

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2014.01.027

罗争辉,蔡百祥,梁益敏,等.花生茎叶酚性成分研究[J].广西植物,2014,34(1):139-142

Luo ZH, Cai BX, Liang YM, et al. Study on phenolic constituents of stems and leaves from *Arachis hypogaea* [J]. *Guihaia*, 2014, 34(1):139-142

花生茎叶酚性成分研究

罗争辉^{1,2,3}, 蔡百祥^{1,2,3}, 梁益敏³, 刘劲松^{1,2,3}, 王国凯^{1,2,3}, 王刚^{1,2,3*}

(1.安徽中医药大学药学院药物化学系,合肥 230031; 2.安徽省中医药科学院药物化学研究所,合肥 230031; 3.国家中医药管理局中药化学重点学科,合肥 230031)

摘要:运用大孔树脂对花生茎叶提取液进行富集,不同浓度乙醇洗脱,硅胶、RP-18、Sephadex LH-20 等多种材料进一步分离纯化,研究花生茎叶化学成分,并通过理化方法和光谱分析对化合物进行结构鉴定。结果表明:从花生茎叶大孔树脂 10%乙醇洗脱部位中分离并鉴定了 10 个化合物,分别为邻苯二甲酸二异丁酯(1)、水杨酸(2)、儿茶酚(3)、对羟基苯甲酸(4)、(反)-3,4-二羟基苯丙烯酸(5)、对羟基苯酚(6)、邻苯二甲酸二丁酯(7)、3,4-二羟基苯乙醇(8)、对羟基苯乙醇(9)、3,4-二羟基苯甲酸(10)。除化合物 1、2 和 4 外,其余均为首次从该植物中分离得到。

关键词:花生茎叶;大孔树脂;酚性成分;结构鉴定

中图分类号: Q946.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2014)01-0139-04

Study on phenolic constituents of stems and leaves from *Arachis hypogaea*

LUO Zheng-Hui^{1,2,3}, CAI Bai-Xiang^{1,2,3}, LIANG Yi-Min³,
LIU Jin-Song^{1,2,3}, WANG Guo-Kai^{1,2,3}, WANG Gang^{1,2,3*}

(1. Department of Pharmaceutical Chemistry, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China; 2. Institute of Pharmaceutical Chemistry, Anhui Academy of Chinese Medicine, Hefei 230031, China; 3. Key Disciplines of Traditional Chinese Medicine, State Administration of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230031, China)

Abstract: Phytochemical investigation of the stems and leaves from *Arachis hypogaea* led to the isolation of 10 known compounds. Based on spectroscopic and chemical evidences, their structures were identified as 1,2-benzenedicarboxylic acid-bis-(2-methylpropyl) ester(1), 2-hydroxy benzoic acid(2), 1,2-benzenediol(3), 4-hydroxy benzoic acid(4), (E)-3,4-dihydroxy-cinnamic acid(5), 4-hydroxy phenol(6), phthalic acid dibutyl ester(7), 3,4-dihydroxy-phenethylalcohol(8), 4-hydroxyphenyl ethanol(9), 3,4-dihydroxy-benzoic acid(10). Except for 1, 2 and 4, the other compounds were isolated from *A. hypogaea* for the first time.

Key words: *Arachis hypogaea*; macroporous resins; phenolic constituents; structural identification

花生茎叶为豆科落花生属(*Arachis*)植物落花生(*A. hypogaea*)的地上部分,为民间一常用草药,始见于《滇南本草》,其后《福建药物志》和《浙江药用植物志》等都有相关功效的记载。花生茎叶具有清

热解毒,宁神降压功效。主治跌打损伤,痈肿疮毒,失眠,高血压等病症(国家中医药管理局《中华本草》编委会,1999)。现代药理及临床研究表明花生茎叶对失眠症有非常明显的疗效(王翹楚,1999;张慧清

收稿日期:2013-09-29 修回日期:2013-11-24

基金项目:安徽高校省级自然科学研究重点项目(KJ2008A31ZC)

作者简介:罗争辉(1987-),男,安徽濉溪人,硕士,从事天然活性物质研究,(E-mail)13515603650@163.com。

*通讯作者:王刚,教授,硕士生导师,从事天然药物化学的教学和科研工作,(E-mail)kunhong_8@163.com。

等,2010)。前期研究表明,其对小鼠镇静安眠的作用机理是提高小鼠脑内的5-HT含量(刘劲松等,2012)。但目前对其物质基础的研究相对较少,为此对花生茎叶进行了系统的化学成分研究,本研究改进了提取分离方法,采用大孔树脂初步分段,进而分离纯化,以期获得更多化合物,为阐明花生茎叶镇静催眠的物质基础提供依据。

1 材料与amp;方法

熔点由四川大学科学仪器厂XRC-1型显微熔点仪测定;温度计未校正;1 m³提取罐及500双效浓缩罐为常熟制药机械厂;质谱由VG AutoSpec-3000质谱仪测定;核磁共振由Bruker AV-400和DRX-500测定,内标为TMS;分析型和制备型HPLC为Agilent 1100 HPLC,色谱柱为Agilent Zorbax SB-C₁₈和YMC柱;柱层析硅胶(80~100目和200~300目)以及GF₂₅₄薄层硅胶板均为青岛海洋化工厂生产;反相材料Lichroprep Rp-18(40~63 μm)为Merck公司生产;Sephadex LH-20为瑞典Amersham Biosciences公司生产;显色方法为紫外灯下波长254 nm和365 nm处观察荧光,10%硫酸乙醇溶液、磷钼酸乙醇溶液和硫酸香草醛处理后加热显色及碘蒸气显色。

花生茎叶2012年7月采集于安徽省濉溪县,经安徽中医药大学药学院方成武教授鉴定为豆科落花生属(*Arachis*)落花生(*A. hypogaea*)地上部分。

2 提取分离

阴干的花生茎叶50 kg,提取罐提取,分别以12,10,8倍70%乙醇提取3次,滤过,浓缩至无醇味,浓缩液过滤后用50 L水稀释为每1 mL 0.5 g生药,上D-101大孔树脂柱,依次用蒸馏水、10%、30%、50%、70%、90%乙醇梯度洗脱,流速30 mL·min⁻¹,浓缩,干燥,分别得到洗脱部位2357、548、497、640、166、214 g。

10%乙醇洗脱部位548 g硅胶色谱柱分离,以三氯甲烷-甲醇梯度洗脱,TLC检识,合并相同流分得9个组分(A1-A9)。组分A3用硅胶柱色谱分离,以石油醚-丙酮(4:1)洗脱,TLC检识,合并相同流分得3个组分(A31-A33)。组分A31经反复硅胶柱色谱分离,经反相-高效液相色谱制备柱色谱

得到化合物**1**(3.2 mg)。组分A4用硅胶柱色谱分离,以三氯甲烷-甲醇(8:1→1:1)梯度洗脱,TLC检识,合并相同流分得7个组分(A41-A47)。组分A42经反复硅胶柱色谱分离,经Sephadex LH-20柱色谱,以三氯甲烷-甲醇(1:1)洗脱,反复纯化得到化合物**2**(1.2 mg)。组分A43经反相-高效液相色谱法制备柱色谱得化合物**3**(26.4 mg),**4**(10.4 mg)。组分A44经反复硅胶柱色谱分离,经Sephadex LH-20柱色谱,以三氯甲烷-甲醇(1:1)洗脱,反复纯化得到化合物**5**(28.3 mg)。组分A46经反复硅胶柱色谱分离,经Sephadex LH-20柱色谱,以三氯甲烷-甲醇(1:1)洗脱,反复纯化得到化合物**6**(7.3 mg)。组分A5用硅胶柱色谱分离,以氯仿-甲醇(10:1)洗脱,TLC检识,合并相同流分得7个组分(A51-A57)。A52反复硅胶柱色谱,再经Sephadex LH-20柱色谱,以三氯甲烷-甲醇(1:1)洗脱,反复纯化得到化合物**7**(3.7 mg)。A52反复硅胶柱色谱,再经反相-高效液相色谱法制备柱色谱得到化合物**8**(0.5 mg)。A55反复硅胶柱色谱,再经反相-高效液相色谱法制备柱色谱得到化合物**9**(3.5 mg)。组分A6用硅胶柱色谱分离,以氯仿-甲醇(8:1)洗脱,TLC检识,合并相同流分得4个组分(A61-A64)。A62反复硅胶柱色谱,再经反相-高效液相色谱法制备柱色谱得到化合物**10**(7.1 mg)。

3 结构鉴定

化合物**1** 白色无定型粉末(氯仿)。ESI-MS m/z : 277[M-H]⁻; ¹H NMR(500 MHz, CDCl₃) δ: 7.73(2 H, dd, $J = 3.2, 5.5$ Hz, H-3, 6), 7.62(2 H, dd, $J = 3.2, 5.5$ Hz, H-4, 5), 4.05(4H, d, $J = 6.5$ Hz, H-1, 1'), 2.02(2 H, m, H-2, 2'), 0.99(12 H, d, $J = 6.5$ Hz, H-3, 3', 4, 4')。以上数据与胡静(2012)的数据报道一致,确定该化合物为邻苯二甲酸二异丁酯。

化合物**2** 无色针晶(甲醇)。ESI-MS m/z : 125[M-H]⁻; ¹H NMR(400 MHz, CD₃OD) δ: 7.94(1H, dd, $J = 1.5, 8.0$ Hz, H-6), 7.53(1H, d, $J = 1.5, 8.0$ Hz, H-4), 7.02(1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3), 6.94(1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-5)。以上数据与吴斌(2004)的数据报道一致,确定该化合物为水杨酸。

化合物**3** 无色针晶(甲醇)。ESI-MS m/z : 109[M-H]⁻; ¹H NMR(400 MHz, CD₃OD) δ: 6.74

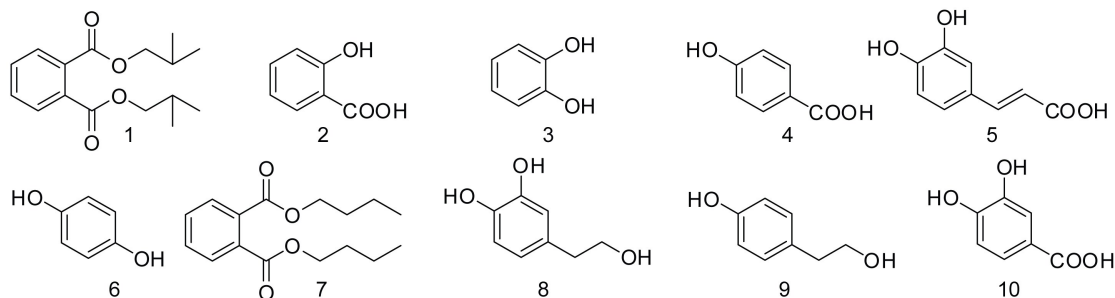


图 1 化合物结构图

Fig. 1 Structures of compounds

(2 H, m, H-3, 6), 6.64 (2 H, m, H-4, 5)。以上数据与王素娟(2000)的数据报道一致, 确定该化合物为儿茶酚。

化合物 4 无色针晶(甲醇)。ESI-MS m/z : 125[M-H]⁻; ¹H NMR(500 MHz, CD₃OD) δ : 7.86 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-2, 6), 6.79 (2 H, d, J = 8.0 Hz, H-3, 5)。以上数据与吴斌(2004)的数据报道一致, 确定该化合物为对羟基苯甲酸。

化合物 5 黄色粉末(甲醇)。ESI-MS m/z : 179[M-H]⁻; ¹H NMR(500 MHz, CD₃OD) δ : 6.19 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-2), 6.77 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-8), 6.91 (1H, dd, J = 1.9, 8.0 Hz, H-9), 7.02 (1 H, d, J = 1.9 Hz, H-9), 7.52 (1 H, d, J = 16.0 Hz, H-3)。以上数据与牟明月(2009)的数据报道一致, 确定该化合物为(反)-3,4-二羟基苯丙烯酸。

化合物 6 无色针晶(甲醇)。ESI-MS m/z : 109[M-H]⁻; ¹H NMR(500 MHz, CD₃OD) δ : 6.60 (4H, s, H-2, 3, 4, 5)。以上数据与吴斌(2004)的数据报道一致, 确定该化合物为对羟基苯酚。

化合物 7 黄色油状物(氯仿)。ESI-MS m/z : 277[M-H]⁻; ¹H NMR(500 MHz, CD₃OD) δ : 7.73 (2 H, dd, J = 3.2, 5.6 Hz, H-3, 6), 7.62 (2 H, dd, J = 3.2, 5.6 Hz, H-4, 5), 4.29 (4H, t, J = 5.5 Hz, H-1, 1'), 1.72 (4H, m, H-2, 2'), 1.45 (4 H, m, H-3, 3'), 0.98 (6H, t, J = 7.2 Hz, H-4, 4')。以上数据与杨杰(2013)的数据报道一致, 确定该化合物为邻苯二甲酸二丁酯。

化合物 8 白色无定型粉末(甲醇)。ESI-MS m/z : 153[M-H]⁻; ¹H NMR(500 MHz, CD₃OD) δ : 6.65 (1H, dd, J = 2.0, 8.0 Hz, H-6), 6.63 (1 H, d, J = 2.0 Hz, H-2), 6.51 (1H, dd, J = 8.0 Hz, H-5),

3.66 (2H, t, J = 7.2 Hz, H-8), 2.64 (2 H, t, J = 7.2 Hz, H-7)。以上数据与姚尧(2012)的数据报道一致, 确定该化合物为 3,4-二羟基苯乙醇。

化合物 9 无色针晶(甲醇)。ESI-MS m/z : 137[M-H]⁻; ¹H NMR(500 MHz, CD₃OD) δ : 7.02 (2H, d, J = 8.1 Hz, H-2, 6), 6.68 (2H, d, J = 8.1 Hz, H-3, 5), 3.67 (2H, t, J = 6.4 Hz, H-9, 10), 2.70 (2 H, t, J = 6.4 Hz, H-7, 8)。以上数据与张树军(2006)的数据报道一致, 确定该化合物为对羟基苯乙醇。

化合物 10 无色针晶(甲醇)。ESI-MS m/z : 153[M-H]⁻; ¹H NMR(500 MHz, CD₃OD) δ : 7.42 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 7.40 (1H, dd, J = 2.0, 8.0 Hz, H-2), 6.79 (1 H, d, J = 8.0 Hz, H-5)。以上数据与黄敏芳(2009)的数据报道一致, 确定该化合物为 3,4-二羟基苯甲酸。

4 结论与讨论

本课题组前期曾对花生茎叶的化学成分进行过研究(刘劲松等, 2008a, b, 2009), 也对花生茎叶不同提取部位对小鼠的镇静催眠作用进行了探讨, 并发现其作用机理是提高小鼠脑内的 5-HT 含量(刘劲松等, 2012)。因此, 改进提取分离方法, 进一步研究花生茎叶镇静催眠活性的物质基础, 意义重大。本实验采用大孔树脂富集中小极性化合物后, 再进一步通过色谱分离的方法, 结果分离并鉴定了花生茎叶中首次分离得到的 7 个酚性化合物。

参考文献:

- 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 1996. 中华本草四卷 [M]. 上海: 上海科学技术出版社: 333-334
Hu J(胡静), Yang B(杨斌), Ye JF(叶见凡), et al. 2012. Chemi-

- cal constituents of marine sponge *Halichondria* sp. from the South China Sea(南海软海绵化学成分研究)[J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), **24**:614—617
- Huang MF(黄敏芳), Li N(李宁), Ni H(倪慧), et al. 2009. Studies on constituents of *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin. (鹿根的化学成分)[J]. *J Shenyang Pharm Univ*(沈阳药科大学学报), **26**(7):527—529
- Liu JS(刘劲松), Li L(李莉), Chen AM(陈爱民), et al. 2012. Different extracts from *Arachis hypogaea* L. sedative and hypnotic effects in mice preliminary exploration(花生茎叶不同提取部位对小鼠镇静催眠作用的初步探索)[J]. *J Chin Med Mat*(中药材), **35**(11):1 833—1 836
- Liu JS(刘劲松), Wang G(王刚), Dong C(董超), et al. 2008a. Studies on constituents of stems and leaves from *Arachis hypogaea* L. (花生茎叶化学成分研究)[J]. *Chin Trad Pat Med*(中成药), **30**(3):419—451
- Liu JS(刘劲松), Wang G(王刚), Jin JH(金家宏), et al. 2008b. Studies on constituents of stems and leaves from *Arachis hypogaea* L. (II)(花生茎叶化学成分研究)(II)[J]. *Chin Trad Herb Drugs*(中草药), **39**(5):664—666
- Liu JS(刘劲松), Wang G(王刚), Wang GK(王国凯), et al. 2009. Studies on constituents of stems and leaves from *Arachis hypogaea* L. (3)(花生茎叶化学成分研究III)[J]. *Chin Trad Pat Med*(中成药), **31**(12):1 902—1 903
- Mou MY(牟明月), Zhang QJ(张前军), Kang WY(康文艺), et al. 2009. Studies on chemical composition and biological activity of *Teucrium pilosum* (Pamp.)CY Wu et S Chow (长毛香科科化学成分及生物活性研究)[J]. *Chin J Chin Mat Med*(中国中药杂志), **34**(17):2 189—2 193
- Wang QC(王翘楚). 1999. Stems and leaves of *Arachis hypogaea* L. treatment of insomnia(花生茎叶治疗失眠症)[J]. *J Trad Chin Med Lit*(中医文献杂志), (4):3—29
- Wang SJ(王素娟), Pei YH(裴月湖). 2000. Studies on constituents of *Betula platyphylla* (白桦叶化学成分的研究)[J]. *J Shenyang Pharm Univ*(沈阳药科大学学报), **17**(4):256—257
- Wu B(吴斌), Wu LJ(吴立军), Zhang L(张磊), et al. 2004. Studies on constituents of *Senecio cannabifolius* Less. (1)(麻叶千里光抗菌化学成分的研究I)[J]. *J Shenyang Pharm Univ*(沈阳药科大学学报), **21**(5):341—345
- Yang J(杨杰), Ji RF(纪瑞峰), Wang LL(王丽莉), et al. 2013. Chemical constituents from ethyl acetate fraction in stems and leaves of *Arachis hypogaea* (落花生茎叶醋酸乙酯部位化学成分研究)[J]. *Drugs & Clin* (现代药物与临床), **28**(2):147—149
- Yao Y(姚尧), Wu C(吴春), Hao Q(郝倩), et al. 2012. Studies on constituents of *Corralodiscus flabellatus* (Craib)Burt(石胆草化学成分研究)[J]. *J Kunming Univ Sci Technol: Nat Sci Edi*(昆明理工大学学报·自然科学版), **37**(5):64—68
- Zhang HQ(张慧清), Feng F(冯峰), Xie N(谢宁), et al. 2010. Studies on constituents and pharmacological effects of *Arachis hypogaea* L. (落花生化学成分及药理作用研究)[J]. *Centr South Pharm*(中南药学), **8**(1):45—48
- Zhang SJ(张树军), Zhang JF(张军峰), Wang JL(王金兰). 2006. Studies on constituents of *Syringa oblata* (紫丁香籽化学成分研究)[J]. *Chin Trad Herb Drugs*(中草药), **37**(11):1 624—1 626

(上接第 138 页 Continue from page 138)

- Tribulus terrestris* by HPLC-ELSD(HPLC-ELSD 法测定蒺藜粗皂苷中 3 种甾体皂苷元)[J]. *Chin Trad Herb Drugs*(中草药), (12):2 417—2 419
- Jiang ZJ, Hao ZB, Wu Q, et al. 2013. A novel flow-injection chemiluminescence method for determination of andrographolide in andrographis tablets[J]. *Drug Test Anal*, **5**(5):340—345
- Lau AJ, Seo BH, Woo SO, et al. 2004. High-performance liquid chromatographic method with quantitative comparisons of whole chromatograms of raw and steamed *Panax notoginseng* [J]. *J Chromatogr A*, **1 057**(1-2):141—149
- Li L, Zhang JL, Sheng YX, et al. 2005. Simultaneous quantification of six major active saponins of *Panax notoginseng* by high-performance liquid chromatography-UV method[J]. *J Pharm Biomed*, **38**(1):45—51
- Ma Y(马艳), Tan WH(谭卫红), Feng GD(冯国东), et al. 2013. Flow injection chemiluminescence determination of progesterone (流动注射化学发光法测定黄体酮)[J]. *J Anal Sci*(分析科学学报), **29**(1):105—108
- Shangguan DH, Han HW, Zhao R, et al. 2001. New method for high-performance liquid chromatographic separation and fluorescence detection of ginsenosides[J]. *J Chromatogr A*, **910**(2):367—372
- Wan JB, Lai CM, Li SP, et al. 2006. Simultaneous determination of nine saponins from *Panax notoginseng* using HPLC and pressurized liquid extraction[J]. *J Pharm Biomed*, **41**(1):274—279
- Wan JB(万建波), Li SP(李绍平), Jian JC(简家荣), et al. 2004. Analysis of saponins from *Panax notoginseng* using pressurized solvent extraction coupled with high performance thin layer chromatography(加压溶剂提取-高效薄层扫描法测定三七中皂苷类成分)[J]. *Chin J Nat Med*(中国天然药物), **2**(4):215—218
- Xuan WD(宣伟东), Chen HS(陈海生), Tan XQ(谭兴起), et al. 2005. HPLC-ELSD method in determination of steroidal saponin TTS-12 in *Tribulus terrestris* (HPLC-ELSD 法测定蒺藜中甾体皂苷 TTS-12 含量)[J]. *Acad J Sec Mill Med Univ*(第二军医大学学报), **26**(2):222—223
- Yang D(杨丹), Cang J(苍晶), Hao ZB(郝再彬), et al. 2006. Flow injection-chemiluminescence determination of soybean isoflavone(流动注射化学发光法测定大豆异黄酮)[J]. *Chin J Anal Chem*(分析化学), **34**(8):1 113—1 115
- Zhou LB, Cheng ZH, Chen DF. 2012. Simultaneous determination of six steroidal saponins and one ecdysone in *Asparagus filicinus* using high performance liquid chromatography coupled with evaporative light scattering detection[J]. *Acta Pharm Sin B*, **2**(3):267—273
- Zeng HJ(曾华金), Liang HL(梁会丽), You J(游静), et al. 2013. Simultaneous determination of ascorbic acid and rutin by flow-injection chemiluminescence method using partial least squares regression(偏最小二乘法结合流动注射化学发光法同时测定芦丁和维生素 C)[J]. *Chin J Lumin*(发光学报), **34**(3):369—374