

# 天麻的化学成分及其抗氧化和抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性研究

石新卫<sup>1</sup>, 王璐<sup>2</sup>, 张胜<sup>2</sup>, 周亚福<sup>1\*</sup>, 万一<sup>2\*</sup>

1. 陕西省西安植物园 (陕西省植物研究所), 陕西省植物资源保护与利用工程技术研究中心, 陕西 西安 710061

2. 陕西省微生物研究所, 陕西省科学院秦岭天然产物工程中心, 陕西 西安 710043

**摘要:** 目的 研究天麻 *Gastrodia elata* 根状茎的化学成分及其抗氧化和抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的活性。方法 综合运用硅胶、Sephadex LH-20、Toyopearl HW-40F 及半制备液相色谱等现代分离技术进行分离纯化, 根据化合物的波谱数据、理化性质和量子化学计算的方法进行结构鉴定。结果 从天麻的 80%乙醇提取物中分离得到 10 个化合物, 并通过 1D-和 2D-NMR、HR-ESI-MS 等现代波谱技术和量子化学计算的方法鉴定结构, 分别为 4-[2-(2S-羟丙基)乙基]苯酚 (1)、番麻皂素 (2)、 $\beta$ -谷甾醇 (3)、当归醇 B (4)、当归醇 A (5)、当归醇 G (6)、对羟基苯甲醇 (7)、对羟基苯基甲醚 (8)、5-羟甲基糠醛 (9) 和 7 $\beta$ -羟基谷甾醇 (10)。结论 化合物 1 是 1 个新的酚类化合物, 命名为天麻苯酚素 A。化合物 2、4~6 和 10 为首次从该属植物中分离得到。化合物 1、7、8 具有较好的抗氧化活性, 化合物 7 对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶具有良好的抑制作用。

**关键词:** 天麻; 天麻苯酚素 A; 抗氧化活性;  $\alpha$ -葡萄糖苷酶; 4-[2-(2S-羟丙基)乙基]苯酚; 番麻皂素; 当归醇 B; 对羟基苯基甲醚

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)19-6474-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.19.003

## Chemical constituents from *Gastrodia elata* and their antioxidant and $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities

SHI Xinwei<sup>1</sup>, WANG Lu<sup>2</sup>, ZHANG Sheng<sup>2</sup>, ZHOU Yafu<sup>1</sup>, WAN Yi<sup>2</sup>

1. Shaanxi Engineering Research Centre for Conservation and Utilization of Botanical Resources, Xi'an Botanical Garden of Shaanxi Province (Institute of Botany of Shaanxi Province), Xi'an 710061, China

2. Engineering Center of QinLing Mountains Natural Products, Shaanxi Academy of Sciences, Microbiology Institute of Shaanxi, Xi'an 710043, China

**Abstract: Objective** To isolate and identify the chemical constituents from *Gastrodia elata* and evaluate its antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities. **Methods** The compounds were isolated and purified by column chromatography of silica gel, Sephadex LH-20, Toyopearl HW-40F, and semi-preparative HPLC, and their structures were established on the basis of spectral and physicochemical properties and quantum chemistry computational methods. **Results** A total of 10 compounds were isolated from the 80% ethanol extract of *G. elata*, which were elucidated as gaphenol A (1), hecogenin (2),  $\beta$ -sitosterol (3), angelol B (4), angelol A (5), angelol G (6), *p*-hydroxybenzyl alcohol (7), 4-hydroxybenzyl methyl ether (8), 5-hydroxymethyl-furaldehyde (9), and 7 $\beta$ -hydroxysitosterol (10) through 1D- and 2D-NMR, HR-ESI-MS and other modern spectral techniques and quantum chemistry computational methods. **Conclusion** Compound 1 was a new phenolic compounds, named gaphenol A. Compounds 2, 4–6, and 10 were isolated from *Gastrodia* for the first time. Compounds 1, 7, and 8 exhibited better antioxidant activities. In addition, compound 7 had inhibitory effect on  $\alpha$ -glucosidase.

**Key words:** *Gastrodia elata* Bl.; gaphenol A; antioxidant activity;  $\alpha$ -glucosidase; 4-[2-(2S-hydroxypropyl) ethyl] phenol; hecogenin; angelol B; 4-hydroxybenzyl methyl ether

收稿日期: 2024-05-20

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2021YFD1600400); 陕西省重点研发计划项目 (2023-YBNY-248); 西安市科技计划项目 (20NYFF0043); 陕西省创新能力支撑计划项目 (2020TD-050)

作者简介: 石新卫 (1979—), 男, 博士, 副研究员, 从事药用植物资源开发与利用研究。E-mail: sxw@ms.xab.ac.cn

\*通信作者: 周亚福 (1983—), 男, 博士, 研究员, 从事药用植物资源开发与利用研究。E-mail: ya-fuzhou@ms.xab.ac.cn

万一 (1975—), 男, 博士, 研究员, 从事秦巴山区资源开发利用研究。E-mail: wanyi6565@163.com

天麻又名赤箭、明天麻、定风草、水洋芋等，藏名冬彭，为兰科天麻属多年生寄生草本植物天麻 *Gastrodia elata* Bl. 的根状茎，主产于云南、贵州、四川、陕西等地，味甘、性平，有息风止痉、平抑肝阳、祛风通络等功效<sup>[1-2]</sup>，常用于小儿惊风、风湿痹痛、肢体麻木等症状的治疗<sup>[3]</sup>。天麻主要化学成分有芳香族类、有机酸及酯类、甾体类、糖类及其苷类、氨基酸类和其他类等<sup>[4-5]</sup>。现代药理研究表明其具有抑菌、抗炎、抗肿瘤、神经元保护以及增强免疫力等活性<sup>[3-6]</sup>。前期预实验发现天麻块茎粗提取物具有良好的抗氧化活性和抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的作用，结合天麻在传统中医药常被作为降糖方剂中的药材，这对于研究天麻降血糖作用物质基础具有重要意义。

本研究首先对天麻干燥状茎的 80% 乙醇提取物进行分离纯化，从中分离得到了 10 个化合物，化学结构见图 1，包括 1 个新化合物，鉴定为 4-[2-(2*S*-羟丙基)乙基]苯酚(**1**)，命名为天麻苯酚素 A (gephenol A)；已知化合物分别鉴定为番麻皂素 (hecogenin, **2**)、 $\beta$ -谷甾醇 ( $\beta$ -sitosterol, **3**)、当归醇 B (angelol B, **4**)、当归醇 A (angelol A, **5**)、当归醇 G (angelol G, **6**)、对羟基苯甲醇 (*p*-hydroxybenzyl alcohol, **7**)、对羟苄基甲醚 (4-hydroxybenzyl methyl ether, **8**)、5-羟甲基糠醛 (5-hydroxymethyl-furaldehyde, **9**) 和 7 $\beta$ -羟基谷甾醇 (7 $\beta$ -hydroxysitosterol, **10**)，化合物 **2**、**4**~**6** 和 **10** 为首次从天麻中分离获得。同时，采用 ABTS 法测定了 10 个化合物的体外抗氧化活性，以及化合物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制作用。

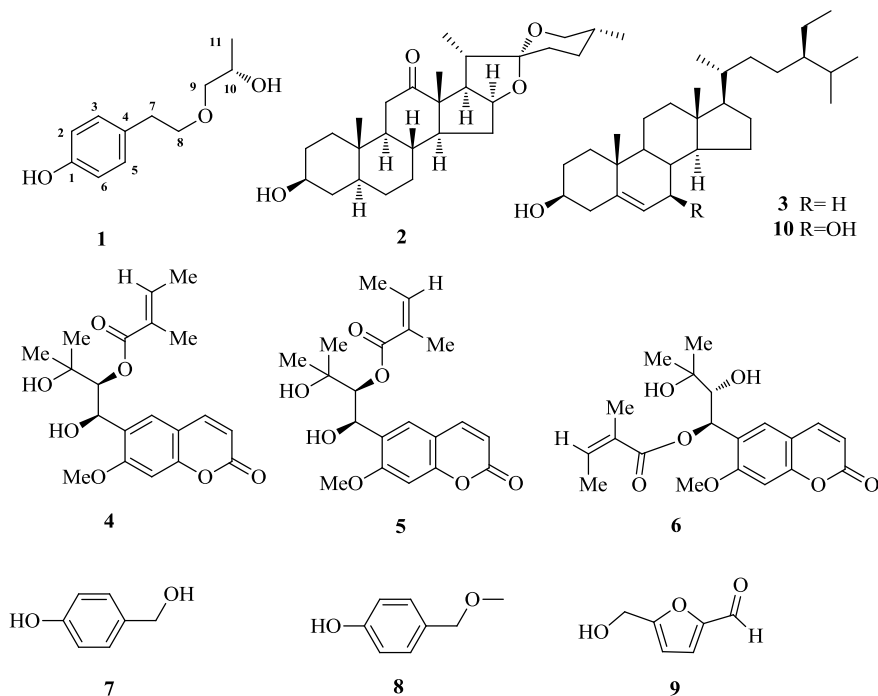


图 1 化合物 1~10 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1—10

## 1 仪器与材料

### 1.1 药材

天麻根状茎由柞水县民生福利公司于 2022 年 5 月提供，经陕西省西安植物园（陕西省植物研究所）周亚福研究员鉴定为兰科天麻属植物天麻 *G. elata* Bl. 的地下根状茎。标本 (TM2022001) 存放于陕西西安植物园（陕西省植物研究所）标本室。

### 1.2 仪器与试剂

Bruker AV-400 型核磁共振谱仪 (TMS 为内标，瑞士布鲁克公司)；ThermoFisher Q-Exactive 质谱仪

(美国赛默飞世尔公司)；Agilent 6400 型质谱仪 (安捷伦科技有限公司)；FB124 型电子分析天平 (上海舜宇恒平科学仪器有限公司)；N-1100 型旋转蒸发仪 (日本东京理化株式会社)；DLSB-10/20 型低温冷却循环泵 (郑州长城科工贸有限公司)；SHB-III 型循环水式多用真空泵 (郑州长城科工贸有限公司)；汉邦半制备液相色谱仪 (NU3000 检测器；NP7000 泵)；半制备液相色谱柱 (YMC-Pack Pro C<sub>18</sub> RS, 250 mm×10 mm, 5  $\mu$ m, 日本 YMC 公司)；移液枪 (德国 Eppendorf 公司)；Sephadex LH-20 (瑞士

Pharmacia Biotech 公司); Toyopearl HW 40F (日本 JEOL 公司); 正相硅胶和薄层色谱板 (100~200、300~400 目; GF<sub>254</sub>; 青岛海洋化工厂); 分离用试剂石油醚、醋酸乙酯和甲醇等均为分析纯 (天津科密欧化学试剂有限公司); 2,2-二氮-双-(3-乙基苯并噻唑-6-磺酸) (ABTS)、L-抗坏血酸 (vitamin C, Vc, 货号 S105024-25g)、过硫酸钾、铁氰化钾、三氯乙酸、三氯化铁、碳酸钠、磷酸、4-硝基苯基- $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖苷 (pNPG, 货号 N109390-1g) 和阿卡波糖 (Acarbose, A129816-1g), 均采购于阿拉丁试剂公司,  $\alpha$ -葡萄糖苷酶 ( $\alpha$ -Glucosidase, 货号 S10050-100U) 采购于上海源叶生物科技有限公司。

## 2 方法

### 2.1 提取与分离

取干燥的天麻根状茎 18.9 kg, 粉碎后加入 80% 乙醇溶液 200 L, 50 °C 保温浸泡 2 h, 连续提取 3 次, 将残渣滤去, 合并 3 次提取液, 减压浓缩得浸膏 5.57 kg。浸膏加 10 L 水形成混悬物, 再依次用石油醚、醋酸乙酯和正丁醇萃取 3 次, 分别合并各部分萃取液并减压浓缩得到各部分浸膏, 分别为石油醚部分 220.0 g、醋酸乙酯部分 134.4 g、正丁醇部分 239.6 g 和水相 4.50 kg。

石油醚部分用丙酮溶解, 250 g 硅胶 (200~300 目) 拌样, 1.25 kg 硅胶 (200~300 目) 石油醚湿法装柱, 石油醚-丙酮系统 (100:0、95:5、90:10、80:20、70:30、50:50) 梯度洗脱, 每 2 000 mL 洗脱液为 1 个流分, 再减压回收洗脱剂, TLC 点板分析合并相同流分得到 8 个组份 Fr. 1~8。Fr. 4 (6.8 g) 经硅胶柱色谱, 石油醚-醋酸乙酯 (80:20) 洗脱, 得到 6 个亚流分 (B1~B6)。B1 上 Toyopearl HW-40F 甲醇凝胶柱除脂肪酸和色素, 经纯氯仿硅胶柱色谱分离得化合物 2 (13.1 mg) 和 3 (12.0 mg)。B6 上 Sephadex LH-20 和 HW-40F 甲醇凝胶柱除脂肪酸和色素, 石油醚-醋酸乙酯 (20:1) 硅胶柱色谱, 再经 Pre-HPLC [色谱柱 YMC-Pack Pro C<sub>18</sub> RS (250 mm×10 mm, 5  $\mu$ m); 体积流量 3.5 mL/min; 流动相 80%~95% 甲醇;  $t_R$ =26 min] 分离得到得化合物 4 (18.5 mg)、5 (19.8 mg) 和 6 (29.4 mg)。

醋酸乙酯部分 (130 g) 经硅胶柱色谱, 依次用石油醚-丙酮 (100:0、95:5、90:10、80:20、70:30、50:50) 梯度洗脱, 每 1 000 mL 洗脱液为 1 个流分, 减压回收洗脱剂, TLC 点板分析合并相同流分得到 7 个组份 Fr. 1~7。Fr. 5 (13.5 g) 过 LH-

20 凝胶柱 (氯仿-甲醇 1:1), TLC 检测合并得 5A~5F。5A 组分 (0.95 g) 经硅胶柱色谱, 氯仿-甲醇 (20:1) 洗脱, TLC 检测合并得 5A1 (200.0 mg), 再采用 PTLC (氯仿-甲醇 30:1) 制备得化合物 1 (15.1 mg)、7 (17.1 mg) 和 9 (26.1 mg)。5C 组分 (3.27 g) 经硅胶柱色谱, 氯仿-甲醇 (20:1) 洗脱, 得到亚组分 5C1~5C3, 5C3 组分 (650 mg) 过 HW-40F 凝胶柱以甲醇洗脱进一步除杂质, 再采用 PTLC (氯仿-甲醇 20:1) 制备得化合物 10 (8.7 mg)。5D 组分 4.16 g, 过 HW-40F 凝胶柱以甲醇洗脱除杂质, 醋酸乙酯反复重结晶, 得化合物 8 (11.3 mg)。

### 2.2 新化合物旋光值计算方法

采用 Crest 程序中的 iMTD-GC 方法<sup>[7]</sup>对化合物进行构象搜索, 均方根距离和能量偏差分别为 0.5 Å (1 Å=0.1 nm) 和 0.25 kcal/mol 的 2 种构象被认为重复的; 使用 Gaussian 09 软件进行密度泛函理论计算, 溶剂模型为甲醇; 采用 TDDFT [B3LYP/6-311++G (2d, p)] 方法计算化合物的旋光度<sup>[8]</sup>; 根据玻尔兹曼分布理论, 通过对最低能量构象值及其相对吉布斯自由能 ( $\Delta G$ ) 对获得的各构象旋光值进行平均来获得最终的化合物的旋光值。

### 2.3 体外抗氧化活性测定

**2.3.1 ABTS 阳离子自由基清除能力测定<sup>[9]</sup>** 配制终浓度为 7.0 mmol/L 的 ABTS 水溶液和终浓度为 2.5 mmol/L 的过硫酸钾水溶液, 等体积混合 2 种溶液并在室温避光条件下放置过夜。用蒸馏水对混合溶液进行稀释, 使其在 734 nm 波长下的吸光度 ( $A$ ) 值为 0.7~0.8。取 100  $\mu$ L ABTS 稀释液, 加入 100  $\mu$ L 不同浓度的待测样品, 混合均匀后, 常温避光反应 10 min, 分装至 96 孔板, 734 nm 处测  $A$  值。样品溶剂作为空白对照, 每个待测样品均进行 3 次平行重复, 抗坏血酸为阳性对照。按照公式计算 ABTS 阳离子自由基清除率。

$$\text{ABTS 阳离子自由基清除率} = (A_0 - A_x) / A_0$$

$A_x$  为样品  $A$  值,  $A_0$  为空白组  $A$  值。

**2.3.2 总还原能力测定<sup>[10]</sup>** 取 2 mL 离心管, 加入 200  $\mu$ L 0.2 mol/L 磷酸缓冲液 (pH 6.6)、100  $\mu$ L 1% 铁氰化钾溶液以及 10  $\mu$ L 不同浓度的待测样品混匀, 50 °C 水浴 20 min。冷却后加入 100  $\mu$ L 10% 三氯化铁混匀, 离心取上清 25  $\mu$ L, 加入 25  $\mu$ L 1% 三氯化铁溶液, 加入 150  $\mu$ L 蒸馏水在 700 nm 波长测定  $A$  值。以样品溶剂作为空白对照, 抗坏血酸为阳性对照, 每个待测样品均 3 次平行重复。

## 2.4 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性测定

参考文献中  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性的测定方法<sup>[11-12]</sup>并作修改。用 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 6.8) 配制 2 U/mL 的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶溶液, 配制 5 mmol/L 的 4-硝基苯基- $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖苷 (pNPG) 溶液, 在 96 孔板中加入 50  $\mu$ L 的 PBS 缓冲液、10  $\mu$ L 的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶溶液和 20  $\mu$ L 不同浓度的待测样品溶液, 混合均匀, 在 37  $^{\circ}$ C 恒温水浴锅中孵育 15 min, 再加入 20  $\mu$ L pNPG 溶液, 充分混合, 在 37  $^{\circ}$ C 恒温水浴锅中继续孵育 20 min。最后加入 50  $\mu$ L 0.2 mol/L 的碳酸钠缓冲液终止反应, 在酶标仪 405 nm 波长下测定  $A$  值。以样品溶剂作为空白对照, 每个待测样品溶液进行 3 次平行重复, 阿卡波糖为阳性对照。按照公式计算  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制率。

$$\alpha\text{-葡萄糖苷酶抑制率} = (A_0 - A_x) / A_0$$

$A_x$  为样品  $A$  值,  $A_0$  为空白对照组  $A$  值

## 3 结构鉴定

化合物 **1**: 无色油状物,  $[\alpha]_D^{25} + 23.0$  ( $c$  1.0, MeOH), 根据 HR-ESI-MS  $[M+Na]^+$   $m/z$  219.099 2 ( $C_{11}H_{16}O_3Na$ , 计算值 219.099 7), 提示化合物分子式为  $C_{11}H_{16}O_3$ , 有 4 个不饱和度。紫外光谱显示其在 233 nm 处有最大吸收峰, 表明化合物结构中存在共轭系统。 $^1H$ -NMR 谱 (表 1) 显示化合物拥有 4 个芳环质子信号  $\delta_H$  7.15 (2H, d,  $J=8.5$  Hz), 6.76 (2H, d,  $J=8.5$  Hz), 2 个苯基质子信号  $\delta_H$  1.83~1.54 (2H, m), 4 个连醚基质子信号  $\delta_H$  4.38 (2H, dd,  $J=14.0, 11.3$  Hz), 4.08~3.73 (2H, m), 以及 1 个甲基质子信号

表 1 化合物 **1** 的  $^1H$ -NMR 和  $^{13}C$ -NMR 数据 (400/100 MHz, Methanol- $d_4$ )

碳位	$\delta_C$	$\delta_H$
1	158.2 (C)	
2	116.1 (CH)	7.15 (1H, d, $J=8.5$ Hz)
3	130.7 (CH)	6.76 (1H, d, $J=8.5$ Hz)
4	130.4 (C)	
5	130.7 (CH)	6.76 (1H, d, $J=8.5$ Hz)
6	116.1 (CH)	7.15 (1H, d, $J=8.5$ Hz)
7	39.8 (CH <sub>2</sub> )	1.83~1.54 (2H, m)
8	73.9 (CH <sub>2</sub> )	4.38 (2H, dd, $J=14.0, 11.3$ Hz)
9	68.3 (CH <sub>2</sub> )	4.08~3.73 (2H, m)
10	66.2 (CH)	3.71~3.38 (1H, m)
11	23.7 (CH <sub>3</sub> )	1.15 (3H, d, $J=6.3$ Hz)

号  $\delta_H$  1.15 (3H, d,  $J=6.3$  Hz)。 $^{13}C$ -NMR 结合 HSQC 谱显示化合物 **1** 有 11 个碳信号, 包括 6 个苯基碳  $\delta_C$  158.2, 130.7 $\times$ 2, 130.4, 116.1 $\times$ 2; 1 个苯亚甲基  $\delta_C$  39.8, 2 个亚甲氧基:  $\delta_C$  73.9, 68.3, 1 个甲基  $\delta_C$  23.7。 $^1H$ - $^1H$  COSY 谱中 (图 2), H-2 与 H-3, H-5 与 H-6 和 H7 与 H-8 相关, 分别表明 C-2 与 C-3, C-5 与 C-6 和 C-7 与 C-8 相连, H-10 与 H-9、H-11 相关, 显示 C-9、C-10、C-11 相连。HMBC 谱中 (图 2) 显示, 芳环氢 H-2 ( $\delta_H$  7.15) 与 C-1、C-3、C-6 相关; 芳环氢 H-6 ( $\delta_H$  7.15) 与 C-1、C-4、C-5 存在相关信号; 芳环 H-5 ( $\delta_H$  6.73) 与 C-2、C-3、C-6 相关, 这些相关信号提示含有苯环结构。其中, H-8 与 C-9 和 H-9 与 C-8 相关, 显示 C-8 与 C-9 之间醚键的存在; H-10 与 C-11 存在相关信号, 表明 C-11 位是羟基取代; H-11 与 C-10 和 H-10 与 C-11 相关, 确定了末端甲基存在; 亚甲基  $\delta_H$  1.83~1.54 (2H, m) 分别与 C-3、C-4、C-5 和 C-8 相关, 将苯环与醚基连接在一起。综上所述, 化合物 **1** 的结构得以确定。NOESY 谱中 (图 2) H-2 与 H-3, H-5 与 H-6、H-7 相关, 进一步表明结构亚甲基与苯环相连接。

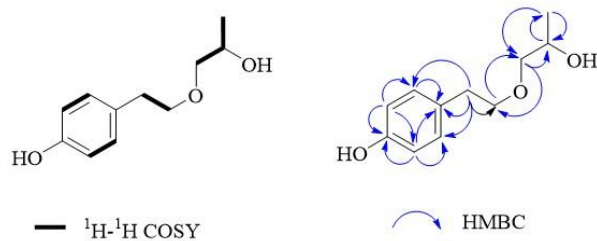


图 2 化合物 **1** 关键的  $^1H$ - $^1H$  COSY 和 HMBC 相关图  
Fig. 2 Key  $^1H$ - $^1H$  COSY and HMBC correlation of compound **1**

化合物 **1** 具有 1 个手性碳, 且这个手性碳距离苯环发色团较远, 导致化合物 **1** 的 ECD 谱图未显示明显的 Cotton 效应。为了确定此手性碳的绝对构型, 对 2 种可能构型 ( $R/S$ ) 的比旋光值进行了化学计算, 计算结果显示化合物 **1** 的  $R$  与  $S$  构型的计算比旋光值分别为 -36.7 和 +38.1, 其实测比旋光值为 +23.0 与  $S$  构型的计算比旋光值比较接近, 因此确定化合物 **1** 的绝对构型为  $S$ 。因此, 化合物 **1** 的结构鉴定为 4-[2-(2*S*-羟丙基)乙基]苯酚 [4-(2-(2*S*-hydroxypropoxy)ethyl)phenol], 命名为天麻苯酚 A (gephenol A), 经 SciFinder 和 Reaxys 检索, 该化合物为未见文献报道的新化合物。

化合物 **2**: 块状结晶 (甲醇), 分子式为

$C_{27}H_{42}O_4$ , HR-ESI-MS  $m/z$  431.315 7  $[M+H]^+$  (calcd for  $C_{27}H_{43}O_4$ , 431.316 1)。 $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 4.33 (1H, ddd,  $J = 8.8, 7.3, 5.8$  Hz, H-16), 3.59 (1H, tt,  $J = 10.6, 4.7$  Hz, H-3), 3.48 (1H, ddd,  $J = 10.8, 4.3, 2.0$  Hz, H-26), 3.34 (1H, t,  $J = 10.9$  Hz, H-26), 1.05 (3H, d,  $J = 6.9$  Hz, 21-Me), 1.04 (3H, s, 18-Me), 0.89 (3H, s, 19-Me), 0.78 (3H, d,  $J = 6.3$  Hz, H-27);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 213.7 (C-12), 109.4 (C-22), 79.3 (C-16), 71.1 (C-3), 67.0 (C-26), 56.0 (C-14), 55.7 (C-9), 55.3 (C-13), 53.7 (C-17), 44.8 (C-5), 42.3 (C-20), 38.0 (C-4), 38.0 (C-11), 36.6 (C-1), 36.2 (C-10), 34.5 (C-8), 31.7 (C-15), 31.6 (C-7), 31.6 (C-2/23), 31.3 (C-2/23), 30.3 (C-25), 28.9 (C-6), 28.4 (C-24), 17.3 (C-27), 16.2 (C-18), 13.4 (C-21), 12.1 (C-19)。以上数据与文献报道一致<sup>[13-14]</sup>, 故鉴定化合物 **2** 为番麻皂素。

化合物 **3**: 白色片状结晶 (甲醇), 分子式为  $C_{29}H_{50}O$ , ESI-MS  $m/z$  437.1  $[M+Na]^+$  (calcd for  $C_{29}H_{50}O$ , 414.4)。 $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 5.35 (1H, d,  $J = 5.5$  Hz, H-6), 3.57–3.47 (1H, m, H-3), 1.01 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz, H-21), 0.85 (3H, t,  $J = 7.4$  Hz, H-29), 0.84 (3H, d,  $J = 7.2$  Hz, H-26), 0.81 (3H, d,  $J = 6.8$  Hz, H-27), 0.68 (3H, s, H-18);  $^{13}C$  NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 140.9 (C-5), 121.9 (C-6), 72.0 (C-3), 56.9 (C-14), 56.2 (C-17), 50.3 (C-9), 46.0 (C-24), 42.5 (C-4, 13), 39.9 (C-12), 37.4 (C-1), 36.7 (C-10), 36.3 (C-20), 34.1 (C-22), 32.1 (C-7, 8), 31.8 (C-2), 29.3 (C-25), 28.4 (C-16), 26.2 (C-23), 24.5 (C-15), 23.2 (C-28), 21.2 (C-11), 20.0 (C-26), 19.5 (C-19), 19.2 (C-27), 18.9 (C-21), 12.1 (C-18), 12.0 (C-29)。以上数据与文献报道一致<sup>[15-16]</sup>, 故鉴定化合物 **3** 为  $\beta$ -谷甾醇。

化合物 **4**: 无色黏性油状物, 分子式为  $C_{20}H_{24}O_7$ , HR-ESI-MS  $m/z$  399.141 4  $[M+Na]^+$  (calcd for  $C_{20}H_{24}O_7Na$ , 399.142 0)。 $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.57 (1H, d,  $J = 9.4$  Hz, H-4), 7.56 (1H, s, H-5) 6.77 (1H, m, H-3'), 6.74 (1H, s, H-8), 6.22 (1H, d,  $J = 9.5$  Hz, H-3), 5.63 (1H, t,  $J = 1.1$  Hz, H-9), 5.10 (1H, d,  $J = 1.5$  Hz, H-10), 3.92 (3H, s, OMe), 1.73 (3H, m, H-4'), 1.67 (3H, s, H-5'), 1.56 (3H, s, Me-13), 1.24 (3H, s, Me-12);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 166.9 (C-1'), 161.5 (C-2), 159.2 (C-7), 155.4 (C-8a), 143.7 (C-4), 137.9 (C-3'), 128.0 (C-2'), 126.8 (C-6), 126.5 (C-5), 113.3 (C-3), 112.0 (C-4a), 98.7 (C-8), 76.2 (C-10), 75.0 (C-11), 67.8 (C-9), 56.3 (OMe), 28.3 (Me-12),

26.3 (Me-13), 14.5 (C-4'), 12.2 (C-5')。由以上波谱数据分析并结合文献报道数据<sup>[17-18]</sup>, 故鉴定化合物 **4** 为当归醇 B。

化合物 **5**: 无色黏性油状物 (甲醇), 分子式为  $C_{20}H_{24}O_7$ , HR-ESI-MS  $m/z$  399.140 1  $[M+Na]^+$  (calcd for  $C_{20}H_{24}O_7Na$ , 399.142 0)。 $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.59 (1H, d,  $J = 8.9$  Hz, H-4), 7.58 (1H, s H-5), 6.76 (1H, s, H-8), 6.22 (1H, d,  $J = 9.4$  Hz, H-3), 5.91 (1H, m, H-3'), 5.64 (1H, brs, H-9), 5.17 (1H, d,  $J = 1.4$  Hz, H-10), 3.94 (3H, s, OMe), 1.78 (3H, m, H-4'), 1.68 (3H, m, H-5'), 1.58 (3H, s, Me-13), 1.26 (3H, s, Me-12);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 166.5 (C-1'), 161.3 (C-2), 159.1 (C-7), 155.3 (C-8a), 143.6 (C-4), 138.0 (C-3'), 127.3 (C-6), 126.3 (C-2'), 126.3 (C-3), 113.1 (C-5), 111.9 (C-4a), 98.6 (C-8), 75.7 (C-9), 74.7 (C-11), 67.5 (C-10), 56.2 (OMe), 28.2 (Me-12), 26.1 (Me-13), 20.1 (C-5'), 15.5 (C-4')。以上数据与文献报道一致<sup>[18-19]</sup>, 故鉴定化合物 **5** 为当归醇 A。

化合物 **6**: 无色黏性油状物, 分子式为  $C_{20}H_{24}O_7$ , HR-ESI-MS  $m/z$  399.141 4  $[M+Na]^+$  (calcd for  $C_{20}H_{24}O_7Na$ , 399.142 0)。 $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.64 (1H, d,  $J = 9.5$  Hz, H-4), 7.55 (1H, s, H-5), 6.83 (1H, s, H-8), 6.33 (1H, d,  $J = 5.9$  Hz, H-9), 6.25 (1H, d,  $J = 9.5$  Hz, H-3), 6.13 (1H, m, H-3'), 3.97 (3H, s, OMe), 3.96 (1H, brs, H-10), 1.99 (3H, m, H-4'), 1.93 (1H, s, H-5'), 1.30 (3H, s, Me-13), 1.27 (3H, s, Me-12);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 166.5 (C-1'), 161.1 (C-2), 160.3 (C-7), 155.7 (C-8a), 143.7 (C-4), 139.9 (C-3'), 128.7 (C-5), 127.3 (C-6), 124.4 (C-2'), 113.6 (C-3), 112.5 (C-4a), 99.4 (C-8), 78.9 (C-10), 72.8 (C-11), 69.7 (C-9), 56.5 (OMe), 27.1 (Me-12), 24.8 (Me-13), 20.7 (C-5'), 16.0 (C-4')。以上数据与文献报道一致<sup>[18-19]</sup>, 故鉴定化合物 **6** 为当归醇 G。

化合物 **7**: 块状结晶 (甲醇), 分子式为  $C_7H_8O_2$ , ESI-MS  $m/z$  147.1  $[M+Na]^+$  (calcd for  $C_7H_8O_2Na$ , 147.0)。 $^1H$ -NMR (400 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$ : 7.19~7.06 (2H, m, H-2, 6), 6.80~6.58 (2H, m, H-3, 5), 4.46 (2H, s, 7-CH<sub>2</sub>);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$  157.9 (C-1), 133.5 (C-4), 129.8 (C-3, 5), 116.1 (C-2, 6), 65.1 (C-7)。以上数据与文献报道一致<sup>[20-21]</sup>, 故鉴定化合物 **7** 为对羟基苯甲醇。

化合物 **8**: 块状结晶 (甲醇), 分子式为  $C_8H_{10}O_2$ , ESI-MS  $m/z$  161.1  $[M+Na]^+$  (calcd for  $C_8H_{10}O_2Na$ ,

161.1)。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ: 7.17 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-2, 6), 6.78 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-3, 5), 4.35 (2H, s, 7-CH<sub>2</sub>), 3.33 (1H, s, 8-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ: 158.3 (C-4), 130.8 (C-2, 6), 130.0 (C-1), 116.1 (C-3, 5), 75.5 (C-7), 57.8 (C-8)。以上数据与文献报道一致<sup>[21-22]</sup>, 故鉴定化合物 **8** 为对羟苯基甲醚。

化合物 **9**: 无色块状结晶 (甲醇), 分子式为 C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>, HR-ESI-MS *m/z* 127.039 2 [M+H]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>O<sub>3</sub>, 127.039 5)。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ: 9.54 (1H, s, H-1), 7.39 (1H, d, *J* = 3.6 Hz, H-3), 6.59 (1H, d, *J* = 3.5 Hz, H-4), 4.62 (2H, s, H-6); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ: 179.4 (C-1), 163.2 (C-2), 153.9 (C-5), 124.9 (C-3), 110.9 (C-4), 57.6 (C-6)。以上数据与文献报道一致<sup>[23-24]</sup>, 故鉴定化合物 **9** 为 5-羟甲基糠醛。

化合物 **10**: 白色粉末, 分子式为 C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub>, ESI-MS *m/z* 453.3 [M+Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub>, 453.370 9)。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 5.29 (1H, t, *J* = 1.9 Hz, H-6), 3.85 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, H-7), 3.63~3.50 (1H, m, H-3), 1.05 (2H, s, CH<sub>3</sub>-18), 0.93 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, CH<sub>3</sub>-21), 0.87 (1H, d, *J* = 5.6 Hz, H-29), 0.83 (3H, d, *J* = 2.3 Hz, CH<sub>3</sub>-26), 0.81 (3H, s, CH<sub>3</sub>-27), 0.70 (3H, s, CH<sub>3</sub>-18); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 143.6 (C-5), 125.6 (C-6), 73.5 (C-7), 71.6 (C-3), 56.1 (C-17), 55.5 (C-14), 48.4 (C-9), 46.0 (C-24), 43.1 (C-13), 41.9 (C-22), 41.0 (C-4), 39.7 (C-12), 37.1 (C-1), 36.6 (C-10), 36.2 (C-20), 34.1 (C-22), 31.7 (C-2), 29.3 (C-25), 28.7 (C-16), 26.5 (C-15), 26.2 (C-23), 23.2 (C-28), 21.2 (C-11), 20.0 (C-26), 19.3 (C-19), 19.2 (C-27), 19.0 (C-21), 12.0 (C-29), 12.0 (C-18)。以上数据与文献报道一致<sup>[25]</sup>, 故鉴定化合物 **10** 为 7β-羟基谷甾醇。

#### 4 生物活性

##### 4.1 抗氧化活性

10 个化合物的抗氧化活性如表 2 所示。化合物 **1** 表现出较好的抗氧化能力, 清除 ABTS 阳离子自由基的半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC<sub>50</sub>) 值为 (33.81±3.17) μmol/L, 与抗坏血酸 [IC<sub>50</sub> 为 (24.17±4.17) μmol/L] 的清除能力接近; 化合物 **7** 和 **8** 也表现出一定的 ABTS 自由基清除能力, IC<sub>50</sub> 值分别为 (30.28±0.92) 和 (45.67±2.00) μmol/L, 略低于抗坏血酸的清除能力。化合物 **1** 以及化合物 **7** 和 **8** 也表现出比其他化

表 2 体外抗氧化活性和总还原能力 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 2 *In vitro* antioxidant activity and total reducing ability ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

化合物	ABTS <sup>+</sup> 清除力	总还原力 (400 μmol·L <sup>-1</sup> )
	IC <sub>50</sub> /(μmol·L <sup>-1</sup> )	A <sub>700</sub>
<b>1</b>	33.81±3.17	0.592±0.005
<b>2</b>	Na	Na
<b>3</b>	Na	Na
<b>4</b>	Na	Na
<b>5</b>	263.97±19.70	Na
<b>6</b>	>500	Na
<b>7</b>	30.28±0.92	0.617±0.004
<b>8</b>	45.67±2.00	0.616±0.015
<b>9</b>	Na	Na
<b>10</b>	>500	Na
Vc	24.17±4.17	0.709±0.021 (200 μmol·L <sup>-1</sup> )

Na: 无活性, 下同。

Na: no activity, same as below.

合物较好的总还原力 (表 2)。

##### 4.2 α-葡萄糖苷酶抑制作用

10 个化合物 (200 μmol/L) 的 α-葡萄糖苷酶抑制作用见表 3。由表 3 结果可知, 化合物 **7** 对 α-葡萄糖苷酶具有较强的抑制能力, 其 IC<sub>50</sub> 值为 (35.77±13.07) μmol/L, 通过其抑制 α-葡萄糖苷酶的量效关系曲线可知, 在一定浓度范围内 (<100 μmol/L) 抑制率随化合物浓度的增大而增强, 呈现出一定的量效关系 (图 3)。化合物 **1**、**3**~**5** 和 **8** 也表现出轻微的抑制作用, 但在浓度为 200 μmol/L 时, 抑制率仍低于 30%, 且随着给药浓度的提高, 抑制率不再显著提升。

表 3 α-葡萄糖苷酶体外抑制活性 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 3 *In vitro* inhibitory activity of α-glucosidase ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

化合物	抑制率/%	IC <sub>50</sub> /(μmol·L <sup>-1</sup> )
<b>1</b>	18.24±1.42	>250
<b>2</b>	Na	Na
<b>3</b>	Na	Na
<b>4</b>	18.24±1.42	>250
<b>5</b>	15.64±1.47	>250
<b>6</b>	12.59±1.52	>250
<b>7</b>	67.82±0.56	35.77±13.07
<b>8</b>	25.20±1.30	>250
<b>9</b>	Na	Na
<b>10</b>	Na	Na
阿卡波糖	100	<1

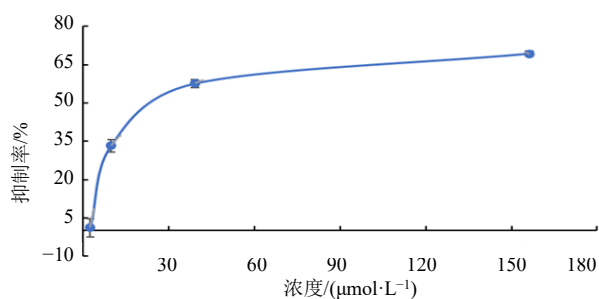


图 3 化合物 7 抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的量效关系曲线

Fig. 3 Dose-response relationship curve of compound 7 for  $\alpha$ -glucosidase inhibition

## 5 讨论

本研究从天麻根状茎 80%乙醇提取物中分离鉴定出 10 个化合物, 包括 1 个新苯酚类化合物, 化合物 2、4~6 和 10 为首次从天麻中分离获得。采用 ABTS 法测定了化合物 1~10 的抗氧化活性, 新化合物 1 及化合物 7 和 8 的 ABTS 阳离子自由基清除能力和总还原能力均较好, 具有应用于天然抗氧化剂的潜力。新化合物 1 对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶具有轻微的抑制作用 (200  $\mu\text{mol/L}$  时抑制率为 18.24%)。化合物 7 对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶具有较强的抑制能力,  $\text{IC}_{50}$  为 (35.77  $\pm$  13.07)  $\mu\text{mol/L}$ , 化合物 4~6 和 8 也表现出轻微的抑制作用。番麻皂素 (2) 可作为非肽基  $\beta$ -淀粉样前体蛋白酶 1 抑制剂, 是一个预防和治疗阿尔茨海默病的潜在治疗药物和有开发价值的化合物<sup>[13]</sup>。当归醇 B (4) 和当归醇 G (6) 对腺苷二磷酸诱导的人血小板聚集均有明显的抑制作用 (当归醇 B 的  $\text{IC}_{50}$  值为 0.58  $\mu\text{mol/L}$ , 当归醇 G 的  $\text{IC}_{50}$  值为 0.20  $\mu\text{mol/L}$ )<sup>[25]</sup>。7 $\beta$ -hydroxysitosterol (10) 具有抑制大肠癌细胞 HT-29 [ $\text{IC}_{50}$  值为 (21.47  $\pm$  1.1)  $\mu\text{mol/L}$ ]<sup>[26]</sup>的生物活性。天麻根状茎提取物可作为天然的抗氧化剂, 用于食品、保健品、医疗、及化妆品等行业, 但对其新化合物抗氧化活性机制及药理作用还需要进行深入的研究。本研究丰富了天麻属植物的化学成分结构类型, 同时也为药食两用药用植物天麻资源的开发利与用提供了一定的参考价值。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 59-60.  
 [2] 南京中医药大学. 中药大辞典 [M]. 第 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2014: 429-433.  
 [3] 赵杨, 康志娇, 周欣, 等. 药食两用植物-天麻 [J]. 贵州师范大学学报: 自然科学版, 2013, 31(4): 9-12.

[4] 李云, 王志伟, 耿岩玲, 等. 基于 HPLC-ESI-TOF/MS 法分析测定乌天麻和红天麻中化学成分的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28(11): 1758-1763.  
 [5] 于涵, 张俊, 陈碧清, 等. 天麻化学成分分类及其药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(17): 5553-5564.  
 [6] 安中原, 钟斌. 天麻的化学成分与药理活性研究概况 [J]. 海峡药学, 2017, 29(6): 22-24.  
 [7] Pracht P, Bohle F, Grimme S. Automated exploration of the low-energy chemical space with fast quantum chemical methods [J]. *Phys Chem Chem Phys*, 2020, 22(14): 7169-7192.  
 [8] 杨蓓蓓, 李莉. 右奈必洛尔中间体的手性光谱研究 [J]. 化学试剂, 2022, 44(11): 1665-1669.  
 [9] 袁博, 曹健, 秦朗, 等. 四种酚类化合物体外抗氧化活性的比较研究 [J]. 食品工业, 2018, 39(9): 200-204.  
 [10] 王凯, 徐文泱, 唐小兰, 等. 不同品种的杜仲叶体外抗氧化性研究 [J]. 中国食品添加剂, 2021, 32(8): 115-124.  
 [11] Etsassala N G E R, Badmus J A, Marnewick J L, et al. Alpha-glucosidase and alpha-amylase inhibitory activities, molecular docking, and antioxidant capacities of *Plectranthus ecklonii* constituents [J]. *Antioxidants*, 2022, 11(2): 378.  
 [12] 丁允章, 孔黎春, 张奕嘉, 等. 紫色红曲霉 Mp-21 次级代谢产物抗氧化及抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的研究 [J]. 微生物学报, 2022, 62(1): 103-118.  
 [13] Zhu Y Z, Liu J W, Wang X, et al. Anti-BACE1 and antimicrobial activities of steroidal compounds isolated from marine *Urechis unicinctus* [J]. *Mar Drugs*, 2018, 16(3): 94.  
 [14] Jaffer J A, Blunden G, Crabb T A. 1 $\beta$ , 7 $\beta$ -Dihydroxyhecogenin, a spirostane produced from hecogenin by *Cunninghamella elegans* [J]. *Phytochemistry*, 1983, 22(1): 304-305.  
 [15] Kitajima J, Tanaka Y. Constituents of *Prunus zippeliana* leaves and branches [J]. *Chem Pharm Bull*, 1993, 41(11): 2007-2009.  
 [16] 江程, 顾琼. 黑面神乙酸乙酯部位化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(06): 987-995.  
 [17] Yang X W, Zhang C Y, Zhang B G, et al. Novel coumarin and furan from the roots of *Angelica pubescens* f. *biserrata* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2009, 11(8): 698-703.  
 [18] Liu J H, Xu S X, Yao X S, et al. Angelol-type coumarins from *Angelica pubescens* f. *biserrata* and their inhibitory effect on platelet aggregation [J]. *Phytochemistry*, 1995, 39(5): 1099-1101.  
 [19] Baba K, Matsuyama Y, Kozawa M. Studies on coumarins from the root of *Angelica pubescens* Maxim. IV. Structures of angelol-type prenylcoumarins [J]. *Chem Pharm Bull*,

- 1982, 30(6): 2025-2035.
- [20] 王莉, 王艳萍, 肖红斌, 等. 天麻化学成分研究 (II) [J]. 中草药, 2006, 37(11): 1635-1637.
- [21] 王亚威, 李志峰, 何明珍, 等. 天麻化学成分研究 [J]. 中草药, 2013, 44(21): 2974-2976.
- [22] Taguchi H, Yosioka I, Yamasaki K, *et al.* Studies on the constituents of *Gastrodia elata* Blume [J]. *Chem Pharm Bull*, 1981, 29(1): 55-62.
- [23] Zhang Z, Wang D, Zhao Y, *et al.* Fructose-derived carbohydrates from *Alisma orientalis* [J]. *Nat Prod Res*, 2009, 23(11): 1013-1020.
- [24] 彭财英, 程双, 熊艳芬, 等. 土茯苓中 2 个新化学成分 [J]. 药学学报, 2022, 57(6): 1855-1862.
- [25] Yang J H, Mei Y F, Lu R, *et al.* Secondary metabolites of *Clausena vestita* [J]. *Chem Nat Compd*, 2020, 56(1): 169-172.
- [26] Carvalho J F S, Silva M M C, Moreira J N, *et al.* Sterols as anticancer agents: Synthesis of ring-B oxygenated steroids, cytotoxic profile, and comprehensive SAR analysis [J]. *J Med Chem*, 2010, 53(21): 7632-7638.

[责任编辑 王文倩]