

陕北膜荚黄芪中的一个新二苯基丁二酮

杨晓军^{1*}, 王超¹, 贾云鹏¹, 孙悦¹, 任火冰²

(1. 延安大学化学与化工学院, 陕西 延安 716000; 2. 陕西援康中药产业发展有限公司, 陕西 绥德 718000)

摘要: 采用硅胶和凝胶柱色谱技术, 结合现代波谱学方法及其理化性质分析, 从陕北膜荚黄芪 (*Astragalus membranaceus*) 醇提取物中共分离鉴定了7个化合物, 分别为黄芪甲苷 (1)、芒柄花素 (2)、毛蕊异黄酮 (3)、1-(4-羟苯基)-4-(2,4-羟苯基)-2-羟基-1,4-丁二酮 (4)、反式-4-甲基肉桂酸 (5)、槲皮素 (6) 和尿嘧啶核苷 (7)。其中化合物4为新化合物, 化合物5系首次从黄芪属中分得。体外抗肿瘤活性结果显示, 化合物4对人肺癌细胞A549增殖有一定抑制作用, IC_{50} 为11.41 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

关键词: 膜荚黄芪; 化学成分; 二苯基丁二酮; 细胞毒活性

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2022)08-2430-05

A new diphenyl butanedione from *Astragalus membranaceus* of northern Shanxi

YANG Xiao-jun^{1*}, WANG Chao¹, JIA Yun-peng¹, SUN Yue¹, REN Huo-bing²

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Yan'an University, Yan'an 716000, China; 2. Shaanxi Yuankang Traditional Chinese Medicine Industry Development Co., Ltd., Suide 718000, China)

Abstract: Seven compounds were isolated from *Astragalus membranaceus* of northern shaanxi by silica gel and Sephadex LH-20 column chromatographies. Their chemical structures were identified on the basis of their physical and chemical properties. These compounds were elucidated as astragaloside IV (1), formononetin (2), calycosin (3), 1-(4-hydroxyphenyl)-4-(2,4-hydroxyphenyl)-2-hydroxy-1,4-but anedione (4), (*E*)-4-methylcinnamic acid (5), quercetin (6), and uridine (7). Compound 4 is a new compound and compound 5 was isolated from the plants of *Astragalus* Linn. for the first time. The results of *in vitro* antitumor activity assay showed that compound 4 could inhibit the proliferation of A549 with IC_{50} values of 11.41 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

Key words: *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge.; chemical constituent; diphenyl butanedione; antitumor activity

黄芪为常用中药, 具有扶正强壮、降压利尿、保肝、抗癌等多种生理活性^[1-3]。主产于内蒙古、山西和黑龙江等省区。膜荚黄芪 [*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge.] 是黄芪的正品之一, 20世纪90年代末, 陕北也开始栽培。膜荚黄芪中的化学成分极其丰富, 有多糖、氨

基酸、黄酮、萜类和皂苷等^[4-9]。有关陕北膜荚黄芪化学成分的研究, 目前尚未见报道。为阐明陕北膜荚黄芪的化学成分、筛选出结构新颖且具有生理活性的天然产物, 本课题组对陕北产膜荚黄芪醇提取物进行分离纯化, 从中分离得到7个单体化合物, 经物理和化学方法分别鉴定为黄芪甲苷 (1)、芒柄花素 (2)、毛蕊异黄酮 (3)、1-(4-羟苯基)-4-(2,4-羟苯基)-2-羟基-1,4-丁二酮 (4)、反式-4-甲基肉桂酸 (5)、槲皮素 (6) 和尿嘧啶核苷 (7)。其中化合物4为新化合物, 化合物5系首次从黄芪中分得, 所分离得到的化合物结构见图1。对新化合物4进

收稿日期: 2022-02-08; 修回日期: 2022-03-14.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31860089); 陕西省科技厅项目 (2019JM-516); 榆林市科学技术资助项目 (CXY-2020-069); 2019年延安大学大学生创新项目。

*通讯作者 Tel: 86-911-2332037, E-mail: yangxiaojun2002@126.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2022-0148

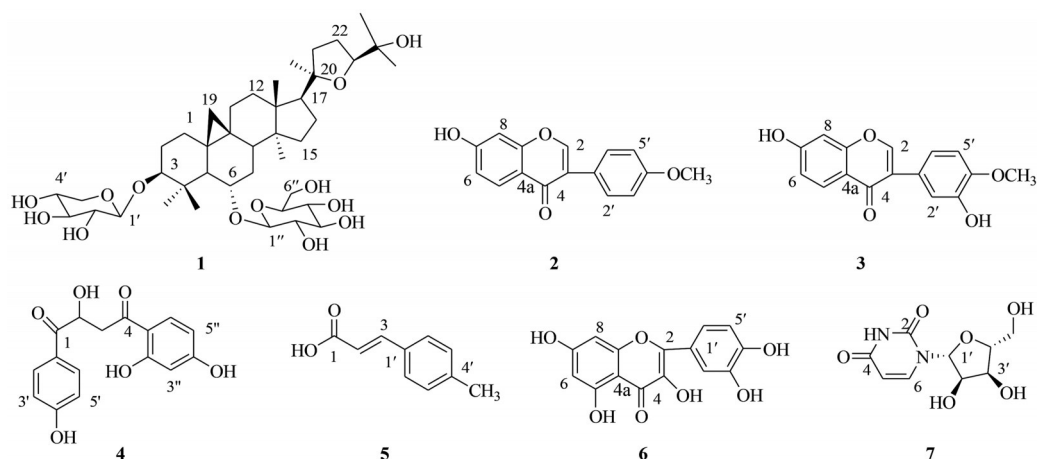


Figure 1 The structures of compounds 1-7

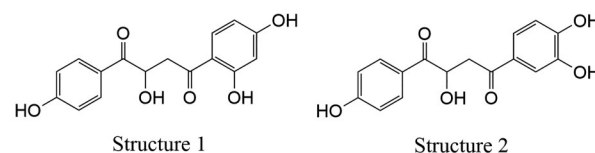
行肿瘤细胞毒活性测试, 发现其对入肺癌细胞 A549 增殖有一定的抑制作用, 其 IC_{50} 为 $11.41 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

结果与讨论

1 结构鉴定

化合物 4 白色粉末, 与三氯化铁反应呈阳性, 提示该化合物中含有酚羟基。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 和 $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 数据见表 1。HR-ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z : 303.087 3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (计算值 303.086 4), 结合 $^{13}\text{C NMR}$, 推测其分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_6$, 不饱和度为 10。化合物 1 的 $^1\text{H NMR}$ 谱 (表 1) 显示, 有 1 个 1,4-二取代苯环 δ_{H} 7.73 (2H, d, $J = 8.2$ Hz)、6.92 (2H, d, $J = 8.2$ Hz); 1 个 1,2,4-三取代苯环 δ_{H} 6.57 (1H, s)、7.99 (1H, d, $J = 8.4$ Hz) 和 7.12 (1H, d, $J = 8.4$ Hz); 3 个酚羟基 δ_{H} 9.57 (1H, br s)、8.41 (2H, br s) 以及 1 个醇羟基 δ_{H} 4.63 (1H, br s)。 $^{13}\text{C NMR}$ 和 DEPT 谱显示有 1 个亚甲基碳信号 (δ_{C} 42.6)、1 个连氧次甲基碳信号 (δ_{C} 78.4)、7 个芳香次甲基碳信号 (δ_{C} 104.3, 108.5, 115.6 \times 2, 131.2 \times 2, 132.3) 和 7 个季碳信号 (116.5, 128.7, 150.8, 157.1, 160.9, 198.1, 201.5)。 $^1\text{H}-^1\text{H COSY}$ 谱图中观察到连氧次甲基氢 δ_{H} 4.11 (1H, dd, $J = 7.3, 4.1$ Hz) 与亚甲基氢 δ_{H} : 3.01 (1H, d, $J = 7.3$ Hz)、2.86 (1H, d, $J = 4.1$ Hz) 相关。根据以上信息, 可以推出该化合物含有 1 个 1,4-二取代苯环、1 个 1,2,4-三取代苯环、2 个酮羰基 (δ_{C} 198.1, 201.5) 和 $-\text{CHCH}_2-$ 的片段。HMBC 谱图 (图 2) 中观察到, 1,4-二取代苯环上的芳香氢 δ_{H} 7.73 与酮羰基 (δ_{C} 198.1) 相关, 推出此苯环与酮羰基直接相连; 同时也观察到 $-\text{CHCH}_2-$ 片段中的次甲基 (δ_{H} 4.11) 与该 1,4-二取代苯环上的 1-位季碳 (δ_{C} 128.7) 以及另一个酮羰基 (δ_{C} 201.5) 也相关, 亚甲基 δ_{H} 3.01、2.86 与酮羰基 (δ_{C} 198.1) 和 1,2,4-三取代苯环的 1-位季碳 (δ_{C} 116.5) 相

关, 从而可以确定 $-\text{CHCH}_2-$ 片段的两端均为羰基, 即该化合物存在 $-\text{COCHCH}_2\text{CO}-$ 片段; 综合以上分析可以推断该化合物可能存在以下两种结构。



进一步分析 HMBC 谱图发现, 1,2,4-三取代苯环上的 δ_{H} 7.99 ($6''\text{-H}$) 与低场的 2 个连羟基芳香季碳 (δ_{C} 157.1, 160.9) 以及 4-位酮羰基 (δ_{C} 201.5) 均存在明显 $\text{H}\rightarrow\text{C}$ 相关的信息, 推出该苯环上的 2 个羟基处于间位。综合以上分析, 最终确定该化合物为结构 1, 即 1-(4-羟基苯基)-4-(2,4-羟基苯基)-2-羟基-1,4-丁二酮。

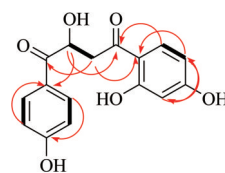


Figure 2 Key HMBC (\curvearrowright) and $^1\text{H}-^1\text{H COSY}$ (—) correlations of compound 4

2 化合物活性检测

采用 MTT 法测试了化合物 4 对人肺癌细胞 A549、人肝癌细胞 BEL-7402 和人胃癌细胞 SGC-7901 的体外细胞毒活性。测试结果 (表 2) 表明化合物 4 对 A549 表现出较强的细胞毒活性, 其 IC_{50} 值为 $11.41 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; 对 BEL-7402 和 SGC-7901 的生长也有一定的抑制作用, IC_{50} 值分别为 36.28 和 $45.37 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

3 小结

本研究主要报道了从陕北膜荚黄芪中分离并鉴定

Table 1 ^1H NMR (400 MHz) and ^{13}C NMR (100 MHz) data in DMSO- d_6 for compound **4**

Position	δ_{H}	δ_{C}	^1H - ^1H COSY	HMBC
1		198.1 (s)		
2	4.11 (1H, dd, $J = 7.3$, 4.1 Hz)	78.4 (d)	H-3	C-4, C-1'
3a	3.01 (1H, d, $J = 7.3$ Hz)	42.6 (t)	H-2	C-1, C-1''
3b	2.86 (1H, d, $J = 4.1$ Hz)			
4		201.5 (s)		
1'		128.7 (s)		
2',6'	7.73 (2H, d, $J = 8.2$ Hz)	131.2 (d)	H-3',5'	C-1, C-4'
3',5'	6.92 (2H, d, $J = 8.2$ Hz)	115.6 (d)	H-2',6'	C-1'
4'		150.8 (s)		
1''		116.5 (s)		
2''		157.1 (s)		
3''	6.57 (1H, s)	104.3 (d)		C-1'', C-5''
4''		160.9 (s)		
5''	7.12 (1H, d, $J = 8.4$ Hz)	108.5 (d)	H-6''	C-1'', C-3''
6''	7.99 (1H, d, $J = 8.4$ Hz)	132.3 (d)	H-5''	C-2'', C-4'', C-4
2-OH	4.63 (1H, br s)			
4',4''-OH	8.41 (2H, br s)			
2''-OH	9.59 (1H, br s)			

Table 2 IC_{50} values for cytotoxicity activity of compound **4** ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Compd.	$\text{IC}_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$		
	A549	BEL-7402	SGC-7901
4	11.41 ± 1.69	36.28 ± 1.21	45.37 ± 0.93
Taxol	0.58 ± 0.01	2.08 ± 0.26	1.35 ± 0.61

的7个化合物,其中化合物**4**为新化合物,化合物**5**系首次从黄芪属中分离得到。化合物**4**可有效抑制肺癌细胞A549的生长,该化合物具有潜在的抗肺癌活性,为陕北膜荚黄芪进一步的研究与开发提供了一定的理论依据。

实验部分

X-4型显微熔点仪(上海科学仪器有限公司); IR Prestige-21红外光谱仪(日本岛津公司); AV-400型核磁共振仪(瑞士Bruker公司), TMS为内标; MAT-711型质谱仪(美国Thermo公司); Autopol III旋光仪(Rudolph Research Analytical, Flanders, NJ, 美国); Sephadex LH-20 (Pharmacia 产品); 柱色谱和薄层色谱用硅胶(青岛海洋化工厂产品); 阳性对照品紫杉醇(江苏红豆杉药业有限公司); 人肝癌细胞株 BEL-7402、人肺癌细胞株 A549 和人胃癌细胞株 SGC-7901 (中国科学院上海细胞库) 保存于延安大学医学院细胞实验室; 甲基噻唑蓝 (MTT, 美国 Sigma-Aldrich 公司)。

黄芪药材(生长期为2年)于2020年3月采集自陕西省绥德县,经延安大学生命科学院白重炎研究员鉴

定为豆科膜荚黄芪的根,标本存放于延安大学天然产物化学实验室,标本编号为YD20200410。

1 提取与分离

称取黄芪根 7.0 kg (干重),用 10 倍量 70% 乙醇浸泡,超声波辅助下提取,每次 3 h,共 4 次,提取液过滤后,滤液经过减压回收溶剂得浸膏。将此浸膏溶解于适量水中,依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取,乙酸乙酯萃取物 (53.2 g) 采用硅胶柱色谱分离,以氯仿-甲醇 (100:0→1:2) 梯度洗脱分为 4 个组分 (Fr.1~4), Fr.1 经硅胶柱色谱 (洗脱剂为氯仿-甲醇 = 30:1), 将所得主成分进一步用 Sephadex LH-20 凝胶柱 (甲醇为洗脱剂) 纯化得化合物 **1** (59 mg); Fr.2 经硅胶柱色谱 (洗脱剂为氯仿-甲醇 = 20:1) 分得化合物 **2** (17 mg) 和化合物 **3** (14 mg); Fr.3 经硅胶柱色谱 (洗脱剂为氯仿-甲醇 = 15:1) 分得化合物 **4** (6 mg) 和化合物 **5** (7 mg); Fr.4 经硅胶柱色谱 (洗脱剂为氯仿-甲醇 = 9:1) 分得化合物 **6** (19 mg) 和化合物 **7** (6 mg)。

2 结构鉴定

化合物**1** 无色针状, mp 294.1~295.6 °C。ESI-MS m/z : 785.68 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ_{H} 5.06 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-1''), 5.01 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-1'), 4.81 (1H, dd, $J = 7.9, 7.2$ Hz, H-2'), 4.74 (1H, dd, $J = 7.8, 7.4$ Hz, H-2''), 4.38 (1H, d, $J = 11.7$ Hz, H-6a''), 4.32 (1H, d, $J = 10.6$ Hz, H-5a'), 4.26 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6b''), 4.23 (1H, dd, $J = 7.8, 7.3$ Hz, H-3''), 4.21 (1H, dd, $J = 7.8, 7.4$ Hz, H-4''), 4.19 (1H, dd, $J = 8.4, 4.2$ Hz, H-4'), 4.12 (1H, dd, $J = 8.4, 4.7$ Hz, H-3'), 3.93 (1H, dt, $J = 7.6, 4.3$ Hz, H-5''), 3.78 (1H, d t, $J = 9.3, 6.5$ Hz, H-6), 3.69 (1H, d, $J = 4.7$ Hz, H-5b'), 3.59 (1H, m, H-23), 3.47 (1H, t, $J = 6.5$ Hz, H-3), 2.31 (1H, d, $J = 4.7$ Hz, H-15a), 2.09 (2H, m, H-7), 1.96 (1H, dd, $J = 9.8, 3.6$ Hz, H-17), 1.82 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-15b), 1.79 (2H, dd, $J = 10.1, 5.4$ Hz, H-21), 1.79 (2H, m, H-22), 1.78 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 1.71, 1.46 (2H, m, H-2), 1.59 (1H, m, H-8), 1.58 (3H, s, H-18), 1.55 (2H, m, H-16), 1.48, 1.26 (2H, m, H-1), 1.46 (2H, dd, $J = 8.4, 4.2$ Hz, H-11), 1.43 (2H, dd, $J = 8.4, 4.2$ Hz, H-12), 1.38 (6H, s, H-29, 30), 1.33 (3H, s, H-27), 1.26 (6H, s, H-24, 25), 0.87 (3H, s, H-26), 0.54 (1H, s, H-19a), 0.34 (1H, s, H-19b); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ_{C} 33.3 (t, C-1), 27.2 (t, C-2), 82.5 (d, C-3), 39.9 (s, C-4), 53.3 (d, C-5), 79.1 (d, C-6), 34.7 (t, C-7), 41.7 (d, C-8), 24.5 (s, C-9), 28.4 (s, C-10), 27.9 (t, C-11), 34.9 (t, C-12), 39.9 (s, C-13), 48.3 (s, C-14), 37.4 (t, C-15), 24.0 (t, C-16), 56.8 (d, C-17), 18.9 (q, C-18), 28.9 (t, C-19), 80.2 (s, C-20), 38.8 (t, C-21), 25.8

(t, C-22), 83.3 (t, C-23), 19.1 (q, C-24, 25), 17.4 (q, C-26), 22.3 (q, C-27), 71.5 (s, C-28), 23.6 (q, C-29, 30), 103.2 (d, C-1'), 75.7 (d, C-2'), 79.3 (d, C-3'), 71.6 (d, C-4'), 78.3 (t, C-5'), 101.5 (d, C-1''), 79.5 (d, C-2''), 77.8 (d, C-3''), 73.6 (d, C-4''), 70.2 (d, C-5''), 63.1 (t, C-6'')。以上数据与文献^[10]报道基本一致, 故鉴定化合物**1**为黄芪甲苷。

化合物**2** 白色针晶, mp 255.3~256.7 °C。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ_{H} 9.69 (1H, br s, 7-OH), 8.35 (1H, s, H-2), 7.93 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-5), 7.38 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2', 6'), 6.94 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-6), 6.86 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3', 5'), 6.85 (1H, br s, H-8), 3.77 (3H, s, 4'-OCH₃); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ_{C} 153.0 (d, C-2), 124.3 (s, C-3), 175.9 (s, C-4), 118.0 (s, C-4a), 128.9 (d, C-5), 111.3 (d, C-6), 157.3 (s, C-7), 104.9 (d, C-8), 159.4 (s, C-8a), 124.7 (s, C-1'), 130.4 (d, C-2', 6'), 113.5 (d, C-3', 5'), 157.0 (s, C-4'), 55.7 (q, C-4'-OCH₃)。以上数据与文献^[6]报道的化合物芒柄花素数据一致, 故鉴定化合物**2**为芒柄花素。

化合物**3** 无色针状结晶, mp 244.7~246.3 °C。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ_{H} 9.76 (1H, br s, 7-OH), 9.01 (1H, br s, 3'-OH), 8.31 (1H, s, H-2), 7.94 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-5), 7.28 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-6'), 7.06 (1H, s, H-2'), 6.99 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 6.92 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-6), 6.87 (1H, s, H-8), 3.79 (3H, s, 4'-OCH₃); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ_{C} 151.4 (d, C-2), 121.7 (s, C-3), 179.6 (s, C-4), 117.3 (s, C-4a), 129.2 (d, C-5), 108.7 (d, C-6), 158.4 (s, C-7), 103.7 (d, C-8), 157.1 (s, C-8a), 124.7 (s, C-1'), 115.4 (d, C-2'), 148.9 (s, C-3'), 151.4 (s, C-4'), 114.5 (d, C-5'), 119.3 (s, C-6'), 62.3 (q, C-4'-OCH₃)。以上数据与文献^[5]报道基本一致, 故鉴定化合物**3**为毛蕊异黄酮。

化合物**4** 白色粉末, mp 169.2~171.3 °C, $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ +4.9 (*c* 0.01, CHCl₃); IR/cm⁻¹: 3 449、1 735、1 718、1 624、1 539、1 476; HR-ESI-MS *m/z*: 303.087 3 [M+H]⁺ (C₁₆H₁₅O₆ 计算值 303.086 4); ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据见表 1。

化合物**5** 白色固体, mp 190.2~191.7 °C, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ_{H} 12.28 (1H, br s, COOH), 7.64 (1H, d, *J* = 14.8 Hz, H-3), 7.63 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2', 6'), 6.74 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3', 5'), 6.42 (1H, d, *J* = 14.8 Hz, H-2), 2.36 (3H, s, 4'-CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ_{C} 170.3 (s, C-1), 115.8 (d, C-2), 145.9 (d, C-3), 129.4 (s, C-1'), 126.3 (d, C-2', 6'), 128.9 (d, C-3', 5'), 135.2 (s, C-4'), 24.6 (q, 4'-CH₃)。以上数据与文献^[12]报

道基本一致, 故确定为反式-4-甲基肉桂酸。

化合物**6** 黄色固体, mp 313.6~315.1 °C。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ_{H} 7.78 (1H, s, H-2'), 7.54 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-6'), 6.91 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-5'), 6.49 (1H, s, H-8), 6.23 (1H, s, H-6); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ_{C} 147.8 (s, C-2), 139.2 (s, C-3), 178.6 (s, C-4), 105.1 (s, C-4a), 158.9 (s, C-5), 100.1 (d, C-6), 160.0 (s, C-7), 96.7 (d, C-8), 124.5 (s, C-1'), 117.2 (d, C-2'), 145.9 (s, C-3'), 148.2 (s, C-4'), 116.1 (d, C-5'), 123.4 (d, C-6')。以上数据与文献^[13]报道的化合物槲皮素数据一致, 故鉴定化合物**6**为槲皮素。

化合物**7** 白色针晶, mp 163.4~165.1 °C。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ_{H} 11.16 (1H, br s, 3-NH), 7.76 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-6), 5.68 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5), 5.43 (1H, d, *J* = 5.9 Hz, H-1'), 5.35 (1H, br s, 2'-OH), 5.04 (1H, br s, 3'-OH), 4.98 (1H, br s, 5'-OH), 3.98 (1H, dd, *J* = 11.0, 5.7 Hz, H-2'), 3.87 (1H, dd, *J* = 8.7, 4.5 Hz, H-3'), 3.75 (1H, dd, *J* = 6.9, 3.3 Hz, H-4'), 3.67 (2H, m, H-5'); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ_{C} 167.4 (s, C-2), 170.3 (s, C-4), 103.1 (d, C-5), 141.2 (d, C-6), 85.6 (d, C-1'), 71.4 (d, C-2'), 74.3 (d, C-3'), 82.7 (d, C-4'), 65.4 (t, C-5')。以上数据与文献^[13]报道基本一致, 故鉴定化合物**7**为尿嘧啶核苷。

3 化合物**4**体外抑制肿瘤细胞增殖活性^[14]

采用MTT法测试化合物**4**对人肺癌细胞A549、人肝癌细胞BEL-7402和人胃癌细胞SGC-7901的体外细胞毒活性。化合物**4**用DMSO溶解后配成10 mmol·L⁻¹储备液, 测前稀释到适合的浓度。将3种人体肿瘤细胞制成单细胞悬浮液, 接种于96孔板上, 并设空白组、阳性对照组(紫杉醇)以及实验组, 每组设3个平行孔, 实验组为100、50、25、12.5、6.25 μmol·L⁻¹的含药样品溶液, 紫杉醇组为40、20、10、5、2.5 μmol·L⁻¹的含药样品溶液, 在96孔板中直接加入各个样品溶液10 μL, 连续培养48 h后。再加入10 μL配制好的MTT溶液(5 mg·mL⁻¹), 在CO₂恒温培养箱中恒温培养, 孵育后使用酶标仪测量其在波长为490 nm下的吸光度值(*A*), 计算对细胞增殖抑制率, 并用Origin 7.0软件计算其IC₅₀值。细胞增殖抑制率(%) = [(对照组*A*平均值 - 给药组*A*平均值) ÷ 对照组*A*平均值] × 100%。

作者贡献: 杨晓军是本文的第一作者也是通讯作者, 负责黄芪化学成分的分离纯化的指导工作; 王超和贾云鹏负责黄芪化学成分的分离工作, 孙悦负责相关稿件的修改; 任火冰负责黄芪药材的采集工作。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

References

- [1] Zhang Q, Gao WY, Man SL. Chemical composition and pharmacological activities of *Astragali Radix* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2012, 37: 3203-3207.
- [2] Jin ML, Zhao K, Shang P, et al. Structural feature and biological activities of the polysaccharides from *Astragalus membranaceus* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2014, 64: 257-266.
- [3] Sheik A, Kim K, Huh YS, et al. The anti-cancerous activity of adaptogenic herb *Astragalus membranaceus* [J]. *Phytomedicine*, 2021, 91: 153698.
- [4] Cao ZZ, Yu JH, Zhang Q. Chemical constituents of *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1985, 16: 38-39.
- [5] Yang L, Xiao ZY, Xiao R. Studies on the chemical constituents of the root of *Astragalus membranaceus* Bunge in Sichuan [J]. *West China J Pharm Sci* (华西药学杂志), 1990, 5: 211-215.
- [6] Yang RP, Hao DF, Su L, et al. The chemical constituents study of *Astragalus membranaceus* (Fisch) Bge. [J]. *Chin J Med Chem* (中国药物化学杂志), 2008, 18: 457-460.
- [7] Li YX, Li ZP, Yan SL, et al. Chemical constituents in roots of *Astragalus membranaceus* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2017, 48: 2601-2607.
- [8] Wang X, Tang SA, Duan HQ. Studies on astragalosides and related constituents from *Astragalus membranaceus* (Fisch) Bge [J]. *J Tianjin Med Univ* (天津医科大学学报), 2017, 23: 516-518.
- [9] Ehrman TM, Barlow DJ, Hylands PJ. Phytochemical databases of Chinese herbal constituents and bioactive plant compounds with known target specificities [J]. *J Chem Inf Model*, 2007, 47: 254-263.
- [10] He ZQ, Findlay JA. Constituents of *Astragalus membranaceus* [J]. *J Nat Prod*, 1991, 54: 810-815.
- [11] Radwan MM, Farooq A, Nadia A, et al. Acetals of three new cycloartane-type saponins from Egyptian collections of *Astragalus tomentosus* [J]. *J Nat Prod*, 2004, 67: 487-490.
- [12] Li YY, Tang XL, Li P, et al. Studies on chemical constituents of *Scutellaria barbata* D. Don [J]. *J Ocean Univ China* (中国海洋大学学报), 2013, 43: 77-80.
- [13] Wang ZB, Zhu WB, Kuang HX, et al. Flavonoids from the leaves of *Astragalus membranaceus* [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2017, 39: 1634-1638.
- [14] Ren FZ, Chen SH, Dong AH, et al. Coumarins of *Anemone raddeana* Regel. and their biological activity [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2012, 47: 206-209.