

膜荚黄芪活性成分研究*

喻正坤 刘星阶**

(上海医科大学药学院天然药化教研室, 上海 200032)

摘要 对膜荚黄芪(*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge)的成分进行了系统分离和鉴定,同时用 E-112 顺磁共振仪测定了以芒柄花素为代表的异黄酮类化合物清除超氧自由基的活性,结果证明黄芪中的异黄酮类化合物具有清除超氧阴离子的活性。这可能是黄芪药物具有治疗心力衰竭和抗衰老的活性机理之一,在分离过程中,得到15种结晶,经化学降解和光谱分析分别鉴定为:晶 I:蔗糖(sucrose),晶 II:黄芪皂甙 IV (astragaloside IV),晶 III:芒柄花素(formononetin),晶 IV:毛蕊异黄酮(calycosin),晶 V:黄芪皂甙 VI (astragaloside VI),晶 VI:(3R)7,2'-二羟基-5',6'-二甲氧基异黄烷-7-O-β-D 葡萄糖甙,晶 VII:黄芪皂甙 II (astragaloside II),晶 VIII:黄芪皂甙 III (astragaloside III),晶 IX:β-谷甾醇(β-sitosterol),晶 X:棕榈酸(palmitic acid),晶 XI:胡萝卜甙(daucosterol),晶 XII~XV 结构待定,本文主要报道晶 III 的活性及晶 VI 的结构鉴定,晶 VI 为一新化合物。

关键词 膜荚黄芪;超氧自由基;芒柄花素;(3R)7,2'-二羟基-5',6'-二甲氧基异黄烷-7-O-β-D 葡萄糖甙

Studies on active constituents of *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge Yu Zheng-Kun and Liu Xing-Jie (School of Pharmacy, Shanghai Medical University, Shanghai 200032), *J. Plant Resour. & Environ.* 1993, 2(4): 40~43

The active constituents of *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge were isolated and identified, and the scavenging superoxide anion free radical activities of these constituents were detected by using Electron Paramagnetic Resonance. The experimental results showed that isoflavanoids of *A. membranaceus* possess the activities of scavenging superoxide anion. This is possibly one of the principles which has activities of antiaging and curing heart failure. In the process of isolation, we got 15 crystals. They were identified separately by chemical decomposition and spectra analysis. Crystal I: sucrose; Crystal II: astragaloside IV; Crystal III: formononetin; Crystal IV: calycosin; Crystal V: astragaloside VI; Crystal VI: (3R) 7,2'-dihydroxy-5',6'-dimethoxy isoflavan-7-O-β-D glucoside; Crystal VII: astragaloside II; Crystal VIII: astragaloside III; Crystal IX: β-sitosterol; Crystal X: palmitic acid; Crystal XI: daucosterol; Crystal XII-XV: the structures will be identified by studying further. This paper deals with the results of Crystal III scavenging superoxide anion and identification of Crystal VI. Crystal VI is a new structure.

收稿日期 1993-07-09

* 国家自然科学基金资助课题:黄芪有效成分研究 VII。

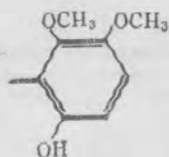
** 喻正坤,九〇级研究生,刘星阶,指导教师;感谢中国科学院上海有机化学研究所周澄明老师测定清除超氧阴离子的活性

Key words *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge; superoxide anion; formononetin; (3R) 7, 2'-dihydroxy-5', 6'-dimethoxy isoflavan-7-O- β -D-glucoside

前 言

药典规定黄芪(RADIX ASTRAGALI)为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 或膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根^[1], 国内外对黄芪类植物的研究较多, 但有关国产膜荚黄芪的成分分析报道不多, 仅分得4种黄酮类似物(formononetin, calycosin, rhamnocitin-3-glucoside, quercetin-3-glucoside)^(2,3)及6种黄芪皂甙类(astragaloside I, II, III, IV and VI; astramembranin II)⁽⁴⁻⁶⁾, 特别是对单体的药理活性实验报道不多, 为了更好地开发和利用传统中药黄芪之正品——膜荚黄芪, 有必要进行全面系统的研究。前文已报道黄芪中改善红细胞变形能力的活性成分及黄芪皂甙清除超氧阴离子的活性^(7,8), 本文继续报道从黄芪中分得的一新化合物的结构鉴定及黄芪中异黄酮类化合物清除超氧阴离子的活性。

晶 VI: m. p. 192°C, 无色针晶, FAB-MS 465 m/z (M+1)及与文献⁽¹⁰⁾对照, 确定分子式为 C₂₃H₁₈O₁₀; Molish 反应阳性, 经水解后 PC 检查出葡萄糖, 从¹HNMR 中显示有一酚羟基和两个 -OCH₃, IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 1620, 1590, 1510, 和 UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm 276均显示为异黄酮类化合物, 据 MS m/z 180, 167; 可知 OH 和两个 -OCH₃ 应取代在 B 环, 葡萄糖应接在 A 环上, 并且为 β -D-葡萄糖(¹HNMR: 1'', 4.76 ppm J=8Hz), 5个芳香质子明显构成一组 AB 系统(6.77, 6.45 ppm)和一组 ABC 系统。B 环中除已知有1个 -OH 和2个 -OCH₃ 外, 余下2个芳香质子构成一组邻位偶合的 AB 系统(J 邻=9Hz), 进一步用 NOE 差谱分析, 照射2个 -OCH₃ 时, 仅高场的 -OCH₃ 使1个芳香质子产生2.88%的增益, 羟基未见有增益现象, 并且 Gibb's 试验阴性, 故 B 环的排列只可能如下:



A 环上的3个质子, 据偶合常数(J=9 Hz, 2 Hz)可知, 两个氢为邻位, 所以 A 环上的取代只能在6位或者7位, 经与已知化合物(7, 2'-二羟基-3', 4'-二甲氧基异黄酮-7-O- β -D-葡萄糖甙^(10,11,14); 7, 3'-二羟基-2', 4'-二甲氧基异黄酮-7-O- β -D-葡萄糖甙⁽¹²⁾)对照, 取代应在7位。并经 CD 谱(280 nm 处负的 Cotton 效应)并与文献⁽¹⁴⁾对照, 确定3位为3R 构型, $[\alpha]_D^{25}$: -10°(0.1% MeOH), 故晶 VI 鉴定为: (3R)-7, 2'-二羟基 5', 6'-二甲氧基异黄酮-7-O- β -D-葡萄糖甙((3R)-7, 2'-dihydroxy-5', 6'-dimethoxy isoflavan-7-O- β -D-glucopyranoside)。此结构经¹³CNMR 得到进

一步证实, 经¹H-¹H cosy 对¹HNMR 化学位移和¹³CNMR 进行了归属(参见鉴定; 晶 VI)。此结构经查阅文献, 未见报道, 为一新结构。MS 裂解过程与异黄酮类化合物裂解规律相同⁽¹³⁾

其他化合物的结构鉴定另有文献报道⁽⁷⁾。

实验部分

1. 实验材料

膜萸黄芪(上海药材公司购进, 山西产, 由上海医科大学生药教研室鉴定); 硅胶(G,H)(青岛海洋化工厂); 柱层析用聚酰胺(中国人民解放军83305部队701厂); Bondapak C₁₈反相硅胶; 大孔树脂(1300型, 上海医药工业研究院); Kofler 显微熔点仪(未经校正), Perkin-Elmer 783红外光谱仪; JMS-D 300s 型质谱仪; E-112型顺磁共振仪; 岛津紫外240型分析仪; Bruker AM-400型核磁共振仪; Finnigan-4510型质谱仪; 241 MC 旋光仪; J-500C CD 谱仪。其他化学试剂均为分析纯。

2. 提取分离

30 kg 黄芪饮片, 用水回流提取, 水提取液浓缩后, 用95% EtOH 调节酒精浓度为80%, 放置, 析出沉淀为多糖部分(E), 溶液部分制成黄芪注射液(F)。药品残渣晒干后(18 kg), 经粉碎, 用95% EtOH 提取, 提取液经回收乙醇后制成浸膏, 加10倍量的水, 然后用正丁醇萃取; 水溶液自然放置, 分成溶液部分(A)和沉淀部分(B); 正丁醇部分回收正丁醇后, 溶于10倍量的水, 得不溶部分(C)和水溶部分(D); 然后将每个部分分别分离, (A)部分经大孔树脂, 用水和不同浓度的酒精洗脱得到晶 I 及晶 II; (B)部分用石油醚、乙醚、乙酸乙酯、丙酮、甲醇索氏抽提, 其中乙醚部分经聚酰胺柱层得到晶 III、晶 IV 和晶 XI; 乙酸乙酯部分经低压柱层得到晶 V、晶 VI、晶 VII 和晶 IX; (C)部分经干柱层析按 Rf 值切成6段, 经进一步分离得到晶 X、晶 XI 和晶 XII; (D)部分经反相硅胶(Bondapak C₁₈)层析, 用水和不同浓度的酒精冲洗, 50% 酒精部分得到晶 III、晶 V、晶 VI、晶 VII 和晶 X; 80% 酒精部分得到晶 XI 和晶 XII, 95% 酒精部分得到晶 XII 和晶 XIII。然后将异黄酮类化合物进行了清除超氧阴离子的活性实验, 结果表明异黄酮类化合物具有较强的清除超氧阴离子的活性, 用 TLC 监控时, 采用茴香醛-浓硫酸作为显色剂。

3. 部分单体清除超氧阴离子活性的检测

黄芪在临床上具有抗衰老和抗心力衰竭的作用⁽⁶⁾。自由基反应是引起衰老和心力衰竭的重要原因之一, 近年来已被国内外许多学者所证实, 我们用 E-112 顺磁共振仪测定了以芒柄花素为代表的异黄酮类化合物清除超氧自由基的活性, 结果证明黄芪中的异黄酮类化合物均有清除超氧阴离子的活性。这可能是黄芪药物具有治疗心力衰竭和抗衰老的活性机理之一。芒柄花素清除自由基的结果参见表1。

表1 芒柄花素清除自由基的结果

Tab 1 Result of formononetin scavenging free radical(O₂⁻)

Concen. of sample (mg/ml)	Y cm	ΔHpp cm	I	Scavenging %
Blank	19.8	0.7	9.702	
0.75	0.8	0.6	0.288	97
0.075	13.3	0.4	2.128	78

注: 甲醇为溶剂

4. 鉴定:

晶 III; mp. 247~250 °C; Rf = 0.38 (15% HAc); UV λ_{max}^{MeOH} nm (log ε): 241 (4.30), 251 (4.33), 307 (4.00)。IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3148, 1640, 1610, 1570, 1515, 2980, 2835, 1455, 1385。¹H NMR (DMSO-d₆, δppm): 10.75 (1H), 8.4 (1H), 8.07 (1H), 7.6 (2H), 6.9~7.14 (4H), 3.82 (3H)。MS (m/z, %): 268 (100), 267 (35.2), 253 (16.6), 136, 132, 以上 MS, NMR 与文

献^[9]报道芒柄花素(formononetin)一致,其结构为:7-羟基-4'甲氧基异黄酮。

晶Ⅵ; mp. 192℃, $[\alpha]_D^{20}$: 10°; UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$: 276 nm; IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3400~3300, 1620, 1590, 1520, 2850, 1460, 1420, 2920, 1030, 1050, 1075, 1090。EI-MS: 463, 301, 180, 167。FAB-MS(m/z): 465(M+1)。¹HNMR(DMSO-d₆ δ ppm) 3.96(2-Ha), 4.20(2-He), 3.36(3-H), 2.80(4-Ha), 2.93(4-He), 7.00(5-H), 6.55(6-H), 6.47(8-H), 8.95(2'-OH), 6.47(3'-H), 6.78(4'-H), 3.69(5'-OCH₃), 3.73(6'-OCH₃), 4.76(1''-H), 3.20(2''-H), 3.26(3''-H), 3.15(4''-H), 3.29(5''-H), 3.46(6''-H)。¹³CNMR(DMSO-d₆ δ ppm): 29.6(4), 31.3(3), 55.5(5'-OCH₃), 60.0(6'-OCH₃), 60.7(6''), 69.0(2), 69.6(4''), 73.1(2''), 76.4(3''), 76.6(5''), 100.7(1''), 103.3(3'), 103.9(8), 108.7(6), 115.6(4a), 120.7(1'), 121.2(4'), 129.7(5), 156.6(7), 经鉴定晶Ⅵ为(3R)-7,2'-二羟基-5',6'-二甲氧基异黄酮-7-O- β -D-葡萄糖甙。

结 论

1. 自由基反应是引起衰老的重要原因之一,近年来已被国内外许多学者所证实。Meer等认为,心肌缺血时主要通过黄嘌呤氧化酶体系产生大量氧自由基。因而通过本研究,我们认为异黄酮类化合物可能是黄芪抗衰老和抗心力衰竭的重要组成成分。

2. 异黄酮类化合物容易被氧化,具有传递电子的活性,因而具有清除自由基的活性。

据我们已有的报道,黄芪药物对心血管系统的作用是非常广泛的,产生这一系列作用的活性成分是黄芪皂甙类和异黄酮类化合物。这些研究结果为黄芪的进一步开发和利用提供了科学依据。

参 考 文 献

- 1 中华人民共和国卫生部药典委员会编. 1985: 中华人民共和国卫生部药典一部, 人民卫生出版社, 北京. 272页.
- 2 马英丽, 田振坤. 1991: 沈阳药学院学报 8(2): 121~123.
- 3 王志学. 1983: 中草药 14(3): 1.
- 4 曹正中, 俞家华, 甘立宪等. 1985: 化学学报 43: 581.
- 5 曹正中. 1983: 化学学报 41: 1137.
- 6 杨立, 肖卓殷. 1990: 华西药学杂志 5(4): 211~215.
- 7 喻正坤, 刘星阶, 戴稼和等. 1992: 天然产物研究与开发, 待发表.
- 8 刘星阶, 江明华, 喻正坤等. 1991: 天然产物研究与开发 3(4): 1~5.
- 9 朱伯卿. 1987: 上海中医药杂志 (1): 47~48.
- 10 吕归宝. 1984: 中草药 15(10): 20~22.
- 11 王惠康. 1990: 药学学报 25(6): 445~450.
- 12 贺正全. 1990: 药学学报 25(9): 694~698.
- 13 Pelter A, P Stainton, A P Johnson. 1965: *Heterocyclic Chem.* (2): 267.
- 14 He Z Q, J A Findlay. 1991: *J. Natural Products* 54(3): 810~815.

(责任编辑: 罗 董)