

# 大豆提取物中异黄酮苷的 NMR 指纹图谱分析

文瑞芝<sup>①</sup> 谭英<sup>a</sup> 黄娟娟<sup>b</sup>

(中南林学院理学院 湖南省株洲市 412006)

<sup>a</sup> 湖南长沙卷烟厂科研所 长沙市 410014)

<sup>b</sup> (湖南省公安高等专科学校技术系 长沙市 410006)

**摘要** 通过对大豆提取物 SOB 的<sup>1</sup>H-NMR 谱的特征指纹图谱分析, 确定了染料木苷、大豆苷和大豆黄酮的质子信号归属和对应三种苷元的理论质量相对百分含量, 为混合物提供了一种有效的图谱分析及定量分析方法。

**关键词** 染料木苷, 大豆苷, 大豆黄酮, 大豆提取物, 核磁共振氢谱。

中图分类号: O657.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-8138(2006)03-0450-04

## 1 引言

大豆异黄酮是大豆主要生理活性成分之一, 具有降血脂, 预防乳腺癌, 减轻更年期症状与预防骨质疏松症等功能<sup>[1-4]</sup>。目前发现的大豆异黄酮共有 12 种, 分为游离苷元(Aglycon)和结合型糖苷(Gluconside)两类, 其中糖苷为主要存在形式。大豆提取物(SOB)是大豆经提取的粗产物, 大豆异黄酮含量不一, 本研究工作所用的 SOB 中约含总异黄酮 20%, 其他为植物蛋白、糖类物质、酯类等多种成分, 而异黄酮也主要是以糖苷形式存在的。本文对该 SOB 不经任何前处理, 直接测定<sup>1</sup>H-NMR 谱, 经指纹图谱分析, 成功归属了大豆异黄酮苷的质子信号, 并对三者对应的苷元进行了定量分析。目前国内关于利用<sup>1</sup>H-NMR 谱实现对 SOB 中 3 种大豆异黄酮苷的指纹峰归属及其相对定量分析研究, 报道较少。

## 2 实验部分

### 2.1 仪器及试剂

INOVA-500 超导傅里叶变换核磁共振仪(美国 Varian 公司)。

氘代二甲亚砜[DM SO-D<sub>6</sub>, 99.9atom% D, 内含 0.03% 的四甲基硅烷(TMS)]。中国科学院武汉波谱公司。

### 2.2 样品制备

取适量待测样品溶于氘代二甲亚砜中, 加入微量 TMS 作为参考, 质子谱共振频率 500 MHz, 测核磁共振氢谱。

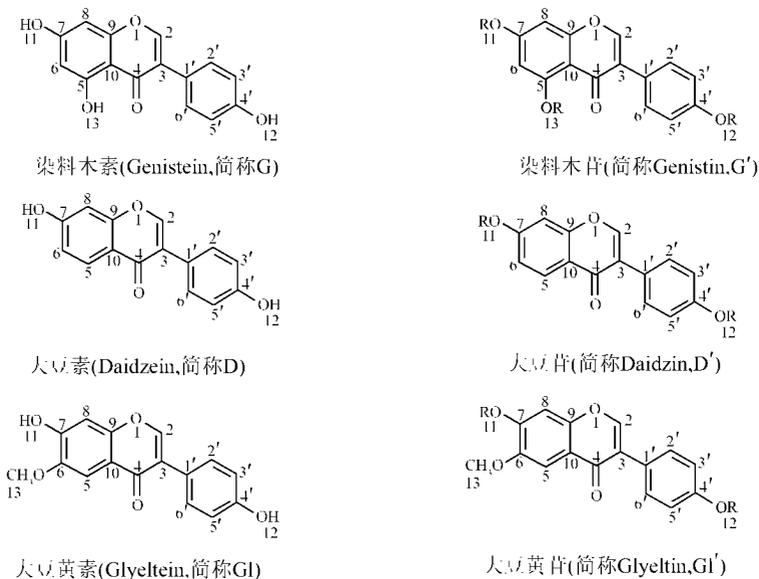
① 联系人, 手机: (0) 13787121542; E-mail: zengdongwenzhi@126.com

作者简介: 文瑞芝(1978—), 女, 湖南省益阳市人, 助教, 主要从事植物药有效成分的提取, 分离及其指纹图谱研究。

收稿日期: 2005-11-15; 接受日期: 2005-12-20

### 3 结果与讨论

#### 3.1 3 种异黄酮苷元及糖苷的结构特征分析



G 和 G' 环上有 3 组自旋系统,即 AX-AA'BB'和 A<sub>1</sub>, D 与 D' 环上也有 3 组自旋系统,即 AMX-AA'BB'和 A<sub>1</sub>, GI 与 GI' 环上有 4 组自旋系统,即一组 AA'BB'和 3 组 A<sub>1</sub>。芳环(或烯键)质子的特殊位移值及特征的 AMX-AA'BB'、AX、A<sub>1</sub> 自旋系统奠定了对 SOB 样品复杂的<sup>1</sup>H-NMR 谱特征指纹分析的重要的理论基础。

#### 3.2 <sup>1</sup>H-NMR 谱特征指纹分析

由图 1 和图 2 可知,  $\delta$  2.8—6.2 之间的复杂的多重峰, 这是异黄酮糖苷结构中糖基上及其他类物质的次甲氧基、—OCH<sub>2</sub>—、—OCH<sub>3</sub> 的共振吸收峰。 $\delta$  2.4—0.6 为其他类物质的一CH<sub>2</sub>—、—CH<sub>3</sub> 的共振吸收峰。由于糖基各次甲氧基、—OCH<sub>2</sub>—、—OCH<sub>3</sub> 缺乏特征性, 又与其他物质的共振峰重叠, 故难以做出明确的归属。但  $\delta$  3.888(3H, S) 符合 GI' 结构中 H-13(OCH<sub>3</sub>) 的特征共振吸收峰。 $\delta$  8.391(1H, S)、 $\delta$  8.351(1H, S) 和  $\delta$  8.281(1H, S) 依次为染料木苷、大豆苷和大豆黄苷的 H-2;  $\delta$  8.053(1H, D, 9.0 Hz) 为大豆苷的 H-5;  $\delta$  7.494(1H, S) 为大豆黄苷的 H-5;  $\delta$  7.410—7.363(6H, M) 为 3 种糖苷上的 H-2' 和 H-6';  $\delta$  6.851—6.804(6H, M) 为 3 种糖苷上的 H-3' 和 H-5'。由于 3 种糖苷的

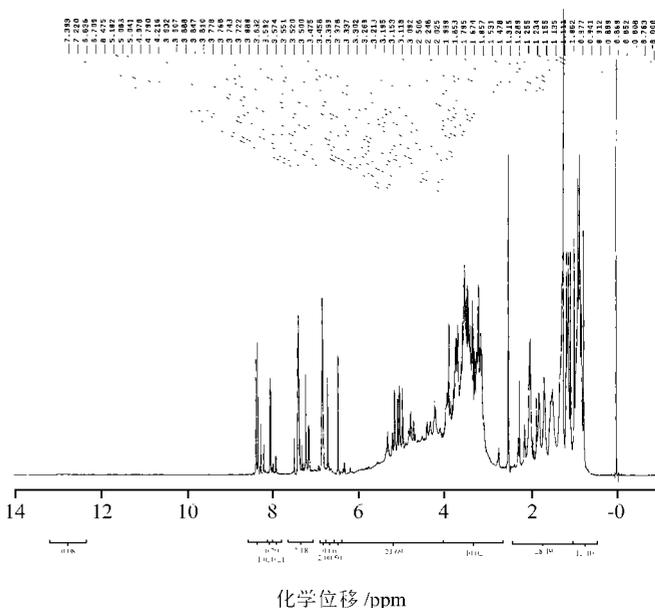
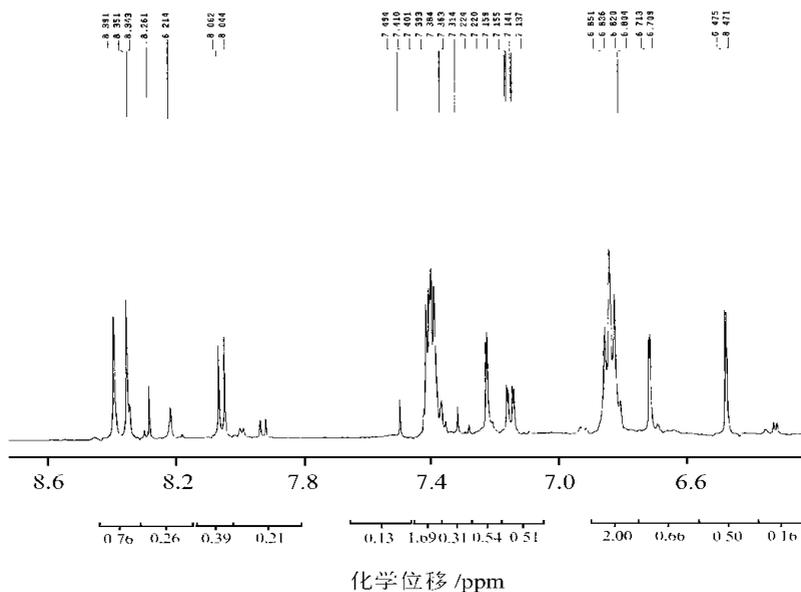


图 1 <sup>1</sup>H-NMR 谱

单元结构相同,都是典型的 AA'BB'对二取代苯自旋体系,导致相似峰重叠。 $\delta$  7.222(1H, D, 2.0 Hz)为大豆苷的 H-8;  $\delta$  7.148(1H, DD, 9.0 Hz, 2.0 Hz)为大豆苷的 H-6;  $\delta$  6.711(1H, D, 2.0 Hz)为染料木苷的 H-8。归属结果见表 1。

表 1  $^1\text{H-NMR}$  谱信息及归属

峰号	化学位移	峰形*	归属	耦合常数(Hz)
1	8.391	S	H-2(G')	
2	8.351	S	H-2(D')	
3	8.281	S	H-2(G'')	
4	8.053	D	H-5(D')	9.0
5	7.494	S	H-5(GI)	
6	7.410—7.363	M	H-2'6'(G', D', G'')	
7	7.222	D	H-8(D')	2.0
8	7.148	DD	H-6(D')	9.0, 2.0
9	6.851—6.804	M	H-3', 5'(G', D', G'')	
10	6.711	D	H-8(G')	2.0
11	6.473	D	H-6(G')	2.0
12	3.888	S	H-13(GI')	

图 2  $^1\text{H-NMR}$  扩展谱( $\delta$  8.5—6.4)

### 3.3 定量分析

由三元混合物的相对含量计算公式计算 3 种成分的相对质量百分含量<sup>[5-6]</sup>。

$$\frac{P_1M_1}{P_1M_1 + P_2M_2 + P_3M_3} \times 100\% \quad \text{其中 } P_1 = \frac{m_1}{m_1 + m_2 + m_3} = \frac{\frac{A_1}{n_1}}{\frac{A_1}{n_1} + \frac{A_2}{n_2} + \frac{A_3}{n_3}}$$

式中  $m_1$ 、 $m_2$ 、 $m_3$  分别为 3 组分摩尔数,  $P_1$ 、 $P_2$ 、 $P_3$  分别为 3 组分的摩尔分数,  $M_1$ 、 $M_2$ 、 $M_3$  分别为 3 组分的摩尔质量,  $A_1$ 、 $A_2$ 、 $A_3$  分别为 3 组分的积分面积,  $n_1$ 、 $n_2$ 、 $n_3$  分别为被积信号包含的质子数。

由于 SOB 中 3 种异黄酮糖苷的具体摩尔质量未知,因此本文研究的是对应苷元的理想相对百分含量。由于  $\delta$  8.053[H-5](大豆素)、 $\delta$  6.473[H-6](染料木素)、 $\delta$  7.494[H-5](大豆黄素)分别为

各甙元结构中无干扰特征共振吸收峰, 因此以其相应的积分值作为三者定量分析的依据, 对应积分值  $A$  分别为 0.39、0.5、0.13。  $n$  都为 1。根据该公式求得: 染料木素 49.82%, 大豆素 36.56%, 大豆黄素 13.62%。

## 4 结论

通过特征指纹图谱分析 SOB 不经任何前处理测定的  $^1\text{H-NMR}$  谱, 成功归属了 3 种大豆异黄酮糖苷的质子信号, 并确定了它们的相对质量百分含量。该方法没有破坏原样品中各组分的结构及相对含量, 方法简便、快捷、数据可靠。

## 参考文献

- [1] 毛峻琴, 宓鹤鸣. 大豆异黄酮的研究进展[J]. 中草药, 2000, 31(1): 61—64.
- [2] 李小满. 大豆异黄酮分子结构、生物活性及其市场现状[J]. 中国食品添加剂, 2002, (2): 66—71.
- [3] Chiang W D, Shih C J, Chu Y H. Optimization of Acid Hydrolysis Conditions for Total Isoflavones Analysis in Soybean Hypocotyls by Using RSM[J]. *Food Chemistry*, 2001, (72): 499—503.
- [4] 王春娥, 刘叔义. 大豆异黄酮的成分、含量及特性[J]. 食品科学, 1998, 19(4): 39—43.
- [5] 马丹, M L 等. 实用核磁共振波谱学[M]. 北京: 科学出版社, 1987. 246—252.
- [6] 易大年, 徐光漪. 核磁共振波谱—在药物分析中的应用[M]. 第 1 版. 上海: 科学技术出版社, 1985. 293—298.

## NMR Fingerprint Analysis of SOB Isoflavone Glucoside

WEN Rui-Zhi TAN Ying<sup>a</sup> HUANG Juan-Juan<sup>b</sup>

(College of Science of Central South Forestry University, Zhuzhou, Hunan 412006, P. R. China)

<sup>a</sup> Department of Scientific Reserch, Changsha Cigarette Eactory, Changsha 410014, P. R. China)

<sup>b</sup> Department of Public Security Science and Technology, Hunan Public Security College, Changsha 410006, P. R. China)

**Abstract** By the fingerprint analysis of SOB's  $^1\text{H-NMR}$ , the signal assignments of three glucosides and the mass percentages of three aglycons were obtained. It is a useful method for the fingerprint and quantitative analysis of mixture.

**Key words** Genistin, Daidzin, Glyeltin, SOB,  $^1\text{H-NMR}$ .

### 邮票上的化学、光学和光谱学史》彩色抽印本(收藏本) 赠送启事 ——致本刊作者联系人和长期订户

为答谢作者和长期订户对本刊的支持, 《光谱实验室》2006 年第 1 期发表的《邮票上的化学、光学和光谱学史》还印有少量彩色抽印本(收藏本), 用以赠送本刊作者联系人和长期订户(订阅本刊 1 年以上者), 邮资自付。愿意接受赠阅者, 请来信说明下列情况之一: (1) 您在本刊发表的论文的年(卷)、期和页码; (2) 您何时订阅本刊并附上发票复印件。每 1 篇论文的联系人和每 1 订户赠阅 1 册。每册付邮资 5 元, 其中含挂号费 3 元。

邮资请务必用邮票支付, 即将邮票 5 元装入信封中, 邮寄到本刊联络处, 地址: 北京市 81 信箱 66 分箱 刘建林, 邮编: 100095。赠送截止日期: 2006 年 6 月 30 日。

不属于上述赠送范围之内者, 亦可购买, 售价 30 元/册。

购款仍用邮票支付, 方法同上。

汇款时请务必告知收件人姓名和详细地址, 以便邮寄。

《光谱实验室》编辑部

2006 年 5 月 25 日