

两粤黄檀中一对新的异黄酮类对映异构体

宁小燕¹, 陈文娇¹, 西庆男¹, 冯旭¹, 梁臣艳^{1,2}, 刘锴³, 李兵^{1*}, 韦建华^{1*}

(1. 广西中医药大学药学院, 广西南宁 530200; 2. 广西优势中成药与民族药开发工程技术研究中心, 广西南宁 530200; 3. 广西中医药大学海洋药物研究院, 广西南宁 530200)

摘要: 运用硅胶、Sephadex LH-20 柱色谱及重结晶等方法对两粤黄檀 *Dalbergia benthamii* Prain 根茎的乙醇提取物进行分离纯化, 得到 13 个异黄酮类化合物, 通过理化性质和 MS、1D/2D NMR 等波谱数据确定化合物的结构, 分别鉴定为两粤黄檀素 (1)、butesuperin A (2)、xanthocercin A (3)、butesuperin B (4)、di-*O*-methylalpinum isoflavone (5)、2'-deoxgisoaunculutin (6)、robustone (7)、4'-hydroxy-5,7-dimethoxy-6-(3-methyl-2-butenyl)-isoflavone (8)、芒柄花素 (9)、6''-*O*-rhamnosyldaidzin (10)、3',4'-di-*O*-methylene-5-hydroxy-7-methoxy-6-isopentenyl isoflavone (11)、derrubone dimethyl enter (12) 和 derrubone (13)。其中化合物 1 为一对新的异黄酮对映异构体, 化合物 12 为新的天然产物, 化合物 1~7、10~13 为首次从该植物中分离得到。采用 MTS 测试了化合物 2~13 对 5 种细胞株 (人急性白血病细胞株 HL-60、人非小细胞肺癌细胞株 A-549、人肝癌细胞株 SMMC-7721、人乳腺癌细胞株 MCF-7、人结肠癌细胞株 SW480) 的体外细胞毒活性, 结果表明, 化合物 8 对人非小细胞肺癌细胞株 A-549 和人结肠癌细胞株 SW480 显示出较强的生长抑制活性, IC₅₀ 值分别为 16.68 ± 0.19 和 15.21 ± 0.60 μmol·L⁻¹。

关键词: 两粤黄檀; 异黄酮; 对映异构体; 两粤黄檀素; 细胞毒活性

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2023)01-0162-08

A pair of new isoflavonoid enantiomers from *Dalbergia benthamii* Prain

NING Xiao-yan¹, CHEN Wen-jiao¹, XI Qing-nan¹, FENG Xu¹, LIANG Chen-yan^{1,2},
LIU Kai³, LI Bing^{1*}, WEI Jian-hua^{1*}

(1. College of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China; 2. Guangxi Engineering and Technology Research Center for the Development of Proprietary Chinese Medicine and Ethnic Medicine, Nanning 530200, China; 3. Institute of Marine Drugs, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China)

Abstract: Thirteen isoflavones were separated and purified from an ethanol extract of the rhizome of *Dalbergia benthamii* Prain by using silica gel, Sephadex LH-20, recrystallization et al. Their structures were identified by physicochemical properties and spectral analysis such as MS, 1D/2D-NMR as dalbergibenthamin (1), butesuperin A (2), xanthocercin A (3), butesuperin B (4), di-*O*-methylalpinum isoflavone (5), 2'-deoxgisoaunculutin (6), robustone (7), 4'-hydroxy-5,7-dimethoxy-6-(3-methyl-2-butenyl)-isoflavone (8), formononetin (9), 6''-*O*-rhamnosyldaidzin (10), 3',4'-di-*O*-methylene-5-hydroxy-7-methoxy-6-isopentenyl isoflavone (11), derrubone dimethyl enter (12), and derrubone (13). Compound 1 is a pair of new isoflavonoid enantiomers, compound 12 is a new natural product and compounds 1–7 and 10–13 were obtained from *D. benthamii* Prain for the first time. *In vitro* cytotoxic activities of

收稿日期: 2022-06-24; 修回日期: 2022-08-07.

基金项目: 广西一流学科建设开放课题自然科学基金项目 (2019XK129); 广西壮瑶药重点实验室开放课题 (GXZY22.2019-10); 广西科技基地和人才专项 (桂科AD20238058); 广西中医药大学 2019 年校级硕士研究生创新项目 (YCSY20190050).

*通讯作者 Tel: 15994348543, E-mail: 215811180@qq.com;

Tel: 13977166476, E-mail: 237619535@qq.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2022-0768

the compounds were explored by MTS testing with HL-60, A-549, SMMC-7721, MCF-7 and SW480 cell lines. Results show that compound **8** significantly inhibited cellular proliferation. The IC_{50} of compound **8** in A-549 and SW480 cells was 16.68 ± 0.19 and $15.21 \pm 0.60 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

Key words: *Dalbergia benthamii* Prain; isoflavone; enantiomer; dalbergibenthamin; cytotoxic activity

两粤黄檀 (*Dalbergia benthamii* Prain) 为豆科黄檀属植物, 树干或根部心材为其药用部位, 主要分布在广西、广东、海南等地, 它作为壮医临床常用药, 资源丰富, 可通经活血, 主治跌打损伤、筋骨疼痛等症状^[1-3]。目前国内外对两粤黄檀的研究较少。前期, 本课题组从两粤黄檀中发现异黄酮、香豆素和甾醇等成分^[4], 为了进一步阐明两粤黄檀的物质基础, 寻找具有生物活性的化合物, 本实验对两粤黄檀的异黄酮类化学成分进行研究, 采取多种柱色谱分离手段, 从其乙醇提取物中分离到了13个异黄酮类化合物, 分别鉴定为两粤黄檀素 (**1**)、butesuperin A (**2**)、xanthocercin A (**3**)、butesuperin B (**4**)、di-*O*-methylalpinum isoflavone (**5**)、2'-deoxisoaunculutin (**6**)、robustone (**7**)、4'-hydroxy-5,7-dimethoxy-6-(3-methyl-2-butenyl)-isoflavone (**8**)、刺芒柄花素 (**9**)、6''-*O*-rhamnosyldaidzin (**10**)、3',4'-di-*O*-methylene-5-hydroxy-7-methoxy-6-isopentenyl isoflavone (**11**)、derrubone dimethyl enter (**12**) 和 derrubone (**13**), 结构见图1。其中化合物**1**为新化合物且为一对光学对映异构体, 分别命名为(1''*R*,2''*R*)-两粤黄檀素和(1''*S*,2''*S*)-两粤黄檀素, 化合物**12**为新的天然产物, 化合物**1**~**7**、

10~**13**为首次从该植物中分离得到。MTS法显示化合物**8**、**12**和**13**具有体外肿瘤细胞毒活性。

结果与讨论

1 结构鉴定

化合物**1** 无色粉末, 能溶于氯仿、乙酸乙酯, 难溶于甲醇。HR-ESI-MS给出准分子离子峰 m/z : 435.104 8 $[M+Na]^+$ ($C_{22}H_{20}O_8Na$, 计算值为435.105 6), 推测其分子式为 $C_{22}H_{20}O_8$, 计算其不饱和度为13。¹H NMR谱显示芳香区有5个质子, 其中 δ_H 8.02 (1H, s) 是异黄酮2-位质子的特征信号, 利用HSQC谱中确定其对应的碳信号为 δ_C 151.8, 结合¹³C NMR中的 δ_C 174.3 (异黄酮的C-4) 推断该化合物为异黄酮类化合物; δ_H 7.44 (1H, d, $J = 1.7$ Hz)、 δ_H 7.17 (1H, dd, $J = 8.0, 1.7$ Hz) 和 δ_H 6.97 (1H, d, $J = 8.0$ Hz) 的信号显示芳香区存在一个ABX耦合系统, 分别为黄酮B环的2'-、6'-和5'-H, 通过HSQC谱确定它们对应的碳位置: δ_C 110.4、 δ_C 108.5、 δ_C 122.8; δ_H 5.97、5.98 (2H, d, $J = 1.3$ Hz) 为-OCH₂O-的氢信号, δ_H 6.24 (1H, dd, $J = 6.5, 3.5$ Hz)、 δ_H 5.12 (1H, d, $J = 3.5$ Hz) 为2个连氧基团质子信号; δ_H 3.74 (3H, s) 为1个甲基

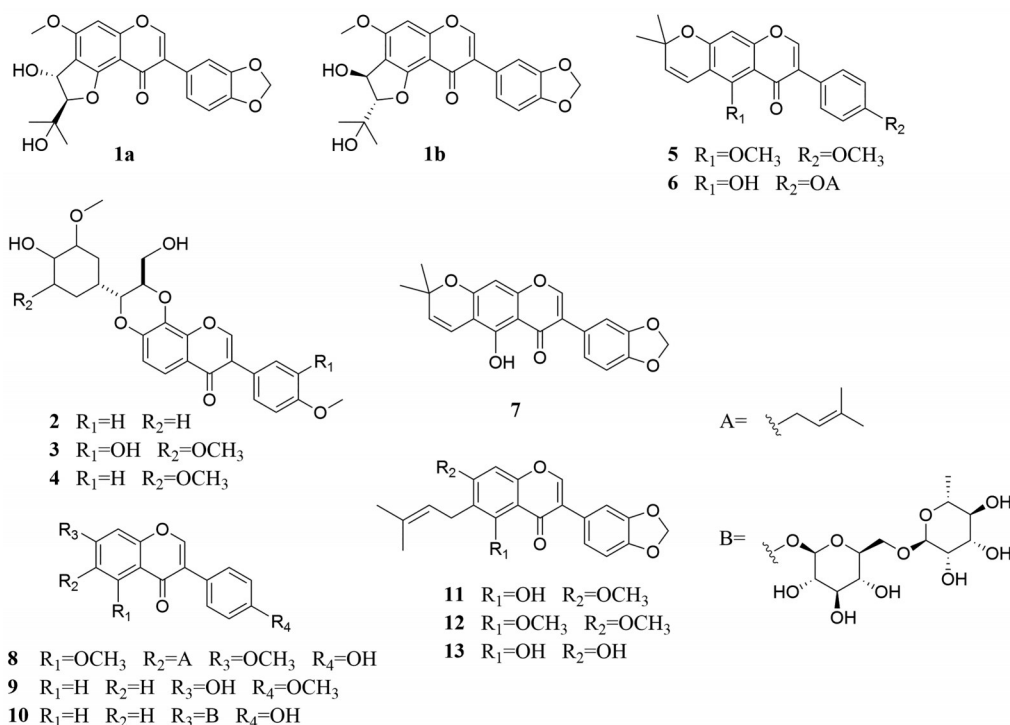


Figure 1 Chemical structures of compounds 1-13

质子信号, δ_{H} 1.67 (3H, s)、 δ_{H} 1.64 (3H, s) 分别为甲基质子信号。 ^{13}C NMR 谱显示该化合物有 22 个碳, 其中 δ_{C} 174.3 为异黄酮 4-位羰基碳信号。HMBC 谱中显示 δ_{H} 5.970 (1H, d, $J = 1.3$ Hz)、 δ_{H} 5.974 (1H, d, $J = 1.3$ Hz) 与 δ_{C} 147.9、 δ_{C} 148.0 有相关, 提示该 CH_2 通过两个氧原子与苯环的 δ_{C} 147.9、 δ_{C} 148.0 相连, H-2/C-9 相关, H-8/C-6、C-10 相关, H-1"/C-5、C-3" 相关, H-2"/C-6、C-5、C-4"、C-5" 相关, H-7"/C-3'、C-4' 远程相关, H-4"/C-2" 相关, H-5"/C-2" 相关, H-3"-OH/C-4"、C-5" 相关, H-1"-OH/C-1"、C-6 相关。 ^1H - ^1H COSY 谱中显示 H-5'/H-6' 相关, 进一步证实了苯环 ABX 耦合系统的存在; H-1"/H-2" 相关提示了 C-1"-C-2" 片段的存在, 由 NOESY 谱中 H-1"/H-4" 相关可知, 手性 C-1" 和 C-2" 的相对构型为 1"*S** 和 2"*R** (结构及相关性见图 2)。结合 Scifinder 查询结果, 确定该化合物为新化合物, 借助于 1D 和 2D NMR 数据 (图 2), 对化合物 **1** 的 ^1H 和 ^{13}C NMR 信号进行了全归属 (表 1)。

由于该化合物比旋光度很小, 为 $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +2.2$ (*c* 0.5, CH_3OH), 推测该化合物可能为外消旋体。通过手性柱

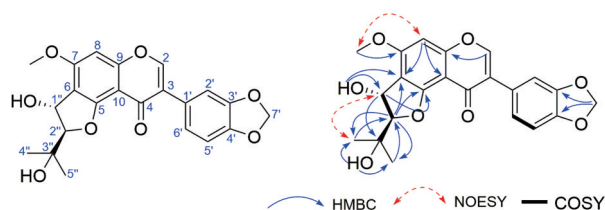


Figure 2 Structure and key HMBC, ^1H - ^1H COSY and NOESY related signals of compound **1**

在制备液相上分析, 发现有 2 个峰面积大约为 1:1 的峰, 再通过半制备手性柱分离得到 2 个光学纯化合物 **1a** 和 **1b**, 实验测得比旋光度分别为 23.16 和 -5.43, 为了确定它们的绝对构型, 分别建立 *RR* 和 *SS* 两种构型的模型, 在 MMFF94 力场下进行构象搜索, 分别获得 2 种优势的构象, 再利用 Gaussian16 软件在 B3LYP(GD3BJ)/6-31G(d) 水环境下进行结构优化和频率计算, 优化后的结构在 B3LYP/aug-cc-pVTZ 下进行比旋光度的计算, 发现 *RR* 和 *SS* 两种构型比旋光度的正负关系及大小分别为 +114.2 和 -114.0。而实验测得两种构型比旋光度为 23.16 和 -5.43, 其中 23.16 对应的构型为 *RR*, -5.43 对应的构型为 *SS*。因此, 化合物 **1a** 和 **1b** 结构分别鉴定为 (1"*R*, 2"*R*)-两粤黄檀素和 (1"*S*, 2"*S*)-两粤黄檀素。

化合物 **12** 黄色针状结晶 (氯仿); EI-MS m/z : 394 $[\text{M}]^+$; 分子式 $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{O}_6$ 。 ^1H NMR 谱中, δ_{H} 7.79 (1H, s) 是异黄酮 2-位质子的特征信号, 结合 ^{13}C NMR 中的 δ_{C} 174.9 (异黄酮的 C-4) 推断该化合物为异黄酮类化合物; δ_{H} 7.08 (1H, d, $J = 1.7$ Hz)、 δ_{H} 6.94 (1H, dd, $J = 8.0, 1.7$ Hz)、 δ_{H} 6.85 (1H, d, $J = 8.0$ Hz) 的信号显示芳香区存在一个 ABX 耦合系统, 分别为黄酮 B 环的 2'-、6'-和 5'-H; δ_{H} 6.64 (1H, s) 为苯环五取代的芳氢信号; δ_{H} 5.14~5.18 (1H, m)、 δ_{H} 3.41 (2H, d, $J = 6.7$ Hz)、 δ_{H} 1.66 (3H, s)、 δ_{H} 1.79 (3H, s) 提示有 1 个异戊烯基存在; δ_{H} 5.97 (2H, s) 为 $-\text{OCH}_2\text{O}-$ 的氢信号; δ_{H} 3.91 (3H, s)、 δ_{H} 3.85

Table 1 ^1H NMR (500 MHz) and ^{13}C NMR (125 MHz) data of compound **1** and **12** (J in Hz)

No.	1 (pyridine- d_5)		No.	12 (CDCl_3)	
	δ_{H}	δ_{C}		δ_{H}	δ_{C}
C-2	8.02 (1H, s)	151.8 (d)	C-2	7.79 (1H, s)	150.5 (d)
C-3		125.3 (s)	C-3		125.9 (s)
C-4		174.3 (s)	C-4		174.9 (s)
C-5		161.9 (s)	C-5		158.1 (s)
C-6		115.8 (s)	C-6		122.6 (s)
C-7		161.0 (s)	C-7		162.2 (s)
C-8	6.52 (1H, s)	92.2 (d)	C-8	6.64 (1H, s)	95.1 (d)
C-9		160.1 (s)	C-9		157.8 (s)
C-10		107.2 (s)	C-10		113.0 (s)
C-1'		126.8 (s)	C-1'		125.9 (s)
C-2'	7.44 (1H, d, 1.7)	110.4 (d)	C-2'	7.08 (1H, d, 1.7)	110.1 (d)
C-3'		147.9 (s)	C-3'		147.6 (s)
C-4'		148.0 (s)	C-4'		147.5 (s)
C-5'	6.97 (1H, d, 8.0)	108.5 (d)	C-5'	6.85 (1H, d, 8.0)	108.3 (d)
C-6'	7.17 (1H, dd, 8.0, 1.7)	122.8 (d)	C-6'	6.94 (1H, dd, 8.0, 1.7)	122.4 (d)
C-7'	5.970, 5.974 (each 1H, d, 1.3)	101.7 (t)	C-7'	5.97 (2H, s)	101.1 (t)
C-1"	6.24 (1H, dd, 6.5, 3.5)	70.3 (d)	C-1"	3.41 (2H, d, 7.1)	22.4 (t)
C-2"	5.12 (1H, d, 3.5)	101.0 (d)	C-2"	5.14~5.18 (1H, m)	122.4 (d)
C-3"		70.8 (s)	C-3"		131.8 (s)
C-4"	1.64 (3H, s)	26.5 (q)	C-4"	1.66 (3H, s)	25.8 (q)
C-5"	1.67 (3H, s)	26.2 (q)	C-5"	1.79 (3H, s)	17.9 (q)
7-OCH ₃	3.74 (3H, s)	55.8 (q)	5-OCH ₃	3.85 (3H, s)	62.3 (q)
1"-OH	7.61 (1H, br d, 6.5)		7-OCH ₃	3.91 (3H, s)	56.0 (q)
3"-OH	6.58 (1H, br s)				

(3H, s) 为 2 个甲氧基质子信号。 ^{13}C NMR 谱中, 共显示 23 碳信号, 结合 DEPT 谱发现, 其中 δ_{C} 174.9 为酮羰基碳信号、 δ_{C} 101.1 为 $-\text{OCH}_2\text{O}-$ 碳信号; 1 个三取代苯环上的碳信号 [δ_{C} 147.6 (C-3'), 147.5 (C-4'), 125.9 (C-1'), 122.4 (C-6'), 110.1 (C-2'), 108.3 (C-5')], 1 个五取代苯环上的碳信号 [δ_{C} 162.2 (C-7), 158.1 (C-5), 157.8 (C-9), 113.0 (C-10), 95.1 (C-8), 122.6 (C-6)], 2 个甲氧基碳信号 [δ_{C} 62.3 (5- OCH_3), 56.0 (7- OCH_3)], 2 个甲基碳信号 [δ_{C} 25.8 (C-4''), 17.9 (C-5'')]. 在 HMBC 谱中, H-2'/C-9、C-4、C-3 相关, H-2'/H-6'/C-3 相关, 确定为异黄酮类化合物; H-7'/C-4'、C-3' 相关, 提示该 CH_2 通过两个氧原子与苯环的 δ_{C} 147.6、 δ_{C} 147.5 相连; δ_{H} 3.91 和 3.85 为 2 个甲氧基氢分别与 C-5 和 C-7 相关, 表明 2 个甲氧基分别连在 C-5 和 C-7 上, H-1''、H-4''、H-5'' 分别与 C-2''、C-3'' 有相关, 提示存在一个异戊烯基。

综合以上信息, 确定化合物 **12** 结构为 3',4'-di-*O*-methylene-5,7-dimethoxy-6-isopentenyl isoflavone。经检索, 化合物 **12** 与文献^[5]报道合成的产物 derrubone dimethyl enter 具有相同结构, 而相关文献未见其波谱数据报道, 因此确定化合物 **12** 为新天然产物, 借助于 1D 和 2D 数据 (图 3), 对化合物 **12** 的 ^1H 和 ^{13}C NMR 信号进行了全归属 (表 1)。

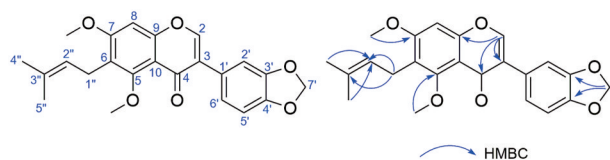


Figure 3 Structure and key HMBC related signals of compound **12**

2 化合物活性检测

细胞毒活性测试以顺铂 (DDP) 和紫杉醇 (taxol) 为阳性对照, 初步检测了化合物 **2**~**13** 对人急性白血病细胞株 (HL-60)、人非小细胞肺癌细胞株 (A-549)、人肝癌细胞株 (SMMC-7721)、人乳腺癌细胞株 (MCF-7)、人结肠癌细胞株 (SW480) 增殖的抑制作用。测试结果表明, 化合物 **8**、**12**、**13** 对 5 种肿瘤细胞均具有不同程度的生长抑制活性, 其中化合物 **8** 对 A-549、SW480 细胞毒活性较强, 其 IC_{50} 分别为 $16.68 \pm 0.19 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $15.21 \pm 0.60 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。结果见表 2。

Table 2 Cytotoxicities of compounds **8**, **12**, **13** ($\text{IC}_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$). DDP: Cisplatin

Compound	HL-60	A-549	SMMC-7721	MCF-7	SW480
8	14.35 ± 0.10	16.68 ± 0.19	16.02 ± 0.43	19.77 ± 1.44	15.21 ± 0.60
12	23.24 ± 0.75	27.22 ± 2.21	16.26 ± 0.58	25.41 ± 1.32	23.92 ± 0.84
13	18.47 ± 1.30	21.30 ± 0.94	32.78 ± 1.61	21.18 ± 0.81	20.60 ± 1.37
DDP	5.58 ± 0.33	17.50 ± 0.43	14.21 ± 0.31	16.37 ± 1.33	17.27 ± 1.20
Taxol	< 0.008	< 0.008	0.522 ± 0.100	< 0.008	< 0.008

实验部分

Waters Autospec Premier 776 质谱仪 (Waters 公司, 美国); Bruker Drx-500 MHz 核磁共振光谱仪 (Bruker 公司, 瑞士); 岛津 LC-20AR 半制备型 HPLC 仪 (日本岛津公司); YMC-Pack ODS-A 柱 (250 mm \times 10 mm, 5 μm , 日本 YMC 公司); 大赛璐 CHIRALCEL IC00CE-AQ059 手性柱 (250 mm \times 4.6 mm, 3 μm , 日本 Daicel 公司); TD 电子分析天平 (德国赛多利斯公司); 旋转蒸发器 (EYELA OSB-2100、OSB-2200, 上海爱朗仪器有限公司); ZF-6 型三用紫外分析仪 (上海嘉鹏科技有限公司); CO_2 培养箱 (370)、酶标仪 (MULTISKAN FC)、高压灭菌器 (Hirayama HVE-50) (Thermo 公司); 显微镜 (Primo vert, ZEISS 公司); 细胞计数仪 (Cellometer mini, Nexelom 公司); 台式低速离心机 (L500, 湘仪集团); LH-20 羟丙基葡聚糖凝胶 (Sephadex LH-20, 瑞典 GE Healthcare 公司); 柱色谱硅胶 (100~200 目、200~300 目, 国药集团化学试剂有限公司); 硅胶色谱板 (50 mm \times 100 mm 等, 青岛海洋化工有限公司); DMEM 培养基 (0024719)、阳性药顺铂 (N1001A)、紫杉醇 (D1106A) 均购自美仑生物科技有限公司; MTS 试剂盒 (0000219904) 购自普洛麦格公司, 其他试剂均为分析纯, 购自四川西陇科学有限公司; 人急性白血病细胞株 HL-60、人非小细胞肺癌细胞株 A-549、人肝癌细胞株 SMMC-7721、人乳腺癌细胞株 MCF-7、人结肠癌细胞株 SW480 均购自美国模式菌种收集中心 ATCC。

两粤黄檀于 2017 年 7 月采于广西靖西, 由广西中医药大学韦松基教授鉴定为豆科黄檀属植物两粤黄檀 *Dalbergia benthamii* Prain 的根茎。样品标本 (No. DBP201707) 存放于广西中医药大学中药化学实验室。

1 提取分离

两粤黄檀药材粗粉 20 kg, 先后采用 10 倍量 95% 和 60% 乙醇渗漉提取, 回收溶剂, 总提取物用温水悬浮, 依次用石油醚 (60~90 $^{\circ}\text{C}$)、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇萃取, 回收溶剂, 得到石油醚部位浸膏 66.6 g, 氯仿部位浸膏 510.4 g, 乙酸乙酯部位浸膏 288.9 g, 正丁醇部位浸膏 580.8 g 和水部位浸膏 612.7 g, 各浸膏于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。

氯仿部位浸膏 260 g, 经硅胶柱色谱分离, 氯仿-丙酮 (100:0、50:1、20:1、10:1、5:1、0:100) 梯度洗脱, 得

到9个组分(Fr.L1~9)。Fr.L1经硅胶柱色谱,以石油醚:乙酸乙酯(100:1~1:1)梯度洗脱,得3个组分;组分1(黄色粉末)经Sephadex LH-20柱色谱(氯仿:甲醇=1:1),得化合物**6**(4.5 mg);组分2(黄色粉末)经硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯(40:1~8:1)梯度洗脱,得化合物**7**(6.4 mg)。Fr.L3经硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯(20:1~1:1)梯度洗脱,得到5个组分。组分1(1~56)经硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯(100:1~10:1)梯度洗脱,流分(78~84)经Sephadex LH-20柱色谱(氯仿-甲醇=1:1),得化合物**12**(3.1 mg);流分(125~129)经Sephadex LH-20柱色谱(氯仿-甲醇=1:1),得化合物**13**(3.0 mg);流分(116~118)用氯仿-丙酮反复重结晶,得到化合物**5**(3.2 mg)。Fr.L4硅胶柱色谱,经石油醚-丙酮(40:1~2:1)梯度洗脱,流分(176~191)经硅胶柱色谱,石油醚-丙酮(1:1)洗脱,得到白色粉末,再经Sephadex LH-20(氯仿-甲醇=1:1),得化合物**1**(3.3 mg),经CHIRALCEL IC00CE-AQ059手性柱(3 μm , 4.6 mm \times 250 mm)拆分得到化合物**1a**(正己烷-异丙醇40:60, t_{R} = 13.6 min, 1.5 mg)和化合物**1b**(正己烷-异丙醇40:60, t_{R} = 37.2 min, 1.3 mg)。Fr.L5经硅胶柱色谱,以石油醚-丙酮(30:1~1:1)梯度洗脱。其中流分31~53经硅胶柱色谱,以石油醚-丙酮(30:1~2:1)梯度洗脱,Sephadex LH-20(氯仿-甲醇=1:1)纯化,得化合物**11**(3.4 mg);流分80~85中得到白色粉末,经氯仿-丙酮反复重结晶和Sephadex LH-20(氯仿-甲醇=1:1),得化合物**8**(3.2 mg)和化合物**9**(1.5 mg);流分152中得到白色粉末,经氯仿-甲醇反复重结晶和Sephadex LH-20(氯仿-甲醇=1:1),得化合物**2**(3.3 mg);流分160~166中得到白色粉末,经丙酮反复重结晶,得化合物**4**(3.5 mg)。Fr.L6经硅胶柱色谱,氯仿-甲醇(50:1~3:1)梯度洗脱。在流分10~14中得到白色粉末,经氯仿-丙酮反复重结晶,Sephadex LH-20(氯仿-甲醇=1:1)纯化,得化合物**3**(3.3 mg)。

正丁醇部位浸膏300 g,大孔吸附树脂柱色谱分离,乙醇-水系统(水、30%乙醇、50%乙醇、70%乙醇、90%乙醇)进行洗脱,得到5个组分(Fr.Z1~5)。Fr.Z2用MCI反相色谱水-甲醇(20%甲醇、40%甲醇、60%甲醇、甲醇)梯度洗脱,得到4个组分。Fr.Z2-2经制备液相色谱仪进行分离得到化合物**10**(1.3 mg)。

2 结构鉴定

化合物**1** 无色粉末,能溶于氯仿、乙酸乙酯,难溶于甲醇。HR-ESI-MS给出准分子离子峰 m/z : 435.104 8 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{O}_8\text{Na}$, 计算值为435.105 6),推测其分子式为 $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{O}_8$,计算其不饱和度为13。化合物**1a**和**1b** $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ (c 0.5, CH_3OH) 分别为23.16和-5.43,化合物

1a和**1b**结构分别鉴定为(1''*R*,2''*R*)-两粤黄檀素和(1''*S*,2''*S*)-两粤黄檀素。 ^1H NMR、 ^{13}C NMR数据见表1。

化合物**2** 无色粉末(甲醇);EI-MS m/z 463 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 448 $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$;分子式 $\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{O}_8$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ_{H} 7.99 (1H, s, H-2), 7.74 (1H, d, J = 8.9 Hz, H-5), 7.44 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-2',6'), 7.25 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-5''), 7.02 (1H, d, J = 8.9 Hz, H-6), 6.94 (1H, dd, J = 8.0, 2.0 Hz, H-9''), 6.92 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-3',5'), 6.88 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-8''), 5.06 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-1''), 4.10~4.12 (1H, m, H-2''), 3.88 (1H, dd, J = 12.6, 2.4 Hz, H-3''), 3.87 (3H, s, 6''- OCH_3), 3.80 (3H, s, 4'- OCH_3), 3.57 (1H, dd, J = 12.6, 4.0 Hz, H-3''). ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ_{C} 176.8 (C-4), 159.9 (C-4'), 152.6 (C-2), 148.1 (C-7), 147.9 (C-6''), 147.3 (C-7''), 147.0 (C-9), 132.2 (C-8), 130.4 (C-2',6'), 127.1 (C-4''), 125.0 (C-1'), 124.1 (C-3), 120.9 (C-9''), 119.1 (C-10), 117.9 (C-6), 115.6 (C-5''), 115.4 (C-5), 114.2 (C-3',5'), 110.5 (C-8''), 79.0 (C-1''), 77.1 (C-2''), 61.0 (C-3''), 56.1 (6''- OCH_3), 55.5 (4'- OCH_3)。以上波谱数据与文献报道的数据基本一致^[6],鉴定化合物**2**为butesuperin A。

化合物**3** 白色粉末(氯仿);EI-MS m/z 508 $[\text{M}]^+$;分子式 $\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ_{H} 7.94 (1H, s, H-2), 7.71 (1H, d, J = 8.9 Hz, H-5), 7.02 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-2'), 6.98 (1H, d, J = 8.9 Hz, H-6), 6.94 (1H, dd, J = 2.1, 8.3 Hz, H-6'), 6.85 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 6.63 (2H, s, H-5'',9''), 5.01 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-1''), 4.04~4.07 (1H, m, H-2''), 3.87 (1H, dd, J = 12.8, 2.5 Hz, H-3''), 3.84 (6H, s, 6'',8''- OCH_3), 3.83 (3H, s, 4'- OCH_3), 3.53 (1H, dd, J = 12.7, 3.7 Hz, H-3''). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ_{C} 176.3 (C-4), 152.3 (C-2), 147.7 (C-7), 147.6 (C-6'',8''), 147.4 (C-4'), 146.6 (C-3'), 145.7 (C-9), 135.7 (C-7''), 131.8 (C-8), 126.0 (C-4''), 124.75 (C-1'), 124.4 (C-3), 120.6 (C-6'), 118.9 (C-10), 117.7 (C-6), 115.7 (C-5), 115.2 (C-2'), 111.1 (C-5'), 104.3 (C-5'',9''), 78.7 (C-1''), 77.0 (C-2''), 60.7 (C-3''), 56.3 (6'',8''- OCH_3), 55.8 (4'- OCH_3)。以上波谱数据,结合文献^[7,8],鉴定化合物**3**为xanthocercin A。

化合物**4** 无色粉末(氯仿);EI-MS m/z 492 $[\text{M}]^+$;分子式 $\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{O}_9$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ_{H} 8.28 (1H, s, H-2), 8.07 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-5), 7.81 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2',6'), 7.26 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-6), 7.08 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-3',5'), 6.96 (2H, s, H-5'',9''), 5.60 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-1''), 4.58 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-2''), 4.35 (1H, dd, J = 12.4, 2.5 Hz, H-3''), 4.01 (1H, dd, J =

12.4, 3.6 Hz, H-3''), 3.84 (6H, s, 6'',8''-OCH₃), 3.70 (3H, s, 4'-OCH₃)。 ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ_c 175.7 (C-4), 160.1 (C-4'), 152.6 (C-2), 149.4 (C-6'',8''), 148.4 (C-7), 147.1 (C-9), 138.6 (C-7''), 133.1 (C-8), 130.9 (C-2',6'), 126.5 (C-4''), 125.1 (C-1'), 124.9 (C-3), 119.8 (C-10), 117.7 (C-6), 115.4 (C-5), 114.3 (C-3',5'), 106.4 (C-5'',9''), 80.1 (C-1''), 78.0 (C-2''), 61.2 (C-3''), 56.5 (6'',8''-OCH₃), 55.3 (4'-OCH₃)。以上波谱数据与文献^[6,9]报道的数据基本一致, 鉴定化合物**4**为 butesuperin B。

化合物**5** 白色粉末 (丙酮); EI-MS *m/z* 364 [M]⁺; 分子式 C₂₂H₂₀O₅。 ¹H NMR (500 MHz, CD₃COCD₃) δ_H 8.03 (1H, s, H-2), 7.50 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-2',6'), 6.95 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-3',5'), 6.72 (1H, d, *J* = 10.1 Hz, H-4''), 6.61 (1H, s, H-8), 5.86 (1H, d, *J* = 10.1 Hz, H-3''), 3.85 (3H, s, 5-OCH₃), 3.82 (3H, s, 4'-OCH₃), 1.46 (6H, s, 2''-CH₃×2)。 ¹³C NMR (125 MHz, CD₃COCD₃) δ_c 174.6 (C-4), 160.4 (C-7), 159.5 (C-4'), 158.7 (C-5), 156.6 (C-9), 151.6 (C-2), 131.9 (C-3''), 131.2 (C-2',6'), 126.0 (C-1'), 125.5 (C-3), 116.5 (C-4''), 114.3 (C-3',5'), 114.0 (C-10), 113.9 (C-6), 101.1 (C-8), 78.5 (C-2''), 62.8 (5-OCH₃), 55.5 (4'-OCH₃), 28.3 (2''-CH₃×2)。以上波谱数据与文献^[10,11]报道的数据基本一致, 鉴定化合物**5**为 di-*O*-methylalpinum isoflavone。

化合物**6** 白色粉末 (丙酮); EI-MS *m/z* 404 [M]⁺; 分子式 C₂₅H₂₄O₅。 ¹H NMR (500 MHz, CD₃COCD₃) δ_H 13.40 (1H, s, 5-OH), 8.19 (1H, s, H-2), 7.54 (2H, dd, *J* = 14.7, 3.0 Hz, H-2',6'), 6.99 (2H, dd, *J* = 14.7, 3.0 Hz, H-3',5'), 6.68 (1H, d, *J* = 10.1 Hz, H-4''), 5.49 (1H, t, *J* = 6.6 Hz, H-8'), 5.77 (1H, d, *J* = 10.1 Hz, H-3''), 4.59 (2H, d, *J* = 6.6 Hz, H-7'), 1.77 (3H, s, H-10'), 1.75 (3H, s, H-11'), 1.46 (6H, s, 2''-CH₃×2)。 ¹³C NMR (125 MHz, CD₃COCD₃) δ_c 181.7 (C-4), 160.3 (C-7), 159.9 (C-4'), 158.1 (C-9), 157.7 (C-5), 154.6 (C-2), 137.8 (C-9'), 131.0 (C-2',6'), 129.4 (C-3''), 123.9 (C-1'), 123.8 (C-3), 121.0 (C-8'), 115.7 (C-4''), 115.2 (C-3',5'), 106.6 (C-10), 106.0 (C-6), 95.4 (C-8), 78.8 (C-2''), 65.4 (C-7'), 28.3 (2''-CH₃×2), 25.8 (C-9'), 18.2 (C-10')。以上波谱数据与文献^[12,13]报道的数据基本一致, 鉴定化合物**6**为 2'-deoxyisoauriculatin。

化合物**7** 白色粉末 (丙酮); EI-MS *m/z* 364 [M]⁺; 分子式 C₂₁H₁₆O₆。 ¹H NMR (500 MHz, CD₃COCD₃) δ_H 13.34 (1H, s, 5-OH), 8.21 (1H, s, H-2), 7.13 (1H, d, *J* = 1.7 Hz, H-2'), 7.07 (1H, dd, *J* = 8.1, 1.7 Hz, H-6'), 6.91 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-5'), 6.68 (1H, d, *J* = 10.1 Hz, H-4''), 6.36 (1H, s, H-8), 6.04 (2H, s, H-7'), 5.78 (1H, d,

J = 10.1 Hz, H-3''), 1.46 (6H, s, 2''-2×CH₃)。 ¹³C NMR (125 MHz, CD₃COCD₃) δ_c 181.6 (C-4), 160.3 (C-7), 158.1 (C-9), 157.7 (C-5), 154.9 (C-2), 148.6 (C-3'), 148.5 (C-4'), 129.5 (C-3''), 125.7 (C-1'), 123.8 (C-3), 123.4 (C-6'), 115.9 (C-4''), 110.4 (C-2'), 108.9 (C-5'), 106.6 (C-10), 106.1 (C-6), 102.2 (C-7'), 95.4 (C-8), 78.9 (C-2''), 28.4 (2''-2×CH₃)。以上波谱数据, 结合文献^[10], 鉴定化合物**7**为 robustone。

化合物**8** 白色针状结晶 (丙酮); EI-MS *m/z* 366 [M]⁺; 分子式 C₂₂H₂₂O₅。 ¹H NMR (500 MHz, CD₃COCD₃) δ_H 8.03 (1H, s, H-2), 7.42 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-2',6'), 6.87 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3',5'), 6.82 (1H, s, H-8), 5.13~5.16 (1H, m, H-2''), 3.96 (3H, s, 7-OCH₃), 3.81 (3H, s, 5-OCH₃), 3.38 (2H, d, *J* = 7.1 Hz, H-1''), 1.77 (3H, s, H-5''), 1.64 (3H, s, H-4'')。 ¹³C NMR (125 MHz, CD₃COCD₃) δ_c 174.7 (C-4), 162.8 (C-7), 158.8 (C-5), 158.7 (C-9), 158.1 (C-4'), 151.4 (C-2), 131.7 (C-3''), 131.3 (C-2',6'), 126.4 (C-3), 124.5 (C-1'), 123.7 (C-2''), 122.3 (C-6), 115.7 (C-3',5'), 113.7 (C-10), 96.1 (C-8), 62.3 (5-OCH₃), 56.6 (7-OCH₃), 25.8 (C-4''), 23.0 (C-1''), 17.9 (C-5'')。以上波谱数据与文献^[14]报道的数据基本一致, 鉴定化合物**8**为 4'-hydroxy-5,7-dimethoxy-6-(3-methyl-2-butenyl)-isoflavone。

化合物**9** 白色颗粒 (甲醇); EI-MS *m/z* 268 [M]⁺; 分子式 C₁₆H₁₂O₄。 ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ_H 8.04 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-5), 7.87 (1H, s, H-2), 7.40 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-2',6'), 6.91 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-3',5'), 6.86 (1H, dd, *J* = 8.8, 2.3 Hz, H-6), 6.78 (1H, d, *J* = 2.3 Hz, H-8), 3.78 (3H, s, 4'-OCH₃)。 ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ_c 176.8 (C-4), 162.7 (C-7), 159.5 (C-4'), 158.3 (C-9), 152.6 (C-2), 130.2 (C-2',6'), 127.7 (C-5), 124.6 (C-1'), 124.3 (C-3), 117.3 (C-10), 115.3 (C-6), 113.9 (C-3',5'), 102.4 (C-8), 55.3 (4'-OCH₃)。以上波谱数据与文献^[15,16]报道的数据基本一致, 鉴定化合物**9**为 芒柄花素。

化合物**10** 白色粉末 (氯仿); EI-MS *m/z* 562 [M]⁺; 分子式 C₂₇H₃₀O₁₃。 ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ_H 8.22 (1H, s, H-2), 8.07 (1H, d, *J* = 8.9 Hz, H-5), 7.35 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-2',6'), 7.20 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-8), 7.18 (1H, dd, *J* = 9.0, 2.1 Hz, H-6), 6.90 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-3',5'), 5.08 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, Glu-1''), 4.72 (1H, s, Rha-1'''), 1.17 (3H, d, *J* = 6.2 Hz, Rha-6'')。 ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ_c 178.6 (C-4), 162.6 (C-7), 158.8 (C-4'), 157.4 (C-9), 155.7 (C-2), 131.4 (C-2',6'), 128.2 (C-5), 125.5 (C-3), 124.2 (C-1'), 119.8 (C-10), 117.2 (C-6), 116.4 (C-3',5'), 104.9 (C-8), 101.5 (C-1''), 101.0 (C-1'''),

77.1 (C-3''), 76.4 (C-5''), 74.1 (C-4''), 73.5 (C-2''), 71.8 (C-3''), 71.5 (C-2''), 70.9 (C-4''), 69.7 (C-5''), 67.3 (C-6''), 17.6 (C-6''). 以上波谱数据与文献^[17,18]报道的数据基本一致, 鉴定化合物 **10** 为 6''-*O*-rhamnosylidaidzin。

化合物 **11** 黄色针状结晶 (氯仿); EI-MS m/z 380 [M]⁺; 分子式 C₂₂H₂₀O₆。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ_{H} 12.88 (1H, s, 5-OH), 7.84 (1H, s, H-2), 7.04 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-2'), 6.94 (1H, dd, $J = 8.0, 1.7$ Hz, H-6'), 6.88 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.39 (1H, s, H-8), 5.99 (2H, s, H-7'), 5.19~5.22 (1H, m, H-2''), 3.90 (3H, s, 7-OCH₃), 3.37 (2H, d, $J = 7.1$ Hz, H-1''), 1.79 (3H, s, H-5''), 1.68 (3H, s, H-4'')。 ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ_{C} 180.6 (C-4), 163.3 (C-7), 158.8 (C-5), 156.3 (C-9), 152.5 (C-2), 147.8 (C-3'), 147.7 (C-4'), 132.0 (C-3''), 124.6 (C-1'), 123.7 (C-3), 122.4 (C-6'), 121.9 (C-2''), 113.1 (C-6), 109.6 (C-2'), 108.5 (C-5'), 106.1 (C-10), 101.2 (C-7'), 89.4 (C-8), 55.9 (7-OCH₃), 25.8 (C-4''), 21.4 (C-1''), 17.8 (C-5'')。 以上波谱数据与文献^[19]报道的数据基本一致, 鉴定化合物 **11** 为 3',4'-di-*O*-methylene-5-hydroxy-7-methoxy-6-isopentenyl isoflavone。

化合物 **12** 黄色针状结晶 (氯仿); EI-MS m/z : 394 [M]⁺; 分子式 C₂₃H₂₂O₆。 ¹H NMR、¹³C NMR 数据见表 1。

化合物 **13** 黄色针状结晶 (氯仿); EI-MS m/z 366 [M]⁺; 分子式 C₂₁H₁₈O₆。 ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ_{H} 13.03 (1H, s, 5-OH), 7.83 (1H, s, H-2), 7.06 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-2'), 6.96 (1H, dd, $J = 8.0, 1.7$ Hz, H-6'), 6.90 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.39 (1H, s, H-8), 6.02 (2H, s, H-7'), 5.28~5.30 (1H, m, H-2''), 3.42 (2H, d, $J = 7.1$ Hz, H-1''), 1.84 (3H, s, H-5''), 1.73 (3H, s, H-4'')。 ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ_{C} 180.6 (C-4), 161.8 (C-7), 159.6 (C-5), 156.0 (C-9), 152.5 (C-2), 147.7 (C-3', 4'), 132.9 (C-3''), 124.8 (C-1'), 123.5 (C-3), 122.5 (C-6'), 121.8 (C-2''), 111.7 (C-6), 109.7 (C-2'), 108.4 (C-5'), 105.4 (C-10), 101.2 (C-7'), 93.3 (C-8), 25.7 (C-4''), 21.4 (C-1''), 17.8 (C-5'')。 以上波谱数据与文献^[13,20]报道的数据基本一致, 鉴定化合物 **13** 为 derrubone。

3 细胞毒活性测试

采用 MTS 法^[21]进行肿瘤细胞增殖抑制活性测定, 分别将人急性白血病细胞株 HL-60、人非小细胞肺癌细胞株 A-549、人肝癌细胞株 SMMC-7721、人乳腺癌细胞株 MCF-7、人结肠癌细胞株 SW480 培养于含 10% 胎牛血清的细胞培养液中, 培养细胞至对数生长期, 将对数期生长的肿瘤细胞调整浓度为每毫升 $3 \times 10^4 \sim 1.5 \times 10^5$ 个的细胞悬液, 接种到 96 孔板, 每孔接种 100 μL , 于

37 °C、5% CO₂ 培养箱中孵育 24 h 后加入样品 (终浓度分别为 40、8、1.6、0.32 和 0.064 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 继续培养 48 h 后, 每孔换成培养液 100 μL , 然后加入 20 μL MTS 溶液, 继续在 37 °C、5% CO₂ 培养箱中孵育 4 h 后, 用酶标仪在 492 nm 波长处检测吸光度 (OD 值), 应用两点法 (Reed and Muench 法) 计算其半数抑制浓度 IC₅₀。

作者贡献: 宁小燕、陈文娇和西庆男负责进行实验和结构鉴定; 宁小燕撰写了论文; 冯旭和梁臣艳对实验进行了指导, 提出了论文写作的建议; 刘锴对化合物的构型进行了分析; 李兵为本文的共同通讯作者, 负责实验的整体设计把关和文章审阅; 韦建华是本文的共同通讯作者, 全程指导实验设计、结构解析和稿件修改, 并最终定稿。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

References

- [1] Editorial Committee of the Administration Bur of Traditional Chinese Medicine. *Zhonghua Bencao* (中华本草) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical publishers, 1999: 432.
- [2] Ye HG, Zeng FY, Ye YS, et al. *Medicinal Palants of South China* (华南药用植物) [M]. Wuhan: Huazhong University of Science & Technology Press, 2013: 173.
- [3] Fang D, Sha WL, Chen XX, et al. *List of Medicinal Plants in Guangxi* (广西药用植物名录) [M]. Nanning: Guangxi People's Publishing House, 1986: 131.
- [4] Wei JH, Tan HS, Lu CS, et al. Chemical constituents from Zhuang medicine *Dalbergia benthami* (I) [J]. *Chin Tradit Herb Med* (中草药), 2017, 48: 2159-2163.
- [5] East AJ, Ollis WD, Wheele RE. Natural occurrence of 3-aryl-4-hydroxycoumarins. Part 1. Phytochemical examination of *Derris robusta* (Roxb.) Benth. [J]. *Chem Soc (C)*, 1969, (8): 365-374.
- [6] Ma K, Ishikawa T, Seki H, et al. Isolation of new isoflavonolignans, butesuperins A and B, from a Thai miracle herb, *Butea superba* [J]. *Heterocycles*, 2005, 65: 893-900.
- [7] Khilya VP, Tkachuk TM, Shevchuk LI. Thiazole analogs of isoflavolignans [J]. *Chem Nat Compd*, 2000, 36: 574-578.
- [8] Jang DS, Park EJ, Hawthorne ME, et al. Potential cancer chemopreventive constituents of the seeds of *Dipteryx odorata* (tonka bean). [J]. *J Nat Prod*, 2003, 66: 583-587.
- [9] Fan CM, Chou GX, Zhu EY. Chemical constituents from *Crotalaria sessiliflora* L. [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2016, 51: 775-779.
- [10] Sami AK, Peter GW. Thonningine-A and thonningine-B: two 3-phenylcoumarins from the seeds of *Milletia thonningii* [J]. *Phytochemistry*, 1983, 22: 1001-1003.
- [11] Stewart M, Bartholomew B, Currie F, et al. Pyranoisoflavones from *Rinorea welwitschii* [J]. *Fitoterapia*, 2000, 71: 595-597.
- [12] Raksat A, Mancerat W, Andersen RJ, et al. Antibacterial prenylated isoflavonoids from the stems of *Milletia extensa* [J]. *J*

- Nat Prod, 2018, 81: 1835-1840.
- [13] Yang LF, Gao CM, Xia YH, et al. Chemical constituents of Zhuang medicine *Derris eriocarpa* Rattan [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2021, 44: 2110-2115.
- [14] Zhang HX, Lunga PK, Li ZJ, et al. Flavonoids and stilbenoids from *Derris eriocarpa* [J]. Fitoterapia, 2014, 95: 147-153.
- [15] Wang KH, Zhang YT, Yang XW, et al. Chemical constituents from *Fukeqianjin formula* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2018, 43: 2300-2312.
- [16] Wang W, Chen HB, Wang WM, et al. Studies on flavonoid constituents of *Hedysarum multijugum* [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2002, 37: 196-198.
- [17] Hirakura H, Morita M, Nakajima K, et al. Phenolic glucosides from the root of *Pueraria lobata* [J]. Phytochemistry, 1997, 46: 921-928.
- [18] Li DP, Ouyang MA, Chawcewan J, et al. Two isoflavonoid glycosides from *Derris scandens* [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 1999, 34: 44-46.
- [19] Yang LF, Wang K, Jiang MG, et al. Isolation and characterization of a new bioactive isoflavone from *Derris eriocarpa* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2015, 17: 1002-1009.
- [20] Jedidiah MH, Hadden MK, Brian SJ. Synthesis and evaluation of derrubone and select analogues [J]. J Org Chem, 2007, 73: 369-373.
- [21] Liu YQ, Zhong KH, Wang YL, et al. Comparison of experimental conditions of CCK-8 and MTS for human amniotic epithelial cells proliferation assay [J]. Chin J Rehabil Theory Pract (中国康复理论与实践), 2012, 18: 827-830.