010, 29(3): 147-150.
- [3] 吴克磊, 康利平, 熊呈琦, 等. 蒺藜全草中甾体皂苷类化学成分研究[J]. 天津中医药大学学报, 2012, 31(4): 225-228.
- [4] 刘 轩, 张彬锋, 俞桂新, 等. 白茅根的化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(15): 2296-2230.
- [5] 李奕星, 左文健, 王 辉, 等. 异叶三宝木枝条的化学成分研究[J]. 中国药物化学杂志, 2012, 22(2): 120-123.
- [6] 梁耀光, 徐巧林, 谢海辉, 等. 芒果核仁的化学成分及其抑菌活性[J]. 热带亚热带植物学报, 2010, 18(4): 445-448.
- [7] 章 为, 徐康平, 周应军, 等. 两色紫金牛化学成分研究[J]. 中南药学, 2007, 5(5): 444-448.
- [8] 尹永芹, 沈志滨, 孔令义. 番薯块根化学成分研究[J]. 中药材, 2012, 35(6): 913-917.

(收稿日期:2013-09-06)

Study on phenolic acids from Flos Sophorae

LIU Li-li, LI Xiao-xia, CHEN Yue, SUN Jin, LIU Er-wei, ZHANG Yi

(Key Laboratory of Traditional Chinese Medicinal Chemistry and Analytical Chemistry of Tianjin, Tianjin 300193, China)

Abstract: [Objective] To investigate the phenolic acids of Flos Sophorae for further research and development. [Methods] The chemical components were obtained by using chromatographies such as silica gel, ODS, Sephadex LH-20 and HPLC, and identified by the chemical and physical methods, especially spectral analysis. [Results] Five phenolic acids were obtained and identified as 3,4-dihydroxybenzoic acid (1), protocatechuic acid methyl ester (2), gallic acid (3), 4-methoxy-3,5-dihydroxybenzoic acid (4), and citrusic acid (5), respectively. [Conclusion] Compounds 2, 3, and 5 are obtained from sophora genus firstly.

Key words: Flos Sophorae; phenolic acid; structural elucidation

·启 事·

关于《天津中医药大学学报》变更为双月刊的通知

《天津中医药大学学报》创刊于1982年,是由天津市教委主管、天津中医药大学主办的中医药学术性期刊,主编为张伯礼院士。自2014年由季刊变更为双月刊,双月15日出版,每期64页,标准刊号:ISSN 1673-9043, CN 12-1349/R。

《天津中医药大学学报》始终坚持跟踪学科前沿,积极报道中医药领域的临床、教学、科研成果;坚持办刊方针,并努力探索新技术条件下的编辑出版新模式。本刊多年来一直被美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)、波兰《哥白尼索引》(IC)等国内外著名检索系统收录。本刊为天津市教委职称评审认定的核心期刊,天津市卫生局职称评审认定的专业期刊。

近年来,在上级主管与主办单位的大力支持下,在主编张伯礼院士的悉心指导下,本刊学术水平不断提高。2013年9月27日,在中国科技论文统计结果新闻发布会上,《天津中医药大学学报》入选“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。2012年11月16日,获得第四届全国中医药优秀期刊三等奖。2012年12月16日,《天津中医药大学学报》在第三届中国学术期刊评价中被评为准核心期刊(B+),在全国中医与中药学科类114种期刊中排名在第41位。