

长果颈黄芪化学成分和抗氧化活性研究

肖朝江, 邱琳, 徐伟, 董相, 姜北*

大理学院药物研究所药学与化学学院, 云南 大理 671000

摘要: 目的 研究长果颈黄芪 *Astragalus englerianus* 根的化学成分和抗氧化活性。方法 利用硅胶、RP₁₈、Sephadex LH-20 等柱色谱进行分离纯化, 通过理化性质和波谱数据鉴定化合物结构; 采用 DPPH 法测定抗氧化活性。结果 从长果颈黄芪根甲醇提取物的醋酸乙酯部位分离得到 29 个化合物, 分别鉴定为异甘草素(1)、4'-羟基-2, 4-二甲氧基查耳酮(2)、xenognosin(3)、芒柄素(4)、毛蕊异黄酮(5)、樱黄素(6)、(3R)-vestitol(7)、甘草素(8)、(6aR, 11aR)-美迪紫檀素-3-O-β-D-葡萄糖苷(9)、齐墩果-12-烯-3β, 22β, 24-三醇(10)、无羁萜(11)、β-谷甾醇(12)、豆甾醇(13)、7β-羟基谷甾醇(14)、7-氧谷甾醇(15)、(9'Z)-9'-十七烯酸-3β-谷甾醇酯(16)、豆甾-4-烯-3-酮(17)、3β-羟基-5α, 8α-桥二氧麦角甾-6, 9, 22E-三烯(18)、3β-羟基-5α, 8α-桥二氧麦角甾-6, 22E-二烯(19)、D-2-O-甲基肌醇(20)、二十八醇(21)、硬脂酸甲酯(22)、二十烷酸(23)、二十一烷酸(24)、油酸(25)、亚油酸(26)、α-亚麻酸(27)、十六烷酸甘油三酯(28)、亚油酸甘油三酯(29); DPPH 法测得长果颈黄芪根醋酸乙酯部位、化合物 1 和 3 的 IC₅₀ 分别为 (66.0±1.8)、(64.3±0.4) 和 (57.1±1.2) μg/mL。结论 化合物 2、3、6、10、11、14~22 以及 28 为首次从黄芪属植物中分离得到, 所有化合物均为首次从该植物中分离得到; 活性测试结果表明长果颈黄芪具有较好的抗氧化活性。

关键词: 长果颈黄芪; 4'-羟基-2, 4-二甲氧基查耳酮; 樱黄素; 齐墩果-12-烯-3β, 22β, 24-三醇; 抗氧化活性

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2015)01-0022-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.01.006

Chemical constituents from roots of *Astragalus englerianus* and their anti-oxidative activities

XIAO Chao-jiang, QIU Lin, XU Wei, DONG Xiang, JIANG Bei

Institute of Materia Medica, College of Pharmacy and Chemistry, Dali University, Dali 671000, China

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents from the roots of *Astragalus englerianus*, and to determine their anti-oxidative activities. **Methods** The compounds were isolated and purified by silica gel, RP₁₈, and Sephadex LH-20 column chromatography, then their structures were elucidated on the basis of spectral data and physicochemical properties, and anti-oxidative activities were tested by DPPH method. **Results** Twenty-nine compounds were obtained from the ethyl acetate fraction of the methanol extract from the roots of *A. englerianus* and identified as isoliquiritigenin (1), 4'-hydroxy-2, 4-dimethoxychalcone (2), xenognosin (3), formononetin (4), calycosin (5), prunetin (6), (3R)-vestitol (7), liquiritigenin (8), (6aR, 11aR)-medicarpin-3-O-β-D-glucopyranoside (9), olean-12-en-3β, 22β, 24-triol (10), friedelin (11), β-sitosterol (12), stigmasterol (13), 7β-hydroxysitosterol (14), 7-oxositosterol (15), 3β-sitosteryl (9'Z)-9'-heptadecenoate (16), stigmast-4-en-3-one (17), 5α, 8α-epidioxy-ergosta-6, 9, 22E-trien-3β-ol (18), 5α, 8α-epidioxy-ergosta-6, 22E-dien-3β-ol (19), D-2-O-methylinositol (20), octacosanol (21), methyl stearate (22), eicosanoic acid (23), heneicosanoic acid (24), oleic acid (25), linoleic acid (26), α-linolenic acid (27), tripalmitin (28), and trilinolein (29). The ethyl acetate soluble portion, compounds 1 and 3 showed DPPH free radical scavenging activity with IC₅₀ values of (66.0±1.8), (64.3±0.4), and (57.1±1.2) μg/mL, respectively. **Conclusion** This is the first report on the compounds 2, 3, 6, 10, 11, 14—22, and 28 from the plants of *Astragalus* Linn., and all the compounds are obtained from *A. englerianus* for the first time. *A. englerianus* is found to possess the potent anti-oxidative activity.

Key words: *Astragalus englerianus* Ulbr.; 4'-hydroxy-2, 4-dimethoxychalcone; prunetin; olean-12-en-3β, 22β, 24-triol; anti-oxidative activity

收稿日期: 2014-08-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31170313)

作者简介: 肖朝江 (1986—), 男, 硕士, 研究方向为天然药物化学。E-mail: xiaochaojiang@yeah.net

*通信作者 姜北 Tel: (0872)2257316 E-mail: dalinorthjiang@163.com

黄芪为滋补类传统中药, 主要含黄芪皂苷类、多糖类和黄酮类生物活性物质, 具有增强和调节机体免疫功能、促进机体代谢、抗疲劳、抗缺氧、抗辐射和保肝等作用, 在抗肿瘤、抗病毒等方面也有显著功效^[1]。黄芪药材原植物为黄芪属植物膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. 或蒙古黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao^[2], 这两种植物在云南无天然分布。然而, 由于云南在地理、气候等方面的多样性, 致使该地区黄芪属植物种类十分丰富, 为公认的黄芪属植物分布中心之一, 许多云南黄芪属植物在民间多被当作草药广泛应用, 部分种类的药用功效与正品黄芪十分相似^[1]。云南黄芪属植物种类虽然异常丰富, 但绝大多数至今没有进行系统、深入的研究开发。为全面系统了解云南黄芪属植物品质, 本课题组选取分布于云南和西藏东南部海拔2 000~3 700 m山坡林缘, 具有益气固表、升阳举陷功效, 在《中华本草》上被称为“野黄芪”的长果颈黄芪 *Astragalus englerianus* Ulbr. 为研究对象, 采用色谱分离技术结合现代波谱分析、DPPH 法等研究手段, 对其化学成分和生物活性进行了系统研究, 结果从该植物根甲醇提取物的醋酸乙酯部位分离得到 29 个化合物, 分别鉴定为异甘草素 (isoliquiritigenin, **1**)、4'-羟基-2, 4-二甲氧基查耳酮 (4'-hydroxy-2, 4-dimethoxychalcone, **2**)、xenognosin (**3**)、芒柄花素 (formononetin, **4**)、毛蕊异黄酮 (calycosin, **5**)、樱黄素 (prunetin, **6**)、(3*R*)-vestitol (**7**)、甘草素 (liquiritigenin, **8**)、(6*aR*, 11*aR*)-美迪紫檀素-3-*O*-β-*D*-葡萄糖苷 [(6*aR*, 11*aR*)-medicarpin-3-*O*-β-*D*-glucopyranoside, **9**]、齐墩果-12-烯-3β, 22β, 24-三醇 (olean-12-en-3β, 22β, 24-triol, **10**)、无羁萜 (friedelin, **11**)、β-谷甾醇 (β-sitosterol, **12**)、豆甾醇 (stigmasterol, **13**)、7β-羟基谷甾醇 (7β-hydroxysitosterol, **14**)、7-氧谷甾醇 (7-oxositosterol, **15**)、(9'*Z*)-9'-十七烯酸-3β-谷甾醇酯 [3β-sitosteryl (9'*Z*)-9'-heptadecenoate, **16**]、豆甾-4-烯-3-酮 (stigmast-4-en-3-one, **17**)、3β-羟基-5α, 8α-桥二氧麦角甾-6, 9, 22*E*-三烯 (5α, 8α-epidioxy-ergosta-6, 9, 22*E*-trien-3β-ol, **18**)、3β-羟基-5α, 8α-桥二氧麦角甾-6, 22*E*-二烯 (5α, 8α-epidioxy-ergosta-6, 22*E*-dien-3β-ol, **19**)、*D*-2-*O*-甲基肌醇 (*D*-2-*O*-methylinositol, **20**)、二十八醇 (octacosanol, **21**)、硬脂酸甲酯 (methyl stearate, **22**)、二十烷酸 (eicosanoic acid, **23**)、二

十一烷酸 (heneicosanoic acid, **24**)、油酸 (oleic acid, **25**)、亚油酸 (linoleic acid, **26**)、α-亚麻酸 (α-linolenic acid, **27**)、十六烷酸甘油三酯 (tripalmitin, **28**)、亚油酸甘油三酯 (trilinolein, **29**)。其中化合物 **2**、**3**、**6**、**10**、**11**、**14**~**22** 以及 **28** 为首次从黄芪属植物中分离得到, 所有化合物均为首次从该植物中分离得到。DPPH 法测得长果颈黄芪根甲醇提取物及其所有萃取部位均有一定抗氧化活性, 从其根中分离得到的 10 个受试化合物中有 7 个化合物对 DPPH 也具有不同程度的清除作用, 其中化合物 **1** 和 **3** 的活性较好。

1 仪器和材料

Jasco P-1020 型数字式旋光仪 (日本分光公司); Waters AutoSpec Premier P776 双聚焦三扇型磁质谱仪, 电离条件为 70 eV; Bruker HCT Esquire 3000 液相色谱/离子阱质谱联用仪; Bruker Avance III-400 核磁共振仪; BioTek Synergy HT 酶标仪 (BioTek Instruments Inc., Winooski, VT); Sephadex LH-20 (Amersham Biosciences, Sweden); RP₁₈ (40~75 μm, 日本 Fuji 公司); 柱色谱硅胶和薄层色谱硅胶板 GF₂₅₄ (青岛海洋化工厂); DPPH (1, 1-二苯基-2-苦基苯肼; Aldrich Chem. Co., 美国)。

本实验所用药材于 2011 年 11 月采自云南大理苍山, 由中国科学院昆明植物研究所向春雷博士鉴定为长果颈黄芪 *Astragalus englerianus* Ulbr. 的根, 植物标本 (20100928-1b) 存放于大理学院药学与化学学院姜北教授研究组。

2 提取分离

长果颈黄芪干燥根 6.1 kg, 粉碎后甲醇冷浸提取 6 次, 减压浓缩得总浸膏后用适量水混悬, 再依次用醋酸乙酯和正丁醇分配数次; 得相应部位萃取物。醋酸乙酯萃取物 (100 g) 经 200~300 目硅胶柱色谱, 氯仿-丙酮混合溶剂 (1:0→0:1) 梯度洗脱, 得 10 个组分 (A~J)。

A 组分经硅胶柱色谱 (石油醚-醋酸乙酯 10:1→1:1)、反相 RP₁₈ 柱色谱 (甲醇-水) 和凝胶 (Sephadex LH-20 氯仿-甲醇 1:1) 柱色谱, 得化合物 **11** (87.6 mg)、**12** (600.0 mg)、**13** (600.0 mg)、**16** (874.6 mg)、**17** (101.2 mg)、**21** (43.8 mg)、**22** (39.8 mg)、**28** (867.0 mg)。B 组分经反复硅胶柱色谱 (石油醚-丙酮 30:1→0:1、石油醚-醋酸乙酯 10:1) 和凝胶柱色谱 (Sephadex LH-20, 氯仿-甲醇 1:1), 得化合物 **2** (115.6 mg)、**6** (65.0 mg)、

15 (121.8 mg)、**18** (19.4 mg)、**19** (39.3 mg)、**23** (168.8 mg)、**24** (34.7 mg)、**25** (496.2 mg)、**26** (600.0 mg)、**27** (500.0 mg)、**29** (103.0 mg)。C 组分室温下静置后有沉淀析出, 经有机溶剂反复洗涤得化合物 **4** (349.3 mg); 母液部分经反复硅胶柱色谱 (石油醚-丙酮 10:1→0:1、石油醚-醋酸乙酯 5:1、氯仿-甲醇 120:1) 和凝胶柱色谱 (纯甲醇), 得化合物 **1** (115.5 mg)、**3** (20.2 mg)、**7** (88.2 mg)、**8** (35.8 mg)、**10** (114.2 mg)、**14** (111.5 mg)。D 组分经硅胶柱色谱 (石油醚-醋酸乙酯 3:1), 得到 6 个组分 D₁~D₆。D₅ 放置后有橙黄色沉淀析出, 以有机溶剂反复洗涤得化合物 **5** (63.7 mg)。G 组分室温下静置后即有沉淀析出, 经有机溶剂反复洗涤得化合物 **9** (106.9 mg)。I 组分室温下静置后即有沉淀析出, 经有机溶剂反复洗涤得化合物 **20** (200.0 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 橙黄色粉末。¹H-NMR (400 MHz, CD₃COCD₃) δ: 13.68 (1H, s, 2'-OH), 9.73, 9.22 (各 1H, s, 2×-OH), 8.11 (1H, d, *J* = 8.9 Hz, H-6'), 7.85 (1H, d, *J* = 15.3 Hz, H-β), 7.74 (1H, d, *J* = 15.3 Hz, H-α), 7.72 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-2, 6), 6.94 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-3, 5), 6.48 (1H, dd, *J* = 8.9, 2.2 Hz, H-5'), 6.40 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-3'); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃COCD₃) δ: 192.9 (-C=O), 118.3 (C-α), 145.2 (C-β), 127.5 (C-1), 131.8 (C-2, 6), 116.4 (C-3, 5), 161.1 (C-4), 114.5 (C-1'), 165.7 (C-2'), 103.8 (C-3'), 167.6 (C-4'), 108.8 (C-5'), 133.3 (C-6')。以上数据与文献报道基本一致^[3], 故鉴定化合物 **1** 为异甘草素。

化合物 **2**: 橙黄色片晶 (氯仿-甲醇)。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.85 (1H, s, 4'-OH), 8.07 (1H, d, *J* = 15.5 Hz, H-β), 7.96 (2H, d, *J* = 8.1 Hz, H-2', 6'), 7.56 (1H, d, *J* = 15.5 Hz, H-α), 7.51 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-6), 6.97 (2H, d, *J* = 8.1 Hz, H-3', 5'), 6.49 (1H, brd, *J* = 8.1 Hz, H-5), 6.42 (1H, brs, H-3), 3.81, 3.80 (各 3H, s, 2×-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 190.9 (-C=O), 119.9 (C-α), 140.7 (C-β), 117.0 (C-1), 160.5 (C-2), 98.4 (C-3), 163.2 (C-4), 105.6 (C-5), 131.0 (C-6), 130.5 (C-1'), 131.2 (C-2', 6'), 115.7 (C-3', 5'), 161.5 (C-4'), 55.6, 55.5 (2×-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[4], 并经 HSQC、HMBC、COSY 二维谱图中的相关耦合信息确证, 故鉴定化合物 **2** 为 4'-羟基-2, 4-二甲氧基查耳酮。

化合物 **3**: 淡棕色油状物。¹H-NMR (400 MHz,

CD₃COCD₃) δ: 8.37 (1H, brs, -OH), 7.23 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-2, 6), 6.97 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-6'), 6.78 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-3, 5), 6.48 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-3'), 6.39 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.8 Hz, H-5'), 6.34 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-7), 6.18 (1H, dd, *J* = 16.0, 6.8 Hz, H-8), 3.80 (3H, s, -OCH₃), 3.38 (2H, d, *J* = 6.8 Hz, H-9); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃COCD₃) δ: 130.5 (C-1), 128.0 (C-2, 6), 116.2 (C-3, 5), 157.5 (C-4), 130.7 (C-7), 127.2 (C-8), 33.3 (C-9), 120.4 (C-1'), 159.1 (C-2'), 99.8 (C-3'), 158.0 (C-4'), 107.6 (C-5'), 130.9 (C-6'), 55.6 (-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[5], 故鉴定化合物 **3** 为 xenognosin。

化合物 **4**: 无色簇晶 (吡啶)。¹H-NMR (400 MHz, C₅D₅N) δ: 8.43 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-5), 8.14 (1H, s, H-2), 7.77 (2H, brd, *J* = 8.8 Hz, H-2', 6'), 7.21 (1H, brd, *J* = 8.6 Hz, H-6), 7.11 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 7.06 (2H, brd, *J* = 8.8 Hz, H-3', 5'), 3.79 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, C₅D₅N) δ: 153.3 (C-2), 124.3 (C-3), 176.1 (C-4), 128.7 (C-5), 116.4 (C-6), 164.7 (C-7), 103.6 (C-8), 159.0 (C-9), 118.4 (C-10), 125.1 (C-1'), 131.3 (C-2', 6'), 114.7 (C-3', 5'), 160.4 (C-4'), 55.7 (-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[6], 并经 HSQC、HMBC、COSY 二维谱图中的相关耦合信息确证, 故鉴定化合物 **4** 为芒柄花素。

化合物 **5**: 浅黄色针晶 (吡啶)。¹H-NMR (400 MHz, C₅D₅N) δ: 8.43 (1H, brd, *J* = 7.7 Hz, H-5), 8.18 (1H, s, H-2), 7.81 (1H, brs, H-2'), 7.32 (1H, brd, *J* = 7.3 Hz, H-6'), 7.19 (1H, brd, *J* = 7.7 Hz, H-6), 7.09 (1H, brs, H-8), 7.03 (1H, brd, *J* = 7.3 Hz, H-5'), 3.75 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, C₅D₅N) δ: 153.3 (C-2), 125.4 (C-3), 176.2 (C-4), 128.7 (C-5), 116.4 (C-6), 164.7 (C-7), 103.6 (C-8), 159.0 (C-9), 118.4 (C-10), 126.8 (C-1'), 118.3 (C-2'), 148.5 (C-3'), 149.2 (C-4'), 112.7 (C-5'), 120.9 (C-6'), 56.4 (-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[7], 并经 HSQC、HMBC、COSY 二维谱图中的相关耦合信息确证, 故鉴定化合物 **5** 为毛蕊异黄酮。

化合物 **6**: 无色针晶 (石油醚-醋酸乙酯)。¹H-NMR (400 MHz, CD₃COCD₃) δ: 13.02 (1H, brs, 5-OH), 8.58 (1H, brs, 4'-OH), 8.24 (1H, s, H-2), 7.48 (2H, brd, *J* = 8.8 Hz, H-2', 6'), 6.93 (2H, brd, *J* = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.57 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-8), 6.37 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-6), 3.79 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR

(100 MHz, CD_3COCD_3) δ : 154.6 (C-2), 124.2 (C-3), 181.8 (C-4), 163.6 (C-5), 98.9 (C-6), 166.7 (C-7), 92.9 (C-8), 158.5 (C-9), 106.8 (C-10), 122.8 (C-1'), 131.2 (C-2', 6'), 116.0 (C-3', 5'), 158.9 (C-4'), 56.5 (-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[8], 并经 HSQC、HMBC、COSY 二维谱图中的相关耦合信息确证, 故鉴定化合物 **6** 为樱黄素。

化合物 **7**: 棕黄色针晶 (丙酮)。 $[\alpha]_{\text{D}}^{16.4} -4.84^\circ$ (c 10.00, MeOH)。¹H-NMR (400 MHz, CD_3COCD_3) δ : 8.56 (1H, brs, 2'-OH), 8.13 (1H, brs, 7-OH), 7.06 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6'), 6.91 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 6.52 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-3'), 6.43 (1H, dd, $J = 8.2, 2.5$ Hz, H-5'), 6.39 (1H, dd, $J = 8.2, 2.4$ Hz, H-6), 6.31 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-8), 4.24 (1H, ddd, $J = 10.4, 3.2, 1.9$ Hz, H-2a), 3.97 (1H, d, $J = 10.4$ Hz, H-2b), 3.73 (3H, s, -OCH₃), 3.50 (1H, m, H-3), 2.97 (1H, dd, $J = 15.5, 10.8$ Hz, H-4a), 2.83 (1H, ddd, $J = 15.5, 5.1, 1.9$ Hz, H-4b); ¹³C-NMR (100 MHz, CD_3COCD_3) δ : 70.8 (C-2), 32.7 (C-3), 31.1 (C-4), 131.1 (C-5), 108.8 (C-6), 157.4 (C-7), 103.7 (C-8), 156.2 (C-9), 114.4 (C-10), 120.9 (C-1'), 156.7 (C-2'), 102.5 (C-3'), 160.4 (C-4'), 105.7 (C-5'), 128.8 (C-6'), 55.2 (-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[3,9-10], 并经 HSQC、HMBC、COSY 二维谱图中的相关耦合信息确证, 故鉴定化合物 **7** 为 (3*R*)-vestitol。

化合物 **8**: 黄色粉末。 $[\alpha]_{\text{D}}^{16.4} -38.73$ (c 0.79, MeOH)。¹H-NMR (400 MHz, CD_3COCD_3) δ : 7.75 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5), 7.41 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2', 6'), 6.91 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', 5'), 6.59 (1H, dd, $J = 8.7, 2.3$ Hz, H-6), 6.44 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-8), 5.45 (1H, dd, $J = 13.0, 2.9$ Hz, H-2), 3.06 (1H, dd, $J = 16.6, 13.0$ Hz, H-3a), 2.70 (1H, dd, $J = 16.6, 2.9$ Hz, H-3b); ¹³C-NMR (100 MHz, CD_3COCD_3) δ : 80.5 (C-2), 44.6 (C-3), 190.9 (C-4), 129.6 (C-5), 111.3 (C-6), 165.4 (C-7), 103.7 (C-8), 164.6 (C-9), 115.2 (C-10), 131.2 (C-1'), 129.0 (C-2', 6'), 116.2 (C-3', 5'), 158.6 (C-4')。以上数据与文献报道基本一致^[11-12], 故鉴定化合物 **8** 为甘草素。

化合物 **9**: 无色针晶 (吡啶)。 $[\alpha]_{\text{D}}^{13.5} -110.51$ (c 0.13, $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$); ESI-MS m/z : 455 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_9$ 。¹H-NMR (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 7.52 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-1), 7.18 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-7), 7.08 (1H, dd, $J = 8.3, 2.4$ Hz, H-2), 7.05 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-4),

6.67 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-10), 6.55 (1H, dd, $J = 8.3, 2.4$ Hz, H-8), 5.63 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1' α), 5.55 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-11a), 5.18 (4H, brs, 4 $\times$ -OH), 4.49 (1H, dd, $J = 11.8, 1.8$ Hz, H-6'a), 4.35 (1H, overlapped, H-6'b), 4.34 (1H, overlapped, H-4' β), 4.32 (1H, overlapped, H-5' α), 4.29 (1H, overlapped, H-2' β), 4.25 (1H, overlapped, H-6a), 4.09 (1H, overlapped, H-3' α), 3.67 (1H, t, $J = 9.8$ Hz, H-6b), 3.64 (3H, brs, -OCH₃), 3.54 (1H, m, H-6a); ¹³C-NMR (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 133.0 (C-1), 111.6 (C-2), 160.3 (C-3), 105.7 (C-4), 157.7 (C-4a), 67.3 (C-6), 40.5 (C-6a), 120.3 (C-6b), 125.9 (C-7), 107.2 (C-8), 162.1 (C-9), 97.7 (C-10), 161.8 (C-10a), 79.4 (C-11a), 115.2 (C-11b), 102.5 (C-1'), 75.3 (C-2'), 79.3 (C-3'), 71.6 (C-4'), 78.9 (C-5'), 62.7 (C-6'), 55.9 (-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[13-14], 并经 HSQC、HMBC、COSY 二维谱图中的相关耦合信息确证, 故鉴定化合物 **9** 为 (6*aR*, 11*aR*)-美迪紫檀素-3-*O*- β -*D*-葡萄糖苷。

化合物 **10**: 白色针晶 (氯仿)。¹H-NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.25 (1H, brs, H-12), 4.21 (1H, brd, $J = 10.7$ Hz, H-22 α), 3.45 (1H, overlapped, H-3 α), 3.44 (1H, overlapped, H-24a), 3.35 (1H, brt, $J = 9.5$ Hz, H-24b), 2.76 (1H, brd, $J = 7.4$ Hz, H-18 β), 1.25, 1.11, 1.04, 0.95, 0.91, 0.90, 0.87 (各 3H, s, 7 $\times$ -CH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 38.4 (C-1), 27.7 (C-2), 80.9 (C-3), 42.8 (C-4), 55.6 (C-5), 18.4 (C-6), 33.1 (C-7), 39.7 (C-8), 47.0 (C-9), 36.7 (C-10), 23.7 (C-11), 122.3 (C-12), 143.9 (C-13), 42.1 (C-14), 25.9 (C-15), 28.2 (C-16), 37.4 (C-17), 44.7 (C-18), 46.2 (C-19), 30.5 (C-20), 41.5 (C-21), 77.2 (C-22), 22.4 (C-23), 64.5 (C-24), 16.2 (C-25), 16.9 (C-26), 25.4 (C-27), 28.2 (C-28), 32.8 (C-29), 20.0 (C-30)。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 **10** 为齐墩果-12-烯-3 β , 22 β , 24-三醇。

化合物 **18**: 无色针晶 (石油醚-醋酸乙酯)。¹H-NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 6.60 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-7), 6.29 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-6), 5.43 (1H, brd, $J = 5.0$ Hz, H-11), 5.24 (1H, dd, $J = 15.2, 7.4$ Hz, H-23), 5.16 (1H, dd, $J = 15.2, 7.4$ Hz, H-22), 4.00 (1H, m, H-3 α), 1.09 (3H, s, 19-CH₃), 1.00 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, 21-CH₃), 0.91 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, 28-CH₃), 0.84 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, 26-CH₃), 0.82 (3H, d, $J = 5.8$ Hz, 27-CH₃), 0.74 (3H, s, 18-CH₃); ¹³C-NMR (100

MHz, CDCl_3) δ : 32.6 (C-1), 29.7 (C-2), 66.3 (C-3), 36.0 (C-4), 82.7 (C-5), 135.5 (C-6), 130.7 (C-7), 78.4 (C-8), 142.5 (C-9), 38.0 (C-10), 119.7 (C-11), 41.2 (C-12), 43.6 (C-13), 48.2 (C-14), 20.8 (C-15), 28.6 (C-16), 55.9 (C-17), 12.9 (C-18), 25.6 (C-19), 39.3 (C-20), 20.7 (C-21), 135.2 (C-22), 132.4 (C-23), 42.8 (C-24), 33.1 (C-25), 19.7 (C-26), 19.9 (C-27), 17.6 (C-28)。以上数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 **18** 为 3 β -羟基-5 α , 8 α -桥二氧麦角甾-6, 9, 22E-三烯。

通过 NMR、MS 谱图数据和理化性质与相关文献数据进行对比, 9 个化合物被分别鉴定为 7-氧谷甾醇 (**15**)^[17]、(9'Z)-9'-十七烯酸-3 β -谷甾醇酯 (**16**)^[18-19]、豆甾-4-烯-3-酮 (**17**)^[20]、3 β -羟基-5 α , 8 α -桥二氧麦角甾-6, 22E-二烯 (**19**)^[16]、D-2-O-甲基肌醇 (**20**)^[21]、二十八醇 (**21**)^[22]、硬脂酸甲酯 (**22**)^[23-24]、二十烷酸 (**23**)^[25]、二十一烷酸 (**24**)^[26]。

此外, 通过在 TLC 上多种溶剂系统展开对比, 化合物 **11**~**14**、**25**~**29** 与各自相应的对照品 R_f 值及斑点颜色均一致, 分别鉴定为无羁萜 (**11**)、 β -谷甾醇 (**12**)、豆甾醇 (**13**)、7 β -羟基谷甾醇 (**14**)、油酸 (**25**)、亚油酸 (**26**)、 α -亚麻酸 (**27**)、十六烷酸甘油三酯 (**28**)、亚油酸甘油三酯 (**29**)。

4 抗氧化活性测试

由于黄芪具有抗氧化作用^[1], 同时本研究分离得到的化合物以黄酮类酚性化合物为主; 因此本研究选取所有分得的酚性化合物以及环多醇类化合物 (D-2-O-甲基肌醇, **20**), 参照文献中 DPPH 法^[27]对长果颈黄芪进行抗氧化活性测试。结果表明 (表 1), 长果颈黄芪根甲醇提取物及其所有萃取部位均有一定抗氧化活性, 其中醋酸乙酯部位较为显著, 活性大小: 醋酸乙酯部位 > 甲醇总提物 > 正丁醇部位 > 水部位。10 个受试化合物中有 7 个化合物对 DPPH 具有不同程度的清除作用, 其中化合物 **1** 和 **3** 抗氧化活性较好。

5 讨论

从长果颈黄芪根甲醇提取物醋酸乙酯部位中分离鉴定了 29 个化合物, 涉及黄酮、甾体、三萜、长链脂肪酸及其酯等类型成分, 其中黄酮类化合物为其主要成分。黄酮类化合物多具有抗肿瘤、抗菌、抗病毒、抗氧化、解痉、改善心脑血管系统、提高免疫力、雌性激素样作用以及抗寄生虫等诸多生物活性^[28-29], 如本研究分离得到的毛蕊异黄酮、异甘

表 1 长果颈黄芪抗氧化活性结果 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

Table 1 Anti-oxidative activity of *A. englerianus* ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

样品	IC ₅₀ /($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	样品	IC ₅₀ /($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
A	309.0 $\pm$ 15.6	4	无活性
B	66.0 $\pm$ 1.8	5	114.7 $\pm$ 2.3
C	385.0 $\pm$ 9.2	6	> 500
D	1 553.0 $\pm$ 48.9	7	422.4 $\pm$ 19.1
Vc	8.6 $\pm$ 0.2	8	271.8 $\pm$ 4.2
1	64.3 $\pm$ 0.4	9	无活性
2	365.8 $\pm$ 3.7	20	无活性
3	57.1 $\pm$ 1.2		

A-长果颈黄芪根甲醇总提物; B-长果颈黄芪根醋酸乙酯部位; C-长果颈黄芪根正丁醇部位; D-长果颈黄芪根水部位; Vc-维生素 C
A-methanol extract of *A. englerianus*; B-ethyl acetate soluble portion of *A. englerianus*; C-butanol soluble portion of *A. englerianus*; D-water soluble portion of *A. englerianus*; Vc-vitamin C

草素、甘草素和 (3R)-vestitol 等, 因此从一个侧面证实了该植物的药用功效具有相应的物质基础。另外, 从长果颈黄芪根中还分到一具有胰岛素样作用和抗炎、抗水肿等作用的环多醇化合物——D-2-O-甲基肌醇 (俗名右旋肌醇甲醚)^[30], 是否与该植物药用功效相关有待进一步研究。

研究结果显示, 查耳酮类化合物 **1**~**3** 的抗氧化活性大于异黄酮、异黄烷、紫檀烷类化合物, 化合物 **1**、**3** (B 环上有羟基取代) 的活性大于化合物 **2** (B 环上无羟基取代), 而 D-2-O-甲基肌醇 (**20**, 无共轭体系) 无活性, 表明能生成稳定的半醌式自由基的活泼酚羟基为抗氧化活性必需基团, 该结构越稳定其活性越强; 供氢体具有较大的共轭体系, 有助于在供氢后形成相对稳定的自由基中间体, 提高抗氧化能力^[31]。实验中还发现长果颈黄芪醋酸乙酯部位质量浓度为 2.5 mg/mL 时对 DPPH 的清除率低于质量浓度为 0.5 和 0.1 mg/mL 时的清除率。初步推断可能为高质量浓度时, 分子间氢键作用较强, 从而抑制活泼氢的解离, 导致其抗氧化活性降低。

长果颈黄芪根成分复杂多样, 从中分离得到的化合物具有多种生物活性。因此, 本研究为长果颈黄芪的开发利用奠定了一定的基础。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 (第 11 卷) [M]. 上海: 上海科技出版社, 1999.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [3] Zhao X B, Mei W L, Gong M F, et al. Antibacterial

- activity of the flavonoids from *Dalbergia odorifera* on *Ralstonia solanacearum* [J]. *Molecules*, 2011, 16(12): 9775-9782.
- [4] 吴增宝, 王 邠, 赵玉英, 等. 显脉羊蹄甲中查耳酮类化合物 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(13): 1676-1678.
- [5] El-Ferally F S, Hufford C D. Synthesis and carbon-13 nuclear magnetic resonance assignments of xenognosin [J]. *J Org Chem*, 1982, 47(8): 1527-1530.
- [6] 郑善松, 吴 弢, 王峥涛. 多序岩黄芩根化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(17): 2350-2352.
- [7] 杨光忠, 陈 玉, 王晓琼. 毛蕊异黄酮 2D-NMR 的研究 [J]. 中南民族大学学报: 自然科学版, 2006, 25(3): 36-38.
- [8] 刘亚旻, 姜保平, 沈胜楠, 等. 木豆叶的化学成分研究 [J]. 中草药, 2014, 45(4): 466-470.
- [9] He Z Q, Findlay J A. Constituents of *Astragalus membranaceus* [J]. *J Nat Prod*, 1991, 54(3): 810-815.
- [10] Bonde M R, Millar R L, Incham J L. Induction and identification of sativan and vestitol as two phytoalexins from *Lotus corniculatus* [J]. *Phytochemistry*, 1973, 12(12): 2957-2959.
- [11] Piccinelli A L, Fernandez M C, Cuesta-Rubio O, et al. Isoflavonoids isolated from *Cuban propolis* [J]. *J Agric Food Chem*, 2005, 53(23): 9010-9016.
- [12] Lai G F, Zhao P J, Ni Z W, et al. A new fructofuranoside from *Helwingia chinensis* (Cornaceae) [J]. *Acta Bot Yunnan*, 2008, 30(1): 115-120.
- [13] 白 虹, 窦德强, 裴玉萍, 等. 栽培甘草的化学成分研究 [J]. 中草药, 2005, 36(5): 652-654.
- [14] Li W, Koike K, Asada Y, et al. Flavonoids from *Glycyrrhiza pallidiflora* hairy root cultures [J]. *Phytochemistry*, 2002, 60(4): 351-355.
- [15] 王 刚, 麻兵继, 刘吉开. 滇产苦葛化学成分研究 [J]. 中草药, 2005, 36(4): 495-496.
- [16] 姜 北, 赵勤实, 彭丽艳, 等. 雪茶化学成分研究 [J]. 云南植物研究, 2002, 24(4): 525-530.
- [17] Della Greca M, Monaco P, Previtera L. Stigmasterols from *Typha latifolia* [J]. *J Nat Prod*, 1990, 53(6): 1430-1435.
- [18] 梅文莉, 戴好富, 吴大刚. 肥牛木根化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(2): 243-245.
- [19] Dalia H, Mahmoud Z E-R, Ahmad T, et al. Chemical composition and biological activity of *Citrus jambhiri* Lush [J]. *Food Chem*, 2011, 127(2): 394-403.
- [20] Barla A, Birman H, Kultur S, et al. Secondary metabolites from *Euphorbia helioscopia* and their vasodepressor activity [J]. *Turk J Chem*, 2006, 30(3): 325-332.
- [21] 刘劲松, 王 刚, 董 超, 等. 花生茎叶化学成分研究 (II) [J]. 中成药, 2008, 30(3): 664-666.
- [22] Zhang B B, Dai Y, Liao Z X. Chemical constituents of *Saussurea eopygmaea* [J]. *Chin J Nat Med*, 2011, 9(1): 33-37.
- [23] 张 勇, 张宏武, 邹忠梅. 榼藤子种仁化学成分研究 [J]. 中国药理学杂志, 2008, 43(14): 1063-1065.
- [24] 李 强, 匡海学, 方东军, 等. 药用鼠尾草花的化学成分研究 [J]. 中医药学报, 1999(4): 45-46.
- [25] 解红霞, 张金花, 张宏桂, 等. 蒙药玉簪花的化学成分研究 [J]. 中国药理学杂志, 2009, 44(10): 733-735.
- [26] 李在留, 罗 兵, 程 凡, 等. 文冠果种皮的化学成分研究 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18(6): 1329-1330.
- [27] Zhang L B, Lv J L, Chen H L. Japonicasins A and B, two new isoprenylated flavanones from *Sophora japonica* [J]. *Fitoterapia*, 2013, 87: 89-92.
- [28] Muiva L M, Yenesew A, Derese S, et al. Antiplasmodial β -hydroxydihydrochalcone from seedpods of *Tephrosia elata* [J]. *Phytochem Lett*, 2009, 2(3): 99-102.
- [29] Verma A K, Pratap R. The biological potential of flavones [J]. *Nat Prod Rep*, 2010, 27(11): 1571-1593.
- [30] 詹天荣, 娄红祥. 右旋肌醇甲醚的植物资源与医药功效 [J]. 国外医药: 植物药分册, 2006, 2(1): 17-19.
- [31] 卞云云, 李 萍. 蒙古黄芪中黄酮类成分抗超氧阴离子活性研究及构效关系分析 [J]. 中国药理学杂志, 2008, 43(4): 256-259.