

• 化学成分 •

野百合中异黄酮类成分研究

范翠梅¹, 田新宇¹, 渠田田¹, 龚桂新^{1,2}, 朱恩圆^{1,2*}

1. 上海中医药大学中药研究所 中药标准化教育部重点实验室, 上海 201210

2. 上海中药标准化研究中心, 上海 201203

摘要: 目的 研究野百合 *Crotalaria sessiliflora* 全草的异黄酮类化学成分。方法 利用硅胶柱、葡聚糖凝胶柱、MCI 等柱色谱技术分离纯化, 根据核磁共振波谱鉴定化合物结构。结果 从野百合全草 75%乙醇中分离得到 21 个异黄酮类化合物, 分别鉴定为 6,7,2'-三甲氧基-4'-羟基异黄酮(1)、7,4'-二羟基-5-甲氧基异黄酮(2)、大豆昔元(3)、2'-羟基染料木素(4)、染料木素(5)、3'-羟基大豆昔元(6)、genistein 7-O-β-D-apiofuranosyl-(1→6)-O-β-D-glucopyranoside(7)、染料木昔(8)、光果甘草酮(9)、alpinumisoflavone(10)、barbacarpan(11)、3'-羟基染料木素(12)、4',7-二甲氧基-5-羟基异黄酮(13)、红车轴草素(14)、8-甲雷杜辛(15)、黄甘草异黄酮 A(16)、樱黄素(17)、芒柄花素(18)、2'-methylalpinumisoflavone(19)、hydroxyalpinumisoflavone(20)、desmoxypheillin A(21)。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为野百合素 A; 化合物 2~3、6~21 是首次从该植物中分离得到。

关键词: 野百合; 异黄酮; 6,7,2'-三甲氧基-4'-羟基异黄酮; 大豆昔元; 染料木素

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)22-3297-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.22.002

Isoflavones from *Crotalaria sessiliflora*

FAN Cui-mei¹, TIAN Xin-yu¹, QU Tian-tian¹, CHOU Gui-xin^{1,2}, ZHU En-yuan^{1,2}

1. The MOE Key Laboratory for Standardization of Chinese Medicine, Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai Academy of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201210, China

2. Shanghai R&D Center for Standardization of Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

Abstract: Objective To investigate the isoflavones constituents from the whole plant of *Crotalaria sessiliflora*. **Methods** The compounds were isolated by column chromatography and their structures were identified by the spectral data. **Results** Twenty-one isoflavones were isolated from 75% ethanol extract in the whole plant of *C. sessiliflora* and identified as 6,7,2'-trimethoxy-4'-hydroxy isoflavone (1), 7,4'-dihydroxy-5-methoxy isoflavone (2), daidzein (3), 2'-hydroxy genistein (4), genistein (5), 3'-hydroxy daidzein (6), genistein 7-O-β-D-apiofuranosyl-(1→6)-O-β-D-glucopyranoside (7), genistein 7-O-glucoside (8), glabrone (9), alpinumisoflavone (10), barbacarpan (11), 3'-hydroxy genistein (12), 4',7-dimethoxy-5-hydroxy isoflavone (13), pratensein (14), 8-O-methylreyusi (15), eurycarpin A (16), prunetin (17), formononetin (18), 2'-methylalpinumisoflavone (19), hydroxyalpinumisoflavone (20), and desmoxypheillin A (21). **Conclusion** Compound 1 is a new compound named sessiliflorin A, compounds 2—3, and 6—21 are isolated from the plant for the first time.

Key words: *Crotalaria sessiliflora* L.; isoflavones; 6,7,2'-trimethoxy-4'-hydroxy isoflavone; daidzein; genistein

野百合为豆科蝶形花亚科野百合属(亦称猪屎豆属)植物野百合 *Crotalaria sessiliflora* L. 的全草, 亦称农吉利、佛指甲等。该植物广泛分布于亚欧大陆, 在我国分布于东北、华东、华南以及西南各地, 全草入药, 有清热解毒、消肿止痛、破血除瘀等功

效, 亦可治疗风湿麻痹, 跌打损伤、疮毒, 白带等症^[1]。野百合曾作为“农吉利”被《中国药典》1977 年版一部收载, 主要成分为生物碱和黄酮类, 目前结果显示, 从野百合中分离得到的黄酮类化合物有 2',4',5,7-四羟基异黄酮、2',4',7-三羟基异黄酮, 4',7-

收稿日期: 2015-08-11

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(21272159); 上海市自然科学基金项目(12ZR1431600)

*通信作者 朱恩圆, 男, 研究员, 硕士生导师, 主要从事中药活性成分和质量标准研究。E-mail: wxzey@163.com

二羟基黄酮、异牡荆素^[2]、牡荆素、荭草素和异荭草素^[3]。黄酮类化合物具有多种生物活性, 石忠峰等^[4]对常见 100 余种天然黄酮(醇)和异黄酮类对于过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR γ)的受体亲和力以计算机模拟的方式进行了研究, 发现异黄酮类成分与 PPAR γ 有良好的亲和力。为丰富野百合的异黄酮类化学组成, 同时为发现和寻找天然 PPAR γ 激动剂或拮抗剂提供一定的理论和物质基础, 本实验主要对野百合全草中异黄酮类成分进行了系统的分离与纯化, 从中分离得到 21 个异黄酮, 分别鉴定为 6,7,2'-三甲氧基-4'-羟基异黄酮(6,7,2'-trimethoxy-4'-hydroxyl isoflavone, **1**)、7,4'-二羟基-5-甲氧基异黄酮(7,4'-dihydroxy-5-methoxy isoflavone, **2**)、大豆昔元(daidzein, **3**)、2'-羟基染料木素(2'-hydroxyl genistein, **4**)、染料木素(genistein, **5**)、3'-羟基大豆昔元(3'-hydroxyl daidzein, **6**)、genistein 7-O- β -D-apiofuranosyl-(1→6)-O- β -D-glucopyranoside(**7**)、染料木昔(genistein-7-O-glucoside, **8**)、光果甘草酮(glabrone, **9**)、alpinumisoflavone(**10**)、barbacarpan(**11**)、3'-羟基染料木素(3'-hydroxyl genistein, **12**)、4',7-二甲氧基-5-羟基异黄酮(4',7-dimethoxy-5-hydroxy isoflavone, **13**)、红车轴草素(pratensein, **14**)、8-甲雷杜辛(8-methylreyusi, **15**)、黄甘草异黄酮 A(eurycarpin A, **16**)、樱黄素(prunetin, **17**)、芒柄花素(formononetin, **18**)、2'-methylalpinumisoflavone(**19**)、hydroxyalpinumisoflavone(**20**)、desmoxyphillin A(**21**)。除化合物 **4**, **5** 外, 其余化合物均首次从该植物中分离得到, 化合物 **1** 为新化合物, 命名为野百合素 A。

1 仪器和试剂

EYELA WATER BATH SB-2000(旋转蒸发仪); EYELA COOL ACE CA-1111(冷凝装置); 安捷伦(Agilent) 1200 高效液相色谱仪; Waters1200 高效液相色谱仪; 核磁共振仪(Bruker AVANCE III 型, 400/600 MHz, 德国); 双光束紫外可见分光光度计(TU-1901, 北京普析通用仪器有限责任公司); BUCHI B-540 熔点仪(瑞典); 傅里叶变换红外光谱仪(PerkinElmer, FT-IR, Spectrum One, 美国); 柱色谱硅胶(青岛海洋化工厂, 100~200 目, 200~300 目); 薄层色谱硅胶板(烟台江友硅胶开发有限公司); Sephadex LH-20(GE-Healthcare Bio-Sciences AB, 瑞典); ODS(SepaxTechnologies Inc., 40~60

μm , 美国); MCI GEL CHP20P(Mitsubishi Chemical Corporation, 75~150 μm , 日本), 石油醚(上海润捷化学试剂有限公司); 化学试剂为分析纯(国药集团化学试剂有限公司)。

野百合于 2012 年 9 月采自安徽省黄山市黄山区(原太平县), 经上海中医药大学中药研究所徐红研究员鉴定为豆科植物野百合 *Crotalaria sessiliflora* L.。凭证标本(201209003)存放于上海中药标准化研究中心。

2 方法与结果

野百合全草 27 kg, 75%工业乙醇 250 L 渗漉提取, 提取液减压浓缩得浸膏 2.9 kg, 加入适量蒸馏水混悬, 依次用石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯、正丁醇萃取, 得到相应的萃取物。醋酸乙酯萃取物 158 g, 经硅胶柱色谱, 以二氯甲烷-甲醇(30:1→0:100)为洗脱剂梯度洗脱, 得 Fr. 1~26。Fr. 11~13(8 g), 经 MCI 柱色谱, 甲醇水溶液(20%→100%)梯度洗脱, 得到 3 个流分, 流分 1 经多次 Sephadex LH-20 柱色谱分离, 得化合物 **2**(3 mg)、**3**(16 mg)、**4**(19 mg), 流分 2 经 Sephadex LH-20 柱色谱分离, 纯甲醇洗脱得化合物 **12**(21 mg), 流分 3 经 Sephadex LH-20 柱色谱分离, 得化合物 **5**(65 mg)、**6**(1 mg); Fr. 19~20(5 g) 经 MCI 柱色谱, ODS 分离以及多次 Sephadex LH-20 纯化, 得化合物 **7**(38 mg)、**8**(17 mg); Fr. 10(15 g) 经硅胶柱色谱, 反复 Sephadex LH-20 柱色谱分离, 得化合物 **9**(10 mg)。

二氯甲烷萃取物 238 g, 经硅胶柱色谱, 以二氯甲烷-醋酸乙酯(50:1→0:100)梯度洗脱, 得到 11 个组分。其中 Fr. 1(12 g) 经硅胶柱色谱, 石油醚-醋酸乙酯(30:1→0:100)梯度洗脱, Sephadex LH-20 柱色谱纯化, 得化合物 **10**(102 mg)、**11**(29 mg)、**13**(3 mg); Fr. 8(20 g) 经硅胶柱色谱, 石油醚-醋酸乙酯(3:1→1:1)梯度洗脱, 得到 10 个流分, 流分 8 用 Sephadex LH-20 柱色谱(甲醇-二氯甲烷 2:1)纯化, 得化合物 **1**(10 mg); Fr. 2(14 g) 经 MCI 柱色谱, 甲醇水溶液(20%→100%)梯度洗脱, 得化合物 **14**(34 mg)、**15**(18 mg)、**18**(14 mg), 对 Fr. 2 经 MCI 柱色谱所得的其他 4 个流分 Sephadex LH-20 柱色谱进一步纯化得化合物 **16**(4 mg)、**17**(5 mg); 通过与 Fr. 2 相似的分离方法, 从 Fr. 5(9 g) 中分离得到化合物 **20**(8 mg)、**21**(1 mg); Fr. 4(5 g) 经 MCI 柱, 甲醇水溶液(60%→100%)梯度洗脱, 得化合物 **19**(55 mg)。

3 结构鉴定

化合物1: 浅黄色粉末(甲醇), mp 245.1~247.0 °C。HR-ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z : 329.102 6, $[M+H]^+$ (计算值 329.102 5), 结合 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据, 提示分子式为 $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_6$ 。UV 谱在 253、317 nm 处显示最大吸收, 其中, 317 nm 处吸收较弱, 提示可能为异黄酮类成分。IR 谱显示该化合物含有羟基 (3235.0 cm^{-1}), 苯环 (1591.3 、 1514.5 、 1481.0 cm^{-1}), 羰基 (1634.7 cm^{-1}), 甲氧基 (2944.8 、 2853.6 、 1277.2 、 1051.0 cm^{-1}) 等基团。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) (表 1) 中可见典型的异黄酮 2 位氢的特征信号 δ_{H} 8.15 (1H, s, H-2); 另可见 1 组 ABX 耦合系统芳香氢信号 δ_{H} 7.00 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-6'), 6.47 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-3'), 6.39 (1H, dd, $J = 8.2, 2.2$ Hz, H-5'); 2 个单峰的芳氢信号 δ_{H} 7.38 (1H, s, H-5) 和 δ_{H} 7.18 (1H, s, H-8); 3 个甲氧基信号 δ_{H} 3.91 (3H, s), 3.85 (3H, s) 和 3.65 (3H, s) 以及 1 个羟基氢信号 δ_{H} 9.58 (1H, s)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz,

DMSO- d_6) 和 DEPT 谱(表 1)中可见 18 个碳信号, 其中包括 3 个连氧甲基碳信号 δ_{C} 55.3, 55.7, 56.3; 6 个次甲基碳信号 δ_{C} 99.2, 100.3, 104.1, 106.7, 132.0, 153.7; 9 个季碳信号 δ_{C} 111.7, 116.8, 121.6, 147.3, 151.7, 154.0, 158.4, 158.8, 174.2; 在化合物 1 的 HMBC 谱中, 甲氧基信号 δ_{H} 3.91, 3.85 和 3.65 分别与 δ_{C} 147.3 (C-6), 154.0 (C-7) 和 158.4 (C-2') 相关; 羟基氢信号 δ_{H} 9.58 (4'-OH) 与 δ_{C} 99.2 (C-3'), 158.8 (C-4') 和 106.7 (C-5') 有相关(图 1), 故化合物 1 的结构鉴定为 6,7,2'-三甲氧基-4'-羟基异黄酮, 该化合物与已知化合物 6,7,4'-三甲氧基-2'-羟基异黄酮^[5]的结构极为相似, 唯一不同的是 6,7,4'-三甲氧基-2'-羟基异黄酮的 2'位为羟基取代, 4'位为甲氧基取代, 而化合物 1 的 2'位为甲氧基取代, 4'位为羟基取代, 该结构进一步可由其 NOSEY 谱证实: δ_{H} 3.65 (3H, s) 与 δ_{H} 6.47 (H-3'); 羟基氢信号 δ_{H} 9.58 与 δ_{H} 6.47 (H-3') 和 6.39 (H-5') 存在空间相关(图 1)。经 Scifinder 检索, 化合物 1 为新化合物, 命名为野百合素 A。

表 1 化合物 1 的 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6)、 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) 和 DEPT 数据

Table 1 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6), $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6), and DEPT data of compound 1

碳位	δ_{H}	δ_{C}	DEPT	碳位	δ_{H}	δ_{C}	DEPT
2	8.15 (1H, s)	153.7	CH	2'		158.4	C
3		121.6	C	3'	6.47 (1H, d, $J = 2.2$ Hz)	99.2	CH
4		174.2	C	4'		158.8	C
5	7.38 (1H, s)	104.1	CH	5'	6.39 (1H, dd, $J = 8.2, 2.2$ Hz)	106.7	CH
6		147.3	C	6'	7.00 (1H, d, $J = 8.2$ Hz)	132.0	CH
7		154.0	C	2'-OCH ₃	3.65 (3H, s)	55.3	CH ₃
8	7.18 (1H, s)	100.3	CH	6-OCH ₃	3.91 (3H, s)	56.3	CH ₃
9		151.7	C	7-OCH ₃	3.85 (3H, s)	55.7	CH ₃
10		116.8	C	4'-OH	9.58 (1H, s)		
1'		111.7	C				

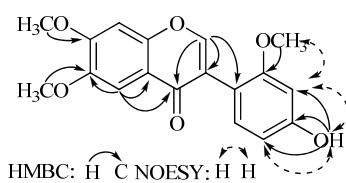


图 1 化合物 1 主要的 HMBC 和 NOESY 相关图

Fig. 1 Key HMBC and NOESY correlations of compound 1

化合物 2: 浅黄色粉末(甲醇), 分子式 $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.99 (1H, s, H-2), 7.28 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2', 6'), 6.77 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3', 5'), 6.30 (2H, d, $J = 6.4$ Hz, H-6, 8), 3.76 (3H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD₃OD) δ : 150.2 (C-2), 124.6 (C-3), 173.8 (C-4), 161.2 (C-5), 97.5

(C-6), 163.0 (C-7), 95.2 (C-8), 157.1 (C-9), 106.8 (C-10), 123.2 (C-1'), 130.4 (C-2'), 114.9 (C-3'), 159.6 (C-4'), 114.9 (C-5'), 130.4 (C-6'), 55.9 (C-2")。以上数据与文献报道一致^[6], 故鉴定化合物 2 为 7,4'-二羟基-5-甲氧基异黄酮。

化合物 3: 淡黄色粉末(甲醇), 分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_4$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.29 (1H, s, H-2), 7.69 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-5), 7.39 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2', 6'), 6.94 (1H, dd, $J = 8.8, 2.2$ Hz, H-6), 6.86 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 6.81 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3', 5'); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 153.3 (C-2), 123.0 (C-3), 175.2 (C-4), 127.8 (C-5), 115.6 (C-6), 163.0 (C-7), 102.6 (C-8), 157.9 (C-9),

117.1 (C-10), 123.9 (C-1'), 130.5 (C-2'), 115.4 (C-3'), 157.6 (C-4'), 115.4 (C-5'), 130.5 (C-6')。以上数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物 3 为大豆昔元。

化合物 4: 黄色针状结晶(甲醇), 分子式 C₁₅H₁₀O₆。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 8.00 (1H, s, H-2), 7.05 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-6'), 6.30~6.42 (3H, overlap), 6.26 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-6); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ: 156.4 (C-2), 122.5 (C-3), 182.6 (C-4), 163.6 (C-5), 100.0 (C-6), 166.0 (C-7), 94.8 (C-8), 159.7 (C-9), 106.2 (C-10), 110.8 (C-1'), 157.9 (C-2'), 104.3 (C-3'), 160.2 (C-4'), 108.2 (C-5'), 133.2 (C-6')。以上数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 4 为 2'-羟基染料木素。

化合物 5: 无色针状结晶(甲醇), 分子式 C₁₅H₁₀O₅。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆) δ: 12.96 (1H, 5-OH), 8.30 (1H, s, H-2), 7.38 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-2', 6'), 6.82 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-3', 5'), 6.37 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 6.21 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-6); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-d₆) δ: 154.3 (C-2), 121.7 (C-3), 180.6 (C-4), 162.5 (C-5), 99.6 (C-6), 165.2 (C-7), 94.2 (C-8), 157.9 (C-9), 104.8 (C-10), 122.7 (C-1'), 130.6 (C-2'), 115.5 (C-3'), 158.1 (C-4'), 115.5 (C-5'), 130.6 (C-6'); DEPT 谱提示 δ_C 154.3, 130.6, 130.6, 115.5, 115.5, 99.6, 94.2 对应碳原子为次甲基碳, 其余碳信号对应的碳原子为季碳, 以上数据与文献报道一致^[9], 同时结合 DEPT 数据, 鉴定化合物 5 为染料木素。

化合物 6: 浅黄色粉末(甲醇), 分子式 C₁₅H₁₀O₅。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ: 8.13 (1H, s, H-2), 8.06 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-5), 7.03 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-2'), 6.94 (1H, dd, J = 8.8, 2.2 Hz, H-6), 6.83~6.87 (3H, m, H-8, 5', 6'); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ: 154.6 (C-2), 126.0 (C-3), 178.2 (C-4), 128.5 (C-5), 116.8 (C-6), 167.9 (C-7), 103.3 (C-8), 159.9 (C-9), 118.3 (C-10), 124.9 (C-1'), 117.5 (C-2'), 146.7 (C-3'), 146.2 (C-4'), 121.8 (C-5'), 116.3 (C-6')。以上数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 6 为 3'-羟基大豆昔元。

化合物 7: 棕色粉末(甲醇), 分子式 C₂₆H₂₈O₁₄。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ: 8.09 (1H, s, H-2), 7.37 (2H, d, J = 7.3 Hz, H-2', 6'), 6.83 (2H, d, J = 7.3 Hz, H-3', 5'), 6.65 (1H, s, H-8), 6.47 (1H, s, H-6), 3.94 (1H, d, J = 1.7 Hz, Api-H-2), 3.61 (1H, s, Api-H-5);

¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ: 155.6 (C-2), 124.8 (C-3), 182.4 (C-4), 163.3 (C-5), 101.1 (C-6), 164.5 (C-7), 96.0 (C-8), 159.1 (C-9), 118.0 (C-10), 123.1 (C-1'), 131.4 (C-2'), 116.3 (C-3'), 158.8 (C-4'), 116.3 (C-5'), 131.4 (C-6'), Glucose: 101.6 (C-1), 74.6 (C-2), 77.8 (C-3), 71.6 (C-4), 77.2 (C-5), 69.1 (C-6), Apiose: 111.2 (C-1), 78.2 (C-2), 80.5 (C-3), 75.1 (C-4), 65.8 (C-5)。以上数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 7 为 genistein 7-O-β-D-apiofuranosyl-(1→6)-O-β-D-glucopyranoside。

化合物 8: 无色针状结晶(甲醇), 分子式 C₂₁H₂₀O₁₀。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆) δ: 12.92 (1H, s, 5-OH), 8.42 (1H, s, H-2), 7.39 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2', 6'), 6.82 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3', 5'), 6.71 (1H, s, H-8), 6.46 (1H, s, H-6), 5.39 (1H, s, 2"-OH), 5.05 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-1"), 4.60 (1H, s, 6"-OH), 3.67 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-6"), 3.44 (2H, m, H-6", 5"), 3.28 (2H, m, H-2", 3"), 3.15 (1H, m, H-4"); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-d₆) δ: 155.0 (C-2), 121.5 (C-3), 181.0 (C-4), 162.1 (C-5), 100.1 (C-6), 163.5 (C-7), 95.0 (C-8), 157.7 (C-9), 106.6 (C-10), 123.0 (C-1'), 130.1 (C-2'), 115.1 (C-3'), 158.0 (C-4'), 115.6 (C-5'), 130.7 (C-6'), 100.3 (C-1"), 73.5 (C-2"), 76.8 (C-3"), 70.0 (C-4"), 77.7 (C-5"), 61.1 (C-6")。以上数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 8 为染料木苷。

化合物 9: 浅黄色粉末, 分子式 C₂₀H₁₆O₅。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆) δ: 8.08 (1H, s, H-2), 7.94 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-5), 6.93 (1H, dd, J = 8.8, 1.8 Hz, H-6), 6.93 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-6'), 6.86 (1H, d, J = 1.7 Hz, H-8), 6.61 (1H, d, J = 9.9 Hz, H-4"), 6.42 (1H, d, J = 8.3 Hz, H-5'), 5.63 (1H, d, J = 9.9 Hz, H-5"), 1.30 (6H, s, H-7", 8"); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-d₆) δ: 154.9 (C-2), 121.4 (C-3), 174.9 (C-4), 127.7 (C-5), 115.5 (C-6), 162.9 (C-7), 102.6 (C-8), 157.9 (C-9), 117.1 (C-10), 111.5 (C-1'), 151.7 (C-2'), 109.4 (C-3'), 153.6 (C-4'), 107.6 (C-5'), 131.8 (C-6'), 117.4 (C-4"), 128.9 (C-5"), 76.1 (C-6"), 27.8 (C-7"), 27.8 (C-8")。以上数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 9 为光果甘草酮。

化合物 10: 黄色棱状结晶(甲醇), 分子式 C₂₀H₁₆O₅。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆) δ: 8.34 (1H, s, H-2), 7.38 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-2', 6'), 6.82 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-3', 5'), 6.60 (1H, d, J = 10.1 Hz, H-4"), 5.79 (1H, d, J = 10.1 Hz, H-3"), 6.46 (1H, s,

H-8), 1.43 (6H, s, 2×CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-d₆) δ: 154.2 (C-2), 122.4 (C-3), 180.4 (C-4), 156.7 (C-5), 105.4 (C-6), 158.8 (C-7), 94.6 (C-8), 157.8 (C-9), 104.7 (C-10), 121.0 (C-1'), 130.1 (C-2'), 115.1 (C-3'), 156.0 (C-4'), 115.1 (C-5'), 130.1 (C-6'), 78.0 (C-2''), 114.5 (C-3''), 129.0 (C-4''), 27.9 (C-5''), 27.9 (C-6''); DEPT 谱提示 δ_C 27.9 对应碳原子为甲基碳, δ_C 154.2, 130.1, 130.1, 129.0, 115.1, 115.1, 114.5, 94.6 对应碳原子为次甲基碳, 其余碳信号对应的碳原子为季碳, 以上数据与文献报道一致^[14], 同时结合 DEPT 数据, 鉴定化合物 **10** 为 alpinumisoflavone。

化合物 11: 无色针状结晶(甲醇), 分子式 C₂₀H₁₈O₄。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 9.65 (1H, s, 7-OH), 7.27 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 7.07 (1H, d, J = 7.9 Hz, H-6'), 6.54 (1H, dd, J = 8.0, 2.4 Hz, H-6), 6.37 (1H, d, J = 7.9 Hz, H-5), 6.42 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-8), 5.55 (1H, d, J = 6.6 Hz, H-4), 5.16 (1H, dd, J = 9.6, 7.9 Hz, H-2''), 5.02 (1H, s, H-4'b), 4.88 (1H, s, H-4'a), 4.22 (1H, m, H-3), 3.56 (2H, m, H-2), 3.20 (1H, dd, J = 15.6, 9.6, Hz, H-1'b), 2.87 (1H, dd, J = 15.6, 7.9 Hz, H-1'a), 1.70 (3H, s, H-5''); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ: 66.0 (C-2), 39.5 (C-3), 78.6 (C-4), 132.2 (C-5), 107.6 (C-6), 155.4 (C-7), 100.8 (C-8), 158.8 (C-9), 111.0 (C-10), 119.8 (C-1'), 161.3 (C-2'), 111.7 (C-3'), 156.3 (C-4'), 102.8 (C-5'), 123.9 (C-6'), 31.0 (C-1''), 85.4 (C-2''), 143.9 (C-3''), 109.7 (C-4''), 17.0 (C-5'')。以上数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 **11** 为 barbacarpan。

化合物 12: 浅黄色针状结晶(甲醇), 分子式 C₁₅H₁₀O₆。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 8.02 (1H, s, H-2), 7.04 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-2''), 6.86 (1H, dd, J = 8.2, 1.6 Hz, H-6'), 6.83 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5'), 6.35 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-8), 6.22 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ: 154.8 (C-2), 124.8 (C-3), 182.2 (C-4), 163.9 (C-5), 100.2 (C-6), 166.0 (C-7), 94.8 (C-8), 159.6 (C-9), 106.2 (C-10), 123.8 (C-1'), 116.3 (C-2'), 146.2 (C-3'), 146.8 (C-4'), 117.4 (C-5'), 121.7 (C-6'); DEPT 谱提示 δ_C 154.8, 121.7, 117.4, 116.3, 100.2, 94.8 对应碳原子为次甲基碳, 其余碳信号对应的碳原子为季碳, 以上数据与文献报道一致^[16], 同时结合 DEPT 数据, 鉴定化合物 **12** 为 3'-羟基染料木素。

化合物 13: 无色针状结晶(氯仿), 分子式 C₁₇H₁₄O₅。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 12.86 (1H, s, 5-OH), 7.87 (1H, s, H-2), 6.38 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-6), 6.40 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-8), 7.46 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-2', 6'), 6.98 (2H, d, J = 8.7 Hz, H-3', 5'), 3.88 (3H, s, 7-OCH₃), 3.85 (3H, s, 4'-OCH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 152.8 (C-2), 123.1 (C-3), 181.0 (C-4), 162.9 (C-5), 162.9 (C-6), 165.7 (C-7), 92.6 (C-8), 158.1 (C-8a), 106.5 (C-4a), 123.9 (C-1'), 130.1 (C-2'), 114.3 (C-3'), 160.0 (C-4'), 114.3 (C-5'), 130.1 (C-6'), 56.0 (7-OCH₃), 55.5 (4'-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 **13** 为 4',7-二甲氧基-5-羟基异黄酮。

化合物 14: 黄色粉末, 分子式 C₁₆H₁₂O₆。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 12.97 (1H, s, 5-OH), 10.89 (1H, s, 7-OH), 9.16 (1H, s, 3'-OH), 8.35 (1H, s, H-2), 7.14 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-2'), 6.98 (1H, dd, J = 8.1, 1.9 Hz, H-6'), 6.82 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-5'), 6.38 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-8), 6.20 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-6), 3.79 (3H, s, 4'-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ: 154.0 (C-2), 121.6 (C-3), 180.2 (C-4), 162.0 (C-5), 99.0 (C-6), 164.3 (C-7), 93.7 (C-8), 157.2 (C-9), 104.5 (C-10), 122.3 (C-1'), 115.3 (C-2'), 146.7 (C-3'), 147.3 (C-4'), 113.3 (C-5'), 121.7 (C-6'), 55.7 (4'-OCH₃); DEPT 谱提示 δ_C 55.7 为连氧甲基碳, δ_C 154.2, 121.7, 115.3, 113.3, 99.0, 93.7 对应碳原子为次甲基碳, 其余碳信号对应的碳原子为季碳; 以上数据与文献报道一致^[18], 同时结合 DEPT 数据, 鉴定化合物 **14** 为 红车轴草素。

化合物 15: 乳白色粉末, 分子式 C₁₇H₁₄O₅。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 10.62 (1H, s, 7-OH), 8.42 (1H, s, H-2), 7.72 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-5), 7.50 (2H, d, J = 8.7 Hz, H-2', 6'), 7.02 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-6), 6.98 (2H, d, J = 8.7 Hz, H-3', 5'), 3.87 (3H, s, -OCH₃), 3.78 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ: 153.1 (C-2), 122.9 (C-3), 174.7 (C-4), 120.8 (C-5), 115.2 (C-6), 154.8 (C-7), 134.7 (C-8), 150.7 (C-9), 117.4 (C-10), 124.1 (C-1'), 130.1 (C-2', 6'), 113.6 (C-3', 5'), 159.0 (C-4'), 60.8 (8-OCH₃), 55.1 (4'-OCH₃); DEPT 谱提示 δ_C 55.1, 60.8 为连氧甲基碳, δ_C 153.1, 130.1, 130.1, 120.8, 115.2, 113.6, 113.6 对应碳原子为次甲基碳, 其余碳信号对应的碳原子为季碳, 以上数据与文献报道一

致^[19], 同时结合 DEPT 数据, 鉴定化合物 **15** 为 8-甲雷杜辛。

化合物 16: 浅黄色粉末(甲醇), 分子式 C₂₀H₁₈O₅。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ: 8.17 (1H, s, H-2), 8.11 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-5), 6.99 (1H, dd, J = 8.8, 2.1 Hz, H-6), 6.90 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-8), 6.87 (1H, d, J = 8.3 Hz, H-5'), 6.43 (1H, d, J = 8.3 Hz, H-6'), 3.38 (2H, d, J = 7.1 Hz, H-1''), 5.27 (1H, brd, J = 7.1 Hz, H-2''), 1.78 (3H, s, H-4''), 1.66 (3H, s, H-5''); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ: 156.8 (C-2), 125.5 (C-3), 179.9 (C-4), 128.6 (C-5), 117.4 (C-6), 165.2 (C-7), 103.1 (C-8), 159.8 (C-9), 118.5 (C-10), 113.2 (C-1'), 156.0 (C-2'), 118.7 (C-3'), 158.2 (C-4'), 108.8 (C-5'), 128.9 (C-6'), 23.6 (C-1''), 124.5 (C-2''), 131.3 (C-3''), 18.0 (C-4''), 26.0 (C-5'')。以上数据与文献报道基本一致^[20], 故鉴定化合物 **16** 为黄甘草异黄酮 A。

化合物 17: 白色针状结晶(甲醇), 分子式为 C₁₆H₁₂O₅。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 12.96 (1H, s, 5-OH), 9.61 (1H, s, 4'-OH), 8.40 (1H, s, H-2), 7.38 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2', 6'), 6.82 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-3', 5'), 6.65 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 6.41 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 3.86 (3H, s, 7-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ: 154.4 (C-2), 121.1 (C-3), 180.4 (C-4), 161.7 (C-5), 98.1 (C-6), 165.2 (C-7), 92.4 (C-8), 157.5 (C-9), 105.4 (C-10), 122.5 (C-1'), 130.2 (C-2', 6'), 115.1 (C-3', 5'), 157.5 (C-4'), 56.1 (7-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[21], 故鉴定化合物 **17** 为樱黄素。

化合物 18: 浅黄色针状结晶(甲醇), 分子式 C₁₆H₁₂O₄。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 10.80 (1H, s, 7-OH), 8.33 (1H, s, H-2), 7.97 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-5), 7.50 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-2', 6'), 7.00 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.94 (1H, dd, J = 8.8, 2.2 Hz, H-6), 6.87 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-8), 3.78 (3H, s, 4'-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ: 153.1 (C-2), 123.2 (C-3), 174.6 (C-4), 127.3 (C-5), 115.1 (C-6), 162.6 (C-7), 102.1 (C-8), 157.4 (C-9), 116.6 (C-10), 124.2 (C-1'), 130.1 (C-2', 6'), 113.6 (C-3', 5'), 159.0 (C-4'), 55.1 (-OCH₃); DEPT 谱提示 δ_C 55.1 为连氧甲基碳, δ_C 153.1, 130.1, 130.1, 127.3, 115.1, 113.6, 113.6, 102.1 对应碳原子为次甲基碳, 其余碳信号对应的碳原子为季碳, 以上数据与文献基本一致^[22], 同时结合 DEPT 数据, 鉴定化合物 **18** 为芒柄花素。

化合物 19: 黄色针状结晶(氯仿), 分子式 C₂₁H₁₈O₆。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.77 (1H, s, H-2), 6.73 (1H, d, J = 10.1 Hz, H-9), 5.62 (1H, d, J = 10.1 Hz, H-10), 6.34 (1H, s, H-8), 1.47 (6H, s, H-12, 13), 6.35 (1H, dd, J = 10.1, 2.3 Hz, H-4'); 7.02 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-5'); 6.35 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-3'); 1.47 (3H, s, 2'-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 154.6 (C-2), 121.2 (C-3), 181.5 (C-4), 156.8 (C-5), 105.7 (C-6), 159.7 (C-7), 95.1 (C-8), 115.7 (C-9), 128.3 (C-10), 78.2 (C-11), 28.4 (C-12), 28.4 (C-13), 111.3 (C-1'), 158.2 (C-2'), 99.9 (C-3'), 158.7 (C-4'), 107.6 (C-5'), 132.2 (C-6'), 106.3 (C-4a), 157.6 (C-8a), 55.7 (2'-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[23], 故鉴定化合物 **19** 为 2'-methylalpinumisoflavone。

化合物 20: 黄色粉末, 分子式 C₂₀H₁₆O₆。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆) δ: 8.35 (1H, s, H-2), 7.38 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-2', 6'), 6.82 (2H, d, J = 8.7 Hz, H-3', 5'), 6.68 (1H, d, J = 10.2 Hz, H-4''), 5.73 (1H, d, J = 10.2 Hz, H-3''), 6.46 (1H, s, H-8), 5.10 (1H, t, J = 6.0 Hz, 5''-OH), 3.48 (2H, m, H-5''), 1.35 (3H, s, 2''-CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-d₆) δ: 154.2 (C-2), 122.4 (C-3), 181.4 (C-4), 156.7 (C-5), 105.3 (C-6), 159.2 (C-7), 94.5 (C-8), 157.5 (C-8a), 104.8 (C-4a), 121.0 (C-1'), 130.2 (C-2'), 115.1 (C-3'), 155.8 (C-4'), 115.1 (C-5'), 130.2 (C-6'), 81.2 (C-2''), 126.2 (C-3''), 115.9 (C-4''), 67.0 (C-5''), 23.2 (2''-CH₃)。以上数据与文献报道一致^[24], 故鉴定化合物 **20** 为 hydroxyalpinumisoflavone。

化合物 21: 浅黄色粉末, 分子式 C₁₆H₁₀O₇。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆) δ: 13.72 (1H, s, 5-OH), 11.76 (1H, s, 7-OH), 10.34 (1H, s, 4'-OH), 8.19 (1H, s, H-3'), 8.00 (1H, s, H-6'), 7.37 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-8), 7.11 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-6), 4.69 (3H, s, OCH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-d₆) δ: 164.1 (C-2), 97.5 (C-3), 178.2 (C-4), 162.1 (C-5), 99.7 (C-6), 163.6 (C-7), 94.9 (C-8), 154.6 (C-9), 102.8 (C-10), 112.5 (C-1'), 143.3 (C-2'), 99.4 (C-3'), 145.8 (C-4'), 146.7 (C-5'), 102.9 (C-6'), 56.2 (5'-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[25], 故鉴定化合物 **21** 为 desmoxypyphillin A。

4 讨论

从天然产物中寻找和发现 PPAR γ 激动剂或拮抗剂是新型药物发现的重要途径, 本实验分离得到

21个异黄酮化合物，其中化合物3、5^[26]、12^[27]具有PPAR γ 激动作用，为PPAR γ 激动剂。其余化合物对PPAR γ 活性的影响将在接后续实验中进一步研究证明。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1998.
- [2] Hun S Y, Ji L, Chul Y K, et al. Flavonoids of *Crotalaria sessiliflora* [J]. *Arch Pharm Res*, 2004, 27(5): 544-546.
- [3] Abdul M I M, Osamu N, Tetsuo O, et al. Antioxidative compounds from *Crotalaria sessiliflora* [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2003, 67(2): 410-414.
- [4] 石忠峰, 冯毅凡, 韩亮, 等. 天然黄酮(醇)及异黄酮对PPAR γ 受体的亲和力研究 [J]. 中国民族民间医药, 2008, 17(10): 15-17.
- [5] Kalra V K, Kukla A S, Seshadri T R. Synthesis of new types of pterocarpans [J]. *Indian J Chem*, 1967, 5(12): 607-609.
- [6] Han S Y, Jong H P, Hee J P, et al. Chemical study on the stem of *Cudrania tricuspidata* [J]. *Arch Pharm Res*, 1989, 12(1): 39-41.
- [7] 马强, 雷海民, 周玉新, 等. 红车轴草化学成分的研究 [J]. 中国药学杂志, 2005, 40(14): 1057-1059.
- [8] Selepe M A, Drewes S E, van Heerden F R. Total synthesis of the pyranocoumaronochromone lupinalbin H [J]. *Tetrahedron*, 2011, 67(45): 8654-8658.
- [9] 罗舟, 苏明智, 颜鸣, 等. 蒙古黄芪的化学成分研究 [J]. 中草药, 2012, 43(3): 458-462.
- [10] Chen Y Y C, Yasumasa S, Naoki A B E, et al. DPPH Radical-scavenging compounds from Dou-Chi, a soybean fermented food [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2005, 69(5): 999-1006.
- [11] Ma W G, Yukiharu F, Kurt H, et al. Isoflavonoid glycosides from *Eriosema tuberosum* [J]. *Phytochemistry*, 1998, 38(1): 140-143.
- [12] 李宝强, 宋启示. 大叶千斤拔根的化学成分 [J]. 中草药, 2009, 40(2): 179-182.
- [13] Masaki B, Sakiko S, Noriaki I, et al. Studies of the Egyptian traditional folk medicines. IV. New isoflavonoid isolated from Egyptian Licorice [J]. *Heterocycles*, 2008, 75(12): 3085-3089.
- [14] Sawsan E, Masouda E A, Maged S A, et al. Prenylated flavonoids of *Erythrina lysistemon* grown in Egypt [J]. *Phytochemistry*, 2002, 60(8): 783-787.
- [15] Babu U V, Bhandari S P S, Garg H S. Barbacarpan, a pterocarpan from *Crotalaria barbata* [J]. *Phytochemistry*, 1998, 48(8): 1457-1459.
- [16] Zheng Z P, Liang J Y, Hu L H. Water-soluble constituents of *Cudrania tricuspidata* (Carr.) Bur. [J]. *J Integrative Plant Biol*, 2006, 48(8): 996-1000.
- [17] Talukdar A C, Jain N, Krishnamurty H G, et al. An isoflavone from *Myristica malabarica* [J]. *Phytochemistry*, 2000, 53(1): 155-157.
- [18] 张念, 华茉莉, 姜仁吉, 等. 红车轴草醇提物的化学成分研究 [J]. 中成药, 2014, 45(4): 66-470.
- [19] 王青, 苗文娟, 向诚, 等. 乌拉尔甘草化学成分研究 [J]. 中草药, 2012, 43(10): 1886-1890.
- [20] 张聿梅, 许旭东, 胡碧煌, 等. 黄甘草异黄酮成分的研究 [J]. 药学学报, 1997, 32(4): 301-304.
- [21] 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.
- [22] Ding P, Qiu J Y, Ying G, et al. Chemical constituents of *Millettia speciosa* [J]. *Chin Herb Med*, 2014, 6(4): 332-334.
- [23] Liu Y N, Huang Y Y, Bao J M, et al. Natural phosphodiesterase-4 (PDE4) inhibitors from *Crotalaria ferruginea* [J]. *Fitoterapia*, 2014, 94: 177-182.
- [24] 徐蔚, 王培, 李尚真, 等. 地果根茎化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2011, 23(2): 270-272.
- [25] Mizuo M, Katsumi B, Munekazu I, et al. Coumaronochromones from leaves of *Desmodium oxyphyllum* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(1): 361-363.
- [26] Sun Q H, Chou G X. Isoflavonoids from *Crotalaria albida* inhibit adipocyte differentiation and lipid accumulation in 3T3-L1 cells via suppression of PPAR- γ pathway [J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0135893.
- [27] 陈莉, 桑灏, 李觉. 3'-羟基染料木素对3T3-L1细胞增殖与分化的影响及其机制 [J]. 第二军医大学学报, 2011, 32(11): 1181-1184.