由槐米中提取槲皮素的光谱学表征

林天乐 严宝珍 胡高飞 王梅

(北京化工大学理学院 北京市北三环东路 15 号北京化工大学 89# 信箱 100029)

摘 要 从槐树(Sqphara Japonica L.)的花蕾(槐米)中提取芦丁,再在酸性条件下由芦丁直接水解得 到槲皮素,采用 UV, IR, ESI-MSⁿ[质谱(电喷雾电离源)],¹H,¹³C, DEPT(无畸变极化转移增益法)和¹H-¹H COSY(氢-氢化学位移相关谱), HSQC(异核单量子相关谱), HMBC(异核多键相关谱)二维核磁技术对槲 皮素进行了结构鉴定。

关键词 槲皮素,二维核磁。

中图分类号: O657. 61 文献标识码: A 文章编号: 1004-8138(2006) 03-0431-04

1 前言

槲皮素(Quercetin)亦称栎精、槲皮黄素,是黄酮醇的一种代表性化合物,其化学名为3,3',4', 5,7-五羟基黄酮(3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone)。它以糖酐的形式广泛存在于包括槐米在内的 各种植物的果实、叶、茎、根等各种组织,是食品和中草药的一种重要的生理活性物质。槲皮素进入 体内可以与蛋白质发生相互作用,具有扩张冠状血管,降低血脂,抗血小板聚集,抗炎、抗过敏等多 种生物活性及药理作用,槲皮素及其衍生物在医药、食品、化妆品等领域具有广泛的应用前景。

本文采用碱溶酸沉法^[1]从槐树(Sophara Japonica L.)的花蕾(槐米)中提取芦丁,再在酸性条件下由芦丁直接水解得到槲皮素粗品,经乙醇反复重结晶得到槲皮素纯品。并综合UV-Vis、IR、ESI-MS^{n、1}H NMR、¹³C NMR、DEPT-135(无畸变极化转移增益法)、DQF-COSY(双量子滤波氢-氢化学位移相关谱)、HSQC(异核单量子相关谱)、HMBC(异核多键相关谱)详细分析了槲皮素分子的结构(见图 1)。



图 1 槲皮素的结构式

作者简介:林天乐(1978—),男,湖北省荆州市人,硕士研究生,从事波谱学研究。

收稿目期92025212106(括常日期c2005-11-c19)ournal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.c

¹ 联系人,电话:(010)64421755;手机:(0)13811500947;E-mail:yanbz1941@163.com

2 实验部分

2.1 样品与仪器

按文献报道采用碱溶酸沉法提取芦丁,再在酸性条件下由芦丁直接水解得到槲皮素粗品,经乙 醇反复重结晶得到槲皮素纯品。

UV: HITACHI U-3010 紫外可见光谱仪(日本日立公司); MS: Waters Quattro premier 串联四 极杆质谱仪(美国Water 公司), 电喷雾电离源(ESI); IR: Bruker Vector 22 红外光谱仪(德国Bruker 公司)(KBr 压片); NMR: Bruker Avance 600 液体核磁共振谱仪(瑞士 Bruker 公司), 5mm 梯度场宽带正相探头。¹H 观测频率为 600.13MHz, ¹³C 观测频率为 150.92MHz。 2.2 实验条件

MS 测试条件: 电喷雾电离源(ESI); 扫描范围: m/Z 100-500; 扫描方式: 全扫描, 子离子扫描; 毛细管电压: 3kV; 锥孔电压(Cone): 50V; 碰撞能量(CE): 2.54×10⁶eV; 碰撞室压力: 2.5×10⁻³Pa。

NMR 测试条件: 槲皮素纯品用 DMSO-d6 作溶剂, 氢谱以 TMS 为内标, 碳谱以二氧六环(D= 67) 为内标。¹H 谱采样谱宽 8389. 262Hz; ¹³C 谱采样谱宽 36231. 883MHz。二维谱包括 COSY、 HSQC、HMBC 谱, 采用标准脉冲程序。HSQC、HMBC 谱按¹J = 140Hz、ⁿJ = 9Hz 确定相关参数, 其 谱宽分别为 4496. 403Hz×18109. 152Hz 和 4496. 403Hz×18110. 021Hz, 采样数据点阵分别为 1024 ×128(充零至 F2×F1= 1024×512 行 FT 变换, 每个 t1 增量的累加次数为 8 次) 和 2048×512(充 零至 F2×F1= 1024×512 进行 FT 变换, 每个 t1 增量的累加次数为 16 次^[2,3], 混合时间 0. 0625s); COSY 谱谱宽为 4496. 403Hz×4496. 396Hz, 采样数据点 1024×128(充零至 F2×F1= 1024×512 进行 FT 变换, 每个 t1 增量的累加次数为 16 次); 测试温度均为 300K。

3 结果与讨论

3.1 紫外-可见光光谱表征

槲皮素在 375nm 和 255nm 有两个吸收峰,分别属于 n→P^{*} (A 环)电子跃迁和 P→P^{*} (B 环) 电子跃迁,分别对应两个生色团组成: 375nm 吸收带由肉桂酰生色团产生,为 I 带;250nm 吸收带由苯甲酰生色团产生,为 II带。所制得槲皮素纯品溶于甲醇,其浓度为:4.0×10⁻⁵mol/L。

3.2 红外光谱表征

槲皮素分子主要官能团红外吸收归属: M=o 1665cm⁻¹; M=c3 1611cm⁻¹; M=-он 1451cm⁻¹; Dc3-он 1383cm⁻¹; M-о雨 1201cm⁻¹; Mон 3408cm⁻¹。

3.3 质谱表征

所制得槲皮素纯品做质谱,进样方式为 直接进样,离子源为电喷雾电离源,正离子检 测模式:[M+1]⁺ m/Z 303 并对质量数 m/Z "" 303 做二级质谱分别得到[M-18]⁺ m/Z 285; [M-29]⁺ m/Z 274(特征分裂); m/Z 153; m/Z 137。质谱碎裂机制及各个峰的归属如图 2 所示:



3.4 核磁表征

槲皮素样品的¹³C NMR 谱和 DEPT-135 谱显示共有 15 个碳信号其中 10 个季碳包括 1 个羰基,5 个次甲基。集中在 90—180ppm 的区域,并在 D 176. 3ppm 出现明显的(C == O)信号。说明该化 合物只是简单的黄酮甙元,为典型的 C6—C3—C6 的骨架结构,且没有甲氧基取代。¹H NMR 谱给 出 5 个次甲基信号的6.18(d,j=2005H2)、6.20(d,j=2005H2)、7.67(d,j=2005H2)、6.88(d,j=2005H2), 6.88(d,j=2005H2), 6.88(d,j=2

= 8.45Hz)、7.54(dd, J = 8.45Hz, 2.30Hz)。由耦合常数值和¹H-¹H COSY 谱图 H6 /和 H5 /处于芳环 邻位。H2 /和 H6 /, H8 和 H6 处于芳环间位位置。D₁12.48、D10.75、D⁰.55、D⁰.31、D⁰.2处的单峰,结合 HSQC 谱图分析,均为活泼氢的信号,做重水交换实验,上述氢的信号均消失,也证明该处为活 泼氢的吸收。通过碳-氢单量子相关谱(HSQC)得到对应碳信号 D⁰ 97.9、93.2、114.7、114.9、120.4。可以依次归属 5 个次甲基碳 C6、C8、C2′、C5′和 C6。

在质子信号归属的基础上,由 HSQC 谱图给出直接相连碳氢的信息,对次甲基碳信号进行归属。槲皮素除羰基碳外还有 9 个季碳。这些季碳信号均位于芳香环上,信号较为集中,需要 HMBC 谱图对其进行准确归属。同时,根据 A 环和 B 环羟基取代的类型,可以利用 HMBC 谱图给出的远程碳氢相关信息,对各个取代位置的羟基信号进行归属^[4]。

如图 3 HMBC 谱图从 C8 (D93. 2ppm) 出 发,与之有远程相关的羟基质子信号 (D10.75ppm) 应为 7-OH;从 C6(D98. 7ppm) 出发,与之有远程相关的羟基质子信号 80 (D10.75ppm和D12.48ppm)所以D12.48ppm应 为 5-OH。同样从 C2 '(D115.6ppm)和 C5' (D116.1ppm) 出发,发现 3 '-OH (D9.26ppm) 和 4'-OH (D9.55ppm)对应的质子信号,从 C4 [140 (D176.3ppm)羰基碳出发,与之有远程相关的 羟基质子信号(D9.32ppm)应为 3-OH。

HMBC 谱观察到 H6 与 C8、C10、C5、C7 有远程相关, 7-OH 质子与 C8、C6、C7 有远程 相关,从而确定 C5 (D161. 2ppm)、C7 (D164. 4ppm)和 C10(D103. 5ppm)的化学位 移。按照同样的方法完成对其余 6 个季碳原 子信号的归属。



图 3 槲皮素的 HMBC 谱

综合应用 1D、2D NMR 谱完成槲皮素¹H 和¹³C 谱线的全归属。详细数据见表 1。

| 原子序号 | D_{C} | D _H 和峰型 | 'H-'H 偶合相关 | HMBC 中氢-碳偶合相关 |
|-------|---------|---------------------------------|------------|-----------------|
| 2 | 147.3 | - | - | - |
| 3 | 136.2 | - | - | - |
| 4 | 176.3 | - | - | - |
| 5 | 161.2 | - | - | - |
| 6 | 98.7 | 6. 18(d, J = 2. 05Hz) | H8 | C5, C7, C8, C10 |
| 7 | 164.4 | - | - | |
| 8 | 93.8 | 6. 40(d, J = 2. 05Hz) | H6 | C6, C7, C9, C10 |
| 9 | 156.6 | - | - | - |
| 10 | 103.5 | - | - | - |
| 1 ′ | 122.4 | - | - | - |
| 2′ | 115.6 | 7. $67(d, J = 2.30Hz)$ | H6′ | C1', C3', C4'C2 |
| 3 ′ | 145.5 | - | - | - |
| 4 ′ | 148.2 | - | - | - |
| 5' | 116.1 | 6. 88(d, $J = 8.45Hz$) | H6′ | C3', C4', C1' |
| 6′ | 120.4 | 7. 54(dd, $J = 8.45, 2.30$ Hz) | H5'&H2' | Ć2′, Ć4′ |
| 5-OH | | 12.48 | - | C5. C6. C7. C10 |
| 7-OH | | 10.75 | - | C6, C7, C8 |
| 3-OH | | 9.32 | - | C2, C3, C4 |
| 3'-OH | | 9.26 | - | C4', C3', C2' |
| 4'-OH | | 9.55 | - | C4', C3', C5' |

表 1 槲皮素的 NMR 数据及谱峰的归属

4 结论

©结验402010℃hiraefsr4MSria和91的NMK、200的MP的规规规带带提取的槲皮素进行字表征,其中WW。

2D NMR HSQC 谱给出与质子直接相连的碳氢相关信息,有助于指定¹³C、¹H 谱峰的归属; HMBC 谱给出质子 2—3 键的相关信息,有助于把碳的骨架连接起来。综合以上结论,对槲皮素的分子结构 进行了详细的分析。

参考文献

[1] 龚盛昭,程江,杨卓如.微波场协同提取芦丁[J].精细化工,2003,20:758-760.

[2] 宁永成. 有机化合物结构鉴定与有机波谱学[M]. 第2版. 北京: 科学出版社, 2000.1.

[3] 毛希安. 现代核磁共振实用技术及应用[M]. 北京:科学技术文献出版社, 1999. 12.

[4] Roberts G C K. NMR of Macromolecules A Practical Approach[M]. New York: Oxford University Press, 2003. 12.

Spectroscopic Structural Analysis of Quercetin in Sophara Japonica L.

LIN Tian-Le YAN Bao-Zheng HU Gao-Fei WANG Mei (School of Science, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, P. R. China)

Abstract Rutin was extracted from the flower bud of Sophara J aponica L, and then hydrolyzed directly into quercetin in acidic condition. The molecular structure of quercetin was elucidated by UV, IR, ESI-MSⁿ and 1D, 2DNMR techniques (¹H, ¹³C, DEPT, gCOSY, gHSQC and gHMBC).

Key words Quercetin, 2D NMR.

| | 廉价光谱分析资料讯息 |
|-------------|--|
| | 1. |
| | 2. 优谱实验室》2004 年 1─6 期,16 开,1248 页,每套 75 元。 |
| | 数理统计在化学、光谱分析中的应用》,纳利莫夫者,余生等译, 光谱实验 室》编辑部编,16 开,396 页,每册 10 元。 |
| | 4. 《郫票上的光谱学和化学史》,周开亿等编,《科学出版社》出版,16 开,158 页,每册 10 元。 |
| | 6. |
| | 以上各书售价中均含普通印刷品邮费。购款可用邮票支付。 |
| © 1994-2010 | 联系地址:北京中 81 信相 00 万相 宽谱头验至》编辑部联络处 刘建林, 邮编:100095 LChina Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reser |

http://www.o