

鹿藿的化学成分研究

向 瑾¹, 阮长磊¹, 刘 丹¹, 戴豫宛², 李红钢^{2*}, 方进波^{1*}

1. 华中科技大学同济医学院药学院, 天然药物化学与资源评价湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430030

2. 华中科技大学同济医学院生殖健康研究所, 湖北 武汉 430030

摘要: 目的 研究鹿藿 *Rhynchosia volubilis* 的化学成分。方法 采用硅胶、ODS、Toyopearl HW-40C、Sephadex LH-20 柱色谱以及半制备 HPLC 等方法进行纯化, 根据理化性质及波谱数据对化合物进行结构鉴定。结果 从鹿藿石油醚提取物中分离得到 13 个化合物, 分别鉴定为 (-)-sigmoidin E (1)、lupinifolin (2)、precatorin B (3)、木豆酮 (4)、槐花多糖 B (5)、5,3'-二羟基-4'-甲氧基-5'- γ , γ -二甲基烯丙基-2'',2''-二甲基吡喃并 [5,6:6,7] 异黄酮酮 (6)、染料木素 (7)、甘草异黄酮 A (8)、erylatissin B (9)、neo-bavaisoflavone (10)、羽扇豆醇 (11)、梓木醛 (12)、穿贝海绵甾醇 (13)。化合物 1~10 均为含异戊烯基的黄酮类, 其中化合物 1、2 为二氢黄酮、3~6 为二氢异黄酮、7~10 为异黄酮。化合物 11~12 为羽扇豆烷型三萜, 化合物 13 为甾醇类。结论 化合物 1、5~6、8~10、12、13 均为首次从鹿藿属植物中分离得到, 化合物 1~3、5~13 均为首次从该植物中分离得到。

关键词: 鹿藿; 异戊烯基黄酮; 三萜; 槐花多糖 B; 染料木素; 甘草异黄酮 A; 羽扇豆醇; 梓木醛; 穿贝海绵甾醇

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)05-1183-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.05.014

Chemical constituents from *Rhynchosia volubilis*

XIANG Jin¹, RUAN Chang-lei¹, LIU Dan¹, DAI Yu-wan², LI Hong-gang², FANG Jin-bo¹

1. Hubei Key Laboratory of Natural Medicinal Chemistry and Resource Evaluation, School of Pharmacy, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

2. Institute of Reproductive Health, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents from *Rhynchosia volubilis*. **Methods** The compounds were isolated and purified by a combination of various chromatographic techniques including silica gel, ODS, Toyopearl HW-40C, Sephadex LH-20, and semi-preparative HPLC chromatography. Their structures were identified by physicochemical properties and spectroscopic data. **Results** Thirteen compounds were isolated from the petroleum ether extracts of *R. volubilis* and their structures were elucidated as (-)-sigmoidin E (1), lupinifolin (2), precatorin B (3), cajanone (4), sophoraisoflavanone B (5), 5,3'-dihydroxy-4'-methoxy-5'- γ , γ -dimethylallyl-2'',2''-dimethylpyrano [5,6:6,7] isoflavanone (6), genistein (7), licoisoflavone A (8), erylatissin B (9), neo-bavaisoflavone (10), lupeol (11), betulinic aldehyde (12), and clionasterol (13). Compounds 1—10 were all prenylated flavonoids, of which compounds 1—2 were dihydroflavones, compounds 3—6 were dihydroisoflavones, and compounds 7—10 were isoflavones. Compounds 11—12 were lupine triterpenoids, and compounds 13 was a sterol. **Conclusion** Compounds 1, 5—6, 8—10, 12 and 13 are isolated from the genus for the first time, while compounds 1—3 and 5—13 are separated from this plant for the first time.

Key words: *Rhynchosia volubilis* Lour.; isopentenyl flavonoids; triterpenoids; sophoraisoflavanone B; genistein; licoisoflavone A; lupeol; betulinic aldehyde; clionasterol

鹿藿为豆科鹿藿属植物鹿藿 *Rhynchosia volubilis* Lour. 的干燥根, 缠绕草质藤本, 生于海拔 200~1 200 m 山坡杂草中或攀附树上, 长江流域各省均有分布^[1]。鹿藿有祛风除湿、活血、解毒、消

收稿日期: 2019-10-19

基金项目: 国家重点研发计划——“生殖健康及重大出生缺陷防控研究”重大专项资助项目 (2016YFC1000905)

作者简介: 向 瑾 (1992—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药活性成分研究。

*通信作者 李红钢 (1975—), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事男科学和生殖遗传研究及临床。E-mail: lhgyx@hotmail.com

方进波 (1977—), 男, 副教授, 硕士生导师, 主要从事中药活性成分及质量控制方法研究。E-mail: fangjbtj@163.com

肿止痛的功效,用于治疗风湿痹痛、头痛、牙痛、腰脊疼痛、妇女产褥热、瘰癧、痈肿疮毒等^[1-2]。鹿藿亦是鄂西北民间避孕验方中的一味主药,用于女性节育^[3],鹿藿根的水煎液和醇提取物具有抗生育和抗病原微生物的作用^[2,4],但活性成分未知。目前已从鹿藿属植物中分离得到的化合物主要有黄酮^[5-8]、岩藻糖苷^[6]、没食子酸、儿茶酸^[5-6,8]、甾醇^[3,8-9]等化合物。本课题组发现鹿藿丙酮总提取物在质量浓度0.1~0.15 g/mL能够抑制人体精子的活动,经萃取后,0.2 g/mL石油醚提取物在200 s内使 5×10^7 个/mL精液中的所有精子失活,同等浓度的醋酸乙酯提取物及正丁醇提取物能使同等精液浓度中的精子停止在原地或者失活,为了发现抗生育活性的化合物,现对其石油醚部位化学成分进行了系统研究,共分离并鉴定了13个化合物,分别鉴定为(-)-sigmoidin E (**1**)、lupinifolin (**2**)、precatorin B (**3**)、木豆酮(cajanone, **4**)、槐花多糖 B(sophoraisoflavanone B, **5**)、5,3'-二羟基-4'-甲氧基-5'- γ,γ -二甲基烯丙基-2'',2''-二甲基吡喃并[5,6:6,7]异黄烷酮(5,3'-dihydroxy-4'-methoxy-5'- γ,γ -dimethylallyl-2'',2''-dimethylpyrano[5,6:6,7]isoflavanone, **6**)、染料木素(genistein, **7**)、甘草异黄酮 A(licoisoflavone A, **8**)、erylatissin B (**9**)、neo-bavaisoflavone (**10**)、羽扇豆醇(lupeol, **11**)、桦木醛(betulinic aldehyde, **12**)、穿贝海绵甾醇(clionasterol, **13**)。化合物**1**~**10**为含异戊烯基取代的黄酮类,其中化合物**1**、**2**为二氢黄酮、**3**~**6**为二氢异黄酮、**7**~**10**为异黄酮;化合物**11**、**12**为羽扇豆烷型三萜;化合物**13**为甾醇类。化合物**1**、**5**、**6**、**8**~**10**、**12**、**13**均为首次从鹿藿属植物中分离得到,化合物**1**~**3**、**5**~**13**均为首次从该植物中分离得到。

1 仪器与材料

Bruker Avance III 500/600 MHz NMR Spectrometer 核磁共振仪;UPLC Q-TRAP MS/MS 液相质谱联用仪(Shimadzu UPLC, AB Sciex API 4500 QTRAP);高效液相色谱仪(上海伍丰科技仪器有限公司);RI 2000 示差折光检测器(德国 Schambeck SFD GmbH),LC100(高压恒流泵);半制备 HPLC 色谱柱:YMC-Pack ODS-A(250 mm×10 mm, 5 μ m),YMC-Pack SIL(250 mm×10 mm, 5 μ m);葡聚糖凝胶 Toyopearl HW-40C(日本 Tosoh 公司);Sephadex LH-20(瑞典 Pharmacia 公司);Silica gel 60(60 μ m,德国 Merck 公司);ODS-A-HG

(50 μ m, YMC GEL);柱色谱硅胶(100~200、200~300 目,青岛海洋化工厂);HSGF₂₅₄(20 cm×20 cm, 0.3~0.4 mm,烟台江友硅胶有限公司);实验用试剂均为分析纯或色谱纯。

鹿藿药材于2017年10月采自湖北襄阳市枣阳县,由华中科技大学同济医学院药学院中药与天然药物学系方进波副教授鉴定为豆科鹿藿属植物鹿藿 *Rhynchosia volubilis* Lour. 的干燥根。

2 提取与分离

鹿藿干燥根 10 kg,粉碎后用 70%丙酮冷浸提取 5 次,每次 24 h,合并提取液,减压浓缩得粗提取物浸膏,用蒸馏水充分混悬,依次用水饱和的石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取,分别得到石油醚部位浸膏(PE Frac.) 28.1 g,醋酸乙酯部位浸膏(EtOAc Frac.) 138.8 g,正丁醇部位浸膏(*n*-BuOH Frac.) 179.2 g。

PE Frac. (28.1 g)经柱色谱硅胶分离,依次用石油醚-醋酸乙酯(100:1、99:1、49:1、19:1、14:1、12:1、9:1、4:1、1:1)梯度洗脱,得到 Frac. 0101~0109。

Frac. 0104 (5.0 g)经正相硅胶柱色谱(二氯甲烷-醋酸乙酯 10:1→1:1 梯度洗脱)得 Frac. 3607~3614, Frac. 3608 (920.0 mg)经 Toyopearl HW-40C、Silica gel 60(石油醚-丙酮 7:1 等度洗脱)、正相硅胶柱色谱(二氯甲烷-醋酸乙酯 100:1 等度洗脱)、反相制备 HPLC(甲醇-水 80:20)得到化合物 **6** (3.9 mg)。Frac. 3610 (1.2 g)经 Toyopearl HW-40C 得 Frac. 4001~4006, Frac. 4003~4004 (243.8 mg)经正相硅胶柱色谱(石油醚-丙酮 8:1 等度洗脱)、反相制备 HPLC(甲醇-水 87:23)得到化合物 **1** (1.2 mg),同时得 Frac. 5105 (11.2 mg),经制备薄层色谱分离得到化合物 **2** (7.1 mg)。

Frac. 0105 (7.4 g)经正相硅胶柱色谱(二氯甲烷-甲醇 100:0→49:1 梯度洗脱)得 Frac. 0301~0309。Frac. 0302 (400 mg)经 Toyopearl HW-40C(二氯甲烷-甲醇 2:1,下同)得 Frac. 0401~0405。Frac. 0402 (23.1 mg)经制备薄层色谱得化合物 **11** (4.6 mg)。Frac. 0303 (400 mg)经 Toyopearl HW-40C 得 Frac. 0406~0410, Frac. 0407 (18.0 mg)、Frac. 0408 (55.1 mg)、Frac. 0401~0410 (50.9 mg)分别经正相制备 HPLC(正己烷-醋酸乙酯 4:1),制备薄层色谱得化合物 **3** (9.2 mg)、**5** (2.2 mg)、**12** (2.9 mg)。Frac. 0304~0307 (6.1 g)经 Toyopearl HW-40C,反

相 C₁₈ (甲醇-水 5:5、6:4、7:3、8:2、9:1、0:10) 梯度洗脱, SephadexLH-20 (甲醇, 下同), Silica gel 60 (正己烷-醋酸乙酯 7:1) 得 Frac. 1601~1605。Frac. 1605 (159.9 mg) 经正相制备 HPLC (正己烷-醋酸乙酯 4:1)、制备薄层色谱得化合物 **4** (19.3 mg)。

Frac. 0106 (6.1 g) 经正相硅胶 (石油醚-醋酸乙酯 10:1→1:1 梯度洗脱) 得 Frac. 1901~1912。Frac. 1902~1903 (1.5 g) 经 Toyopearl HW-40C、Silica gel 60、正相制备 HPLC (正己烷-异丙醇 4:1) 得化合物 **13** (11.0 mg)。

Frac. 0107 (7.3 g) 经反相 C₁₈ (甲醇-水 6:4、7:3、8:2、9:1、0:10) 梯度洗脱得 Frac. 0201~0208, Frac. 0203 (1.1 g) 经 Toyopearl HW-40C、SephadexLH-20、反相制备 HPLC (甲醇-水 68:32) 得到化合物 **7** (4.3 mg)、**8** (1.8 mg)。Frac. 0204 (1.5 g) 经 Toyopearl HW-40C、Silica gel 60 (二氯甲烷-甲醇 99:1 等度洗脱)、反相制备 HPLC (甲醇-水 68:32) 得到化合物 **9** (1.9 mg)、**10** (2.9 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 淡黄色油状物, ESI-MS m/z : 407 [M+H]⁺。 ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.28 (1H, dd, J = 2.8, 13.2 Hz, H-2), 2.75 (1H, dd, J = 2.9, 17.2 Hz, H-3a), 3.10 (1H, dd, J = 13.3, 17.2 Hz, H-3b), 5.98 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 5.97 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 7.02 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.91 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-6'), 5.63 (1H, d, J = 9.8 Hz, H-3''), 6.31 (1H, d, J = 9.8 Hz, H-4''), 3.28 (2H, d, J = 7.5 Hz, H-1'''), 5.28 (1H, m, H-2'''), 1.43 (6H, s, 2''-Me), 1.72 (6H, s, 3'''-Me), 12.07 (1H, s, 5-OH); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) 数据见表 1。以上数据与文献报道^[10]比较, 通过 HSQC、HMBC 及 ¹H-¹H COSY 谱修正了 C-2'' 的化学位移值, 鉴定化合物 **1** 为 (-)-sigmoidin E。

化合物 **2**: 黄色油状物, ESI-MS m/z : 407 [M+H]⁺。 ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.33 (1H, dd, J = 2.9, 12.8 Hz, H-2), 2.79 (1H, dd, J = 3.0, 17.1 Hz, H-3a), 3.03 (1H, dd, J = 12.8, 17.1 Hz, H-3b), 7.32 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2', 6'), 6.87 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-3', 5'), 5.49 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-3''), 6.63 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-4''), 3.20 (2H, d, J = 7.5 Hz, H-1'''), 5.14 (1H, m, H-2'''), 1.43 (3H, s, 2''-Me), 1.44 (3H, s, 2''-Me), 1.64 (6H, s, 3'''-Me), 12.24 (1H, s, 5-OH); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) 数据见表 1。以上数据

与文献报道数据一致^[11], 并通过 HSQC、¹H-¹H COSY、HMBC 验证, 鉴定化合物 **2** 为 lupinifolin。

化合物 **3**: 黄色油状物, ESI-MS m/z : 421 [M+H]⁺。 ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 4.67 (1H, dd, J = 4.8, 11.8 Hz, H-2a), 4.80 (1H, dd, J = 4.2, 11.7 Hz, H-2b), 3.93 (1H, t, J = 4.4 Hz, H-3), 5.94 (1H, s, H-8), 6.39 (1H, s, H-3'), 7.02 (1H, s, H-6'), 5.47 (1H, t, J = 10.2 Hz, H-3''), 6.57 (1H, d, J = 10.0, H-4''), 5.47 (1H, t, J = 10.2, H-3'''), 6.23 (1H, d, J = 9.8 Hz, H-4'''), 1.37 (3H, s, 2''-Me), 1.40 (3H, s, 2''-Me), 1.42 (3H, s, 2'''-Me), 1.44 (3H, s, 2'''-Me), 11.95 (1H, s, 5-OH), 7.60 (1H, s, 2'-OH); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) 数据见表 1。以上数据与文献报道^[12]比较, 通过 HSQC、HMBC 及 ¹H-¹H COSY 谱修正了 C-6、C-10 的化学位移值, 鉴定化合物 **3** 为 precatorin B。

化合物 **4**: 黄色油状物, ESI-MS m/z : 423 [M+H]⁺。 ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 4.62 (1H, dd, J = 4.8, 11.6 Hz, H-2a), 4.76 (1H, dd, J = 5.1, 11.6 Hz, H-2b), 3.99 (1H, t, J = 5.0 Hz, H-3), 5.93 (1H, s, H-8), 6.36 (1H, s, H-3'), 7.05 (1H, s, H-6'), 5.48 (1H, d, J = 10.1 Hz, H-3''), 6.58 (1H, d, J = 10.1 Hz, H-4''), 3.23 (2H, d, J = 7.1 Hz, H-1'''), 5.25 (1H, t, J = 7.0 Hz, H-2'''), 1.42 (3H, s, 2''-Me), 1.44 (3H, s, 2''-Me), 1.72 (3H, s, 3'''-Me), 1.73 (3H, s, 3'''-Me), 12.05 (1H, s, 5-OH), 6.36 (1H, s, 4'-OH); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) 数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[13], 并通过 HSQC、¹H-¹H COSY、HMBC 验证, 鉴定化合物 **4** 为木豆酮。

化合物 **5**: 淡黄色固体 (氯仿), ESI-MS m/z : 439 [M+H]⁺。 ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 4.69 (1H, dd, J = 4.5, 11.7 Hz, H-2a), 4.84 (1H, dd, J = 4.1, 11.7 Hz, H-2b), 3.92 (1H, t, J = 4.2 Hz, H-3), 5.97 (1H, s, H-8), 6.49 (1H, s, H-3'), 7.19 (1H, s, H-6'), 3.30 (2H, d, J = 7.3 Hz, H-1''), 5.20 (1H, m, H-2''), 3.19 (2H, m, H-1'''), 5.23 (1H, m, H-2'''), 1.79 (3H, s, 3''-Me), 1.74 (3H, s, 3''-Me), 1.66 (3H, s, 3'''-Me), 1.71 (3H, s, 3'''-Me), 12.03 (1H, s, 5-OH), 6.29 (1H, brs, 7-OH), 7.61 (1H, brs, 2'-OH), 3.77 (3H, s, 4'-OMe); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) 数据见表 1。以上数据与文献报道^[14]比较, 通过 HSQC、HMBC 及 ¹H-¹H COSY 谱修正了 C-1'、C-5' 的化学位移值, 鉴定化合物 **5** 为 sophoraisoflavanone B。

化合物 **6**: 淡黄色油状物, ESI-MS m/z : 437 [M+

表1 化合物1~10的 ^{13}C -NMR数据
Table 1 ^{13}C -NMR spectral data of compounds 1—10

碳位	δ									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2	79.3	78.4	69.5	69.6	69.3	71.2	155.1	155.9	155.1	154.8
3	43.1	43.2	44.8	45.3	44.9	50.8	125.0	124.1	125.9	124.4
4	196.2	196.4	196.7	197.2	196.9	196.2	182.5	183.4	178.3	178.5
5	164.3	156.5	159.1	158.9	162.0	158.8	164.1	163.9	128.8	128.8
6	96.6	102.6	103.1	103.1	107.0	103.0	100.4	100.7	116.8	116.7
7	164.3	159.3	163.0	162.9	164.7	162.3	166.2	166.7	165.0	164.9
8	95.3	108.5	96.1	96.1	95.4	95.8	95.0	95.1	103.5	103.5
9	163.3	159.8	162.2	162.5	161.0	162.1	160.0	160.1	160.0	160.1
10	103.2	102.8	101.4	101.8	101.4	102.8	106.5	106.3	118.4	118.5
1'	129.6	131.0	114.6	114.2	113.6	131.5	123.6	112.3	126.0	126.5
2'	127.4	127.6	155.9	154.1	154.2	113.3	131.6	158.5	118.1	131.7
3'	129.6	115.4	105.7	105.0	100.9	149.0	116.5	118.7	146.6	129.6
4'	151.1	155.8	154.2	155.1	158.1	144.7	159.1	157.3	141.9	156.6
5'	121.9	115.4	115.2	119.8	122.8	135.1	116.5	109.0	123.5	116.0
6'	122.1	127.6	125.0	129.0	127.6	121.7	131.6	129.5	119.6	128.9
1''					21.0			23.9		29.6
2''	76.4	78.1	78.6	78.6	121.1	78.3		124.7	78.0	124.2
3''	131.1	125.9	126.2	126.2	135.8	126.1		131.7	132.6	133.3
4''	122.2	115.6	115.1	115.1		115.2			123.6	
1'''	28.2	21.4		29.0	27.9	28.1				
2'''	122.2	122.4	76.4	122.1	122.6	122.1				
3'''	132.4	131.0	128.3	134.5	132.4	133.1				
4'''			121.6							
2''-Me	28.0, 28.0	28.2, 28.3	27.9, 28.1	28.4, 28.4		28.4, 28.4			28.2, 28.2	
3''-Me					17.8, 25.8			18.2, 26.2		18.1, 26.2
2'''-Me			28.4, 28.5							
3'''-Me	17.8, 25.7	17.8, 25.7		17.8, 25.7	17.7, 25.7	17.8, 25.6				
4'-OMe					55.4	61.1				

$\text{H}]^+$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 4.49 (1H, dd, $J = 4.1, 11.3$ Hz, H-2a), 4.55 (1H, dd, $J = 4.9, 11.3$ Hz, H-2b), 3.81 (1H, dd, $J = 4.9, 8.0$ Hz, H-3), 5.92 (1H, s, H-8), 6.72 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 6.61 (1H, d, $J = 6.3$ Hz, H-6'), 5.48 (1H, d, $J = 10.1$ Hz, H-3''), 6.60 (1H, m, H-4''), 3.32 (2H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1'''), 5.23 (1H, m, H-2'''), 1.44 (6H, s, 2'', 2-Me), 1.69 (3H, s, 3'''-Me), 1.72 (3H, s, 3'''-Me), 12.36 (1H, s, 5-OH), 3.77 (3H, s, 4'-OMe); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) 波谱数据见表1。以上数据与文献报道一致^[15], 并

通过HSQC、 ^1H - ^1H COSY、HMBC验证, 鉴定化合物6为5,3'-二羟基-4'-甲氧基-5'- γ,γ -二甲基烯丙基-2'',2''-二甲基吡喃并[5,6:6,7]异黄烷酮。

化合物7: 淡黄色针状结晶(甲醇), ESI-MS m/z : 271 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 8.04 (1H, s, H-2), 6.21 (1H, brs, H-6), 6.33 (1H, brs, H-8), 7.36 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2', 6'), 6.84 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3', 5'); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) 波谱数据见表1。以上数据与文献报道一致^[16], 并通过HSQC、 ^1H - ^1H COSY、HMBC验证, 鉴定化合物7

为染料木素。

化合物 **8**: 淡黄色固体, ESI-MS m/z : 355 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 8.05 (1H, s, H-2), 6.27 (1H, brd, $J = 6.2$ Hz, H-6), 6.39 (1H, brd, $J = 6.3$ Hz, H-8), 6.43 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5'), 6.85 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-6'), 3.38 (2H, d, $J = 7.1$ Hz, H-1''), 5.25 (1H, t, $J = 7.3$ Hz, H-2''), 1.71 (3H, s, 3''-Me), 1.65 (3H, s, 3''-Me); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) 波谱数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[17], 并通过 HSQC、 1H - 1H COSY、HMBC 验证, 鉴定化合物 **8** 为甘草异黄酮 A。

化合物 **9**: 黄色油状物, ESI-MS m/z : 337 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 8.14 (1H, s, H-2), 8.05 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-5), 6.94 (1H, dd, $J = 2.2, 8.8$ Hz, H-6), 6.85 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 6.91 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.72 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6'), 5.72 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, H-3''), 6.38 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, H-4''), 1.45 (3H, s, 2''-Me), 1.46 (3H, s, 2''-Me); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) 波谱数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[18], 并通过 HSQC、 1H - 1H COSY、HMBC 验证, 鉴定化合物 **9** 为 erylatissin B。

化合物 **10**: 淡黄色固体, ESI-MS m/z : 323 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 8.08 (1H, s, H-2), 8.05 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-5), 6.93 (1H, dd, $J = 2.2, 8.8$ Hz, H-6), 6.84 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 7.21 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 6.80 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5'), 7.16 (1H, dd, $J = 2.2, 8.2$ Hz, H-6'), 3.32 (2H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1''), 5.35 (1H, m, H-2''), 1.72 (6H, s, 3''-Me); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) 数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[19], 并通过 HSQC、 1H - 1H

COSY、HMBC 验证, 鉴定化合物 **10** 为 *neo*-bavaisoflavone。

化合物 **11**: 白色无定形粉末 (氯仿), ESI-MS m/z : 427 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.89 (1H, m, H-1a), 1.65 (1H, m, H-1b), 3.18 (1H, dd, $J = 4.8, 11.6$ Hz, H-3), 0.67 (1H, m, H-5), 1.38 (2H, m, H-7), 1.28 (1H, m, H-9), 1.65 (1H, m, H-13), 1.36 (1H, m, H-16a), 1.46 (1H, m, H-16b), 1.35 (1H, m, H-18), 2.37 (1H, td, $J = 5.8, 11.2$ Hz, H-19), 1.91 (1H, m, H-21a), 1.25 (1H, m, H-21b), 1.16 (1H, m, H-22a), 1.36 (1H, m, H-22b), 0.96 (3H, s, H-23), 0.75 (3H, s, H-24), 0.82 (3H, s, H-25), 1.02 (3H, s, H-26), 0.93 (3H, s, H-27), 0.78 (3H, s, H-28), 4.68 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-29a), 4.56 (1H, m, H-29b), 1.67 (3H, s, H-30); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) 波谱数据见表 2。以上数据与文献报道一致^[20], 并通过 HSQC、 1H - 1H COSY、HMBC 验证, 鉴定化合物 **11** 为羽扇豆醇。

化合物 **12**: 白色粉末 (氯仿), ESI-MS m/z : 441 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.89 (1H, m, H-1a), 1.65 (1H, t, $J = 3.6$ Hz, H-1b), 3.18 (1H, dd, $J = 4.8, 11.7$ Hz, H-3), 0.67 (1H, dd, $J = 2.0, 9.3$ Hz, H-5), 1.36 (2H, m, H-7), 1.25 (1H, m, H-9), 2.02 (1H, td, $J = 3.8, 12.1$ Hz, H-13), 1.71 (1H, m, H-18), 2.86 (1H, m, H-19), 1.33 (1H, m, H-22a), 1.76 (1H, m, H-22b), 0.96 (3H, s, H-23), 0.75 (3H, s, H-24), 0.81 (3H, s, H-25), 0.91 (3H, s, H-26), 0.97 (3H, s, H-27), 0.67 (1H, brs, H-28), 4.62 (1H, brs, H-29a), 4.75 (1H, brs, H-29b), 1.69 (3H, s, H-30); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) 数据见表 2。以上数据与文献报道一致^[21], 并通过 HSQC、 1H - 1H COSY、HMBC 验证, 鉴定化合物 **12** 为梓木醛。

表 2 化合物 11~13 的 ^{13}C -NMR 数据

Table 2 ^{13}C -NMR spectral data for compounds 11—13

碳位	11	12	13	碳位	11	12	13	碳位	11	12	13
1	38.6	38.7	37.2	11	20.9	20.7	21.0	21	29.8	29.8	18.7
2	27.4	27.3	31.6	12	25.1	25.5	39.7	22	39.9	33.2	33.9
3	78.9	78.9	71.8	13	38.0	38.6	42.2	23	27.9	27.9	26.0
4	38.8	38.8	42.3	14	42.8	42.5	56.7	24	15.3	15.3	45.8
5	55.2	55.2	140.7	15	29.3	29.2	24.2	25	16.1	15.8	29.1
6	18.3	18.2	121.7	16	35.5	28.7	28.2	26	15.9	16.1	19.0
7	34.2	34.3	29.6	17	42.9	59.3	56.0	27	14.5	14.2	19.8
8	40.8	40.8	31.8	18	48.2	48.0	11.8	28	17.9	206.7	23.0
9	50.4	50.4	50.1	19	47.9	47.5	19.3	29	109.3	110.1	11.9
10	37.1	37.1	36.4	20	150.9	149.7	36.1	30	19.2	18.9	

化合物 **13**: 白色片状粉末 (氯仿), ESI-MS m/z : 415 $[M+H]^+$. $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 1.07 (1H, m, H-1a), 1.84 (1H, m, H-1b), 1.47 (1H, m, H-3a), 1.83 (1H, m, H-3b), 3.52 (1H, m, H-3), 2.26 (2H, m, H-4), 5.35 (1H, brd, $J = 4.9$ Hz, H-6), 1.46 (1H, m, H-8), 0.92 (1H, m, H-9), 1.47 (1H, m, H-11), 1.15 (1H, m, H-12a), 2.00 (1H, m, H-12), 0.99 (H, m, H-14), 1.57 (2H, m, H-15), 1.10 (1H, m, H-17), 0.67 (3H, s, H-18), 1.00 (3H, s, H-19), 1.35 (1H, m, H-20), 0.91 (3H, d, $J = 6.53$ Hz, H-21), 0.91 (1H, m, H-24), 0.83 (3H, m, H-26), 0.81 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-27), 0.84 (3H, m, H-29); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) 数据见表 2。以上数据与文献报道一致^[22], 并通过 HSQC、 $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY、HMBC 验证, 鉴定化合物 **13** 为穿贝海绵甾醇。

4 讨论

中药鹿藿是鄂西北民间避孕验方中用于女性节育的一味主药, 具有抗生育及抗病原微生物的药理作用^[1-3], 鹿藿中的主要化学成分是黄酮、糖苷、酚酸及甾醇类^[6], 其具体抗生育药理作用的物质基础及机制尚不明确。本实验结合已报道文献, 以及鹿藿总提取物和各极性提取物抑制人体精子活动的药理作用结果, 对抗生育活性最好的石油醚萃取部位进行柱色谱分离, 纯化得到 13 个化合物, 包括 10 个含异戊烯基取代的黄酮、2 个羽扇豆烷型三萜、1 个甾醇。其中, 三萜类成分为首次从鹿藿中分离得到。

已有文献报道, 含有异戊烯基取代的黄酮类成分可影响生殖作用^[23]。从槐角中分离得到的染料木素 (**7**) 具有雌激素活性, 能够与 17β -雌二醇竞争幼兔子宫中的结合位点^[24], 其可能通过蛋白酪氨酸激酶抑制剂发挥对精子运动的影响^[25]。来自于天然植物中的三萜类成分也具有一定的抗生育活性, Gupta 等^[26]已通过实验证实羽扇豆醇 (**11**) 经大鼠 *po* 给药, 能显著减少精子的活性, 表现出抗生育活性, 其内在的作用机制尚不清楚, 一种合理的解释认为羽扇豆醇会阻止精子细胞上的 CatSperm 通道, 这个钙离子通道对于精子的运动是必不可少的^[27]。与穿贝海绵甾醇 (**13**) 结构近似的 β -谷甾醇在高剂量水平时, 对雄性大鼠也具有一定的抗生育作用^[28]。因此, 鹿藿的化学成分研究将有助阐明其抗生育药理活性的物质基础, 同时本实验结果也进一步丰富了鹿藿属植物的化学成分结构类型。分离所得的异

戊烯基黄酮类成分对精子的抑制活性和机制还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编 (卷二) [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013.
- [2] 徐惠敏, 胡 廉, 熊承良. 中药鹿藿的抑菌实验研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(3): 435-437.
- [3] 王建刚, 熊承良, 尹卫平. 鹿藿醋酸乙酯提取物抗雄性小鼠生育研究及成分分析 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(11): 1072-1076.
- [4] 王建刚, 熊承良, 王学廷. 鹿藿醇提取物的体外杀精及抗菌作用 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18(10): 2387-2388.
- [5] 王 争. 药用植物小叶丁香和鹿藿活性部位物质基础和质量标准研究 [D]. 洛阳: 河南科技大学, 2011.
- [6] 向秋玲. 鹿藿的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2013, 11(21): 158-159.
- [7] 郭燕燕, 尹卫平, 刘 普. 离子液体提取分离鹿藿中异黄酮化合物 [J]. 应用化学, 2011, 28(5): 537-541.
- [8] 李胜华, 向秋林. 鹿藿的化学成分研究 [J]. 中草药, 2011, 42(7): 1276-1278.
- [9] Ripberger H. Jasminidin, a new monoterpene alkaloid from *Syringa vulgaris* [J]. *Phytochemistry*, 1978, 17(6): 1069-1070.
- [10] 左武标, 杨金会, 李红俊. 四个天然异戊烯基黄酮的全合成研究 [J]. 有机化学, 2012, 32(12): 2276-2282.
- [11] Mahidol C, Prawat H, Ruchirawat S, *et al.* Prenylated flavanones from *Derris reticulata* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 45(4): 825-829.
- [12] Coronado-Aceves E W, Gigliarelli G, Garibay-Escobar A, *et al.* New isoflavonoids from the extract of *Rhynchosia precatorea* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) DC. and their antimycobacterial activity [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 206: 92-100.
- [13] Iinuma M, Ohyama M, Kawasaka Y, *et al.* Flavonoid compounds in roots of *Sophora tetraptera* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 39(3): 667-672.
- [14] Komatsu M, Yokoe I, Shirataki Y. Studies on the constituents of *Sophora* species. XIV. Constituents of the root of *Sophora franchetiana* Dunn (1) [J]. *Chem Pharm Bull*, 1981, 29(2): 532-538.
- [15] Tanaka H, Hattori H, Oh-Uchi T, *et al.* Three new isoflavanones from *Erythrina costaricensis* [J]. *Nat Prod Res*, 2009, 23(12): 1089-1094.
- [16] 卢文杰, 陆国寿, 谭 晓. 多叶越南槐的化学成分研究 [J]. 华西药学杂志, 2014, 29(6): 639-641.
- [17] 王 青, 苗文娟, 向 诚. 乌拉尔甘草中黄酮类化学成分的研究 [J]. 中草药, 2014, 45(1): 31-36.

- [18] Musa C, Gomotsang B M, Majinda R R T. Antimicrobial and radical scavenging flavonoids from the stem wood of *Erythrina latissima* [J]. *Phytochemistry*, 2004, 66(1): 99-104.
- [19] Nakayama M, Eguchi S, Hayashi S, *et al.* The synthesis of neobavaisoflavone and related compounds [J]. *Bull Chem Soc Jpn*, 1978, 51(8): 2398-2400.
- [20] Reynolds W F, Mclean S, Poplawski J, *et al.* Total assignment of ^{13}C and ^1H spectra of three isomeric triterpenol derivatives by 2D NMR: An investigation of the potential utility of ^1H chemical shifts in structural investigations of complex natural products [J]. *Tetrahedron*, 1986, 42(13): 3419-3428.
- [21] Monaco P, Previtera L. Isoprenoids from the leaves of *Quercus suber* [J]. *J Nat Prods*, 1984, 47(4): 673-676.
- [22] Abou-Hussein D R, Badr J M, Youssef D T A. Dragmacidoside: A new nucleoside from the Red Sea sponge *Dragmacidon coccinea* [J]. *Nat Prod Res*, 2014, 28(15): 1134-1141.
- [23] 党延启, 段 菊, 倪荣镇. 异戊烯基黄酮的生物活性及构效关系 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(17): 213-218.
- [24] Farnsworth N R, Bingel A S, Cordell G A, *et al.* Potential value of plants as sources of new antifertility agents II [J]. *J Pharm Sci*, 1975, 64(5): 717-754.
- [25] Pukazhenthil B S, Wildt D E, Ottinger M A, *et al.* Inhibition of domestic cat spermatozoa acrosome reaction and zona pellucida penetration by tyrosine kinase inhibitors [J]. *Mol Reprod Dev*, 1998, 49(1): 48-57.
- [26] Gupta R S, Bhatnager A K, Joshi Y C, *et al.* Induction of antifertility with lupeol acetate in male albino rats [J]. *Pharmacology*, 2005, 75(2): 57-62.
- [27] Mannowetz N, Miller M R, Lishko P V. Regulation of the sperm calcium channel CatSper by endogenous steroids and plant triterpenoids [J]. *Proceed Nat Acad Sci*, 2017, 114(22): 5743-5748.
- [28] Malini T, Vanithakumari G. Antifertility effects of β -sitosterol in male albino rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 1991, 35(2): 149-153.