

丰城鸡血藤异黄酮类化合物的分离鉴定

向 诚, 成 军, 梁 鸿*, 赵玉英, 冯 洁

(北京大学药学院天然药物学系, 北京 100191)

摘要: 为建立丰城鸡血藤质量控制方法提供对照品, 对其化学成分进行了研究, 从中分离鉴定了 8 个化合物, 分别为丰城鸡血藤异黄酮苷 F (1), 芒柄花素 (2), 芒柄花苷 (3), 奥刀拉亭 7-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 (4), 澳白檀苷 (5), 阿夫罗摩辛 (6), 圆荚草双糖苷 (7) 和丰城鸡血藤异黄酮苷 B (8)。化合物 1 为新化合物, 化合物 3~5 和 7 为首次从本属植物中分离得到, 2 为首次从本植物中分离得到。

关键词: 丰城鸡血藤; 异黄酮; 丰城鸡血藤异黄酮苷 F

中图分类号: R284.1; R284.2

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2009) 02-0158-04

Isoflavones from *Millettia nitida* var. *hirsutissima*

XIANG Cheng, CHENG Jun, LIANG Hong*, ZHAO Yu-ying, FENG Jie

(Department of Natural Medicines, School of Pharmaceutical Sciences, Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China)

Abstract: To study the chemical constituents of *Millettia nitida* var. *hirsutissima*, the constituents were isolated by chromatographic techniques, and structures were identified by spectroscopic methods. Eight isoflavones were isolated and identified, including a new compound, hirsutissimide F (1), and seven known compounds, formononetin (2), ononin (3), odoratin 7-*O*- β -D-glucopyranoside (4), lanceolarin (5), afromosin (6), sphaerobioside (7), and hirsutissimide B (8). Compounds 3, 4, 5 and 7 were isolated from the genus *Millettia* for the first time, 2 was obtained from this plant for the first time.

Key words: *Millettia nitida* var. *hirsutissima*; isoflavones; hirsutissimide F

丰城鸡血藤为豆科植物丰城崖豆藤 *Millettia nitida* var. *hirsutissima* 的根或藤茎, 有活血、补血、通络之功效。主治肢体麻木、瘫痪、腰膝酸痛、月经不调、贫血, 为《江西中药材标准》收录品种, 是药典收载鸡血藤的地方代用品。前期研究表明: 丰城鸡血藤的总提取物具有抑制ADP诱导的血小板聚集作用, 从中分离得到异黄酮、二氢黄酮、异黄酮和紫檀素类成分^[1-3]。为建立丰城鸡血藤质量控制方法提供对照品, 同时进一步研究丰城鸡血藤抗血小板聚集活性, 本研究在HPLC指导下用溶剂法和色谱法从 95%乙醇

提取物的乙酸乙酯和正丁醇萃取物中分离得到 8 个异黄酮类化合物, 用波谱方法鉴定了结构, 分别为丰城鸡血藤异黄酮苷 F (1)、芒柄花素 (2)、芒柄花苷 (3)、奥刀拉亭 7-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 (4)、澳白檀苷 (5)、阿夫罗摩辛 (6)、圆荚草双糖苷 (7) 和丰城鸡血藤异黄酮苷 B (8) (图 1)。化合物 1 为新化合物, 化合物 3~5 和 7 为首次从本属植物中分离得到, 2 为首次从本植物中分离得到, 化合物 6^[2]和 8^[1]曾从该植物中分离得到。

化合物 1 无色片状结晶 (丙酮-水), mp 176~179 °C; $[\alpha]_D^{25}$ -42.7° (c 0.75, H₂O)。UV $\lambda_{\max}$ (MeCN): 260 nm, ¹H NMR 谱显示特征质子信号 δ 8.47 (1H, s, H-2), ¹³C NMR 谱显示特征碳信号 δ 180.8 (C-4)、155.6 (C-2) 和 122.4 (C-3), 表明该化合物为异黄酮类化合

收稿日期: 2008-10-29.

基金项目: 国家自然科学基金重点资助项目(20432030); 长江学者和创新团队计划资助项目(985-2-063-112).

*通讯作者 Tel: 86-10-82801592, E-mail: nmechem@bjmu.edu.cn

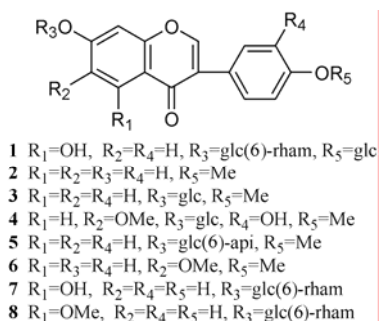


Figure 1 The structures of compounds 1–8

物。 1H NMR 谱显示低场羟基质子信号 δ 12.84 (1H, s) 为 5-OH; 一组 AA'BB' 偶合芳香质子信号 δ 7.52 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-2', 6'), 7.11 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-3', 5'), 表明 B 环为 4'-取代; 另有一组间位偶合质子信号 δ 6.74 (1H, d, $J = 2.4$ Hz) 和 6.45 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 表明 A 环为 5, 7-二取代; 在 δ 3.0~5.5 有一些与氧相连的质子信号和连氧碳上的质子信号, ^{13}C NMR 谱在 δ 60~80 显示 14 个碳信号, 参考 H 的积分和化合物的极性, 推测该化合物可能是三糖苷, 水解 **1** 得到苷元和糖, 将得到的糖与标准葡萄糖和鼠李糖共薄层, Rf 值相同, 1H NMR 谱显示 δ 1.10 (3H, d, $J = 6.3$ Hz) 质子信号, 提示可能有一个鼠李糖基和两个葡萄糖基。分析 1H NMR、 ^{13}C NMR、HMQC 和 HMBC 数据, 归属了全部 1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据 (表 1)。通过分析 HMBC 相关确定苷元结构为 5, 7, 4'-三羟基异黄酮 (相关关系见图 2), HMBC 显示一个葡萄糖端基质子信号 δ 5.03 (1H, d, $J = 8.7$ Hz) 与苷元 7 位碳信号 δ 163.3 相关, 另一个葡萄糖端基质子信号 δ 4.92 (1H, d, $J = 7.5$ Hz) 与苷元 4' 位碳信号 δ 157.7 相关; 鼠李糖端基质子信号 δ 4.53 (1H, br s) 与一个葡萄糖的 6 位碳信号 δ 66.8 相关, 故确定 **1** 为双糖链苷, 根据糖的端基氢偶合常数和 ^{13}C NMR 数据及不同构型糖的天然存在丰度, 确定糖基为 β -D-葡萄糖和 α -L-鼠李糖, 即一个糖链为 α -L-吡喃鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-吡喃葡萄糖, 另一为 β -D-吡喃葡萄糖。为了确定糖链与苷元的连接位置, 测定了 1D TOCSY 谱, 选择性照射与鼠李糖连接的葡萄糖的 6 位氢信号 δ 3.86, 发现它和端基质子 δ 5.03 处于一个自旋体系中, 而该端基质子与苷元 7 位碳相关, 说明 α -L-吡喃鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- O - β -D-吡喃葡萄糖与苷元 7 位相连, 则另一葡萄糖与 4' 位连接。最终确定化合物 **1** 为染料木素 7- O -[(α -L-吡喃鼠李糖基)-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-吡喃葡萄糖基]-4- O - β -

D-glucopyranoside)。化合物 **1** 的 HR-ESI-MS 给出准分子离子峰 741.225 1 $[M+H]^+$ 和 763.205 8 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{33}H_{40}O_{19}$, 进一步证明以上结构正确。**1** 为新化合物, 命名为丰城鸡血藤异黄酮苷 F (hirsutissimide F)。

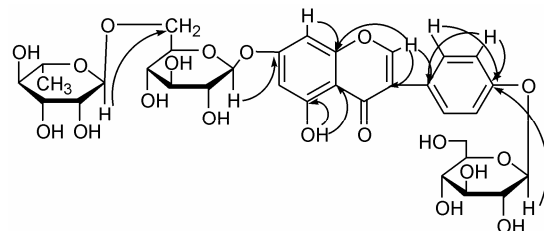


Figure 2 The structure and key HMBC of compound 1

Table 1 1H NMR and ^{13}C NMR spectral data of compound 1 (DMSO- d_6)

No.	^{13}C NMR	1H NMR	HMBC
2	155.6	8.47 (s)	C-1', 3, 4, 9
3	122.4		
4	180.8		
5	161.9		
6	100.2	6.45 (d, 2.4)	C-5, 7, 8, 10
7	163.3		
8	95.1	6.74 (d, 2.4)	C-6, 7, 9, 10
9	157.7		
10	106.5		
5-OH		12.84 (s)	C-5, 6, 10
1'	124.4		
2'	130.4	7.52 (d, 8.7)	C-3, 4', 6'
3'	116.4	7.11 (d, 8.7)	C-1', 4', 5'
4'	157.7		
5'	116.4	7.11 (d, 8.7)	C-1', 3', 4'
6'	130.4	7.52 (d, 8.7)	C-3, 2', 4'
7-Glc 1	100.3	5.03 (d, 8.7)	C-7
2	73.4		
3	76.9		
4	70.7		
5	76.0		
6	66.8	3.86 (m), 3.39 (m)	
Rha 1	101.0	4.53 (br s)	C-6''
2	70.1		
3	70.3		
4	72.5		
5	68.8		
6	18.3	1.10 (d, 6.3)	
4'-Glc 1	100.6	4.92 (d, 7.5)	C-4'
2	73.6		
3	77.0		
4	71.1		
5	77.4		
6	61.1		

实验部分

X₄ 型显微熔点仪, 温度计未校正; ¹H NMR 和 ¹³C NMR 谱由 VXR-300 型核磁共振波谱仪测定, TMS 为内标; 薄层色谱和柱色谱硅胶均为青岛海洋化工厂产品; Sephadex LH-20 为 Pharmacia 产品。

丰城鸡血藤药材于 2004 年 4 月采自江西丰城, 由北京大学药学院天然药物学系陈虎彪教授鉴定为豆科崖豆藤属植物丰城崖豆藤 *Millettia nitida* var. *hirsutissima*。

1 提取分离

丰城鸡血藤茎粗粉 13 kg, 用 10 倍量的 95% 乙醇渗漉提取, 减压回收溶剂, 提取物用水混悬, 依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取, 分别得到石油醚萃取物 (80.0 g)、乙酸乙酯萃取物 (125.0 g)、正丁醇萃取物 (380.0 g)。

正丁醇萃取物 (380.0 g) 经硅胶柱色谱分离, 氯仿-甲醇-水 (65:35:10) 洗脱, 得到 5 个部分 (Fr.1~Fr.5)。Fr.1 (24.7 g) 经硅胶柱色谱分离, 氯仿-丙酮 (10:1) 洗脱, 并经 Sephadex LH-20 柱色谱纯化, 丙酮-水 (1:1) 洗脱得到化合物 2 (210 mg) 和 6 (300 mg); Fr.2 (37.6 g) 经硅胶柱色谱分离, 氯仿-甲醇 (8:1) 洗脱, 再经 Sephadex LH-20 柱色谱和 RP-18 柱色谱分离, 分别用甲醇和 20%~60% 乙腈洗脱得到化合物 3 (40 mg)、4 (8 mg) 和 5 (30 mg); Fr.4 (40.0 g) 经硅胶柱色谱分离, 乙酸乙酯-乙醇-水梯度洗脱, 再经 Sephadex LH-20 柱色谱分离, 甲醇洗脱得到化合物 7 (630.0 mg) 和 8 (830.0 mg)。Fr.5 (40.0 g) 经 HP-20 大孔吸附树脂柱色谱分离, 乙醇-水梯度洗脱, 20% 乙醇洗脱物再经 Sephadex LH-20 柱色谱和 RP-18 柱色谱分离, 得到化合物 1 (38.0 mg)。

2 结构鉴定

化合物 1 无色片状结晶 (丙酮-水), mp 176~179 °C; $[\alpha]_D^{25} -42.7^\circ$ (c 0.75, H₂O)。UV (MeCN) $\lambda_{\max}$: 260 nm, ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据见表 1。

化合物 2 无色针晶, mp 252~253 °C, UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ): 248 (0.73), 300 (0.30); NaOAc: 254 (0.77)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.71 (1H, s, OH), 8.35 (1H, s, H-2), 7.97 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-5), 7.51 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, H-2', 6'), 6.99 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, H-3', 5'), 6.94 (1H, dd, *J* = 8.7, 2.1 Hz, H-6), 6.88 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-8), 3.79 (3H, s, OCH₃)。以上数据与文献^[4]报道芒柄花素 (formononetin) 数据一致。

化合物 3 白色粉末, mp 220~221 °C, UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ nm: 260.5, 287.0。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.45 (1H, s, H-2), 8.06 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-5), 7.54 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-2', 6'), 7.25 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-8), 7.15 (1H, dd, *J* = 9.0, 2.1 Hz, H-6), 7.01 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-3', 5'), 5.11 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, glc H-1''), 3.79 (3H, s, OCH₃)。¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 153.7 (C-2), 124.0 (C-3), 174.7 (C-4), 127.0 (C-5), 115.6 (C-6), 161.4 (C-7), 103.4 (C-8), 157.1 (C-9), 118.4 (C-10), 123.4 (C-1'), 130.1 (C-2', 6'), 113.6 (C-3', 5'), 159.0 (C-4'), 100.0 (C-1''), 73.1 (C-2''), 76.4 (C-3''), 69.6 (C-4''), 77.2 (C-5''), 60.2 (C-6''), 55.2 (OCH₃)。以上数据与文献^[4]报道芒柄花苷 (ononin) 数据一致。

化合物 4 白色粉末, mp 221~223 °C, UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ): 219 (4.14), 262 (4.05), 319 (3.67)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 9.04 (1H, s, OH), 8.39 (1H, s, H-2), 7.48 (1H, s, H-5), 7.33 (1H, s, H-8), 7.06 (1H, s, H-2'), 6.97 (2H, s, H-5', 6'), 5.18 (1H, d, *J* = 7.0 Hz, glc H-1''), 3.89 (3H, s, OCH₃-6), 3.80 (3H, s, OCH₃-4')。¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 151.5 (C-2), 123.0 (C-3), 174.3 (C-4), 104.7 (C-5), 147.5 (C-6), 151.2 (C-7), 103.4 (C-8), 151.5 (C-9), 117.8 (C-10), 124.7 (C-1'), 116.4 (C-2'), 146.0 (C-3'), 147.5 (C-4'), 111.9 (C-5'), 119.7 (C-6'), 99.6 (C-1''), 73.0 (C-2''), 77.2 (C-3''), 69.6 (C-4''), 76.8 (C-5''), 60.6 (C-6''), 55.8 (OCH₃), 55.7 (OCH₃)。以上数据与文献^[5,6]报道奥刀拉亭 7-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 (odoratin 7-*O*- β -D-glucopyranoside) 数据一致。

化合物 5 白色针晶, mp 190~192 °C; UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ): 210.0 (0.952), 261.0 (1.428), 323.5 (0.225)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.90 (OH-5), 8.44 (1H, s, H-2), 7.52 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2', 6'), 7.02 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3', 5'), 6.75 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, H-8), 6.48 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, H-6), 5.03 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, glc H-1), 4.80 (1H, d, *J* = 3.0 Hz, api H-1)。¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 155.0 (C-2), 122.8 (C-3), 180.5 (C-4), 163.0 (C-5), 99.7 (C-6), 161.6 (C-7), 94.6 (C-8), 157.2 (C-9), 106.1 (C-10), 122.2 (C-1'), 130.2 (C-2', 6'), 113.8 (C-3', 5'), 159.2 (C-4'), 99.8 (glc C-1''), 73.0 (C-2''), 78.7 (C-3''), 69.9 (C-4''), 76.4 (C-5''), 67.6 (C-6''), 109.3 (api C-1'''), 75.9 (C-2'''), 75.6 (C-3'''), 73.3 (C-4'''), 63.2 (C-5''')。以上数据与文献^[7]报道澳白檀苷 (lanceolarin) 数据一致。

化合物 7 白色粉末, 不溶于甲醇、乙醇、水等常规溶剂, 溶于四氢呋喃水溶液。 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 12.89 (OH-5), 9.63 (OH-4'), 8.41 (1H, s, H-2), 7.40 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2', 6'), 6.83 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3', 5'), 6.73 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-8), 6.44 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-6), 5.03 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, glc H-1''), 4.52 (1H, br s, rha H-1'''). ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 154.5 (C-2), 121.1 (C-3), 180.5 (C-4), 157.5 (C-5), 99.7 (C-6), 161.5 (C-7), 94.6 (C-8), 157.2 (C-9), 106.2 (C-10), 122.4 (C-1'), 130.2 (C-2', 6'), 115.1 (C-3', 5'), 162.8 (C-4'), 100.7 (glc C-1''), 73.0 (C-2''), 76.5 (C-3''), 70.0 (C-4''), 75.6 (C-5''), 66.4 (C-6''), 99.9 (rha C-1'''), 70.3 (C-2'''), 70.7 (C-3'''), 72.1 (C-4'''), 68.4 (C-5'''), 17.9 (C-6'''). 薄层酸水解检出葡萄糖和鼠李糖。苷元部分碳谱数据与文献^[8]一致, 糖部分碳谱数据与文献^[9]一致, 故确定化合物 **7** 为圆荚草双糖苷 (sphaerobioside), 即 5, 7, 4'-三羟基异黄酮-7- O - α -L-吡喃鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- O - β -D-吡喃葡萄糖苷。

References

- [1] Cheng J, Zhao YY, Wang B, et al. Flavonoids from *Millettia nitida* var. *hirsutissima* [J]. Chem Pharm Bull, 2005, 53: 419–421.
- [2] Feng J, Xiang C, Liang H, et al. Chemical constituents of isoflavones from vine stems of *Millettia nitida* var. *hirsutissima*. [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2007, 32: 321–322.
- [3] Feng J, Liang H, Zhao YY, et al. Flavonoids from *Millettia nitida* var. *hirsutissima* [J]. J Chin Pharm Sci (中国药学 英文版), 2006, 15: 178–181.
- [4] Dou H, Fu TJ, Zhang F, et al. Chemical constituents of Huangqi injection [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2002, 14: 14–17.
- [5] Vellozo LSM, Da Silva BP, Bernardo RR, et al. Odoratin 7- O - β -D-glucopyranoside from *Bowdichia virgilioides* [J]. Phytochemistry, 1999, 52: 1473–1477.
- [6] Song CQ, Zheng ZR, Liu D, et al. Isoflavones from *Astragalus membranaceus* [J]. Acta Bot Sin (植物学报), 1997, 39: 764–768.
- [7] Rao PS, Asheervadam Y, Khalilullah M, et al. A revised structure for the isoflavone lanceolarin [J]. Phytochemistry, 1989, 28: 957–958.
- [8] Tang YP, Lou FC, Wang JH, et al. Four new isoflavone triglycosides from *Sophora japonica* [J]. J Nat Prod, 2001, 64: 1107–1110.
- [9] Ma WG, Fukushi Y, Hostettmann K, et al. Isoflavonoid glycosides from *Eriosema tuberosum*, Phytochemistry [J]. 1998, 49: 251–254.