

· 药学基础 ·

越南槐种子化学成分的分离与鉴定

邹吉斌^{1,2}, 张鹏^{2,3}, 安巧², 姜阳明², 夏宇², 胡占兴², 郝小江^{1,2*}

(1. 贵州医科大学药学院, 贵阳 550025;

2. 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵阳 550014; 3. 贵州中医药大学, 贵阳 550025)

[摘要] 目的:研究豆科苦参属越南槐 *Sophora tonkinensis* 种子的化学成分。方法:采用MCI树脂、正相硅胶色谱、凝胶柱色谱、半制备高效液相色谱法等方法进行分离纯化,通过理化性质、波谱数据结合参考文献鉴定化合物结构,并采用琼脂稀释法测定部分化合物的体外抗幽门螺杆菌活性。结果:从越南槐种子的甲醇提取物中共分离得到了22个化合物,分别鉴定为4',7-二羟基-6-甲氧基异黄酮(1),黄豆苷元(2),5,7,4'-三羟基-6-异戊烯基异黄酮(3),dalparvone(4),5,7-二羟基-4'-甲氧基异黄酮(5),樱黄素(6),芒柄花素(7),金雀异黄酮(8),5-methoxydaidzein(9),芒柄花苷(10),7,4'-二羟基黄酮(11),甘草素(12),bayin(13),2,4-二羟基苯甲酸甲酯(14),羟苯甲酯(15),4-hydroxyacetophenone(16),对甲氧基苯甲醛(17),吡啶-3-甲酸甲酯(18),4- $[\beta$ -D-apiofuranoyl-(1 \rightarrow 6)-O- β -D-glucopyranosyloxy] phenylacetone nitrile(19),(-)-methyl dihydrophaseate(20),methyl canavaliol ester(21),vomifoliol 3'-O- β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside(22)。结论:化合物1,5,6,9,16为首次从该植物中分离得到,化合物4,14,17~22为首次从该属植物中分离得到。化合物10和13体外显示出了较好的抗幽门螺杆菌活性。

[关键词] 苦参属;越南槐种子;化学成分;黄酮类;异黄酮类;萜类;幽门螺杆菌

[中图分类号] R22;R28;R914;O657 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)01-0165-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20211760

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210609.1535.003.html>

[网络出版日期] 2021-06-11 11:02

Isolation and Identification of Chemical Constituents in Seeds of *Sophora tonkinensis*

ZOU Ji-bin^{1,2}, ZHANG Peng^{2,3}, AN Qiao², JIANG Yang-ming², XIA Yu²,

HU Zhan-xing², HAO Xiao-jiang^{1,2*}

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China;

2. Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550014, China; 3. Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China)

[Abstract] **Objective:** To study the chemical constituents of the seeds of *Sophora tonkinensis*. **Method:** The chemical constituents were isolated and purified by chromatography with MCI resin, silica gel, Sephadex LH-20, and semi-preparative high performance liquid chromatography. Their structures were identified by physicochemical properties, spectral data as well as relevant references. Meanwhile, the antibacterial activities against *Helicobacter pylori* of these compounds were screened by agar dilution method. **Result:** A total of 22 compounds were isolated from the methanol extract of the seeds of *S. tonkinensis*, and characterized as 4',7-dihydroxy-6-methoxy isoflavone (1), daidzein (2), wighteone (3), dalparvone (4), 5,7-dihydroxy-4'-

[收稿日期] 20210426(023)

[基金项目] 国家自然科学基金联合基金项目(U1812403);贵州省科技计划项目(黔科合支撑[2021]一般181,黔科合基础[2020]1Y398);贵州医科大学2018年度学术新苗培养及创新探索专项(黔科合平台人才[2018]5779-60)

[第一作者] 邹吉斌,在读硕士,从事植物化学研究,E-mail:18164882976@163.com

[通信作者] *郝小江,研究员,博士生导师,从事天然产物化学研究,Tel:0851-83834026,E-mail:haoxj@mail.kib.ac.cn

methoxyisoflavone (5), prunetin (6), formononetin (7), genistein (8), 5-methoxydaidzein (9), ononin (10), 7, 4'-dihydroxyflavone (11), liquiritigenin (12), bayin (13), 2, 4-dihydroxybenzoate (14), methyparaben (15), 4-hydroxyacetophenone (16), *p*-anisaldehyde (17), methyl indole-3-carboxylate (18), 4-[β -D-apiofuranoyl-(1 \rightarrow 6)-O- β -D-glucopyranosyloxy] phenylacetoneitrile (19), (-)-methyl dihydrophaseate (20), methyl canavaliol ester (21), vomifoliol 3'-O- β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside (22). **Conclusion:** Compounds 1, 5, 6, 9 and 16 are isolated from *S. tonkinensis* for the first time, compounds 4, 14, 17-22 are isolated from the genus of *Sophora* for the first time. In addition, compounds 10 and 13 display moderate antibacterial activities against *H. pylori*.

[Keywords] *Sophora*; seeds of *S. tonkinensis*; chemical constituents; flavonoids; isoflavonoids; terpenoids; *Helicobacter pylori*

越南槐为豆科苦参属的灌木植物,其干燥根和根茎为山豆根,主要分布于我国的广西、贵州及云南^[1-2]。山豆根主要用于火毒蕴结、乳蛾喉痹、咽喉肿痛、齿龈肿痛、口舌生疮^[3]。有研究表明,山豆根中主要活性成分为喹诺里西啶类生物碱、黄酮类、紫檀素类及萜类化合物^[4-6]。目前,越南槐化学成分及其活性研究主要集中于根茎,而关于其种子化学成分的研究却未见报道。为进一步促进越南槐植物化学成分的进展,完善其不同药用部位的物质基础研究,本研究选择越南槐种子为研究对象,利用现代分离、分析手段对其化学成分进行系统研究,结果从其甲醇提取物中分离了22个化合物,即4',7-二羟基-6-甲氧基异黄酮(1),黄豆苷元(2),5,7,4'三羟基-6-异戊烯基异黄酮(3),dalparvone(4),5,7-二羟基-4'-甲氧基异黄酮(5),樱黄素(6),芒柄花素(7),金雀异黄酮(8),5-methoxydaidzein(9),芒柄花苷(10),7,4'-二羟基黄酮(11),甘草素(12),bayin(13),2,4-二羟基苯甲酸甲酯(14),羟苯甲酯(15),4-hydroxyacetophenone(16),对甲氧基苯甲醛(17),吡啶-3-甲酸甲酯(18),4-[β -D-apiofuranoyl-(1 \rightarrow 6)-O- β -D-glucopyranosyloxy] phenylacetoneitrile (19), (-)-methyl dihydrophaseate (20), methyl canavaliol ester (21), vomifoliol 3'-O- β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside(22)。其中,化合物1,5,6,9,16为首次从该植物中分离得到,化合物4,14,17~22为首次从该属植物中分离得到,见图1。此外,采用琼脂稀释法测定了化合物1~4,6,10,13,18~22对幽门螺杆菌的抑制作用。

1 材料

2695型高效液相色谱仪(美国Waters公司),LCQ Advantage型离子阱质谱仪(美国Thermo Finnigan公司),Avance III-600 MHz型核磁共振仪[德国Bruker公司,内标为四甲基硅烷(TMS)],

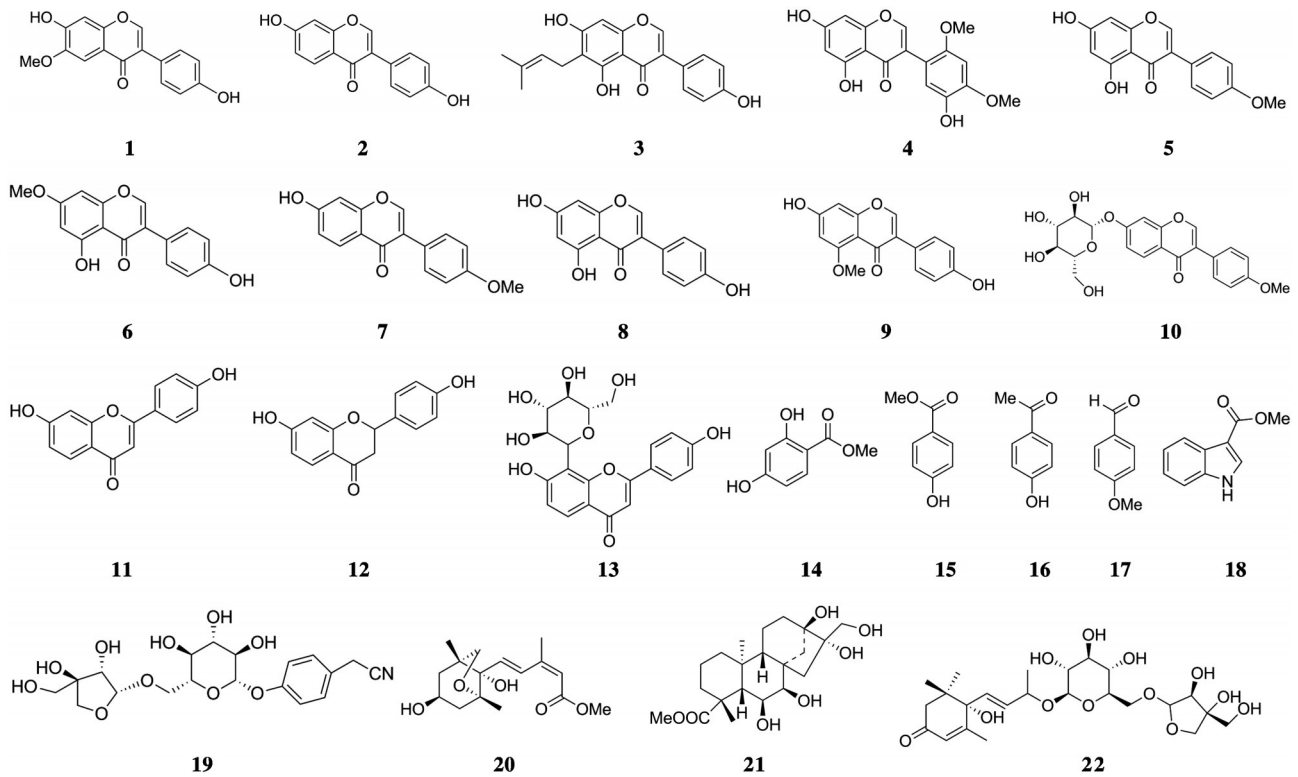
Hanbon NP7005型半制备高效液相色谱仪(江苏汉邦科技有限公司)。

硅胶和GF254薄层色谱硅胶板(青岛海洋化工厂),LH-20型羟丙基葡聚糖凝胶(Sephadex LH-20,瑞典Amersham Pharmacia Biotech AB公司,粒径40~70 μ m),反相填充材料Lichroprep RP-18(德国Merck公司,粒径40~63 μ m),MCI树脂(日本Mitsubishi Chemical公司,粒径70~150 μ m),XBridge Prep Shield RP18色谱柱(10 mm \times 150 mm,5 μ m,美国Waters公司)。甲醇、乙腈为色谱纯,石油醚、丙酮、乙酸乙酯等溶剂均为工业级(重蒸使用)。越南槐种子采集于贵州省紫云苗族布依族自治县,经中国科学院昆明植物研究所彭华研究员鉴定为豆科苦参属植物越南槐*Sophora tonkinensis*的种子,标本(No. 20191001)现保存于贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室。

幽门螺杆菌标准菌株Hp26695(山东大学齐鲁医学院病原生物学研究所),微需氧产气袋(日本三菱化学株式会社),MH琼脂培养基(青岛高科园海博生物技术有限公司,批号20210503),无菌脱纤维绵羊血(南京森贝伽生物科技有限公司,批号20210517),阿莫西林胶囊(哈药集团制药总厂,国药准字H20044605,批号1905003)。

2 提取与分离

取越南槐风干种子7.5 kg,经粉碎机粉碎后过30目筛,加甲醇回流提取3次,每次4 h,减压浓缩得浸膏1.6 kg。浸膏经MCI树脂柱分离,加甲醇-水(10:90,25:75,50:50,75:25,100:0)进行梯度洗脱,得到4个组分(Fr.A~Fr.D)。Fr.A(49.0 g)经300~400目硅胶柱色谱分离,加二氯甲烷-甲醇(100:1,50:1,25:1,10:1,5:1,1:1)梯度洗脱,得6个组分(Fr.A1~Fr.A6)。Fr.A1(5.1 g)经Sephadex LH-20(甲醇)纯化,经半制备高效液相色谱法(HPLC)纯化



Me. 甲基

图1 越南槐种子中化合物1~22的结构式

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1-22 in seeds of *Sophora tonkinensis*

[乙腈-水(25:75), 流速 $3.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$] 得化合物 **11** (13.4 mg, $t_{\text{R}}=15 \text{ min}$) 和 **2** (2.4 mg, $t_{\text{R}}=19 \text{ min}$); Fr.A2 (66.0 mg) 经半制备 HPLC 纯化[乙腈-水(20:80), 流速 $3.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$] 得化合物 **3** (15.8 mg, $t_{\text{R}}=22 \text{ min}$) 和 **20** (16 mg, $t_{\text{R}}=23 \text{ min}$); Fr.A3 (52.5 mg) 经半制备 HPLC 纯化[乙腈-水(45:55), 流速 $3.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$] 得化合物 **4** (2.4 mg, $t_{\text{R}}=18 \text{ min}$), **5** (1.2 mg, $t_{\text{R}}=20 \text{ min}$) 和 **6** (1.0 mg, $t_{\text{R}}=24 \text{ min}$); Fr.A4 (11.0 mg) 经 Sephadex LH-20(甲醇) 纯化得化合物 **7** (4.0 mg)。Fr.A6 (3.1 g) 分别经 300~400 目硅胶柱色谱, Sephadex LH-20(甲醇) 和半制备 HPLC 纯化后得到了化合物 **1** (8.0 mg), **14** (7.0 mg), **15** (5.8 mg), **16** (1.0 mg), **17** (1.9 mg), **18** (3.2 mg) 和 **21** (16.3 mg)。Fr.B (2.7 g) 利用 300~400 目硅胶柱色谱进行分离, 石油醚-丙酮(50:1, 25:1, 10:1, 5:1, 2:1) 梯度洗脱得 3 个组分(Fr.B1~Fr.B3)。Fr.B1 (44.3 mg) 经半制备 HPLC 纯化[乙腈-水(27:73), 流速 $3.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$] 得到了化合物 **8** (2.6 mg, $t_{\text{R}}=16 \text{ min}$), **9** (12.8 mg, $t_{\text{R}}=22 \text{ min}$) 和 **12** (1.7 mg, $t_{\text{R}}=32 \text{ min}$)。Fr.B2 (36 g) 分别经 MCI 树脂柱色谱, Sephadex LH-20(甲醇) 和半制备 HPLC 纯化, 得化合物 **10** (25.0 mg), **13** (7.0 mg), **22** (32.0 mg) 和 **19** (13.4 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1** 淡黄色固体粉末, 分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$, 电喷雾电离质谱(ESI-MS) m/z 307.0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; 核磁共振氢谱($^1\text{H-NMR}$) (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 8.28 (1H, s, H-2), 7.44 (1H, s, H-8), 7.39 (2H, d, $J=8.8 \text{ Hz}$, H-2', 6'), 6.95 (1H, s, H-5), 6.81 (2H, d, $J=8.8 \text{ Hz}$, H-3', 5'), 3.88 (3H, s, OCH_3); 核磁共振碳谱($^{13}\text{C-NMR}$) (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 174.8 (C-4), 157.5 (C-4'), 153.3 (C-7), 152.9 (C-8a), 152.1 (C-2), 147.3 (C-6), 130.6 (C-6'), 130.5 (C-2'), 123.4 (C-3), 123.2 (C-1'), 116.7 (C-4a), 115.5 (C-5'), 115.4 (C-3'), 105.1 (C-5), 103.3 (C-8), 56.2 (OCH_3)。以上数据与文献[7]的报道基本一致, 故鉴定该化合物为 4', 7-二羟基-6-甲氧基异黄酮。

化合物 **2** 黄色固体粉末, 分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_4$, ESI-MS m/z 277.0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 8.17 (1H, s, H-2), 7.85 (1H, d, $J=8.5 \text{ Hz}$, H-5), 7.36 (2H, d, $J=8.5 \text{ Hz}$, H-2', 6'), 6.91 (1H, d, $J=8.5 \text{ Hz}$, H-6), 6.79 (2H, d, $J=8.5 \text{ Hz}$, H-3', 5'), 6.63 (1H, s, H-8); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 175.0 (C-4), 162.6 (C-7), 157.5 (C-8a), 157.3 (C-4'), 152.6 (C-2), 130.6 (C-6', 2'), 127.2 (C-5),

123.3(C-3), 123.1(C-1'), 115.5(C-6), 115.4(C-5', 3'), 102.4(C-8, 4a)。以上数据与文献[8]报道基本一致,故鉴定该化合物为黄豆苷元。

化合物3 无色晶体,分子式 $C_{20}H_{18}O_5$,ESI-MS m/z 337.0 $[M-H]^-$; 1H -NMR(600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.28(1H, s, H-2), 7.36(2H, d, $J=8.6$ Hz, H-2', 6'), 6.82(2H, d, $J=8.6$ Hz, H-3', 5'), 6.45(1H, s, H-8), 5.18(1H, t, $J=7.1$ Hz, H-2''), 3.32(2H, d, $J=7.1$ Hz, H-1''), 1.73(3H, s, H-4''), 1.62(3H, s, H-5''); ^{13}C -NMR(150 MHz, DMSO- d_6) δ : 180.6(C-4), 162.5(C-7), 159.3(C-5), 157.8(C-4'), 155.8(C-8a), 154.1(C-2), 131.1(C-3''), 130.6(C-2', 6'), 122.6(C-2'', 3), 121.8(C-1'), 115.5(C-3', 5'), 115.0(C-6), 104.6(C-5a), 93.3(C-8), 25.9(C-5''), 21.5(C-1''), 18.1(C-4'')。以上数据与文献[9]报道的基本一致,故鉴定该化合物为5,7,4'三羟基-6-异戊烯基异黄酮。

化合物4 无色晶体,分子式 $C_{17}H_{14}O_7$,ESI-MS m/z 329.0 $[M-H]^-$; 1H -NMR(600 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.29(1H, s, H-2), 6.70(1H, s, H-3'), 6.61(1H, d, $J=1.5$ Hz, H-6), 6.50(1H, s, H-6'), 6.43(1H, d, $J=1.5$ Hz, H-8), 3.77(3H, s, OCH_3 -2'), 3.71(3H, s, OCH_3 -4'); ^{13}C -NMR(150 MHz, $CDCl_3$) δ : 180.9(C-4), 164.8(C-7), 163.6(C-5), 157.9(C-9), 153.0(C-2), 152.8(C-2'), 148.0(C-4'), 141.3(C-5'), 119.1(C-1'), 114.3(C-3, 3'), 103.3(C-10), 101.4(C-6'), 96.5(C-8), 95.2(C-6), 56.7(OCH_3 -2'), 56.0(OCH_3 -4')。以上数据与文献[10]报道的基本一致,故鉴定该化合物为dalparvone。

化合物5 白色固体粉末,分子式 $C_{16}H_{12}O_5$,ESI-MS m/z 283.0 $[M-H]^-$; 1H -NMR(600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.41(1H, s, H-2), 7.50(2H, d, $J=8.7$ Hz, H-2', 6'), 7.00(2H, d, $J=8.7$ Hz, H-3', 5'), 6.41(1H, d, $J=1.7$ Hz, H-6), 6.21(1H, d, $J=1.7$ Hz, H-8), 3.87(3H, s, OCH_3 -4'); ^{13}C -NMR(150 MHz, DMSO- d_6) δ : 180.9(C-4), 165.7(C-7), 162.4(C-5), 159.6(C-4'), 158.0(C-9), 154.9(C-2), 130.6(C-2', 6'), 123.0(C-1'), 115.6(C-3), 114.2(C-3', 5'), 105.9(C-10), 99.6(C-8), 94.3(C-6), 56.6(OCH_3 -4')。以上数据与文献[11]报道的基本一致,故鉴定该化合物为5,7-二羟基-4'-甲氧基异黄酮。

化合物6 黄色固体,分子式 $C_{16}H_{12}O_5$,ESI-MS m/z 283.0 $[M-H]^-$; 1H -NMR(600 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.94(1H, br s, OH-5), 8.35(1H, s, H-2), 7.40(2H, d,

$J=8.5$ Hz, H-2', 6'), 6.83(2H, d, $J=8.5$ Hz, H-3', 5'), 6.41(1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6), 6.21(1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8), 3.76(3H, s, OCH_3 -7); ^{13}C -NMR(150 MHz, DMSO- d_6) δ : 180.5(C-4), 162.2(C-5), 158.0(C-4', 7, 9), 154.7(C-2), 130.6(C-2', 6'), 121.5(C-1'), 115.6(C-3), 114.2(C-3', 5'), 105.9(C-10), 98.5(C-8), 92.9(C-6), 56.6(OCH_3 -7)。以上数据与文献[12]报道的基本一致,故鉴定该化合物为樱黄素。

化合物7 白色固体粉末,分子式 $C_{16}H_{12}O_4$,ESI-MS m/z 267.0 $[M-H]^-$; 1H -NMR(600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.33(1H, s, H-2), 7.96(1H, d, $J=8.7$ Hz, H-5), 7.51(2H, d, $J=8.7$ Hz, H-2', 6'), 6.99(2H, d, $J=8.7$ Hz, H-3', 5'), 6.93(1H, d, $J=8.7$ Hz, H-6), 6.85(1H, d, $J=1.9$ Hz, H-8), 3.78(3H, s, OCH_3 -4'); ^{13}C -NMR(150 MHz, DMSO- d_6) δ : 175.1(C-4), 163.4(C-7), 158.0(C-4', 9), 153.5(C-2), 130.5(C-2', 6'), 127.7(C-5), 124.8(C-1'), 123.6(C-3), 115.9(C-6), 116.9(C-10), 114.1(C-3', 5'), 102.6(C-8), 55.6(OCH_3 -4')。以上数据与文献[13]报道的基本一致,故鉴定该化合物为芒柄花素。

化合物8 白色固体粉末,分子式 $C_{15}H_{10}O_5$,ESI-MS m/z 293.1 $[M+Na]^+$; 1H -NMR(600 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.95(1H, br s, OH-5), 9.63(1H, br s, OH-7), 8.31(1H, s, H-2), 7.37(2H, d, H-2', 6'), 6.83(2H, d, H-3', 5'), 6.40(1H, d, H-8), 6.23(1H, d, H-6); ^{13}C -NMR(150 MHz, DMSO- d_6) δ : 181.0(C-4), 165.5(C-7), 164.2(C-5), 158.2(C-9), 157.9(C-4'), 154.1(C-2), 130.7(C-6'), 130.5(C-2'), 123.5(C-1'), 121.6(C-3), 115.7(C-3'), 115.1(C-5'), 104.2(C-10), 97.2(C-6), 96.0(C-8)。以上数据与文献[14]报道的基本一致,故鉴定该化合物为金雀异黄酮。

化合物9 白色固体粉末,分子式 $C_{16}H_{12}O_5$,ESI-MS m/z 307.0 $[M+Na]^+$; 1H -NMR(600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.29(1H, s, H-2), 7.43(1H, d, H-6), 7.38(2H, d, $J=8.5$ Hz, H-2', 6'), 6.94(1H, d, H-8), 6.81(2H, d, $J=8.5$ Hz, H-3', 5'), 3.87(3H, s, OCH_3 -5); ^{13}C -NMR(150 MHz, DMSO- d_6) δ : 174.8(C-4), 157.6(C-5), 153.3(C-9), 153.0(C-2), 152.2(C-7), 147.4(C-4'), 130.5(C-2', 6'), 123.4(C-1'), 123.2(C-3), 116.7(C-10), 115.4(C-3', 5'), 105.2(C-6), 103.3(C-8), 56.3(OCH_3 -5)。以上数据与文献[15]报道的基本一致,故鉴定该化合物为5-methoxydaidzein。

化合物 **10** 白色固体粉末, 分子式 $C_{22}H_{22}O_9$, ESI-MS m/z 431.1 $[M+H]^+$; 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.06 (1H, d, $J=8.7$ Hz, H-5), 7.53 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-2', 6'), 7.24 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-8), 7.16 (1H, dd, $J=8.7$ Hz, H-6), 6.99 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-3', 5'), 5.12 (1H, d, $J=7.2$ Hz, H-1''), 3.79 (3H, s, OCH₃-4'), 3.19-3.79 (6H, m, glu-H); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 175.2 (C-4), 161.9 (C-7), 159.4 (C-4'), 157.5 (C-9), 154.1 (C-2), 130.5 (C-2', 6'), 127.5 (C-5), 124.4 (C-1'), 123.9 (C-3), 118.9 (C-10), 116.1 (C-6), 114.1 (C-3', 5'), 103.9 (C-8), 100.4 (C-1''), 77.6 (C-5''), 76.9 (C-3''), 73.6 (C-2''), 70.1 (C-4''), 61.1 (C-6''), 55.6 (OCH₃-4')。以上数据与文献[16]报道的基本一致, 故鉴定该化合物为芒柄花苷。

化合物 **11** 白色固体粉末, 分子式 $C_{15}H_{10}O_4$, ESI-MS m/z 277.0 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.89 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-2', 6'), 7.83 (1H, d, $J=8.7$ Hz, H-5), 6.89 (1H, dd, $J=8.7$ Hz, H-6), 6.68 (1H, s, H-3); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 176.8 (C-4), 163.0 (C-2, 7), 161.3 (C-4'), 157.9 (C-8a), 128.5 (C-2'), 128.5 (C-6'), 126.8 (C-5), 122.2 (C-1'), 116.5 (C-5a), 116.0 (C-3', 5'), 115.7 (C-6), 104.8 (C-3), 102.9 (C-8)。以上数据与文献[17]中基本一致, 故鉴定该化合物为7,4'-二羟基黄酮。

化合物 **12** 白色固体粉末, 分子式 $C_{15}H_{12}O_4$, ESI-MS m/z 255.1 $[M-H]^-$; 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.57 (1H, d, $J=8.7$ Hz, H-5), 7.31 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-2', 6'), 6.78 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-3', 5'), 6.37 (1H, d, $J=8.7$ Hz, H-6), 6.16 (1H, d, $J=9.2$ Hz, H-8), 5.38 (1H, dd, $J=12.8, 2.7$ Hz, H-2), 3.04 (1H, dd, $J=16.6, 2.9$ Hz, H-3b), 2.57 (1H, dd, $J=16.7, 2.9$ Hz, H-3a); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 190.1 (C-4), 164.5 (C-7), 163.9 (C-9), 157.5 (C-4'), 130.4 (C-1'), 129.0 (C-5), 128.7 (C-2', 6'), 115.6 (C-3', 5'), 115.0 (C-10), 109.5 (C-6), 103.2 (C-8), 79.2 (C-2), 43.6 (C-3)。以上数据与文献[18]报道的基本一致, 故鉴定该化合物为甘草素。

化合物 **13** 淡黄色固体粉末, 分子式 $C_{21}H_{20}O_9$, ESI-MS m/z 415.0 $[M-H]^-$; 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.79 (1H, d, $J=8.7$ Hz, H-5), 7.97 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-2', 6'), 6.92 (1H, dd, $J=8.7$ Hz, H-6), 6.89 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-3', 5'), 6.67 (1H, s, H-3); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 177.2 (C-4), 162.9

(C-2), 161.4 (C-4', 7), 156.8 (C-9), 129.0 (C-2', 6'), 125.6 (C-5), 122.9 (C-1'), 116.5 (C-10), 113.2 (C-3', 5'), 113.2 (C-6), 104.5 (C-3), 102.7 (C-8), 82.6 (C-6''), 79.3 (C-4''), 74.0 (C-3''), 71.7 (C-2''), 71.1 (C-5''), 62.0 (C-7'')。以上数据与文献[19]报道的基本一致, 故鉴定该化合物为bayin。

化合物 **14** 白色固体粉末, 分子式 $C_8H_8O_4$, ESI-MS m/z 191.1 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.71 (1H, s, OH-1), 7.64 (1H, d, $J=8.8$ Hz, H-3), 6.37 (1H, d, $J=8.8$ Hz, H-4), 6.30 (1H, s, H-6), 3.84 (3H, s, OCH₃-7); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 169.9 (C-7), 164.5 (C-1), 164.3 (C-5), 132.2 (C-3), 108.7 (C-4), 104.4 (C-2), 102.9 (C-6), 52.8 (OCH₃)。以上数据与文献[20]报道的基本一致, 故鉴定该化合物为2,4-二羟基苯甲酸甲酯。

化合物 **15** 白色晶体, 分子式 $C_8H_8O_3$, ESI-MS m/z 175.1 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7.97 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-3, 5), 6.88 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-2, 6), 3.91 (3H, s, OCH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 167.1 (C-7), 159.9 (C-1), 131.9 (C-3, 5), 122.4 (C-4), 115.3 (C-2, 6), 51.7 (OCH₃)。以上数据与文献[21]报道的基本一致, 故鉴定该化合物为羟苯甲酯。

化合物 **16** 白色固体粉末, 分子式 $C_8H_8O_2$, ESI-MS m/z 159.0 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.78 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-3, 5), 6.67 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-2, 6), 2.52 (3H, s, CH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 196.0 (C-7), 162.91 (C-1), 131.1 (C-3, 5), 127.5 (C-4), 116.2 (C-2, 6), 26.9 (CH₃)。以上数据与文献[22]报道的基本一致, 故鉴定该化合物为4-hydroxyacetophenone。

化合物 **17** 白色固体粉末, 分子式 $C_8H_8O_2$, ESI-MS m/z 159.0 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.64 (1H, s, CHO), 7.63 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-3, 5), 6.72 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-2, 6), 2.52 (3H, s, OCH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 191.0 (C-7), 166.4 (C-1), 132.7 (C-3, 5), 129.5 (C-4), 114.7 (C-6, 2, 2), 55.3 (OCH₃)。以上数据与文献[23]报道的基本一致, 故鉴定该化合物为对甲氧基苯甲醛。

化合物 **18** 白色固体粉末, 分子式 $C_{10}H_9NO_2$, ESI-MS m/z 198.1 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.93 (1H, s, NH-1), 8.80 (1H, d, $J=2.9$ Hz, H-2), 8.0 (1H, d, $J=7.2$ Hz, H-8), 7.48 (1H, d, $J=7.2$ Hz, H-5), 7.20 (2H, m, H-6, 7), 3.81 (3H, s,

OCH₃); ¹³C-NMR(150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 165.5(C-10), 136.8(C-2), 132.7(C-8), 125.8(C-9), 123.2(C-4), 120.6(C-5), 113.0(C-7), 112.1(C-6), 106.7(C-3), 51.0(OCH₃)。以上数据与文献[24]报道的基本一致,故鉴定该化合物为吡啶-3-甲酸甲酯。

化合物 19 白色固体粉末,分子式 C₁₉H₂₅NO₁₀, ESI-MS *m/z* 426.0 [M-H]⁻; ¹H-NMR(600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.26(2H, d, *J*=8.6 Hz, H-2, 6), 7.02(2H, d, *J*=8.6 Hz, H-3, 5), 4.92(1H, d, *J*=7.5 Hz, H-1'), 4.92(d, H-1''), 3.94(d, H-2''), 3.92(1H, s, H-7), 3.74(2H, s, H-5''), 3.69(1H, d, *J*=9.4 Hz, H-4''), 3.64(m, H-5'), 3.64(1H, d, *J*=9.4 Hz, H-3''), 3.36(m, H-2'), 3.36(m, H-3'), 3.31(m, H-4'); ¹³C-NMR(150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 157.1(C-4), 130.0(C-6), 129.7(C-2), 124.8(C-1), 120.0(C-8), 117.0(C-3, 5), 109.1(C-1''), 99.2(C-1'), 79.7(C-3''), 77.4(C-2''), 77.3(C-5'), 76.3(C-4''), 74.4(C-2'), 70.4(C-4'), 64.7(C-6'), 61.1(C-5''), 22.0(C-7)。以上数据与文献[25]报道基本一致,故鉴定该化合物为 4-[β -D-apiofuranoyl-(1 \rightarrow 6)-O- β -D-glucopyranosyloxy]phenylacetone nitrile。

化合物 20 无色晶体,分子式 C₁₆H₂₄O₅, ESI-MS *m/z* 319.0 [M+Na]⁺; ¹H-NMR(600 MHz, CDCl₃) δ : 8.01(1H, d, *J*=15.9 Hz, H-8), 6.45(1H, d, *J*=15.9 Hz, H-7), 5.77(1H, s, H-10), 3.83(1H, dd, *J*=7.8, 2.1 Hz, H-12a), 3.81(1H, m, H-3), 3.77(1H, dd, *J*=7.8 Hz, H-12b), 3.73(3H, s, OCH₃), 2.07(3H, s, H-15), 1.75(1H, dd, *J*=13.7, 10.2 Hz, H-2a), 1.75(1H, dd, *J*=13.7, 10.2 Hz, H-4b), 1.68(1H, m, H-2b), 1.19(3H, s, H-14), 0.91(3H, s, H-13); ¹³C-NMR(150 MHz, CDCl₃) δ : 166.67(C-11), 149.97(C-9), 133.34(C-7), 130.55(C-8), 117.83(C-10), 86.09(C-5), 82.34(C-6), 76.35(C-12), 65.37(C-3), 51.23(OCH₃-16), 48.48(C-1), 45.03(C-4), 43.06(C-2), 21.19(C-15), 19.16(C-14), 16.02(C-13)。以上数据与文献[26]报道的基本一致,故鉴定该化合物为(-)-methyl dihydrophosphate。

化合物 21 白色油状固体,分子式 C₂₁H₃₄O₇, ESI-MS *m/z* 819.3 [2M+Na]⁺; ¹H-NMR(600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 4.37(1H, d, H-6), 4.27(1H, d, *J*=13.2 Hz, H-16a), 4.03(1H, d, H-7), 3.59(3H, s, OCH-19), 1.99(1H, d, H-9), 1.69(3H, s, H-18), 1.67(3H, s, H-20); ¹³C NMR(150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 178.5(C-19), 81.4(C-7), 79.4(C-13, 16), 70.6(C-6), 64.5(C-17),

51.5(C-5), 51.0(OCH₃), 51.0(C-15), 48.4(C-9), 45.0(C-8), 44.2(C-4), 42.7(C-1, 14), 40.7(C-3), 40.1(C-10), 34.3(C-12), 32.1(C-18), 19.8(C-11), 19.1(C-2), 16.7(C-20)。以上数据与文献[27]中基本一致,故鉴定其为 methyl canavaliol ester。

化合物 22 白色固体粉末,分子式 C₂₄H₃₈O₁₂, ESI-MS *m/z* 517.2 [M-H]⁻; ¹H-NMR(600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 5.78(1H, s, H-4), 5.74(2H, m, H-1', 2'), 5.06[1H, s, 芹菜糖(Api)-1''], 4.30(1H, m, H-3'), 4.20(d, *J*=8.0 Hz, Glu-1), 2.41(1H, d, *J*=16.8 Hz, H-32), 1.91(3H, m, H-4'), 1.81(1H, s, CH₃-5), 0.93(3H, s, CH₃-1), 0.92(3H, s, CH₃-1); ¹³C-NMR(150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 197.4(C-3), 164.6(C-5), 133.9(C-2'), 130.6(C-1'), 126.1(C-4), 108.8(Api-1''), 99.7(Glu-1), 78.3(C-6), 77.6(Api-3''), 76.9(Glu-3), 76.5(Glu-5), 75.0(Api-2''), 74.7(Glu-2, 3'), 74.4(Api-4''), 71.0(Glu-4), 64.7(Glu-6), 64.5(Api-5''), 49.9(C-2), 41.3(C-1), 24.4(C-7), 21.3(C-4'), 23.1(C-8), 19.2(C-9)。以上数据与文献[28]报道的基本一致,故鉴定该化合物为 vomifoliol 3'-O- β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside。

4 抗幽门螺杆菌活性考察

4.1 抗 Hp26695 活性初筛^[29-32] 采用琼脂稀释法测定部分化合物对幽门螺杆菌 Hp26695 的抑制作用。精密称取各供试样品 1.0 mg, 加二甲基亚砜(DMSO)200 μ L 使溶解;量取供试品溶液 100 μ L, 加入培养基(含 10% 绵羊血)5 mL, 混匀后倾注平板,待凝固;培养基内药物浓度为 100 mg \cdot L⁻¹;使用无菌的生理盐水将幽门螺杆菌 24 h 培养液稀释成 6 \times 10⁸ CFU \cdot mL⁻¹ 的菌液,用接种环分别取一环菌液接种于培养基表面;同时设置阿莫西林平板对照(溶剂为 DMSO,质量浓度 10 mg \cdot L⁻¹)和 DMSO 平板对照(5 mL 培养基中含 DMSO 100 μ L),将各平板置于微需氧罐内,于 37 $^{\circ}$ C 培养 3 d 观察,结果发现化合物 3, 10 和 13 显示出了较好的抗菌活性。

4.2 最小抑菌浓度(MIC)检测^[33-36] 将初筛有活性的供试品溶液用培养基(含 10% 绵羊血)稀释,使其在培养基内质量浓度为 100, 50, 25, 10, 5, 1 mg \cdot L⁻¹, 混匀后倾注平板,待凝固;用无菌生理盐水将幽门螺杆菌 24 h 培养液稀释成 6 \times 10⁸ CFU \cdot mL⁻¹ 的菌液,用接种环分别取一环菌液接种于培养基表面;同时,设置阿莫西林平板对照和 DMSO 平板对照,将各平板置于微需氧罐内,于 37 $^{\circ}$ C 培养 3 d, 观察。结果化合物 1, 2, 4, 6, 18~22 的 MIC 均 >100 mg \cdot L⁻¹, 化

合物 **3** 的 MIC 为 $75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 化合物 **10** 和 **13** 的 MIC 均为 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 阿莫西林的 MIC 为 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 提示化合物 **10** 和 **13** 体外可较好地抑制 Hp26695 活性。

5 结论

本文从越南槐种子的甲醇提取物中分离、鉴定 22 个化合物, 包括 3 个黄酮类, 10 个异黄酮类, 3 个萜类, 1 个生物碱, 1 个糖苷类, 4 个酚酸类, 其中有 13 个化合物为首次从该植物中分离得到, 进一步丰富了越南槐种子的化学成分。体外抗幽门螺杆菌实验发现, 化合物 **10** 和 **13** 对 Hp26695 活性显示出了较好的抑制作用, 二者 MIC 均为 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。此外, 通过对化合物抗 Hp26695 活性及结构特点分析发现, 黄酮糖苷类化合物活性明显强于其他结构类型, 为越南槐活性物质基础的阐明及其进一步开发利用提供了一定的理论依据。后续将继续从越南槐不同药用部位中寻找高效抗幽门螺杆菌活性化合物, 并对这些活性化合物的作用机制进行解析。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] 潘其明, 黄日镇, 潘英明, 等. 山豆根的化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(1): 96-100.

[2] 陈影, 陈两绵, 仝燕, 等. 山豆根药理毒理研究进展[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(13): 2439-2442.

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 28.

[4] LEE J W, LEE J H, LEE C, et al. Inhibitory constituents of *Sophora tonkinensis* on nitric oxide production in RAW264.7 macrophages [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2015, 25(4): 960-962.

[5] AHN J, KIM Y M, CHAE H S, et al. Prenylated flavonoids from the roots and rhizomes of *Sophora tonkinensis* and their effects on the expression of inflammatory mediators and proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 [J]. J Nat Prod, 2019, 82(2): 309-317.

[6] TANG S, KONG L Y, LI Y H, et al. Novel *N*-benzenesulfonyl sophocarpinol derivatives as coxsackie B virus inhibitors [J]. ACS Med Chem Lett, 2015, 6(2): 183-186.

[7] MURTHY M, RAO E V, WARD R S. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectra of isoflavones [J]. Magn Reson Chem, 1986, 24: 225-230.

[8] XUAN Q C, HUANG R, MIAO C P, et al. Secondary metabolites of endophytic fungus trichoderma sp. YM 311505 of *azadirachta indica* [J]. Chem Nat Compd+, 2014, 50(1): 139-141.

[9] KINOSHITA T, ICHINOSE K, TAKAHASHI C, et al. Chemical studies on *Sophora tomentosa* the isolation of a new class of isoflavonoid [J]. Chem Pharm Bull, 1990, 38(10): 2756-2759.

[10] SONGSIANG U, WANICH S, PITCHUANCHOM S, et al. Bioactive constituents from the stems of *Dalbergia parviflora* [J]. Fitoterapia, 2009, 80(7): 427-431.

[11] ZHANG P F, LIU F M, LI W M. Synthesis of isoflavones via base catalysed condensation reaction of deoxybenzoin [J]. J Chem Res, 2008, 24(12): 683-685.

[12] AWOUAFACK M D, SPITELLER P, LAMSHÖFT M, et al. Antimicrobial isopropenyl-dihydrofuranoisoflavones from *Crotalaria lachnophora* [J]. J Nat Prod, 2011, 74(2): 272-278.

[13] 郑岩, 刘桦, 白焱晶, 等. 鸡血藤黄酮类化合物的研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 15(2): 152-154.

[14] 张亚梅, 张普照. 白辛树皮化学成分 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(23): 58-60.

[15] KULESH N I, VASILEVSLAYA N A, VESELOVA M V, et al. Minor polyphenols from *Maackia amurensis* wood [J]. Chem Nat Compd+, 2008, 44(6): 712-714.

[16] 蒋晓文, 白俊鹏, 田星, 等. 牛蒡根中黄酮苷类化学成分及其抗氧化活性构效关系的研究 [J]. 中草药, 2016, 47(5): 726-731.

[17] JUNG H, SHIN S Y, JUNG Y, et al. Quantitative relationships between the cytotoxicity of flavonoids on the human breast cancer stem-like cells MCF7-SC and their structural properties [J]. Chem Biol Drug Des, 2015, 86(4): 496-508.

[18] 黄火强, 丁福荣, 李璞, 等. 彝族“黄药”艾纳香化学成分 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(21): 106-108.

[19] DENG Y H, XU K P, ZHOU Y J, et al. A new flavonol from *Sophora tonkinensis* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2007, 9(1): 45-48.

[20] SACHA L, GORAN N, NORDENHEM H, et al. Hydroxy-methoxybenzoic methyl esters: synthesis and antifeedant activity on the Pine Weevil, *Hyllobius abietis* [J]. Z Naturforsch B, 2004, 59(7): 829-835.

[21] TIAN J K, SUN F, CHENG Y Y. Chemical constituents from the roots of *Ranunculus ternatus* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2006, 8(1/2): 35-39.

[22] DHANUSKODI S, MANIKANDAN S. EPR Investigations on γ -irradiated 4-hydroxyacetophenone single crystals: an NLO material [J]. Radiat Eff Defect S, 2005, 160(5): 197-205.

- [23] 戴鸥, 仰莲, 周勤, 等. 白及化学成分分离鉴定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(14): 43-47.
- [24] 杜文鹏, 徐彭, 刘波, 等. 毛竹笋化学成分研究(I)[J]. 中草药, 2015, 46(3): 334-338.
- [25] ZHANG H, LIAO Z X, YUE J M. Cyano- and Nitro-containing compounds from the roots of *Semiaquilegia adoxoides* [J]. Chinese J Chem, 2010, 22(10): 1200-1222.
- [26] 李晓锋, 胡晓茹, 戴忠, 等. 红花中2个倍半萜的分离和鉴定[J]. 中草药, 2012, 24(9): 1685-1687.
- [27] MURAKAMI T, KOHNO K, KISHI A, et al. Medicinal foodstuffs. XIX. absolute stereostructures of canavalioides a new Ent-kaurane-type diterpene glycoside, and gladiatosides A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, and C2, new acylated flavonol glycosides, from sword bean, the seeds of *Canavalia gladiate* [J]. Chem Pharm Bull, 2000, 48(11): 1673-1680.
- [28] HIROYUKI H, KATSURA F, JUNEI K, et al. Four new glycosides from Albizziae Cortex. III [J]. Chem Pharma Bull, 1992, 40(13): 534-535.
- [29] YOO H, CHASE H S, KIM Y M, et al. Flavonoids and arylbenzofurans from the rhizomes and roots of *Sophora tonkinensis* with IL-6 production inhibitory activity [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2014, 24(24): 5644-5647.
- [30] DU J, ZHANG W, LI X H, et al. Bioinformatics analysis of small RNAs in *Helicobacter pylori* and the role of NAT-67 under tinidazole treatment [J]. Mol Med Rep, 2020, 22(2): 1227-1234.
- [31] 邹春燕, 谢长顺. 幽门螺杆菌 *cagA* 基因多态性与胃癌细胞白细胞介素-22 mRNA 表达的关系研究[J]. 右江民族医学院学报, 2019, 41(5): 486-490.
- [32] 宫雅楠, 肖迪, 张建中. 幽门螺杆菌 CagA 转运相关蛋白 CagE、Cag δ 及 Cag β 的克隆表达及免疫反应性分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2013, 8(5): 393-396.
- [33] 张璐璐, 温博, 吕诚, 等. 基于代谢组学分析热炎宁合剂联合利奈唑胺对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌及其生物膜的抑制机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(13): 89-96.
- [34] ANDREWS J W. Determination of minimum inhibitory concentrations [J]. J Antimicrob Chemother, 2001, 48(Suppl 1): 5-16.
- [35] 周杰, 刘璐, 邱盛敏, 等. 不同产地花椒精油的化学成分分析及花椒精油固体制剂的抗真菌作用考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(2): 153-160.
- [36] JORGENSEN J H, FERRARO M J. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices [J]. Clin Infect Dis, 2009, 49(11): 1749-1755.

[责任编辑 刘德文]