

甘草新木脂素的分离与化学结构

畅行若 徐清河 朱大元* 宋国强* 徐任生*

(陕西省中医研究所药物研究室, 西安; *中国科学院上海药物研究所)

提要 从陕北产甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch) 的根中分离出五种结晶, 分别鉴定为 β -谷甾醇(β -sitosterol), 芒柄花黄素(Formononetin)甘草西定(Licoricidin)及甘草利酮(Licoricone)。晶V为一新成分, 命名为甘草新木脂素(Liconeolignan)其化学结构用化学降解和光谱分析定为[IVa]。

关键词 陕北产甘草; β -谷甾醇; 芒柄花黄素; 甘草西定; 甘草利酮; 甘草新木脂素

中药甘草, 根据中医理论有和中缓急, 润肺解毒, 通经脉、利血气、调和诸药等多方面的效用, 为临床广泛使用。近年来, 国内外对于甘草的研究颇为重视^(1,2)。

日本学者柴田承二等曾先后从其根中分离出五种新成分即甘草西定(Licoricidin), 甘草利酮(Licoricone)甘草醇(Glycyrol)异甘草醇(Iso-glycyrol)及5-O-甲基甘草醇(5-O-Methylglycyrol)并确定了它们的结构^(3,4,5)。

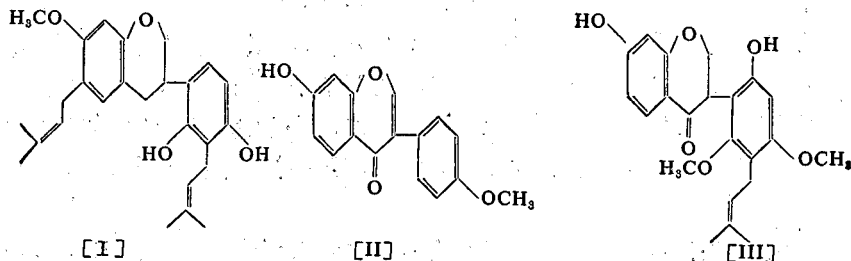
我们在研究陕北产甘草(经鉴定学名为 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)时, 发现其乙醇提取物的氯仿可溶部分有提高垂体-肾上腺皮质系统功能的作用⁽⁶⁾, 为寻找其有效成分, 我们对该部分进行了分离, 结果从中分离到五种结晶。

晶1熔点134~135°C, 乙酰化物熔点128~129°C, 晶[I]的核磁共振谱及红外光谱与 β -谷甾醇一致, 与标准品混合熔点不下降, 证明晶1即 β -谷甾醇。

晶2为白色针状结晶, 熔点159~161°C, 乙酰化物熔点136~138°C, 两者的核磁共振谱均与柴田报道的甘草西定⁽³⁾一致, 故证明晶2即甘草西定(I)。

晶3为无色棱块状结晶, 熔点257~258°C, 乙酰化物熔点169~170°C, 其核磁共振与芒柄花黄素⁽⁷⁾一致, 与已知样品测混合熔点不下降, 证明晶3即芒柄花黄素(II)。

晶4熔点250~251°C, 乙酰化物熔点172~173°C, 两者的光谱数据与柴田报道的甘草利酮一致⁽⁵⁾, 故证明晶4即甘草利酮(III)。



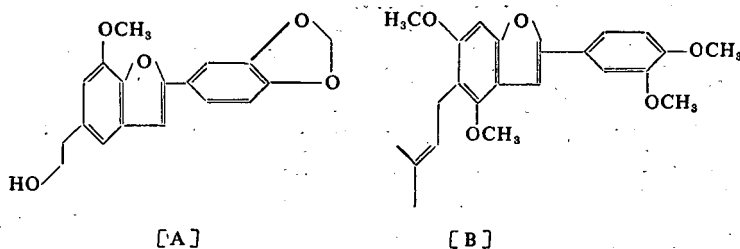
晶5为新成分, 命名甘草新木脂素(Liconeolignan), 呈白色片状结晶, 熔点80~81°C, 三氯化铁反应阴性, 红外光谱示有羟基(3250, 3420 cm^{-1}), 芳香环(1510, 1610 cm^{-1})。能制

备二乙酰化物[IV₅]及二甲醚化物[IV₆]，故本品应有两个羟基。核磁共振谱(DMSO-d₆)示有一个二甲基烯丙基[δ 1.57, 1.68(各 3 H, S), 3.25(2 H, d, J=7 CPS), 5.08(1 H, t, J=7 CPS)], 二个芳香甲氧基[δ 3.77, 3.92(各 3 H, S)], 五个芳香质子, 其中三个质子呈 ABX 型[δ 6.30(1 H, dd, J=8.2 CPS), 7.50(1 H, d, J=8 CPS), 6.40(1 H, d, J=2 CPS)]; 其它两个质子呈孤立芳香质子信号[δ 6.85(1 H, S), 7.10(1 H, S)]。高分辨质谱分子式 C₂₁H₂₂O₅(M⁺354, 1467, 计算值 354, 1467) 根据分子式计算本品应有 11 个不饱和度。除上述功能团的 C、H、O 数和不饱和度外, 分子中尚有两个碳原子、一个氧原子和两个不饱和度未能落实。设若分子内构成呋喃环且该环併于苯环, 则能满足分子式的元素组成及不饱和度, 故推测本品分子内可能有苯骈呋喃的骨架, 经与类似化合物 2-(2', 4'-Dimethoxyphenyl)-4, 6-dimethoxy-5-(γ , γ -dimethylallyl)-coumarone(B) 紫外光谱比较, 发现它们的紫外光谱非常相似(见表 1), 从而证实了本品属于 2-苯基苯骈呋喃(2-phenylcoumarone)类化合物。

甘草新木脂素	(A)*	(B)**
252(sh 4.24)	258(sh 4.07)	251(sh 3.94)
288(sh 4.21)	285(sh 4.32)	288(sh 4.17)
294(sh 4.25)	290(sh 4.42)	297(sh 4.26)
307(sh 4.34)	305(sh 4.60)	310(sh 4.42)
322(4.56)	320(4.73)	322(4.60)
338(4.51)	330(4.63)	338(4.54)

* 已知样品实测值

** 文献值[11]



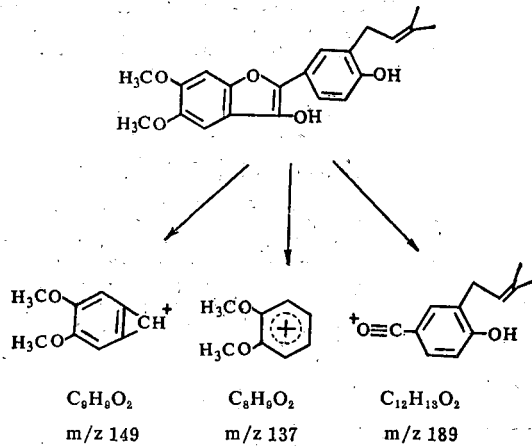
甘草新木脂素在盐酸甲醇液中加热得化合物[IV₄], 熔点 199~201°C, 质谱 M⁺354, 核磁共振谱上二甲基烯丙基信号消失, 出现 δ 1.26(6 H, S), 1.60(2 H, q), 2.70(2 H, q) 信号, 这是 2,2-二甲基色满环(2,2-dimethylchroman)的一组特征吸收峰显然是由于分子中的二甲基烯丙基和羟基环化形成色满环从而提示这两个基团是邻位关系。

分子内 NOE 的测定结果当照射 δ 3.77 甲氧基信号时引起 δ 6.85 信号增益 13%, 照射 δ 3.92 甲氧基信号时引起 δ 7.10 信号增益 16%, 说明两个甲氧基的邻位均应有孤立芳香质子存在。

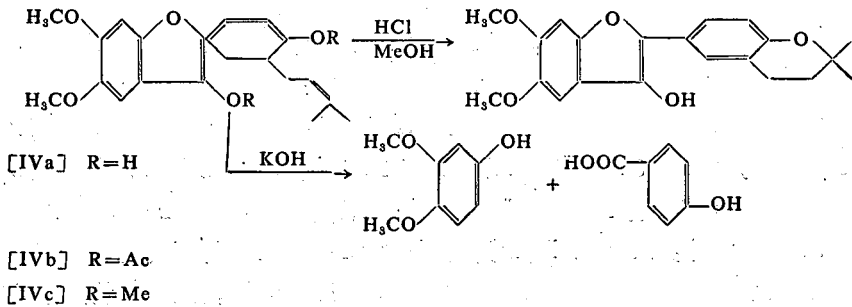
根据以上实验资料推测甘草新木脂素中的两个甲氧基可能取代在 A 环的 5,6 位, 而二甲基烯丙基和其相邻的羟基可能取代于 B 环的 3',4' 位, 另一个羟基则应取代在呋喃环的 3 位上。

甘草新木脂素质谱的主要裂片峰为 354(M⁺100%), 339(M-CH₃, 30.93%), 323(M-OCH₃, 16.90%), 299(M-C₅H₈, 20.33%), 286(M-C₄H₇, 44.91%), 189(51.08%), 149

(53.23%), 137(25.08%), 其中 189, 149, 137 峰的可能裂解方式如下:



质谱资料进一步支持了上述结构的推测。但是, B 环上面的二甲基烯丙基和其成邻位的羟基是 3', 4' 位还是 4', 3' 位仅根据上述数据尚不能肯定。为此, 将甘草新木脂素的二甲醚化物[IV.]进行了分子内 NOE 的测定当照射四个甲氧基信号时, 除引起 δ 6.85 与 7.10 信号增益外, 还引起了 δ 6.30(1 H, dd, J=8, 2 CPS)信号明显增益, 从而证明了 B 环的羟基应取代在 4' 位, 因此推定甘草新木脂素的化学结构式如式[IV_a]所示。



为了进一步确证上述结构的推定, 将甘草新木脂素用 KOH 熔融碱分解, 在酸性部位分得对羟基苯甲酸, 酚性部位分得 3,4-二甲氧基苯酚, 从而最后证明了甘草新木脂素的化学结构。

实 验 部 分

本实验所有熔点均用 Kofler 微量熔点测定器测定(未校正), 紫外光谱用 Unicam SP 1800 紫外光谱仪测定。红外光谱用 Perkin-Elmer 599 B 型红外光谱仪测定。核磁共振谱用 JEOL PS 100 核磁共振仪测定。质谱用 MAT-711 型质谱仪测定。柱层析硅胶系天津化学试剂三厂出品。薄层层析硅胶板用青岛海洋化工厂生产的硅胶 G。

(一) 提取和分离

取陕西定边县产甘草根及根茎 10 kg, 切成碎片, 用 8 倍量 95% 酒精渗漉提取。合并提出液, 减压回收酒精得糖浆状物 1200 g, 将此糖浆状物用 6~7 倍量氯仿回流提取三次, 提取液回收氯仿后得氯仿提出物 425g。将氯仿提出物用适量硅胶均匀拌和, 研细后装入索氏抽提器中用石油醚(b. p. 30~60°C)回流提取 4 小时, 将石油醚提取液蒸干, 残渣加入少量乙醇, 析出物通过中性氧化铝(IV 级), 从氯仿洗脱部位得晶 1。将石油醚提取后的硅胶拌和物, 加

入装有5倍量的硅胶柱顶端,用氯仿洗脱,每馏分200 ml,共收集200馏分。每馏分用硅胶G板检查[展开剂①石油醚-氯仿-乙醇(2:7:1),②氯仿-乙醇(8:2),③乙醚。用碘蒸气或磷钼酸酒精液加热显色),将斑点类似馏分合并,共得6个部位,分别称A、B、C、D、E及F部位。

将上边C部位浓缩,析出物用氯仿反复重结晶得晶2。

将E部位浓缩,通过中性氧化铝(3级,160目左右)层析柱,依次用氯仿、乙酸乙酯梯度洗脱。将乙酸乙酯洗脱液蒸干,残留物加入无水乙醇,放置后析出晶3。将晶3滤除后的母液蒸干,氯仿溶解,然后滴加石油醚至混浊,放置后析出晶4。母液用中性氧化铝(3级,180目左右)层析,依次用石油醚(bp 30~60°C)、石油醚-乙醚(9:1; 8:2; 1:1)洗脱,薄层检查,在石油醚-乙醚(8:2)部位得晶5,用氯仿-石油醚(1:1)重结晶,得甘草新木脂素(晶5) 150 mg(得率0.0015%)。

(二) β -谷甾醇(晶1)的鉴定

晶1熔点134~135°C,常法制备乙酰化物熔点128~129°C,经与标准样品 β -谷甾醇混合熔点不下降,核磁共振谱与红外光谱亦完全相符。

(三) 甘草西定(晶2)的鉴定

白色针晶,熔点159~161°C, $[\alpha]_D^{25} + 19.26$ (MeOH, C=1), 紫外光谱 $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}} \text{nm}(\log \epsilon)$ 282(3.86)。红外光谱 $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$ 3500, 3285, 1615, 1504。核磁共振谱(DMSO- d_6 , δ) 1.70

(6 H, br. s. $\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \diagdown \\ \text{C} \\ \diagup \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$), 1.66(6 H, br. s. $\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \diagdown \\ \text{C} \\ \diagup \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$), 3.34(2 H, d, J=6 Hz, $-\text{CH}_2-$ Ar), 3.25(2 H, d, J=6 Hz, $-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5.12(1 H, t, J=6 Hz, $-\text{CH}=\text{C}$), 5.00(1 H, t, J=6 Hz, $-\text{CH}=\text{C}$), 3.63(3 H, s, OCH₃), 6.08(1 H, s), 6.23(1 H, d, J=8 Hz), 6.67(1 H, d, J=8 Hz), 5.36, 4.80(各1 H, s, OH, D₂O交换消失), 4.16(1 H, dd, J=10, 3 Hz), 3.84(1 H, d, J=10 Hz), 2.80(2 H, m)。质谱 m/z 424.2192(分子式为C₂₆H₃₂O₅, 计算值424.2249), 409, 407, 369, 351, 233, 220, 204, 177, 164, 148。常法得乙酰化物熔点136~138°C, C₃₂H₃₈O₈(计算值% C 69.80; H 6.96, 实测值% C 70.04; H 7.01)。核磁共振谱(CDCl₃, σ) 1.61(6 H, br. s), 1.67(6 H, br. s), 2.20, 2.22, 2.24(各3 H, s, 3xCOCH₃), 2.80(2 H, m), 3.08, 3.15(各1 H, d, J=6 Hz), 3.64(3 H, s), 3.90(1 H, d, J=10 Hz), 4.20(1 H, dd, J=10, 3.5 Hz), 6.32(1 H, s), 6.95(1 H, d, J=8 Hz), 7.02(1 H, d, J=8 Hz)。

(四) 芒柄花黄素(晶3)的鉴定

熔点257~258°C, 紫外光谱显异黄酮特征吸收 $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}} \text{nm}(\log \epsilon)$ 255(4.45), 310(4.08)。质谱 m/z 268(M⁺), 253, 240, 225, 132。核磁共振谱(DMSO- d_6 , δ) 3.73(3 H, s), 6.8—6.96(4 H, H_{3',5',6,8}), 7.43(2 H, d, J=8 Hz, H_{2',6'}), 7.90(1 H, d, J=8 Hz), 8.26(1 H, s, H₂)。常法得乙酰化物熔点169~170°C, 核磁共振谱(CDCl₃, σ) 2.30(3 H, s), 3.80(3 H, s), 8.26(1 H, d, J=8 Hz, H₅), 7.90(1 H, s, H₂), 7.43(2 H, d, J=8 Hz, H_{2',6'}), 6.90(2 H, d, s=8 Hz, H_{3',5'}), 7.20(1 H, s, H₈), 7.10(1 H, d, J=8 Hz, H₆)。与已知样品测混合熔点不下降。

(五) 甘草利酮(晶4)的鉴定

熔点250~251°C, 紫外光谱 $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}} \text{nm}(\log \epsilon)$ 250(4.45), 305(4.09)。质谱 m/z 382(M⁺),

367, 351, 327, 314, 257, 137。核磁共振谱(DMSO- d_6 , δ) 1.60(3 H, S), 1.66(3 H, S), 3.40(3 H, s), 3.72(3 H, s), 6.28(1 H, s, $H_{3'}$), 6.84(1 H, br. s, H_8), 6.90(1 H, dd, $J=8.2$ Hz, H_6), 7.88(1 H, d, $J=8$, H_5), 7.96(1 H, s, H_2), 9.10, 10.70 (各1 H, br. s, OH, D_2O 交换消失)。常法得乙酰化物熔点 172~173°C, 核磁共振谱(CDCl₃, δ) 1.63, 1.70(各3 H, s), 2.04, 2.32(各3 H, 2 XCOCH₃), 3.30(2 H, d, $J=7$ Hz), 3.44, 3.79(各3 H, s), 5.14(1 H, t, $J=7$ Hz), 6.48(1 H, s), 7.21(1 H, s), 7.24(1 H, d, $J=8$ Hz), 7.86(1 H, s), 8.28(1 H, d, $J=8$ Hz)。

(六) 甘草新木脂素(晶5)衍生物的制备

甘草新木脂素熔点 80~81°C, 由高分辨质谱得分子式 $C_{21}H_{22}O_5$ (M^+ 354.1467, 计算值 354.1467)。紫外, 红外, 核磁及质谱数据见正文。

(1) 甲基化 称取晶 510 mg 溶于 2 ml 甲醇中, 加入过量重氮甲烷乙醚液, 冰箱中放置 2 天, 蒸去溶剂, 用氯仿—石油醚溶剂复结晶, 得白色羽毛状结晶 9 mg, 熔点 104~106°C。核磁共振谱(CDCl₃, δ) 3.84(6 H, s), 3.94(3 H, s), 4.01(3 H, s)。质谱 m/z 382 (M^+)。

(2) 乙酰化 称取晶 510 mg, 用醋酐吡啶常法得乙酰化物, 用乙醇重结晶得 10 mg, 熔点 109~110°C。质谱 m/z 438 (M^+)。核磁共振谱(CDCl₃, σ) 2.24, 2.34(各3 H, s), 1.63(3 H, S), 1.75(3 H, S), 3.38(2 H, d, $J=6$ Hz), 5.19(1 H, t, $J=6$ Hz), 3.81, 3.98(各3 H, s), 6.60(1 H, br. s), 6.89(1 H, s), 6.86(1 H, s), 7.03(1 H, d, $J=8$ Hz), 7.73(1 H, d, $J=8$ Hz)。

(3) 环化 称取晶 520 mg 溶于 15 ml 甲醇中, 加浓盐酸 1.5 ml, 在水浴上回流 1.5 小时, 放置过夜, 次日减压蒸去甲醇, 加水 20 ml, 用乙醚提取 3 次, 乙醚提取液水洗后用无水硫酸钠干燥, 蒸除乙醚, 残留物用氯仿重结晶, 得白色针晶 15 mg, 熔点 199~201°C。质谱 m/z 354 (M^+)。核磁共振谱(CDCl₃, δ) 1.26(6 H, s), 1.60(2 H, q), 2.70(2 H, q)。

(七) 甘草新木脂素(晶5)的碱分解

称取晶 520 mg 加 200 mg 固体氢氧化钾及一滴蒸馏水, 直火使熔融, 至反应物由红转到浅黄色, 停止加热, 用常规方法分成酸性及碱性部位。酸性部位经制备性薄层层析[展开剂苯—甲醇—乙酸(79:14:7)]分离及升华精制得白色针状结晶, 熔点 210°C, 经与标准样品对羟基苯甲酸测混合熔点不下降, 红外光谱也完全相同。碱性部位经制备性薄层层析(展开剂苯)得白色结晶, 熔点 78°C, 与合成的 3, 4-二甲氧基苯酚测混合熔点不下降, 红外光谱也一致。

参 考 文 献

1. 刘寿山: 中药研究文献摘要 (1962~1974), 202 页, 科学出版社, 1979
2. 久保道德, 他: 和漢薬详介 (36), 甘草 (のそ5), 消化性潰瘍に対する甘草の作用, 和漢薬 (日), 334:8, 1981
3. 林寿全等: 国产六种甘草资源的利用研究, 植物分类学报, 15:47 页, 1977
4. «全国中草药汇编»编写组: 全国中草药汇编, 上册, 237 页, 人民卫生出版社, 1976
5. 南京药学院«中草药学»编写组: 中草药学 (中册), 471 页, 江苏人民出版社, 1976
6. Shibata S, et al: Chemical studies on the oriental plant drugs. XIX. Some new constituents of licorice root (I), The structure of licoricidin. *Chem Pharm Bull* 16:1932, 1968
7. Saitoh T, et al: Chemical studies on the oriental plant drugs. XXII. Some new constituents of licorice root(2), glycyrol, 5-0-methylglycyrol and isoglycyrol. *Ibid* 17:729, 1969

THE ISOLATION AND STRUCTURAL ELUCIDA-
TION OF LICONEOLIGNAN FROM
G. URALENSIS.

CHANG Xing-ruo, XU Qing-he, ZHU Da-yuan*,

SONG Guo-qiang* and XU Ren-sheng*

(Shanxi Institute of Chinese Traditional Medicine, Xian

*Shanghai Institute of Materia Medica, Academia Sinica)

ABSTRACT

From the chloroform soluble portion of alcoholic extract of the root of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. (Leguminosae), well-known Chinese drug called Gan-cao, five crystalline substances were isolated by silica gel and alumina column chromatographic method. Beside the known substances β -sitosterol, licoricidin formononetin, and licoricone, a new compound named liconeolignan, was obtained.

Liconeolignan, $C_{21}H_{22}O_5$ with m. p. $80\sim 81^\circ C$ possesses two hydroxyls forming diacetate, $C_{25}H_{26}O_7$ m.p. $109\sim 110^\circ C$ and dimethyl ether, $C_{23}H_{26}O_5$, m.p. $104\sim 106^\circ C$. The chemical structure of liconeolignan was elucidated to be [IV_a] with the aid of UV, IR, NMR and mass spectroscopic studies, as well as alkaline degradation.

Key words. *Glycyrrhiza uralensis* Fisch; β -Sitosterol; Formononetin; Licoricidin; Licoricone; Liconeolignan