

膜荚黄芪中新异黄酮苷的结构鉴定

曹正中, 曹 园, 易以军, 吴永平, 冷宗康, Li Du¹, Noel L. Owen¹

(江苏省药物研究所, 南京 210009; ¹Department of Chemistry and Biochemistry, Brigham Young University, Provo, Utah 84602 USA)

黄芪为常用中药, 有利尿、降压、强心、提高机体免疫功能等作用, 临床应用广泛。为满足市场需要, 江苏省从山东引种膜荚黄芪至徐州等地栽培, 由于生态条件的差异, 徐州黄芪外观呈一定木质化, 有碍销售, 为此, 作者曾对其进行比较研究^[1], 发现外观木质化与活性成分含量多少并无内在联系。本文进一步对其化学成分进行研究。

化合物 **1** 淡黄色针晶, mp 232~234°C, $[\alpha]_{10}^{20} -64.7^\circ$ (c 0.46, MeOH), HRLD-MS m/z 485.0847 $[M+K]^+$ (理论值: 485.0845), 分子式 $C_{22}H_{22}O_{10}$, 三氯化铁反应呈污绿色, Molish 反应呈紫红色, ¹HNMR 谱重水交换 δ 9.01 信号消失, 示分子中含酚 OH。 **1** 用酸水解, 纸色谱检出水解液含葡萄糖。 **1** 的 ¹HNMR 谱中存在芳香质子 δ 8.38 (1H, s, 2-H), δ 8.04 (1H, d, J = 9.0 Hz, 5-H), δ 7.13 (1H, dd, J = 9.0, 2.0 Hz, 6-H), δ 7.22 (1H, d, J = 2.5 Hz, 8-H), δ 6.96 (2H, d, J = 1.5 Hz, 2', 6'-H), δ 7.06 (1H, t, J = 1.5 Hz, 4'-H); 甲氧基质子 δ 3.80 (3H, s) 及糖的端基质子 δ 5.09 (1H, d, J = 7.5 Hz)。 ¹³CNMR 谱存在葡萄糖信号 (δ : 100.0, 73.1, 76.4, 69.6, 77.1, 60.6)。 HETCOR 谱有上述碳氢的对应相关峰, 示化合物 **1** 为葡萄糖苷^[2,3]。 ¹³CNMR 谱中 δ 153.4 (C-2) 和 δ 174.5 (C-4) 证明 **1** 为 5 位无 OH 的异黄酮苷^[4,5]。 HMBC 谱中可见 2-H (δ 8.38) 与 C-3 (δ 124.4), C-4 (δ 174.5), C-9 (δ 156.9) 相关, 6-H (δ 7.13) 与 C-8 (δ 103.4), C-10 (δ 118.4) 相关, 糖的端基质子 1'-H 与 C-7 (δ 161.3) 相关, 羟基 H (δ 9.01) 与 C-5' (δ 147.5) 相关, 甲氧基质子 (δ 3.80) 与 C-3' (δ 146.0) 相关 (表 1)。 由此推定甲氧基、羟基及糖分别连接在 C-5', C-3' 及 C-7 上。 综上所述, 化合物 **1** 为 3'-methoxy-5'-hydroxy-isoflavone-7-O- β -D-glucoside (图 1)。

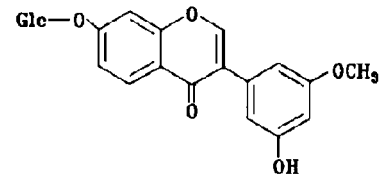
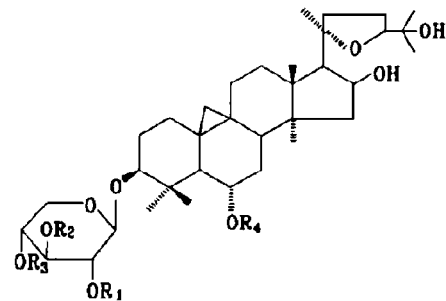


Fig 1 Structure of compound **1**.



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
2	H	H	H	Glc
3	H	H	H	H
4	Glc	H	H	H
6	Ac	Ac	Ac	Glc

Fig 2 Structures of compounds **2~4** and **6**.

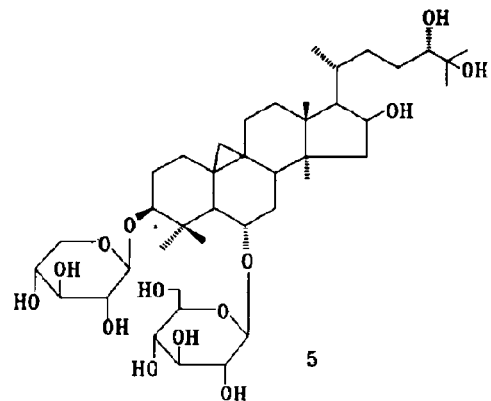


Fig 3 Structure of compound **5**.

实 验 部 分

熔点用 Yanaco MP-S₃ 显微熔点仪测定, 温度未校正, 旋光用 Atago (Japan) 旋光仪测定, 红外用 Perkin-Elmer 980 型红外光谱仪测定, ¹H, ¹³CNMR

Tab 1 ^{13}C NMR and ^1H NMR data of compound 1 (TMS as internal standard in DMSO- d_6)

No.	^{13}C	DEPT	^1H	HMBC	^1H - ^1H COSY
2	153.4	CH	8.38, s		
3	124.4	C		2-H, 2', 6'-H	
4	174.5	C		2-H, 5-H	
5	126.9	CH	8.04, d, J=9.0		6-H
6	115.5	CH	7.13, dd, J=9.0, 2.5	8-H	5-H, 8-H
7	161.3	C		8-H, 1"-H	
8	103.4	CH	7.22, d, J=2.5	6-H, 5-H	6-H
9	156.9	C		8-H, 5-H, 2-H	
10	118.4	C		6-H, 8-H	
1'	123.5	C		2', 6'-H, 4'-H	
2'	112.0	CH	6.96, d, J=1.5		4'-H, OCH ₃ , 2-H
3'	146.0	C		2'-H, 4'-H, OCH ₃	
4'	116.4	CH	7.06, t, J=1.5	2', 6'-H	2', 6'-H
5'	147.5	C		9.01(OH), 4'-H, 6'-H	
6'	119.6	CH	6.96, d, J=1.5	4'-H	4'-H
1"	100.0	CH	5.09, d, J=7.5	2"-H, 5.40(OH)	2"-H
2"	73.1	CH	3.30	3"-H, 5.4(OH), 5.15(OH)	1"-H
3"	76.4	CH	3.30	5.4(OH), 5.15(OH)	4"-H
4"	69.6	CH	3.19	3"-H	5"-H, 3"-H
5"	77.1	CH	3.44	5.06(OH)	4"-H, 6"-H
6"	60.6	CH ₂	3.46, 3.70	4.59(OH)	5"-H
OCH ₃	55.7	CH ₃	3.80, s		2'-H, 2-H

用 Varian VXR-500S 型核磁共振仪测定, 质谱用 Qvattro 型 (ESI-MS), Varian MZ1212 (FAB-MS) 及 Finnigan FTMS-2000 (LD-MS) 测定, 色谱用硅胶为青岛海洋化工厂产品, 黄芪购自江苏省徐州大沙河地区药材公司, 由本所胡俊宏教授鉴定。

1 提取分离

黄芪饮片以药用 EtOH 回流提取 3 次, 合并滤液, 浓缩, 提取物经 D₁₀₁ 柱分离, 依次以水, 30%, 50%, 70%, 90% EtOH 洗脱, 弃去水洗液, 分别得 I, II, III, IV 4 个组分。II, III, IV 组分经硅胶柱色谱分离, CHCl₃-MeOH(9.5:0.5~7:3) 梯度洗脱得化合物 1~8。

2 鉴定

化合物 1 淡黄色针晶, mp 232~234°C, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 64.7^\circ$ (c 0.46 MeOH), 三氯化铁试验呈污绿色, Molish 试验显糖苷的阳性反应。IR (KBr) cm^{-1} : 3400, 2960, 1630, 1570, 1440, 1270, 1080, 1010。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm: 220, 260, 288 (sh); 220, 260, 288 (sh) (AlCl₃); 206; 260; 284 (sh) (NaOAc)。HRLD-MS m/z (%): 485.0847 (M + K, 7), 469 (M + Na, 26), 285 (M - glu, 基峰), 117 (3), FBA-MS m/z (%): 447 (M + 1, 10), 285 (M - glu, 39), 258 (285 - 28 + 1, 19), 242 (258 - 17 + 1, 19), 226 (18), 212 (19), 183 (21), 165 (66), 136 (基峰)。 ^1H -, ^{13}C NMR 数据见表 1。

水解液纸层析 展开剂: *n*-BuOH-AcOH-H₂O(4:1:5) 检出葡萄糖。

化合物 2 无色针晶, mp 296°C, 醋酐-浓硫酸呈三萜皂苷反应, IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR, TLC 均与文献^[6]黄芪甲苷一致, 鉴定为黄芪甲苷。

化合物 3 无色针晶, mp 290~291°C, 醋酐-浓硫酸呈三萜皂苷反应, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 34.5^\circ$ (c 0.43, CH₃OH), FAB-MS m/z : 645 [M + Na]⁺, IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR, TLC 均与文献^[6]黄芪乙苷一致, 鉴定为黄芪乙苷。

化合物 4 无色针晶, mp 243~244°C, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 24.9^\circ$ (c 0.60, CH₃OH), 醋酐-浓硫酸呈三萜皂苷反应, FAB-MS m/z : 807 [M + Na]⁺, ^1H NMR, ^{13}C NMR, DEPT, ^1H - ^1H COSY, HMBC 与文献^[7]报道 astragaloside III 一致, 鉴定为 astragaloside III。

化合物 5 无色针晶, mp 279~280°C, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 38.5^\circ$ (c 0.26, MeOH), 醋酐-浓硫酸试验呈三萜皂苷反应。ESI-MS m/z : 788 [M + 2]⁺, 分子式 C₄₁H₇₀O₁₄。 ^1H NMR (C₅D₅N): 3.50dd (11.7, 4.3, 3 α -H), 1.92d (8.5, 5 α -H), 3.77td (10, 4, 6 β -H), 4.72dd (12.7, 7.3, 16 α -H), 1.79m (17 α -H), 0.18d (4.5, 19 α -H), 0.56d (4.5, 19 β -H), 2.38m (20-H), 1.62m (22 α -H), 2.28m (22 β -H), 3.94dd (11, 2.3, 24-H), 1.07d (6.5, 21-3H), 1.38s (18-3H), 1.48s (26-

3H), 1.46s(27-3H), 2.00s(28-3H), 1.34s(29-3H), 0.98s(30-3H), 4.81d(7.3, xyl 1'-H), 4.04dd(15, 7.3, 2'-H), 3.89m(3'-H), 4.18m(4'-H), 3.69t(11, 5'a-H), 4.38dd(11, 5, 5'b-H), 4.85d(7.3, glu 1''-H), 4.04dd(15, 7.3, 2''-H), 4.14t(8.7, 3''-H), 4.22m(4''-H, 5''-H), 4.32dd(11, 6.5, 6''a-H), 4.48dd(11.4, 2.6, 6''b-H)。¹³CNMR(C₅D₅N): 32.51(C-1), 29.02(C-2), 88.86(C-3), 42.96(C-4), 52.77(C-5), 79.41(C-6), 34.59(C-7), 45.88(C-8), 21.70(C-9), 30.49(C-10), 26.54(C-11), 33.30(C-12), 46.06(C-13), 47.19(C-14), 48.12(C-15), 72.28(C-16), 57.45(C-17), 18.63(C-18), 28.48(C-19), 28.83(C-20), 18.76(C-21), 33.45(C-22), 28.19(C-23), 77.47(C-24), 72.88(C-25), 26.12(C-26), 26.68(C-27), 28.96(C-28), 16.98(C-29), 20.10(C-30), β-D-xyl 107.89(C-1'), 75.89(C-2'), 78.37(C-3'), 72.14(C-4'), 67.30(C-5'), β-D-glu 105.44(C-1''), 75.86(C-2''), 78.78(C-3''), 71.53(C-4''), 79.43(C-5''), 63.41(C-6'')。经 DEPT, ¹H-¹H COSY, HMBC 测定, 鉴定为 3-O-β-D-xylopyranosyl-6-O-β-D-glucopyranosyl-(24s)-3β, 6α, 16β-24, 25-pentahydrox-9, 19-cyclolano-etane, 与文献^[8]报道的 cyclocanthoside E 一致, 为首次自膜荚黄芪根中分离鉴定。

化合物 6 无色针晶, mp 282~284°C, 醋酐-浓硫酸反应呈三萜皂苷反应, ESI-MS m/z: 934[M + 1 + Na]⁺, ¹HNMR, ¹³CNMR, DEPT, ¹³C-¹H COSY, ¹H-¹H COSY, HMBC 与文献^[9]报道 acetylastra-

galoside I 一致, 鉴定为 acetylastragaloside I。

化合物 7 无色片状结晶, mp 135~137°C, TLC, IR 与 β-谷甾醇一致, 鉴定为 β-谷甾醇。

化合物 8 无色颗粒状结晶, TLC, IR 与胡萝卜苷一致, 鉴定为胡萝卜苷。

关键词 膜荚黄芪; 异黄酮苷

参 考 文 献

- 曹正中, 俞家华, 陈萃. 山东黄芪及其引种品活性成分的比较. 中国药科大学学报, 1987, 18:99
- Mabry TJ. ¹³CNMR spectra of flavonoids. In: Harbone JB, Mabry TJ, eds. *The Flavonoids: Advances in Research 1975~80*. London: Chapman and Hall. 1982. 51
- 龚运淮主编. 天然有机化合物的¹³CNMR 化学位移. 昆明: 云南科技出版社, 1986. 398
- 吴立军, 李铄, 王素贤, 等. ¹³CNMR 在黄酮类化合物结构研究上的应用. 沈阳药学院学报, 1991, 8:219
- 刘勤, 刘永隆. ¹³CNMR 在黄酮苷类化合物结构研究中的应用. 中国医学科学院学报, 1990, 12:359
- 曹正中, 俞家华, 甘立宪, 等. 膜荚黄芪苷的结构. 化学学报, 1985, 43:581
- Kitagawa I, Wang HK, Masayuki S, et al. Saponin and saponin. XXXVI. ¹³C chemical constituents of astragalus radix, the root of *Astragalus membranaceus* Bunge (3), astragalosides III, V, and VI. *Chem Pharm Bull*, 1983, 31:709
- Isaev MI, Imomnazarov BA, Fadeev YM, et al. Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins XLII. cycloartanes of *Astragalus tragacantha*. *Chem Nat Compd*, 1992, 28:315
- Masao H, Zhou Y, Lui HK, et al. Astragaloside from hairy root cultures of *Astragalus membranaceus*. *Phytochemistry*, 1994, 36:665

A NEW ISOFLAVONE GLUCOSIDE FROM *ASTRAGALUS MEMBRANACEUS*

Cao Zhengzhong (Cao ZZ), Cao Yuan (Cao Y), Yi Yijun (Yi YJ), Wu Yongping (Wu YP),
Leng Zongkang (Leng ZK), Li Du (Li D) and Noel L. Owen (Owen NL)

(Jiangsu Province Institute of Materia Medica, Nanjing 210009;

¹Department of Chemistry and Biochemistry, Brigham Young University, Provo, Utah 84602 USA)

ABSTRACT AIM: To investigate the chemical constituents of the root of *Astragalus membranaceus* (Fisch) Bunge from Xu Zhou. **METHODS:** The compounds were separated by D₁₀₁ macroporous absorbing resins and rechromatography on silica gel. Their structures were determined by spectral analysis. **RESULTS:** Eight compounds were isolated. They were elucidated as 3'-methoxy-5'-hydroxy-isoflavone-7-O-β-D-glucoside (1) astramembrannin I (2), astramembrannin II (3), astragaloside III (4), cyclocanthoside E (5), acetyastragaloside I (6), β-sitosterol (7) and daucosterol (8). **CONCLUSION:** Compound 1 was a new compound and 5 was isolated from the root of *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge for the first time.

KEY WORDS *Astragalus membranaceus*; isoflavone; glucoside