

忍冬叶中黄酮化合物分析

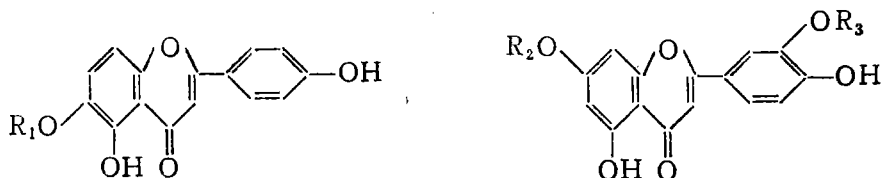
王建新 徐文俊

(化工系)

忍冬叶即常见中药金银花植物(忍冬科, *Lonicera japonica thunb*)的叶。中药学称其性味、功效与其花相似,能清络中之热,通络中之滞,具有清热祛风,活血通络的作用,常用于风热、痒痛、咽痛、喉痹等症^[1],比其花有更强的抗菌作用^[2]。

关于忍冬叶的有效成分,已有人对其中有抗菌疗效的氯原酸及其含量进行了研究^[3],对于有清热舒压功效的黄酮化合物,国外曾分离得木犀草素的新橙皮糖甙(Luteolin-neohesperidose)^[4],山奈酚(Kaempferol)、槲皮素(Quercetin)、木犀草素(Luteolin)、木犀草素半乳糖甙(Luteolin-galactoside)、木犀草素葡萄糖甙(Luteolin-glucoside)、和3',4',5,7-四羟基黄酮醇(3',4',5,7-tetrahydroxyflavanone)^[5],国内林启寿报道从忍冬叶中分离得忍冬黄素(Loniceraflavone)^[6]。去年,我们对山东临沂平邑地区(我国金银花主要产地)大规模栽培的“东银花”叶中的黄酮化合物进行了提取、分离和分析,得到5个黄酮化合物单体。

如图



化合物 A: $R_1 = H$

化合物 E: $R_1 = -glu-rha$

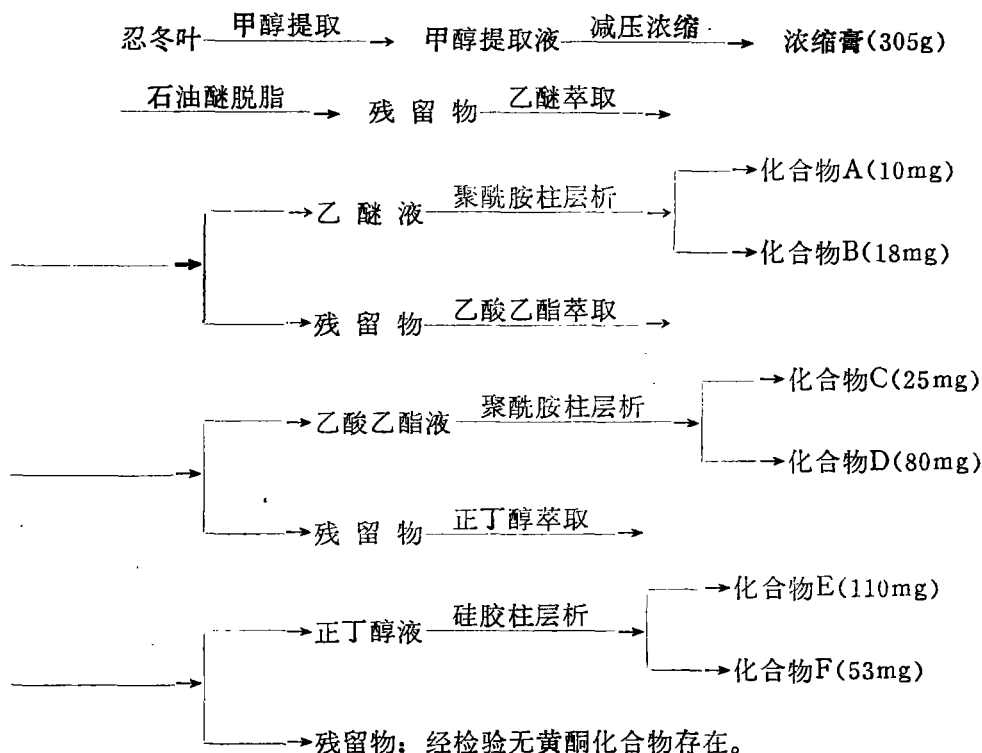
化合物 F: $R_2 = -glu-rha, R_3 = H$

化合物 B: $R_2 = R_3 = H$

化合物 C: $R_2 = H, R_3 = gal$

一、黄酮化合物的分离

取阴干的忍冬叶 1kg,按下述流程分离得化合物 A、B、C、E 和 F 五种单体。



二、黄酮化合物的鉴定

熔点测定用 WL—1 型微量熔点仪(未经校正)。紫外光谱用 UV—240(Shimadzu)型紫外分光光度计,数据均为 nm。红外光谱用 IR—440(Shimadzu)型红外分光光度计, KBr 压片,数据为 Cm^{-1} 。核磁共振用 BRUKERAN—100 型核磁共振仪测定,以 $\text{DMSO}-d_6$ 为溶剂,数据单位为 ppm,质谱为 FAB—MS 测定。

1. 化合物 A

150g、65~80 目聚酰胺以氯仿浸泡过夜,湿法装柱($\phi 40 \times 500$),乙醚萃取液浓缩后上柱,先后用氯仿、氯仿:甲醇(9:1)、氯仿:甲醇(8:2)各 1000ml 洗脱,收集氯仿:甲醇(8:2)洗脱液第 550~700ml 部分,浓缩后再经 Polyamid—6D 柱($\phi 10 \times 300$)进行纯化,以甲醇洗脱,收集第一暗带,经 TLC 检查为单一斑点,浓缩后甲醇重结晶后得 10mg 黄色晶体,290℃开始分解,在 UV 下其斑点为深紫色,三氯化铝显色后为黄色荧光。紫外光谱^[1]: 甲醇 268(s), 335(s); 甲醇—甲醇钠 273(s), 325(w), 390(vs); 甲醇—三氯化铝 274(s), 300(s), 345(s), 385(s); 甲醇—三氯化铝—盐酸 276(s), 303(s), 348(s), 385(s); 甲醇—醋酸钠 275(s), 300(sh)*, 381(s); 甲醇—醋酸钠—硼酸 268(s), 312(s)。NMR 光谱 δ 值: 13.0(单峰, 1H) $\text{C}_5\text{—OH}$; 10.56(单峰, 1H) $\text{C}_4'\text{—OH}$; 9.52(单峰 1H) $\text{C}_6\text{—OH}$; 7.95(双峰, 2H, $J=10\text{Hz}$) $\text{C}_2'\text{—H}$ 和 $\text{C}_6'\text{—H}$; 7.10(双峰 2H, $J=9\text{Hz}$) $\text{C}_3'\text{—H}$ 和 $\text{C}_5'\text{—H}$; 6.80(单峰, 1H) $\text{C}_3\text{—H}$; 6.49(双峰, 1H, $J=1\text{Hz}$) $\text{C}_7\text{—H}$; 6.21(双峰, 1H, $J=2\text{Hz}$) $\text{C}_8\text{—H}$ 。R_f 值

* sh 表示肩峰

** HOAC 为 15%(V/V) 的醋酸水溶液; TBA 为叔丁醇:冰醋酸:水=1:1:1

(新华三号层析纸)HOAC^{**}: 0.088; TBA: 0.65。红外光谱: 3400(s), 2910(m), 1660(s), 1610(s), 1500(s), 1440(s), 1360(s), 1300(s), 1260(s), 1160(s), 1120(s), 1030(m), 840(m)。红外光谱与文献所载光谱相符, 证明化合物 A 为忍冬黄素(4',5,6-三羟基黄酮)。

2. 化合物 B

收集上述 Polyamid-6D 柱层析中第二暗带, 经 TLC 检查为单一斑点, 浓缩后经甲醇重结晶得约 18mg 黄色晶体, mp: 326~328℃, 与镁粉—浓盐酸反应呈橙红色, 其斑点在 UV 下显深紫色, 三氯化铝显色后呈黄色荧光。紫外光谱: 甲醇 254(s), 268(s), 290(sh), 350(s); 甲醇—甲醇钠 270(s), 312(sh), 408(vs); 甲醇—三氯化铝 270(s), 301(sh), 330(m), 426(vs); 甲醇—三氯化铝—盐酸 260(s), 276(s), 294(sh), 354(s), 385(s), 甲醇—醋酸钠 260(s), 324(sh), 376(s); 甲醇—醋酸钠—硼酸 260(s), 298(sh), 370(s)。红外光谱: 3400(s), 1660(s), 1610(s), 1580(m), 1500(s), 1440(s), 1360(s), 1260(s), 1160(s), 1120(m), 1030(s), 880(m)。NMR 的 δ 值: 13.0(1H, 单峰)C₅—OH; 7.43(双峰, 2H, J=7Hz)C₂'—H 和 C₆'—H; 6.90(双峰, 1H, J=9Hz)C₅'—H; 6.67(单峰 1H)C₃—H; 6.43(双峰, J=1Hz, 1H)C₈—H; 6.20(双峰, J=1Hz, 1H)C₆—H。R_f 值(新华三号层析纸), HOAC: 0.08; TBA: 0.80。化合物 B 的紫外光谱都与标准图谱相同, mp 与 R_f 值与文献记载一致, 证明为木犀草素(5,7,3',4'-四羟基黄酮)。

3. 化合物 C

乙酸乙酯萃取液经浓缩后加入氯仿搅拌, 取其不溶物与少量硅胶拌匀烘干后进行聚酰胺柱层析(150g, 65—80 目, $\phi 40 \times 500$)氯仿湿法装柱, 以氯仿、氯仿: 甲醇(8:2)、氯仿: 甲醇(6:4)各 1000ml 洗脱, 收集氯仿: 甲醇(6:4)流出液第 400~600ml 部分, 减压浓缩后再经 Polyamid-6D 柱($\phi 10 \times 300$)进行纯化, 甲醇洗脱, 分别收集前后二个暗带, 前一暗带收集液挥去溶剂后以乙醇重结晶, 得黄色细粒状晶体, mp: 225~227℃。紫外光谱: 甲醇 255(s), 293(w), 348(s); 甲醇—甲醇钠 267(s), 294(sh), 396(s); 甲醇—三氯化铝 273(s), 300(sh), 315(w), 428(s); 甲醇—三氯化铝—盐酸 264(s), 293(m), 355(s), 388(s); 甲醇—醋酸钠 260(s), 290(sh), 370(s); 甲醇—醋酸钠—硼酸 260(s), 293(w), 370(s)。红外光谱 3400(s), 2900(m), 1660(s), 1600(s), 1530(m), 1500(s), 1440(m), 1370(m), 1260(s), 1180(s), 1120(m), 1070(s), 1030(m), 840(m)。NMR 的 δ 值: 13.0(单峰, 1H)C₅—OH; 7.46(双峰, J=7Hz, 1H)C₂'—H; 7.29(双峰, J=8Hz, 1H)C₆'—H; 6.89(双峰, J=8Hz, 1H)C₅'—H; 6.80(单峰, J=2Hz, 1H)C₈—H; 6.75(单峰, 1H)C₃—H; 6.45(双峰, J=2Hz, 1H)C₆—H; 5.09(组峰, 1H)半乳糖甙头氢; 高场为糖质子复杂峰。FAB—MS 的 m/e 峰: 449(M⁺+1), 287(甙元+1)。将化合物 C 经酸性水解后提纯, 其甙元的紫外光谱和 R_f 值均与木犀草素一致, 其水解糖进行纸层析定性为半乳糖, 无其它糖样斑点。综上可证实化合物 C 为木犀草素—3'-半乳糖甙。

4. 化合物 D

收集上述后一暗带, TLC 证明为单一斑点, 经甲醇重结晶后为一黄色晶体, 其 mp、R_f 值和六个紫外图谱都与化合物 B(木犀草素)一样, 证明它俩为同一物质。

5. 化合物 E

550g 硅胶(200—300 目)用乙酸乙酯浸泡一昼夜后湿法装柱($\phi 80 \times 600$), 将正丁醇萃取液减压浓缩, 拌以少许硅胶烘干后装柱, 先后用乙酸乙酯: 甲醇(95:5), 乙酸乙酯: 甲醇(8

2)各1000ml洗脱,收集后一洗脱液第300~500ml部分,浓缩后再进行Polyamid—6D柱($\phi 10 \times 300$)层析,用丙酮:甲醇混合溶剂进行梯度洗脱,收集丙酮:甲醇(7:3)部分,挥去溶剂后物质在20%乙醇水溶液中重结晶,室温放置一周后有淡黄色细粒状晶体析出,TLC证实为单一斑点,mp:192—194℃,喷洒三氯化铝溶液显色后,其斑点显示黄酮化合物特征的黄色莹光。紫外光谱:甲醇267(s),340(s);甲醇—甲醇钠265(s),390(vs);甲醇—三氯化铝274(s),298(m),350(s),392(s);甲醇—三氯化铝—盐酸275(s),296(m),346(s)385(s);甲醇—醋酸钠267(s),352(s);甲醇—醋酸钠—硼酸267(s),343(s)。红外光谱3400(s),2900(m),1660(s),1610(s),1578(m),1500(m),1450(m),1345(m),1300(m),1250(m),1180(s),1070(s),1045(s),840(m)。NMR的 δ 值:12.98(单峰,1H)C₅—OH;10.42(单峰,1H)C₄'—OH;7.94(双峰,J=9HZ,2H)C₂'—H和C₆'—H;7.44(双峰,J=8HZ,1H)C₇—H;6.93(双峰,J=10HZ,2H)C₃'—H和C₅'—H;6.78(单峰,1H)C₃—H;6.41(双峰,1H,J=8HZ)C₈—H;5.20(组峰,1H)葡萄糖甙头氢;5.12(双峰,J=2HZ,1H)鼠李糖甙头氢;1.90(双峰,J=6HZ,3H)鼠李糖甲基;5.0~2.0之间为复杂质子峰。FAB—MS给出m/e峰:579(M⁺+1)433(M⁺-鼠李糖+1);271(M⁺-鼠李糖-葡萄糖+1)。化合物E酸性水解后,所得甙元的R_f值与紫外光谱与忍冬黄素一致;用纸层析进行水解糖的分析确定为葡萄糖和鼠李糖。综合上述数据可以证实化合物E为忍冬黄素-6-鼠李葡萄糖甙。该化合物在CA中尚未见报道。

6. 化合物F

将上述硅胶柱再以乙酸乙酯:甲醇(6:4)1000ml洗脱,收集第200~350ml部分,浓缩后经聚酰胺柱纯化,在甲醇中重结晶为黄色晶体,TLC证实为单一斑点,mP:216~218℃其斑点在UV下显深紫色,用三氯化铝显色为黄色莹光。紫外光谱:甲醇255(s),266(sh)350(s);甲醇—甲醇钠264(s),298(vs);甲醇—三氯化铝272(s),295(sh),335(w),430(s);甲醇—三氯化铝—盐酸260(sh),272(s),295(sh),355(s),388(s);甲醇—醋酸钠260(s),370(s);甲醇—醋酸钠—盐酸260(s),370(s)。NMR的 δ 值:13.0(单峰,1H)C₅—OH;7.46(双峰,J=8HZ,2H)C₂'—H和C₆'—H;6.92(双峰,J=9HZ,1H)C₅'—H;6.80(双峰,J=2HZ,1H)C₈—H;6.76(单峰,1H)C₃—H;6.46(双峰,J=2HZ,1H)C₆—H;5.12(组峰,1H)葡萄糖甙;5.06(1H)鼠李糖甙头氢;1.23(双峰,J=6HZ,3H)鼠李糖甲基;5.0~2.0之间为糖质子的复杂峰。FAB—MS给出m/e峰:595(M⁺+1);449:(M⁺-鼠李糖+1);287(甙元+1)。红外光谱:3400(s),2950(m),1660(s),1610(s),1265(s),1180(s),1080(s),850(m)。将化合物F进行酸性水解,其甙元的R_f值和紫外光谱,熔点均与木犀草素一致;水解糖经纸层析确定为葡萄糖和鼠李糖。化合物F的红外光谱,紫外光谱,R_f值和m.p.与文献报道的物质一致,因此证实化合物F为木犀草素-7-新橙皮糖甙。

三、忍冬叶中总黄酮含量的测定^[8]

精确称取干燥恒重(60℃)的忍冬叶(六月份采集)和金银花蕾(山东产)各1g左右,分别置于小型索氏抽提器内,用甲醇在水浴(80℃)回流提取4h,转移至100ml容量瓶中,用甲醇稀释至刻度。

分别精确移取上述溶液各0.5ml至10ml容量瓶中,准确加入5%的NaNO₂溶液0.3ml

摇匀后放置5分钟再准确加入10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液0.3ml, 摇匀放置6分钟后准确加入1mol/L NaOH 溶液4.0ml, 摇匀, 用水稀释至刻度。以蒸馏水为空白, 在510nm处分别测出其吸收度, 对照用芦丁作标准品所得的标准曲线, 计算得花蕾和叶中总黄酮含量分别为5.46%和1.66%。

四、结 论

综上所述可见忍冬叶和其花蕾一样, 含有一定数量的黄酮化合物。木犀草素及其甙类化合物, 除了有抗菌消炎的作用外, 动物试验说明对心血管疾病有一定的疗效。从有效成分的含量来看, 虽然叶较花为低, 但是金银花开花期短, 优质花产区较窄, 产量低, 成本高, 因此尽量利用极为丰富的忍冬植物的藤叶资源, 逐步做到以叶代花, 以藤代花, 综合利用忍冬植物的不同部位, 充分开发沂蒙山区资源, 无论是在配制仿金银花露的保健饮料, 还是从中提取黄酮化合物单体, 都具有一定的经济价值。

致 谢

无锡轻工业学院表面化学分析室、红外光谱仪器室和上海药物所帮助测定了紫外、红外、核磁共振和质谱, 在此表示感谢。

参 考 文 献

- [1] 林通国主编, 《中药学》, 湖南科学技术出版社, 1985
- [2] 江西中药(1)34, 1960; 中国药学会 1962 年学术会议论文文摘集 324, 1963
- [3] 董熙暇, 《中药通报》, 1985(10)5
- [4] Mmlin: CA, 85: 156619, Khim: Prir, Soedin, 1978, (4), 522, Fedoseera: CA, 81: 117088
- [5] 中冲太郎, 《药学杂志》1961, (81), 558 稻垣勋, 《药学杂志》1974, (94), 524
- [6] 林启寿, 《中草药成分化学》, 科学出版社, 1977
- [7] 上海药物研究所编译, 《黄酮体化合物鉴定手册》, 科学出版社, 1981
- [8] 徐礼燊等编, 《中草药有效成分分析法》, 人民卫生出版社, 1982

87010

加晶种的油脂干法分提《无锡轻工业学院学报》1987年,第6卷,

第2期

主题词 晶种; 油脂; 干法

摘要 本文对加晶种的油脂干法分提方法进行了初步研究、提出了分离高熔点组分的油脂分提过程中,添加一部分被分提油脂晶浆液的方法。叙述了该方法的工艺要点,讨论了所用晶种的形状结构和数量,指出该方法在油脂冬化、氢化油或交酯油分提方面应用的可能性和可行性。并试以结晶动力学理论对加晶种的油脂干法分提的原理作一解释。

作者: 华骋骋

87011

忍冬叶中黄酮化合物分析《无锡轻工业学院学报》1987年,第6卷,

第2期

主题词 忍冬; 黄酮化合物; 分析/忍冬黄素; 木犀草素

摘要 从忍冬叶(山东临沂地区)中分离得忍冬黄素、忍冬黄素—6—鼠李葡萄糖甙、木犀草素、木犀草素—3—半乳糖甙和木犀草素—7—新橙皮糖甙五种黄酮化合物,它们都经红外、紫外、核磁共振、质谱并结合薄层层析和纸层析等分析手段确定结构。其中忍冬黄素—6—鼠李葡萄糖甙首次从植物中分离得到。用分光光度法分析比较了花蕾和叶中总黄酮的含量,叶中含总黄酮1.66%。

作者: 王建新 徐文俊

87012

DML.67×106立式花铁筛打麦机的研制《无锡轻工业学院学报》

1987年,第6卷,第2期

主题词 打麦机; 灰分; 研究/清理效能; 碎麦率

摘要 研制的打麦机,采用无级变速传动、环形中心进料、打板加筋等新结构和筛筒用低碳马氏体热处理新工艺,从而使该机灰分降低,碎麦低,使用寿命长。

作者: 梁心声 李真

87013

蚕蛹异味的分离和鉴定《无锡轻工业学院学报》1987年,第6卷,

第2期

主题词 蚕蛹; 分离; 气味; 鉴定

摘要 以Porapak Q作吸附剂,吸附蛹油的顶空气体,捕集蚕蛹异味。用特殊设计的电加热解析器进行解吸,液氮作致冷剂,分离蚕蛹异味。采用色—质联用仪分析,经图谱解析,标准质谱图鉴定,得烃、醇、醚、酮、酸、胺及其他共十九个化合物。其中胺类化合物可能为蚕蛹异味的关键化合物。

作者: 沈若荃、汤坚、张昕

87012

THE DEVELOPMENT OF DML 67×105 VERTICAL CYLINDRICAL SEIVE SCOURER《Journal of the Wuxi Institute of Light Industry》

Vol.6, No.2, 1987

SUBJECTWORDS wheat scourers, ash constituent, researching/cleaning efficiency, broken wheat increase percentage

ABSTRACT This paper introduces the development of scourer dealing with the use of the new structures such as infinitely variable speed transmission, center annular feeder, beating plate with rib, and special heat treatment on cylindrical sieve made of low carbon martensite. With higher ash reducing percentage and lower broken wheat increase percentage, the machine proves durable as well.

Author: Liang Xinsheng Li Zhen

87013

ISOLATION and IDENTIFICATION of the SILK WORM CHRYSALID of FLAVOUR《Journal of the Wuxi Institute of Light Industry》Vol.6, No.2, 1987

SUBJECTWORDS silkworm pupa, isolation, smell certification

ABSTRACT Headspace vapours above the silk worm chrysalid oil were collected, using porapak-Q as absorbents to trap the off flavour. Desorption was carried out in an specially designed electrical heating apparatus. Liquid nitrogen was used as freezing agent. Off flavour compounds isolated from chrysalid oil were subjected to GC-MS fractionation. Nineteen compounds including hydrocarbons, alcohols, aldehydes, ketones, acids, amines and others were identified. Among them, amine compounds were considered to be one group of the key compounds responsible for the silk worm chrysalid off flavour.

Author: Shen Ruquan Tang Jian Chang Xiang

87010

DRY FRACTIONATION of FATOROIL with the ADDITION of SEED CRYSTALS《Journal of the Wuxi Institute of Light Industry》Vol.6, No.2, 1987

SUBJECTWORDS inoculating crystal, oil, dry method

ABSTRACT Presented in this paper are the research results on dry Fractionation of fat or oil with the addition of seed crystals. To fractionate fat or oil to remove the fractions with high melting points, this paper describes a method, in which, a portion of the crystal slurry of the fat or oil to be fractionated is added during the fractionating process. Also discussed in this paper are the important processing aspects of the method, the shape, structure and amount of the seed crystal used, and the possible application of the method in the winterization of oil and in the fractionation of hydrogenated or interesterified fat or oil. The principles of the dry fractionation are explained in this paper according to the theory of crystallizational dynamics.

Author: Huia Pinpin

87011

AN ANALYSIS of FLAVONOIDS in LEAVES of LONICERA JAPONICA THUNB《Journal of the Wuxi Institute of Light Industry》Vol.6, No.2, 1987

SUBJECTWORDS lonicera japonica, flavonoid, analysis/loniceraflavone, luteolin

ABSTRACT Five flavonoids were isolated from the dried leaves of lonicera japonica thunb in Ling-Yi Shang-Tong province. They were loniceraflavone, loniceraflavone-6-rhamnoglucoside, luteolin, lonicerin (luteolin-7-rhamnoglucoside), and luteolin-3'-galactoside. Their structures were identified by IR, UV, H-NMR, MS, paper and thin layer chromatography. Loniceraflavone-6-rhamnoglucoside was a new compound first obtained from plant. By spectrophotometry, the total flavonoids content of the leaves was 1.86%.

Author: Wang Jianxin Xu Wenjun