

苦豆子中抑制小麦胚芽鞘伸长的活性物质*

李广仁 赵仲仁 郑巧兰

史延年 张春香 陈茹玉

(南开大学元素有机化学研究所)

苦豆子 (*Sophora alopecuroides* L.) 是一种广布于我国西北荒漠地带的小灌木，具有清热解毒作用，用于治疗咽喉肿痛、痢疾等^[2,3]；又可作为绿肥，据说还有增产、增甜（对瓜类作物）的效果。

为寻找增产、增甜的生理活性物质，我们以小麦胚芽鞘垂直伸长为指标，对苦豆子地上部分的乙醇提取物进行了跟踪分离。生物测定表明，酸性部分对芽鞘有很强的抑制作用。对苦豆子的六个已知生物碱的研究表明，即使其浓度高达 500ppm，对小麦胚芽鞘伸长仍无明显的作用。

通过硅胶及凝胶柱层析分离，鉴定了四个具有不同程度抑制小麦胚芽鞘伸长的活性物质，即反式肉桂酸（I，占干草 0.002%，下同）、水杨酸（II，0.0015%）、丁二酸单乙酯（III，0.0009%）和脱落酸（IV，0.00014%）。此结果尚属首次报道。

实验部分

苦豆子于 1982 年 6 月盛花期采自新疆哈密地区。割取地上部分，晒干，切成 1 厘米小段。

薄层硅胶系青岛海洋化工厂产品。Sephadex LH-20 为瑞典产品。薄层展开体系 1. 氯仿-无水乙醇 (9:1, V/V); 2. 甲苯-甲酸乙酯-甲酸 (85%) (5:4:1); 3. 乙酸乙酯：氯仿：乙酸 (20:8:1)。显色剂为碘蒸气；稀高锰酸钾溶液及 0.1% 溴甲酚兰溶液。

脱溶剂与浓缩均在旋转蒸发器内进行，

水浴温度低于 45℃。

核磁共振仪 F×-90Q (日本)，四甲基硅油为内标。

红外光谱仪 DC-301。

生测方法参照 Nitsch^[6] 及丁静^[1]。供试小麦为津春四号，种子用 10% 的安替福民消毒，培养基改用 0.6% 洋菜。供试芽鞘长度为 2.8—3.2 厘米，弃去顶端 3 毫米，切取 5 毫米长的切段，在蒸馏水中浸泡 2—3 小时后备用。试验时，在直径 6 厘米的培养皿内放入滴有样品的滤纸一张（在溶剂完全挥发后），然后加入含有 2% 蔗糖的 0.01M 磷酸缓冲液 3 毫升及小麦芽鞘切段 10 个，于 25℃ 置黑暗处培养 20 小时后测定芽鞘切段长度，与对照比较，计算出抑制或促进活性的大小。每样品重复 3 次，测定前操作均在红光下进行。

7 公斤干草用重蒸工业乙醇在室温下浸取 3 次（用量分别为 30, 20, 20 公斤），每次浸取 2 天以上。合并浸取液，浓缩得 1050 克黑色粗浸膏。

取 500 克粗浸膏加 500 毫升甲醇及 2500 毫升蒸馏水混合 (pH 3—4)，并用石油醚 (60—90℃) 提取 (3 × 1500 毫升)，合并有机相；浓缩得 52 克黑色焦油状物。水相用乙酸乙酯提取 (3 × 1500 毫升)，提取液合并后用 5% 的碳酸氢钠水溶液提取，再用盐酸酸化

* 质谱为我所李国炜、张殿坤、陆秀青同志代作；红外光谱为我所王培兰、陈式棟同志代作；生物碱样品为宁夏盐池制药厂所赠，在此一并致谢。

• 中国科学院科学资金资助的课题。

后($\text{pH}3$),用乙酸乙酯提取(3×1000 毫升)合并提取液,用无水硫酸镁干燥,浓缩得17克黑色膏状物(酸性部分,占0.5%),用碳酸氢钠溶液提取过的乙酸乙酯层改用5%氢氧化钠溶液提取(3×500 毫升),提取液浓缩后得23克黑色膏状物(酸性部分,占0.85%)。5%氢氧化钠提取过的有机相用无水硫酸镁干燥后得中性部分。

酸性部分的分离

取10克酸性浸膏溶于少量二氯甲烷中,与20克Ceite 545混合,脱溶剂后,上硅胶柱上(200克硅胶, 5×20 厘米),用1000毫升氯仿洗脱,得7个组份(1—7),用500毫升乙酸乙酯洗脱,得5个组份(8—12)。浓缩后进行薄层检定,把 R_f 相同的组份合并成3组:1—3,4—7,8—12。第1组活性最高,浓缩后(2.3克)溶于5毫升甲醇:氯仿(1:1),上凝胶柱(3×80 厘米),用上述溶剂洗脱,收集20个组分,每份15毫升。其中12—14活性最强,11,15活性次之,16—19活性也较强。从16分离出化合物I,从17—19分离出化合物II。

化合物I和II的分离

组份16在薄层硅胶板上展开后基本上只有一个点,浓缩后四氯化碳多次重结晶后得36毫克片色无状晶体,mp $133\text{--}134^\circ\text{C}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (δ):10.6(s,br,1H),7.80(d,J=16Hz,1H),7.48(m,5H),6.50(d,J=16Hz,1H)。 $\text{IR}\nu_{max}^{KBr}$ (cm^{-1}):3400,3000,2820,1680,1628,1494,1450,1325,1275,1215,975,765。反式肉桂酸的熔点文献值为 $133^\circ\text{C}^{[9]}$ 。混合熔点不下降,在本试验应用的溶剂体系中,薄层色谱形为相同。

组份17—19合并后浓缩,放置,有针状晶体析出,在水浴上(100°C)减压(1毫米汞柱)升华,得无色针状结晶30毫克(0.0015%),mp $156\text{--}158^\circ\text{C}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (δ):10.2s,1H),10.1(s,br,1H),7.95(dd,

J=7Hz,1H),7.52(td,1H),7.00(m,2H)。 $\text{IR}\nu_{max}^{KBr}$ (cm^{-1}):3400,3260,3000,2830,1670,1607,1477,1280,1240,1203,1150,1025,885,780,755。水杨酸熔点为 158°C ,分离出来的化合物的色谱形与水杨酸的一致,并都与三氯化铁的溶液呈阳性反应。

化合物III和IV的分离鉴定

把组分12—14合并,浓缩后得250毫克粘稠油状残留物。溶于少量二氯甲烷里,然后让其吸附在1克Celite 545上,浓缩后加在硅胶柱上(3×30 厘米),依次用200毫升石油醚,石油醚与乙酸乙酯的混合物(10:1,440毫升,组份1—7;10:2,500毫升,组份8—16;1:1,250毫升,组份17—20)洗脱,其中组分12—16活性最高,合并后浓缩得30毫克粘稠的油状物(放置有少量固体析出)。把油状物溶于3毫升甲醇里并上凝胶柱(3×80 厘米)进行分离,甲醇洗脱,每组份收集25毫升,得30个组份。浓缩后,20,21为固体残留物,22为粘稠油状物。薄层色谱及光谱分析表明21主要含化合物IV,22主要含化合物III。

把各次分离出的相应组份22的油状物合并,放置冰箱让其析出固体,分出油状物,并把它溶在甲醇里,再次进行凝胶色层分离,得240毫克(0.0009%)几乎无色粘稠液体。 $^1\text{H-NMR}$ (δ):1.29(t,J=7Hz,3H),2.74(m,4H),4.22(q,J=7Hz,2H),9.6(s,br,1H)。 IR (液膜, cm^{-1}):3500,3280,3000,2950,1735,1715,1410,1377,1350,1225,1170,1095,1020,950,855。合成的丁二酸单乙酯^[4]的NMR与IR行为与分离出来的化合物相似,两者对2,4-二硝基苯肼均不显色,硅胶薄层在上述三个溶剂系统中的 R_f 值相同。

把各次分离得到的相应组分21合并,浓缩后残留物溶于少量甲醇,再次与凝胶柱上进行分离,甲醇洗脱,得40毫克白色固体。

(0.00014%)。用氯仿-正己烷重结晶, mp 158—159℃。 $^1\text{H-NMR}$ (δ) : 7.88(d, J=15.8 Hz, 1 H), 6.24 (d, J=15.8 Hz, 1 H), 6.02 (s, 1 H), 5.80 (s, 1 H), 2.45, 2.38, 2.07, 1.95 (d, 3 H), 1.14 (s, 3 H), 1.05 (s, 3 H), 7.00左右 (br, 2 H)。IR ν_{max}^{KBr} (cm⁻¹) : 3480, 2960, 1655, 1600, 1430, 1375, 1290, 1265, 1240, 1122, 1015, 975, 945, 905, 850。质谱与所报道的脱落酸完全一致。IR与标准脱落酸形为一致。混熔点不下降。Rf也相同。

结果与讨论

化合物 I 质谱6.5与7.8 ppm处两组偶合常数为J=16Hz的双峰,很明显这一定归属于反式烯键碳上的两个质子,红外光谱975 cm⁻¹处强吸收峰也说明这点。7.5 ppm处的一组相当复杂的多重峰的相对质子数为5,结合红外光谱765 cm⁻¹的吸收峰,看来这归属于一取代苯基上的五个质子。10.5 ppm处的宽峰应归属于羟酸的质子,红外光谱中的1680 cm⁻¹吸收峰进一步说明为α,β-不饱和羟酸。分离出的化合物 I 的红外,质谱与反式肉桂酸的标准谱^[10,11]完全相同,混熔点不下降。因此,推定这个化合物为反式肉桂酸。

化合物 II 质谱中10.2 ppm有两个吸收峰,可归属于羧酸质子或/和酚的羟基质子。7.95, 7.52 ppm处各有一组相对质子数为1的双重重峰。其偶合常数J=7 Hz和J=1 Hz。分析7.00 ppm附近的吸收峰可以认为是一个取代基为电正性,另一个取代基为电负性的邻二取代苯的特征光谱。红外光谱755 cm⁻¹吸收峰也说明这是一个邻二取代苯的衍生物。因此,推定这个化合物为水杨酸。分离出的化合物 II 的红外、质谱与水杨酸的标准谱完全一致,混熔点不下降。

化合物 III 的质谱1.29 ppm有个三重峰,4.22 ppm处有个四重峰,相对质子数为3与4,这归属乙氧基。红外的数据表明是乙基酯

9.5 ppm处宽峰可归属羧酸质子。核磁双共振实验表明2.74 ppm相对质子数为4的对称多重峰不是与其它质子偶合而产生的,它们构成一个对称的A₂B₂自旋体。它们的化学位移正好与羧酸及酯的 α-质子的位移一致。而光谱中出现的质子数正好是:

$\text{CH}_2\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}} \text{CH}_2-$ 和 $\text{CH}_2\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}} \text{OH}$ 的质子数的总和。因此,推定这个化合物为丁二酸单乙酯。合成的丁二酸单乙酯的质谱、红外光谱、色谱行为与分离的化合物 III 相同。

化合物 IV 质谱1.09 ppm和1.14 ppm相对质子数为3的两个单峰应归属于饱和碳上的甲基,很可能是异丙某基上两个甲基,1.95与2.07 ppm处两个相对质子数为3的双重峰(J=1 Hz),应归属为双键碳上的两个甲基,并且正好与5.80, 6.20 ppm的两个较宽的烯键碳上的质子吸收峰相呼应。双共振实验证实了它们之间的相对应的关系。根据这些推断该化合物是倍半萜。此外, 6.24与7.88 ppm两组偶合常数为J=15.8的双峰应归属于反式双键碳上的两个质子,2.45, 2.38 ppm处的吸收峰与 $\text{—C}\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{—CH}_2—}}$ 结构一致,

7.0 ppm附近的宽峰(相当于两个质子)表明羧基存在。总括起来,该化合物为脱落酸。

参 考 文 献

- (1) 丁静等, 1979, 植物生理学通讯, (2) : 27—29。
- (2) 江苏新医学院, 1975, 中药大辞典。
- (3) 李英衡等, 1980, 中草药, 11 : 555—557。
- (4) E. E. 霍宁主编(南京大学化学系有机化学教研室译), 1981, 有机合成(第三集)。
- (5) Heilbron L., 1965, Dictionary of Organic Compounds.
- (6) Nitsch J. P. and Nitsch C., 1956, Plant Physiol., 31 : 94—111.
- (7) Ohkuma K. et al., Tetrahedron Lett., (29) : 2529—2535.
- (8) Pouchert C. J., The Aldrich Library of Infrared Spectra Edition III.
- (9) Sadler Standard Spectra of Proton NMR Spectra.
- (10) Simons W. W., 1978, The Sadler Handbook of Proton NMR Spectra.
- (11) The Sadler Standard Spectra of Infrared Spectra.