

黄花羊耳蒜黄酮类成分的分离鉴定

Isolation and identification

of flavonoids from *Liparis luteola* Lindl

周敏 邹毅* 陈小兵 (赣南卫生健康职业学院, 江西 赣州 341000)

Zhou min Zou yi* Chen xiaobing (Gannan Health Vocational College, Jiangxi Ganzhou 341000)

摘要: 目的: 对黄花羊耳蒜全草的化学成分进行分离、纯化及结构鉴定。方法: 将黄花羊耳蒜 95% 乙醇提取物经不同的溶剂依次萃取, 萃取部位经硅胶柱层析、薄层层析、Sephadex LH-20 柱层析和重结晶进行分离、纯化, 根据化合物理化性质及波谱数据确定其化学结构。结果: 最终分离得到 4 个黄酮类化合物, 分别为化合物 1: 槲皮素; 化合物 2: 6-羟基-4-(3'-羟基苯基) 异黄酮; 化合物 3: 5-羟基-3-(5'-苯基)-4-甲氧基-6-羟基色原酮; 化合物 4: 5-羟基-3-甲氧基-(5'-羟基苯基) 异黄酮。结论: 其中, 化合物 3 和 4 是首次从羊耳蒜属植物中分离得到。

关键词: 黄花羊耳蒜; 黄酮类; 结构研究

Abstract: Objective: To separate and identify the chemical constituents of *Liparis luteola* Lindl. Methods: The 95% ethanol extract of *Liparis luteola* Lindl. was separated and purified by Silica Gel Column Chromatography, thin layer chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography and recrystallization, the chemical structure is determined by physical and chemical properties and spectral data. Results: Four flavonoid compounds were isolated, they were compound 1: Quercetin, compound 2: 6-hydroxy-4-(3'-hydroxyphenyl) isoflavone, compound 3: 5-hydroxy-3-(5'-phenyl)-4-methoxy-6-hydroxychromone Compound 4: 5-hydroxy-3-methoxy-(5'-hydroxyphenyl) isoflavone. CONCLUSION: Compounds 3 and 4 were isolated from allium l. for the first time.

Key words: *Liparis luteola* Lindl; flavonoids; structural studies

羊耳蒜属 (*Liparis* L.C.Rich.) 来源于兰科 (Orchidaceae), 广泛分布于全球热带与亚热带地区, 大多长于常绿阔叶林下或阴湿的岩石覆土上。全草有活血调经、止血、止痛、强心、镇静的功效, 能治疗崩漏、白带、产后腹痛、外伤急救等病症^[1]。该属植物约 250 种, 药用羊耳蒜主产于台湾、福建、广东、西藏、贵州、云南、江西、广西等地, 西藏、贵州最多。

江西黄花羊耳蒜 (*Liparis luteola* Lindl.) 主要分布于井冈山等山区。本研究对赣南产黄花羊耳蒜全草进行了化学成分分离纯化, 共得到 4 个黄酮类化合物, 经波谱分析鉴定为化合物 1: 槲皮素; 化合物 2: 6-羟基-4-(3'-羟基苯基) 异黄酮; 化合物 3: 5-羟基-3-(5'-苯基)-4-甲氧基-6-羟基色原酮; 化合物 4: 5-羟基-3-甲氧基-(5'-羟基苯基) 异黄酮。

本研究丰富了黄花羊耳蒜的化学成分, 为进一步研究黄花羊耳蒜的药理活性奠定了基础。

1 材料与仪器

黄花羊耳蒜全草于 2020 年采自赣南大余至南雄的交界处, 药材性状符合相关文献 [2] 描述, 经江西古汉精制中药饮片有限公司总经理、国家二级技师颜干明鉴定为黄花羊耳蒜 (*Liparis luteola* Lindl.)。

Nicolet 5700 型傅里叶变换红外光谱仪; Inova 500 型核磁共振仪 (TMS 内标); Agilent 1100 Series LC/MSD 质谱仪; 液相色谱仪 Shimadzu LC-6AD (制备柱, YMC-Pack ODS-A); 大孔吸附树脂 HP-20 (日本三菱公司); LH-20 型葡聚糖凝胶 (Sephadex LH-20 Amersham Pharmacia Biotech 公司); 反相硅胶柱 (日本 YMC 公司)。

试剂为色谱纯或分析纯级别。柱色谱硅胶 G (青岛海洋化工有限公司); 硅胶 GF254。

2 方法与结果

2.1 提取分离

取黄花羊耳蒜全草粉末 6kg, 将其粉碎后过 40 目筛, 8 倍量水提取 3 次, 每次 2h, 合并提取液, 减压浓缩, 得到浓缩提取物 0.75kg。取提取物 8 倍量的 95% 乙醇提取 3 次, 每次 3h, 提取液用旋转蒸发器减压浓缩, 流浸膏用水分散, 依次用氯仿、甲醇分别萃取, 合并萃取液再用旋转蒸发器减压回流浓缩, 回收溶剂后得浸膏。制得甲醇萃取部位浸膏 230g。水溶解后用 Diaion HP-20 大孔吸附树脂吸附, 分别用水、25% 乙醇溶液、50% 乙醇溶液及 75% 乙醇溶液洗脱进行层析分离, TLC 鉴定、合并流份。经反复硅胶柱色谱、结晶分离、重结晶得到 4 个黄酮类化合物。

2.2 结构鉴定

提取分离得到的化合物依据其理化性质及波谱数据进行结构鉴定。包括化合物的形状、化学特征反应等。化合物的波谱数据主要包括紫外光谱 (UV) 数据、红外光谱 (IR) 数据、核磁共振碳谱和氢谱 ($^{13}\text{C-NMR}$ 和 $^1\text{H-NMR}$) 数据、电子轰击离子源-质谱联用 (EI-MS) 数据。从黄花羊耳蒜乙醇提取物分离得到的黄酮类化合物根据实验测试结果, 结构鉴定如下:

2.2.1 化合物 1

淡黄色针状, 分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$, 用盐酸-镁粉试验, 反应呈阳性, 提示此化合物为黄酮类。 $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 400MHz) δ : 6.11 (d, 1H, $J=2.4\text{Hz}$, H-6), 6.19 (d, 1H, $J=2.3\text{Hz}$, H-8), 6.59 (d, 1H, H-5'), 6.69 (d, 1H, $J=8\text{Hz}$, H-6'), 6.71 (d, 1H, $J=8.2\text{Hz}$, H-5'), 7.09 (d, 1H, $J=8$, 2.7Hz, H-2'), 9.18 (s, 1H, 3'-OH), 9.23 (s, 1H, 4'-OH), 9.16 (d, 1H, 4'-OH), 10.28 (s, 1H, 7-OH), 12.19 (s, 1H, 5-OH), 12.82 (s, 1H, 3-OH)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 100MHz) δ : 96.1 (C-8), 99.1 (C-6), 105.1 (C-4), 111.9 (C-6'), 119.2 (C-3'), 121.3 (C-2'), 124.9 (C-1'), 139.1 (C-2), 147.1 (C-4'), 147.5 (C-5'), 159.8 (C-1), 163.6 (C-5), 167.1 (C-7), 180.2 (C-3, C=O)。上述化合物光谱数据与文献 [3] 报道对照基本一致, 鉴定为槲皮素。

2.2.2 化合物 2

淡黄色针状结晶, 盐酸-镁粉反应呈阳性, 显示为黄酮类化合物。 $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 800MHz) δ : 6.89 (d, 4H, $J=3.5\text{Hz}$, H-4, 5), 7.10 (d, 2.5H, H-2', -4'), 7.52 (d, 2H, H-3', -5'), 7.84 (d, 1H, H-4), 8.19 (d, 2H, H-2, 4), 9.65 (d, 2H), 11.12 (d, 2H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 100 MHz) δ : 110.2 (C-4', 5'), 118.3 (C-5, 6), 123.6 (C-5), 121.8 (C-4), 124.9 (C-2'), 129.1 (C-1', 5'), 134.2 (C-6), 154.1 (C-2), 157.2 (C-7, 3'), 176.1 (C-2, C=O)。上述化合物光谱数据与文献 [4] 报道对照基本一致, 鉴定为 6-羟基-4-(3'-羟苯基) 异黄酮。

2.2.3 化合物 3

黄色粉末状, 盐酸-镁粉反应呈阳性, 显示为黄酮类化合物。EI-MS: m/z 297.8[M+H]⁺。 $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 800MHz) δ : 3.75 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$), 6.42 (d, 1H, $J=2.5\text{Hz}$, H-6), 6.79 (d, 1H, H-5'), 6.89 (d, 1H, $J=2.5\text{Hz}$, H-3'), 6.95 (d, 2H, H-6), 7.02 (d, 2H, H-8), 7.31 (d, 2H, H-3', -5'), 7.34 (d, 2H, H-4), 13.9 (s, 1H, $-\text{OH}$)。 $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$, 100MHz) δ : 111.7 (C-4', 5'), 121.4 (C-2', 6'), 123.3 (C-4), 121.4 (C-7), 125.2 (C-1', 3'), 128.4 (C-3), 128.8 (C-5), 141.5 (C-6), 152.4 (C-8), 156.8 (C-7), 160.4 (C-5'), 164.4 (C-2), 180.4 (C-1, C=O)。上述化合物光谱数据与文献 [5] 报道对照基本一致, 鉴定为 5-羟基-3-(5'-苯基)-4 甲

氧基-6-羟基色原酮。

2.2.4 化合物 4

淡黄色油状, 盐酸-镁粉反应呈阳性, 显示为黄酮类化合物。 $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 800MHz) δ : 3.89 (s, 1H, $J=2.5\text{Hz}$, H-3'), 4.44 (s, 1H, $J=7.8\text{Hz}$, H-6), 4.61 (d, 2H, H-5, 6), 6.96 (s, H, $J=8.5\text{Hz}$, H-4'), 7.11 (d, 2H, H-3, 4), 7.51 (d, 2H, H-1, 7), 7.55 (s, 1H, H-2'), 8.53 (s, 1H, H-2)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 200MHz) δ : 104.1 (C-7), 110.2 (C-6), 1116.3 (C-6'), 120.1 (C-5'), 121.2 (C-5), 123.5 (C-3', 4'), 124.7 (C-2'), 126.9 (C-4), 145.8 (C-1), 149.5 (C-8), 151.4 (C-3), 155.4 (C-2), 178.8 (C-3, C=O)。上述化合物光谱数据与文献 [6] 报道对照基本一致, 鉴定为 5-羟基-3-甲氧基-(5'-羟苯基) 异黄酮。

3 结论

黄花羊耳蒜全草具有较高的药用价值, 具有活血调经、止血、止痛、强心、镇静的功效。本研究对黄花羊耳蒜的乙醇提取部位进行了分离纯化及鉴定, 将乙醇提取物经硅胶柱层析、薄层层析、LH-20 型葡聚糖凝胶 (Sephadex LH-20) 柱色谱分离和重结晶等方法进行分离纯化后得到 4 个黄酮类化合物, 依据化合物的理化性质以及化合物的波谱数据, 鉴定其结构分别为化合物 1: 槲皮素; 化合物 2: 6-羟基-4-(3'-羟苯基) 异黄酮; 化合物 3: 5-羟基-3-(5'-苯基)-4 甲氧基-6-羟基色原酮; 化合物 4: 5-羟基-3-甲氧基-(5'-羟苯基) 异黄酮。所有化合物均为首次从黄花羊耳蒜全草中分离得到。

参考文献:

- [1] 方志先, 赵晖, 赵敬华. 土家族药物志 [M]. 下册. 北京: 中国医药科技出版社, 2006:796-797.
- [2] 陈心启, 吉占和, 罗毅波. 中国野生兰科植物彩色图鉴 [M]. 北京: 科学出版社, 1999:354-359.
- [3] XU Fang-hui, DING Yu-xiang et al. Chemical Constituents of EthylAcetate Fraction from Hypericum ascyron[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2016, 39(2):322-325.
- [4] HOSNY M, ROSAZZA J P N. New Isoflavone and Triterpene glycosides from Soybeans[J]. Journal of Natural Products, 2002, 65(6):805-813.
- [5] 段绪红, 等. 蛇床子中的色原酮类化学成分及其对 UMR106 细胞增殖的影响 [J]. 中草药, 2015(22):3310-3313.
- [6] 闫利华, 蒙蒙, 等. 蔓性千斤拔抗氧化活性部位的化学成分研究 [J]. 中国药理学杂志, 2013(15):1249-1254.

作者简介:

周敏 (1986-), 女, 江西宜春人, 硕士研究生, 讲师, 主要从事天然产物活性研究。

通讯作者:

邹毅 (1983-), 男, 江西瑞金人, 硕士, 副教授, 主要从事天然药物活性物质产业化开发。

课题来源: 江西省卫生计生委中医药资助项目 (2018A354)。