

仙鹤草降糖活性成分的提取分离

王希¹, 张焜², 陈优生^{1,2*}

(1. 广东食品药品职业学院制药系, 广州 510520; 2. 广东工业大学轻工化工学院, 广州 510006)

[摘要] 目的: 分离鉴定仙鹤草降糖活性部位的化学成分。方法: 采用硅胶柱、Sephadex LH-20 柱等常压柱色谱手段进行分离纯化, 通过理化常数和光谱分析鉴定其结构。结果: 从仙鹤草中分得 8 个化合物, 并鉴定为 β -谷甾醇(1)、胡萝卜苷(2)、(2R,3R)-(+)-花旗松素(3)、槲皮素-3-O- α -L-鼠李糖苷(4)、槲皮素-3-O- β -D-吡喃半乳糖苷(5)、槲皮素-3-O- β -D-吡喃葡萄糖苷(6)、阿魏酸(7)、没食子酸(8)。结论: 化合物 3, 7, 8 均为首次从该植物中分离得到。

[关键词] 仙鹤草; 降糖; 活性成分

[中图分类号] R 284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)06-0085-03

Extraction and Isolation of Lowering Blood Sugar Substances from the Agrimony

WANG Xi¹, ZHANG Kun², CHEN You-sheng^{1,2,*}

(1. Guangdong Food and Drug Vocational College, Department of Pharmacy, Guangzhou 510520, China;

2. Faculty of Chemical Engineering and Light Industry;

Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To isolate and identify the chemical constituents from the active section with lowering blood sugar of agrimony. **Method:** The compounds were separated by repeated silica gel, Sephadex LH-20 and HPLC chromatographies. The structures of compounds isolated were identified by analysis of their spectral data and chemical properties. **Result:** Eight compounds were isolated from the active section with lowering blood sugar of agrimony. And their structures were identified as β -sitosterol (1), daucosterol (2), taxifolin (3), quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside (4), hyperin (5), quercetin-3-O- β -D-glucopyranoside (6), ferulic acid (7), gallic acid (8). **Conclusion:** Compounds 3, 7, 8 are isolated from agrimony for the first time.

[Key words] agrimony; lowering blood sugar; active substance

仙鹤草主要用于降糖、止血、抗肿瘤、泌尿、呼吸、消化系统等疾病及妇科病的治疗^[1]。为了阐明其降糖作用的物质基础, 该作者对仙鹤草的降糖活性部位的化学成分进行了系统研究, 通过色谱方法分离得到槲皮素、芦丁等 9 个化合物^[2], 在前期基础

上, 再次分离得到 8 个化合物, 并通过理化性质及光谱分析鉴定了它们的化学结构, 其中化合物 3, 7, 8 为首次从该植物中得到。

1 仪器试剂

1.1 仪器 X-4 型显微熔点测定仪(北京第三光学仪器厂), 紫外 UV-265-FW 型自记式分光光度计, 红外光谱仪 Nicolet Impact 410 型红外光谱仪, BURKER-ARX-300 型核磁共振光谱仪、BURKER-ARX-600 型核磁共振光仪, JASCO P-1030 型微量比旋光仪, HP 1100 HPLC/ESI 液质联用质谱仪。

1.2 试剂与材料 柱层析硅胶(青岛海洋化工厂出品, 200~300 目; 80~120 目), 薄层层析硅胶 G(60 型), 葡聚糖凝胶(Sephadex LH-20, 美国 Pharmacia

[收稿日期] 2009-12-29

[基金项目] 广东省中医药局建设中医药强省科研项目(2009274); 广东食品药品职业学院自然科学基金项目(2009YZ010)

[第一作者] 王希, 副教授, 研究方向: 新药研发。

[通讯作者] * 陈优生, 博士研究生/讲师, Tel: (020) 28854939, E-mail: yous11@163.com

Biotech 公司), 提取用乙醇为医用级, 其余试剂均为分析纯, 柱层析聚酰胺(浙江省台州市四青生化材料厂出品, 200 ~ 300 目; 80 ~ 120 目)。仙鹤草采自广州郊区的山上, 经广东中药研究所曾庆钱副教授鉴定, 系蔷薇科植物龙芽草 *Agrimonia pilosa*。

2 提取与分离

仙鹤草 10 kg, 60% 乙醇水溶液浸泡 24 h, 然后用 60% 乙醇水 100L, 80 °C 下热回流提取 3 次, 每次 1 h, 提取液用旋转蒸发器挥干溶剂后得浸膏 (1 023 g), 浸膏用水溶解成混悬液, 用溶剂依次对它进行萃取再挥干萃取剂分别得到浸膏: 三氯甲烷 (142 g)、乙酸乙酯 (373 g)、正丁醇 (125 g)、水 (292 g); 对有降糖活性的三氯甲烷部位^[2]进一步上硅胶柱, 用石油醚-乙酸乙酯 (25 : 1 ~ 0 : 1) 进行梯度洗脱, 每 500 mL 为 1 个流分, 共收集 1 ~ 100 个流分, 合并相同流分, 流分 30 ~ 42 经硅胶柱分离再重结晶得到化合物 1 (8.6 mg); 对有降糖活性的乙酸乙酯部位^[2]进一步上硅胶柱, 用氯仿-甲醇 (50 : 1, 30 : 1, 20 : 1, 10 : 1, 5 : 1, 4 : 1, 3 : 1, 0 : 1) 进行梯度洗脱, 每 500 mL 收集 1 个流分, 共收集 1 ~ 390 份, 合并相同流分, 流分 68 ~ 79, 96 ~ 118, 136 ~ 145 再经反复硅胶柱, 聚酰胺柱及重结晶得到 2 (12.6 mg), 3 (5.3 mg), 4 (8.6 mg), 流分 198 ~ 213, 226 ~ 238, 279 ~ 292, 321 ~ 348 再经反复硅胶柱, 聚酰胺柱, Sephadex LH-20 及重结晶分别得到化合物 5 (7.6 mg), 6 (5.2 mg), 7 (8.6 mg), 8 (9.8 mg), 通过理化常数和光谱分析鉴定其结构, 其中有 3 个化合物为首次在该植物中发现。

3 结构鉴定

化合物 1 白色针状结晶 (氯仿-甲醇), mp 140 ~ 141 °C, 10% H₂SO₄ 显紫红色, Libermann-Burchard 反应阳性。IR (KBr) $\nu_{\text{cm}^{-1}}$: 3 424 (ν_{OH}), 2 958, 2 869 (ν_{CH_3} , ν_{CH_2}), 1 637, 1 466 ($\nu_{\text{C}=\text{C}}$), 1040 ($\nu_{\text{C}-\text{O}}$)。与文献[3]对照确认是 β -谷甾醇。

化合物 2 白色粉末, mp 295 ~ 297 °C, 10% H₂SO₄ 显紫红色, Libermann-Burchard 反应阳性, Molish 反应阳性。IR (KBr) $\nu_{\text{cm}^{-1}}$: 2 931, 2 869, 2 848 (ν_{CH_3} , ν_{CH_2}), 1 646, 1 540, 1 456 ($\nu_{\text{C}=\text{C}}$), 1 023 ($\nu_{\text{C}-\text{O}}$)。¹H-NMR (300 MHz, DMSO) 谱, δ 4.58 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, glc-1-H), 与文献[3]对照确认是胡萝卜苷。

化合物 3 无色针状结晶 (甲醇), m. p. 230 ~ 233

°C, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +42.63$ (丙酮), 三氯化铁-铁氰化钾反应呈阳性, HCl-Mg 鉴别反应显阳性。¹H-NMR (300 MHz, DMSO) 谱中, δ 4.50 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, 2-H), δ 4.90 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, 3-H), δ 5.87 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, 6-H), δ 5.91 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, 8-H), δ 6.96 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, 2'-H), δ 6.79 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, 5'-H), δ 6.83 (1H, dd, $J = 8.1, 1.8$ Hz, 6'-H), ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO) 谱中, δ 85.1 (2-C), 73.7 (3-C), 198.4 (4-C), 168.7 (5-C), 97.3 (6-C), 165.3 (7-C), 96.3 (8-C), 164.5 (9-C), 101.8 (10-C), 129.9 (1'-C), 116.1 (2'-C), 146.3 (3'-C), 147.1 (4'-C), 115.9 (5'-C), 120.9 (6'-C)。与文献[4-5]对照确认是 (2R,3R)-(+) -花旗松素。

化合物 4 黄色粉末 (甲醇), mp 210 ~ 212 °C, HCl-Mg 反应阳性, Molish 反应阳性。¹H-NMR (300 MHz, DMSO) 谱中, δ 12.67 (1H, s, 5-OH), δ 6.21 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, 6-H), δ 6.39 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, 8-H), δ 7.31 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, 2'-H), δ 6.87 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, 5'-H), δ 7.26 (1H, d, $J = 8.3, 2.0$ Hz, 6'-H), δ 5.26 (1H, br. s, Rha-1-H), δ 3.98 (1H, br. s, Rha-2-H), δ 3.51 (1H, dd, $J = 8.8, 3.1$ Hz, Rha-3-H), δ 3.15 (1H, t, $J = 9.3$ Hz, Rha-4-H), δ 3.22 (1H, m, Rha-5-H), δ 0.82 (3H, d, $J = 5.7$ Hz, Rha-6-CH₃), ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO) 谱中, δ 156.6 (2-C), 134.3 (3-C), 177.9 (4-C), 161.4 (5-C), 98.8 (6-C), 164.4 (7-C), 93.7 (8-C), 157.4 (9-C), 104.2 (10-C), 121.2 (1'-C), 115.6 (2'-C), 145.3 (3'-C), 148.6 (4'-C), 115.8 (5'-C), 120.8 (6'-C)。与文献[6]对照确认是槲皮素-3-O- α -L-鼠李糖苷。

化合物 5 黄色针晶 (甲醇), mp 235 ~ 237 °C, Mg-HCl 反应阳性, Molish 反应阳性。¹H-NMR (300 MHz, DMSO) 谱中, δ 12.62 (1H, s, 5-OH), δ 10.83 (1H, s, 7-OH), δ 9.69 (1H, s, 4'-OH), δ 9.12 (1H, s, 3'-OH), δ 7.66 (1H, dd, $J = 8.5, 1.9$ Hz, 6'-H), δ 7.51 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, 2'-H), δ 6.80 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 5'-H), δ 6.35 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, 8-H) 和 δ 6.18 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, 6-H), δ 5.35 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, Gal-1-H)。¹³C-NMR (150 MHz, DMSO) 谱中, δ 156.4 (2-C), 133.6 (3-C), 177.5 (4-C), 161.3 (5-C), 98.7 (6-C), 164.2 (7-C), 93.5 (8-C), 156.4 (9-C), 1 104.0 (10-C), 121.2 (1'-C), 115.2 (2'-C), 144.9 (3'-C), 148.5 (4'-C), 116.0 (5'-C), 122.0 (6'-C)。半乳糖区 101.9

(Gal-1-C), 71.3 (Gal-2-C), 73.2 (Gal-3-C), 68.0 (Gal-4-C), 75.9 (Gal-5-C), 60.2 (Gal-6-C)。与文献 [7] 对照确认是槲皮素-3-*O*- β -D-吡喃半乳糖苷。

化合物 6 黄色粉末 (甲醇), mp210 ~ 212 °C, HCl-Mg 反应阳性, Molish 反应阳性。¹H-NMR (300 MHz, DMSO) 谱中, δ 12.62 (1H, s, 5-OH), δ 7.56 (1H, br. s, 2'-H), δ 7.57 (1H, br. s, 6'-H), δ 6.83 (1H, d, J = 9.0 Hz, 5'-H), δ 6.19 (1H, d, J = 2.0 Hz, 6-H), δ 6.39 (1H, d, J = 2.0 Hz, 8-H), δ 5.45 (1H, d, J = 7.4 Hz, Glc-1-H), ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO) 谱中, δ 156.2 (2-C), 133.4 (3-C), 177.5 (4-C), 161.3 (5-C), 98.7 (6-C), 164.2 (7-C), 93.6 (8-C), 156.4 (9-C), 104.0 (10-C), 121.2 (1'-C), 115.3 (2'-C), 144.9 (3'-C), 148.5 (4'-C), 116.3 (5'-C), 121.6 (6'-C), 101.0 (Glc-1-C), 74.2 (Glc-2-C), 76.6 (Glc-3-C), 70.0 (Glc-4-C), 77.6 (Glc-5-C), 61.0 (Glc-6-C)。与文献 [7] 对照确认是槲皮素-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 7 白色针状结晶 (甲醇), m. p. 168 ~ 170 °C。三氯化铁-铁氰化钾反应阳性, 溴酚蓝反应阳性。¹H-NMR (300 MHz, DMSO) 谱中, δ 12.20 (1H, s, 9-COOH), δ 9.18 (1H, s, 4-OH), δ 7.45 (1H, d, J = 15.9 Hz, 7-H), δ 7.11 (1H, d, J = 2.0 Hz, 2-H), δ 7.09 (1H, dd, J = 8.1, 2.0 Hz, 6-H), δ 6.95 (1H, d, J = 8.1 Hz, 5-H), δ 6.25 (1H, d, J = 15.9 Hz, 8-H), δ 3.81 (3H, s, 3-OCH₃), ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO) 谱中, δ 167.9 (9-COOH), 55.7 (3-OCH₃), 127.2 (1-C), 116.3 (2-C), 149.9 (3-C), 146.8 (4-C), 114.2 (5-C), 121.1 (6-C), 144.3 (7-C), 112.1 (8-C), 与文

献 [8] 对照确认是阿魏酸。

化合物 8 白色针状结晶 (丙酮), mp231 ~ 233 °C。¹H-NMR (300 MHz, DMSO) 谱中, δ 9.22 (3H, br. s, 3,4,5-OH) 为酚羟基氢信号, δ 6.94 (2H, s, 2,6-H), ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO) 谱中, δ 167.7 为羰基碳信号 (-CO₂-), δ 120.6 (1-C), δ 108.9 (2, 6-C), δ 145.5 (3, 5-C), δ 138.2 (4-C), 与文献 [9] 对照确认是没食子酸。

[参考文献]

- [1] 洪阁, 戴永红, 刘培勋, 等. 仙鹤草化学成分和药理作用研究进展 [J]. 药学服务与研究, 2008, 8(5): 362.
- [2] 张健泓, 陈优生. 仙鹤草降糖活性成分研究 [J]. 中药材, 2009, 32(10): 1537.
- [3] 张印俊, 李良琼, 杨琼全, 等. 多舌飞蓬黄酮类成分的研究 [J]. 中草药, 1998, 29(12): 798.
- [4] 杨国勋, 宋蕾, 李奎莲, 等. 红寥果实化学成分的研究 [J]. 中国药学杂志, 2003, 38(5): 338.
- [5] Agrawal P K, Agarwal S K Dihydroflavanonol from Cedrus deodara. A ¹³C-NMR study [J]. Plant Med, 1981, 43(1): 82.
- [6] 何春年, 王春兰. 福建金线莲的化学成分研究 II [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(10): 76.
- [7] 于德泉. 分析化学手册 [M]. 第 7 分册. 北京: 化学工业出版社, 1999: 301, 818.
- [8] 何春年, 王春兰. 福建金线莲的化学成分研究 II [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(10): 76.
- [9] 王岩, 周莉玲, 李锐, 等. 显齿蛇葡萄化学成分的研究 [J]. 中药材, 2002, 25(4): 254.

[责任编辑 顾雪竹]