

灰毛康定黄芪地下部分化学成分研究

王靖雯^{1,2}, 徐伟³, 肖朝江^{1,2}, 董相^{1,2}, 姜北^{1,2*}

1. 大理大学药物研究所, 云南 大理 671000

2. 大理大学药学与化学学院, 云南 大理 671000

3. 上海交通大学云南(大理)研究院, 民族医药发展研究中心, 云南 大理 671000

摘要: 目的 研究灰毛康定黄芪 *Astragalus tatsienensis* var. *incanus* 地下部分化学成分。方法 利用 RP₁₈、葡聚糖凝胶(Sephadex LH-20)柱色谱以及制备液相色谱等方法进行分离纯化, 并通过现代波谱分析及理化性质等手段对所分离得到的化合物进行结构鉴定。结果 从灰毛康定黄芪地下部分甲醇提取物中分离得到4个化合物, 分别鉴定为3β-O-α-L-吡喃鼠李糖(1→2)-β-D-吡喃半乳糖(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖醛酸-22β-羟基-11-氧代-齐墩果烷-12-烯(1)、金丝桃苷(2)、wightone(3)、4-羟基苯甲酸(4)。结论 化合物1为新三萜苷类化合物, 命名为灰毛康定甲苷, 化合物2~4均为首次从该植物中分离得到。

关键词: 灰毛康定黄芪; 灰毛康定甲苷; 金丝桃苷; 4-羟基苯甲酸; 三萜苷类

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)07-1527-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.07.004

Chemical constituents of underground parts of *Astragalus tatsienensis* var. *incanus*

WANG Jing-wen^{1,2}, XU Wei³, XIAO Chao-jiang^{1,2}, DONG Xiang^{1,2}, JIANG Bei^{1,2}

1. Institute of Materia Medica, Dali University, Dali 671000, China

2. College of Pharmacy and Chemistry, Dali University, Dali 671000, China

3. Center for Ethnomedicine Research and Development, Yunnan Dali Research Institute of Shanghai Jiao Tong University, Dali 671000, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents of the underground parts of *Astragalus tatsienensis* var. *incanus*. **Methods** The compounds were separated and purified by RP₁₈, Sephadex LH-20 column chromatography, as well as preparative liquid chromatography. The structures of the isolated compounds were determined by means of modern spectroscopic analysis and physicochemical properties. **Results** Four compounds were isolated from the methanol extract of the underground part of *A. tatsienensis* var. *incanus*, and identified as 3β-O-α-L-rhamnopyranosyl (1→2)-β-D-galactopyranosyl (1→2)-β-D-glucuronopyranosyl-22β-hydroxy-11-oxo-olean-12-ene (1), hyperoside (2), wightone (3), and 4-hydroxybenzoic acid (4). **Conclusion** Compounds 2—4 are isolated from this plant for the first time, and compound 1 is a new triterpene glycosides compound, named astratatincoside A.

Key words: *Astragalus tatsienensis* Bur. et Franch. var. *incanus* (Peter-Stibral) Y. C. Ho; astratatincoside A; hyperoside; 4-hydroxybenzoic acid; triterpene glycosides

黄芪是我国传统的补益中药, 具有补气、壮筋骨、益卫固表、利水消肿、托毒等功效, 药材原植物为黄芪属 *Astragalus* Linn. 植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 或膜荚黄芪 *A.*

membranaceus (Fisch.) Bge 的根, 主要分布于东北、华北、西北等地^[1-3]。云南无正品黄芪自然分布, 但由于地理气候的多样性, 黄芪属植物资源异常丰富, 已发现黄芪属植物46种, 包括6个变种和2个变型, 其中绝大部分分布在滇西北地区, 许多为该地区特

收稿日期: 2018-12-17

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31170313); 国家自然科学基金资助项目(81460532)

作者简介: 王靖雯, 女, 在读研究生, 研究方向为天然药物化学。E-mail: 1281427142@qq.com

*通信作者 姜北, 博士, 教授。Tel: (0872)2257259 E-mail: jiangbei@dali.edu.cn

有种类^[4-5]。云南黄芪属植物在民间多被当做草药而广泛使用,多数种类的药用功效与正品黄芪相似,但鲜有系统、深入的现代研究报道。为全面了解云南黄芪属植物品质,本课题选取生于海拔 4 000~4 300 m 的灰毛康定黄芪 *A. tatsienensis* Bur. et Franch. var. *incanus* (Peter-Stibál) Y. C. Ho 为研究对象,该植物仅分布于云南西北部的德钦、香格里拉等地,为一分布面极其狭窄的特有种。研究采用现代色谱分离技术与波谱分析手段,对其主要化学成分进行分析。结果从该植物地下部分甲醇提取物中

分离得到 4 个化合物,分别鉴定为 3 β -O- α -L-吡喃鼠李糖 (1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃半乳糖 (1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖醛酸-22 β -羟基-11-氧代-齐墩果烷-12-烯[3 β -O- α -L-rhamnopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)- β -D-galactopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucuronopyranosyl-22 β -hydroxy-11-oxo-olean-12-ene, **1**]、金丝桃苷(hyperoside, **2**)、wightone (**3**)、4-羟基苯甲酸(4-hydroxybenzoic acid, **4**),其中化合物 **1** 为新化合物,命名为灰毛康定甲苷,化合物 **2**~**4** 均为首次从该植物中分离得到。结构见图 1。

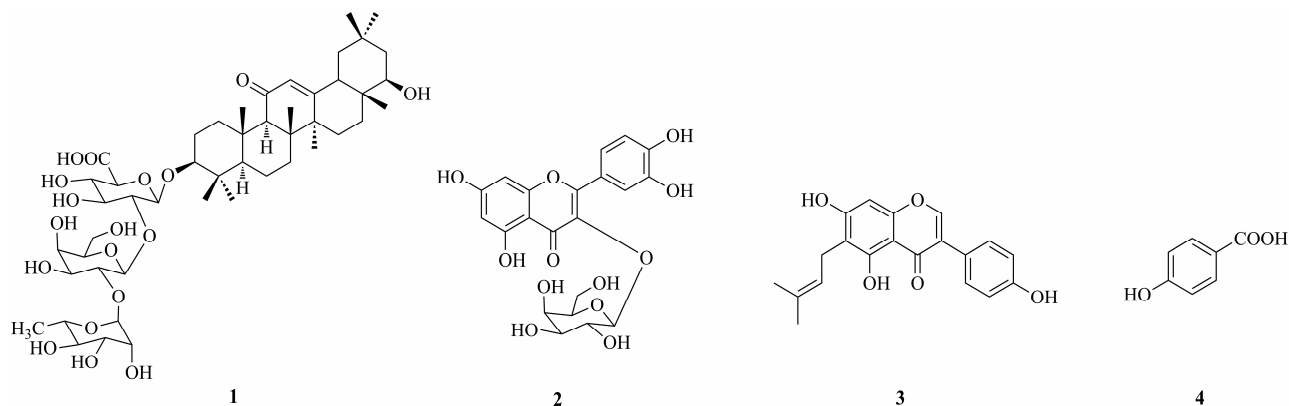


图 1 化合物 1~4 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—4

1 仪器与材料

Bruker AM-400 核磁共振波谱仪 (TMS 内标); 液质联用仪 (Bruker Daltonics MS 质谱系统, Dionex Ultimate 3000 超高效液相色谱仪); LC-20 AP 制备型液相色谱仪、YMC Pack-ODS-A 制备色谱柱 (250 mm $\times$ 20 mm, 5 μ m), 日本岛津公司; Agilent 1260 高效液相色谱仪、Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 分析色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm; 5 μ m), 美国安捷伦科技有限公司; 色谱甲醇、乙腈, 赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司; 娃哈哈纯净水 (大理娃哈哈食品有限公司); RP₁₈ (日本 Fuji 公司, 粒径 40~75 μ m); Sephadex LH-20 (Amersham Biosciences 公司); BSA224S 电子分析天平, 赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司; 醋酸乙酯、甲醇等有机试剂均为工业级溶剂, 重蒸后使用; 正丁醇、甲酸为分析纯。

本实验所用植物样品于 2014 年 9 月采自云南德钦白马雪山, 经大理大学药学与化学学院生药教研室张德全副教授鉴定为灰毛康定黄芪 *Astragalus tatsienensis* Bur. et Franch. var. *incanus* (Peter-Stibál) Y. C. Ho, 植物标本 (20140320-4) 存放于大理大学

药物研究所姜北教授课题组。

2 提取与分离

灰毛康定黄芪干燥地下部分 (163.00 g) 粉碎后用甲醇超声提取 5 次, 提取液合并经减压浓缩后得到总浸膏 (26.12 g), 分散于水中, 依次用醋酸乙酯、正丁醇萃取得到醋酸乙酯部位 (1.54 g)、正丁醇部位 (2.19 g)、水部位 (22.90 g)。醋酸乙酯部位经 RP₁₈ 反相硅胶柱色谱, 甲醇-水 (0~100%) 梯度洗脱, 流分经分析型高效液相检测合并得到 3 个组分 (A~C)。A 组分经 Sephadex LH-20 (80% 甲醇-水) 与制备型液相 (30% 甲醇-0.1% 甲酸水, 2 mL/min, t_R =37.8 min) 柱色谱得到化合物 **4** (1.1 mg); B 组分经 Sephadex LH-20 (80% 甲醇-水) 与制备型液相 (75% 甲醇-0.1% 甲酸水, 2 mL/min, t_R =32.3 min) 柱色谱得到化合物 **3** (4.4 mg)。正丁醇部位经 RP₁₈ 反相硅胶柱色谱, 甲醇-水 (0~100%) 梯度洗脱得到化合物 **1** (24.8 mg) 和 **2** (15.1 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色结晶 (60% 甲醇-水), 紫外最大吸收波长为 252 nm, HR-ESI-MS 显示分子离子碎片

峰 m/z 939.514 2 $[M-H]^-$ (计算值 939.517 0), 对应的分子式为 $C_{48}H_{76}O_{18}$, 计算不饱和度为 11。

1H -NMR (400 MHz, C_5D_5N) 显示存在 8 个为单峰的甲基氢信号 (表 1), 分别为 1.38 (3H, s), 1.37 (3H, s), 1.20 (3H, s), 1.19 (3H, s), 1.17 (3H, s), 1.11 (3H, s), 1.08 (3H, s), 0.93 (3H, s), 据此推测可能为齐墩果烷型三萜类化合物。 ^{13}C -NMR (100 MHz, C_5D_5N) 和 DEPT 谱图显示该化合物共有 48 个碳, 包括 9 个 CH_3 、9 个 CH_2 、21 个 CH 和 9 个 C 。其中化学位移在 δ_C 60~110 处存在 18 个 CH 及 1 个 CH_2 , 推测此化合物可能存在 3 个糖。因此, 化合

物 1 的结构可能为齐墩果烷型三萜连有 3 个糖的五环三萜皂苷类化合物。

化合物 1 的核磁共振波谱数据与文献报道^[6-7]的化合物 3 β - O - α - L -rhamnopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)- β - D -galactopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)- β - D -glucuronopyranosyl complogenin 的波谱数据很相近, 不同处在于文献所报道化合物的 C-24 位是 CH_2OH (δ_C 63.5), 而化合物 1 的 C-24 位为 CH_3 (δ_C 16.9)。HMBC 谱图显示 δ_H 0.75 (1H, d, $J = 11.5$ Hz, H-5) 分别与 δ_C 90.0 (C-3), 62.1 (C-9), 16.9 (C-24), 28.4 (C-23), 16.8 (C-25) 相关, 推测 C-3 位连有氧吸电子基, 而 C-23 位未连有羟基。 δ_H 2.46

表 1 化合物 1 的 1H -NMR (400 MHz, C_5D_5N) 和 ^{13}C -NMR (100 MHz, C_5D_5N) 波谱数据
Table 1 1H -NMR (400M Hz, C_5D_5N) and ^{13}C -NMR (100 MHz, C_5D_5N) data for compound 1

碳位	δ_H	δ_C	碳位	δ_H	δ_C
1	3.00 (1H, m)	39.6 (t)	22	3.69 (1H, t, $J = 4.9$ Hz)	75.0 (d)
	1.05 (1H, overlap)		23	1.37 (3H, s)	28.4 (q)
2	2.18 (1H, m)	26.7 (t)	24	1.17 (3H, s)	16.9 (q)
	2.01 (1H, m)		25	1.20 (3H, s)	16.8 (q)
3	3.29 (1H, dd, $J = 11.5, 4.1$ Hz)	90.0 (d)	26	1.08 (3H, s)	19.0 (q)
4		40.2 (s)	27	1.38 (3H, s)	23.1 (q)
5	0.75 (1H, d, $J = 11.5$ Hz)	55.6 (d)	28	1.11 (3H, s)	21.7 (q)
6	1.52 (1H, overlap)	17.8 (t)	29	0.93 (3H, s)	33.2 (q)
	1.30 (1H, overlap)		30	1.19 (3H, s)	28.4 (q)
7	1.57 (1H, overlap)	33.2 (t)	1'	5.00 (1H, d, $J = 7.4$ Hz)	105.5 (d)
	1.28 (1H, overlap)		2'	4.47 (1H, overlap)	79.1 (d)
8		45.6 (s)	3'	4.60 (1H, overlap)	77.6 (d)
9	2.46 (1H, s)	62.1 (d)	4'	4.44 (1H, overlap)	73.6 (d)
10		37.4 (s)	5'	4.60 (1H, overlap)	78.8 (d)
11		200.0 (s)	6'		172.8 (s)
12	5.76 (1H, s)	128.6 (d)	1''	5.65 (1H, d, $J = 7.6$ Hz)	102.8 (d)
13		170.0 (s)	2''	4.60 (1H, overlap)	76.8 (d)
14		44.1 (s)	3''	4.12 (1H, dd, $J = 9.3, 3.1$ Hz)	76.2 (d)
15	1.84 (1H, overlap)	26.7 (t)	4''	4.41 (1H, overlap)	70.6 (d)
	1.73 (1H, overlap)		5''	3.87 (1H, t, $J = 5.7$ Hz)	76.5 (d)
16	1.40 (2H, overlap)	28.0 (t)	6''	4.39 (2H, overlap)	62.1 (t)
17		37.9 (s)	1'''	6.24 (1H, s)	102.2 (d)
18	2.43 (1H, overlap)	45.6 (d)	2'''	4.74 (1H, brs)	72.5 (d)
19	1.76 (1H, overlap)	45.2 (t)	3'''	4.71 (1H, dd, $J = 9.1, 3.1$ Hz)	72.8 (d)
	0.94 (1H, overlap)		4'''	4.30 (1H, t, $J = 9.1$ Hz)	74.5 (d)
20		31.0 (s)	5'''	5.03 (1H, m)	69.5 (d)
21	1.70 (1H, overlap)	42.1 (t)	6'''	1.74 (3H, d, $J = 6.1$ Hz)	19.0 (q)
	1.59 (1H, overlap)				

(1H, s, H-9) 分别与 δ_C 200.0 (C-11), 16.8 (C-25) 相关; δ_H 5.76 (1H, s, H-12) 分别和 δ_C 62.1 (C-9), 44.1 (C-14), 45.6 (C-18) 相关, 证明 C-11 位是羰基, C-12 与 C-13 位存在双键。 δ_H 1.11 (3H, s, H-28) 与 δ_C 75.0 (C-22) 相关; δ_H 3.69 (1H, t, $J = 4.9$ Hz, H-22) 与 δ_C 31.0 (C-20) 和 δ_C 45.6 (C-18) 相关, 证实 C-22 位连有羟基。另外, δ_H 3.29 (1H, dd, $J = 11.5, 4.1$ Hz, H-3) 与 δ_C 105.5 (C-1') 相关, 说明齐墩果烷型三萜的 C-3 位连有糖。糖的连接方式可通过二维 ^1H - ^1H COSY 谱图与 HMBC 谱图确定 (图 2)。 ^1H - ^1H COSY 谱图显示 δ_H 5.00 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-1') 与 δ_H 4.47 (1H, m, H-2') 相关, HMBC 谱图证明 H-2' 与 δ_C 102.8 (C-1'') 相关, 说明 C-2' 位与第 2 个糖相连; 与此同时 H-2' 与 δ_C 73.6 (C-4') 相关, 而 δ_H 4.44 (1H, m, H-4') 又与 δ_C 172.8 (C-6') 相关, 证明 C-6' 位是羧基, 说明与 C-3 位直接相连的是糖醛酸。同理, ^1H - ^1H COSY 谱图中 δ_H 5.65 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'') 与 δ_H 4.60 (1H, overlapped, H-2'') 相关, 而 HMBC 谱图中 H-2'' 与 δ_C 102.2 (C-1''') 相关, 证明 C-2'' 位连有第 3 个糖。同样, HMBC 谱图中 δ_H 6.24 (1H, s, H-1''') 和 δ_C 69.5 (C-5''') 相关, 而 ^1H - ^1H COSY 谱图中 δ_H 5.03 (1H, m, H-5''') 与 δ_H 1.74 (3H, d, $J = 6.1$ Hz, H-6''') 相关, 说明此糖是 6-去氧糖。通过与文献波谱数据^[6-9]对比判定化合物 1 的 3 个糖依次为 β -D-吡喃葡萄糖醛酸、 β -D-吡喃半乳糖和 α -L-吡喃鼠李糖, 连接方式为 α -L-吡喃鼠李糖 (1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃半乳糖 (1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖醛酸。

化合物 1 苷元的相对立体构型可通过二维 ROESY 谱图确定。若认定 5 位 H 为 α -H, 那么依

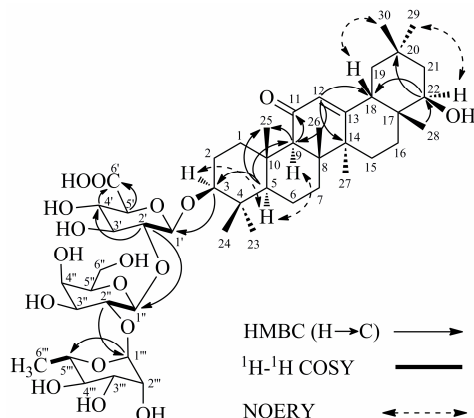


图 2 化合物 1 关键 HMBC、 ^1H - ^1H COSY 和 ROESY 相关
Fig. 2 Key HMBC, ^1H - ^1H COSY, and ROESY correlations of compound 1

据 ROESY 谱图, δ_H 0.75 (1H, d, $J = 11.5$ Hz, H-5) 分别与 δ_H 3.29 (1H, dd, $J = 11.5, 4.1$ Hz, H-3), 2.46 (1H, s, H-9) 相关说明 C-3 位的氢是 α -H, 从而证明 C-3 位连接的氧处于 β 位; 位于 18 位的 β -H 与 δ_H 1.19 (3H, s, H-30) 相关, 与 δ_H 3.69 (1H, t, $J = 4.9$ Hz, H-22) 不相关, 而 H-22 与 δ_H 0.93 (3H, s, H-29) 存在相关性, 证明 H-22 为 α -H, 即 C-22 位连接的羟基为 β -OH, 从而确定苷元的相对立体构型。另外, 与化合物 1 近似的化合物 3β -O- α -L-rhamnopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)- β -D-galactopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucuronopyranosyl complogenin 存在于同属植物紫云英^[6]与 *A. suberi* L.^[7]中, 依据植物生源性判断化合物 1 为 3β -O- α -L-吡喃鼠李糖 (1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃半乳糖 (1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖醛酸-22 β -羟基-11-氧代-齐墩果烷-12-烯, 命名为灰毛康茂甲苷。结构见图 2。

化合物 2: 黄色粉末, 分子式 $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$ 。UV (MeOH-H₂O) λ_{max} : 256, 355 nm, HR-ESI-MS m/z 463.096 6 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 13.18 (1H, s, 5-OH), 8.46 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-2'), 8.11 (1H, dd, $J = 8.4, 1.7$ Hz, H-6'), 7.26 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.69 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-8), 6.63 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-6), 6.07 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-1''), 4.18~4.83 (5H, m, H-2''~6''); ^{13}C -NMR (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 157.4 (C-2), 135.5 (C-3), 178.7 (C-4), 162.5 (C-5), 99.6 (C-6), 165.8 (C-7), 94.4 (C-8), 157.6 (C-9), 105.2 (C-10), 122.1 (C-1'), 116.1 (C-2'), 146.6 (C-3'), 150.6 (C-4'), 117.7 (C-5'), 122.6 (C-6'), 105.0 (C-1''), 73.2 (C-2''), 75.3 (C-3''), 69.6 (C-4''), 77.5 (C-5''), 61.7 (C-6'')。以上波谱数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 2 为金丝桃苷。

化合物 3: 黄色粉末, 分子式 $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_5$ 。UV (MeOH-H₂O) λ_{max} : 212, 265 nm, HR-ESI-MS m/z 337.118 5 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 8.03 (1H, s, H-2), 7.37 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2', 6'), 6.85 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3', 5'), 6.39 (1H, s, H-8), 5.25 (1H, t, $J = 7.0$ Hz, H-2''), 3.36 (2H, overlap, H-1''), 1.79 (1H, s, H-4''), 1.67 (1H, s, H-5''); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 154.5 (C-2), 124.6 (C-3), 182.3 (C-4), 160.5 (C-5), 113.1 (C-6), 163.7 (C-7), 93.9 (C-8), 157.6 (C-9), 106.1 (C-10), 123.5 (C-1'), 131.4 (C-2', 6'), 158.8 (C-4'), 116.2 (C-3', 5'), 22.3 (C-1''), 123.4 (C-2''), 132.1 (C-3''), 17.9 (C-4''), 26.0 (C-5'')。以上波谱数据与文献报道基本一致^[11],

故鉴定化合物 **3** 为 wightone。

化合物 **4**：白色粉末，分子式 $C_7H_6O_3$ 。UV (MeOH-H₂O) $\lambda_{\max}$: 255 nm, HR-ESI-MS m/z : 137.029 8 $[M-H]^-$ 。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.87 (2H, d, $J = 7.0$ Hz, H-2, 6), 6.77 (2H, d, $J = 7.0$ Hz, H-3, 5)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[12]，故鉴定化合物 **4** 为 4-羟基苯甲酸。

参考文献

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第42卷第一分册) [M]. 北京: 科学出版社, 1993.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [4] 钱子刚, 贾向云, 戴蓉, 等. 云南黄芩药用植物物种多样性研究 [J]. 云南中医学院学报, 1997, 20(1): 4-7.
- [5] 中国科学院昆明植物研究所. 云南种子植物名录 (上册) [M]. 昆明: 云南人民出版社, 1984.
- [6] Cui B, Inoue J, Takeshita T, et al. Triterpene glycosides from the seeds of *Astragalus sinicus* L. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1992, 40(12): 3330-3333.
- [7] Abbas F, Zayed R. Bioactive saponins from *Astragalus suberi* L. growing in Yemen [J]. *Z Naturforsch C*, 2005, 60(11/12): 813-820.
- [8] Lan X, Deng K, Zhao J, et al. New triterpenoid saponins from green vegetable soya beans and their anti-inflammatory activities [J]. *J Agric Food Chem*, 2017, 65(50): 11065-11072.
- [9] Mahato S B. Triterpenoid saponins from *Medicago hispida* [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(10): 3389-3393.
- [10] 刘鹏, 张恩惠, 张薇, 等. 四妙勇安汤水煎液化学成分研究 [J]. 中草药, 2018, 49(14): 3232-3239.
- [11] 李晓莉, 王乃利, 张雪, 等. 核磁共振波谱法快速鉴定异戊烯基异黄酮类化合物 [J]. 沈阳药科大学学报, 2005, 22(3): 189-192.
- [12] 周媛媛, 刘兆熙, 孟颖, 等. 青龙衣有效部位化学成分研究 [J]. 中草药, 2014, 45(16): 2303-2306.