

热毒宁注射液化学成分研究(IV)

葛雯^{1,2,3}, 李海波^{2,3}, 于洋⁴, 房卉^{2,3}, 孟兆青^{2,3}, 黄文哲^{2,3}, 丁岗^{2,3}, 萧伟^{1,2,3}, 王振中^{1,2,3*}

1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210046
2. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001
3. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001
4. 暨南大学中药及天然药物研究所, 广东 广州 510632

摘要: 目的 对中药复方热毒宁注射液的解热抗炎活性成分进行研究。方法 采用脂多糖(LPS)诱导小鼠内毒素休克模型对热毒宁注射液解热抗炎活性部位进行筛选, 综合应用 HP-20 大孔树脂、硅胶、MCI、ODS 和 Sephadex LH-20 柱色谱以及反相 MPLC、HPLC 等各种现代色谱技术对解热抗炎活性部位进行系统地分离纯化, 根据化合物的光谱数据和理化性质进行结构鉴定。结果 经活性筛选, 热毒宁注射液经大孔吸附树脂 95%乙醇洗脱部位为解热抗炎活性部位, 从中分离鉴定了 14 个化合物, 分别鉴定为邻苯二甲酸二丁酯(1)、异香草酸(2)、香草乙酮(3)、苯丙酸(4)、京尼平苷(5)、jasmigeniposide B(6)、京尼平苷酸(7)、京尼平龙胆二糖苷(8)、6"-O-反-对香豆酰基京尼平龙胆二糖(9)、6"-O-反-阿魏酰基京尼平龙胆二糖苷(10)、6"-O-反-芥子酰基京尼平龙胆二糖苷(11)、jasmigeniposide A(12)、6"-O-反-桂皮酰基京尼平龙胆二糖苷(13)、2'-O-反-咖啡酰基栀子新苷(14)。结论 化合物 1~4、13 均为首次从热毒宁注射液中分离得到; 经 UPLC 定性分析及文献对照, 化合物 5、7~13 均为来源于栀子中的化学成分。

关键词: 热毒宁注射液; 解热抗炎; 邻苯二甲酸二丁酯; 异香草酸; 香草乙酮; 6"-O-反-桂皮酰基京尼平龙胆二糖苷

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)15-3042-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.15.005

Research on chemical constituents from Reduning Injection (IV)

GE Wen^{1,2,3}, LI Hai-bo^{2,3}, YU Yang⁴, FANG Hui^{2,3}, MENG Zhao-qing^{2,3}, HUANG Wen-zhe^{2,3}, DING Gang^{2,3}, XIAO Wei^{1,2,3}, WANG Zhen-zhong^{1,2,3}

1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China
2. Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China
3. State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222001, China
4. Institute of Traditional Chinese Medicine and Natural Products, Jinan University, Guangzhou 510632, China

Abstract: Objective To study the antipyretic and anti-inflammatory constituents from the active fraction of Reduning Injection (RI). **Methods** The active fraction of RI was screened by the LPS-induced mouse endotoxin shock model. The chemical constituents were isolated by chromatography on silica gel, ODS, Sephadex LH-20, Toyopearl HW-40 columns, reverse phase MPLC, and HPLC repeatedly, and their structures were identified by spectral data and physicochemical property. **Results** The 95% ethanol eluate of RI on the macroporous adsorption resin column was proved to be the antipyretic and anti-inflammatory active fraction of RI. Fourteen compounds were isolated and identified as dibutyl phthalate (1), isovanillic acid (2), acetovanillone (3), phenylpropionic acid (4), geniposide (5), jasmigeniposide B (6), geniposidic acid (7), genipin-1- β -D-gentiobioside (8), 6"-O-trans-p-coumaroylgenipin gentiobioside (9), 6"-O-trans-feruloylgenipin gentiobioside (10), 6"-O-trans-sinapoylgenipin gentiobioside (11), jasmigeniposide A (12), 6"-O-trans-cinnamoylgenipin gentiobioside (13), and 2'-O-trans-caffeoylgardoside (14). **Conclusion** Compounds 1~4 and 13 are reported from RI for the first time; And UPLC analyses and literature data showed that compounds 5 and 7~13 are originated from *Gardenia jasminoides*.

收稿日期: 2016-11-10

基金项目: 江苏省自然科学基金: 基于活性成分追踪分离及快速检识分析新策略的中药复方药效物质基础研究(BK20140441); 江苏省博士后科研资助计划(1401171C); “重大新药创制”科技重大专项(2013ZX09402203); 国家中药标准化项目

作者简介: 葛雯(1993—), 女, 江苏扬州人, 硕士在读, 研究方向为中药检验与质量分析。E-mail: gewen19931598@163.com

***通信作者** 王振中, 博士, 研究员级高级工程师, 研究方向为中药新剂型的研究与开发。Tel: (0518) 81522367 E-mail: wzzhz-nj@163.com

Key words: Reduning Injection; antipyretic and anti-inflammatory; dibutyl phthalate; isovanillic acid; acetovanillone; 6''-*O*-*trans*-cinnamoylgenipin gentiobioside

热毒宁注射液处方组成为青蒿、金银花和栀子,具有清热、疏风、解毒的功效,临床上主要用于治疗上呼吸道感染、急性支气管炎、手足口病等病症^[1-5]。临床应用广泛,疗效确切,安全性好^[6-8]。本课题组前期已完成对热毒宁注射液抗病毒的药效物质基础的研究,并从中分离得到一系列化合物^[9-11]。为进一步丰富热毒宁注射液的药效物质基础,本课题组拟开展热毒宁注射液解热抗炎的物质基础研究。首先,采用脂多糖(LPS)诱导小鼠内毒素休克模型对热毒宁注射液及其分离部位进行活性评价,确定大孔吸附树脂 95%乙醇洗脱部位为热毒宁注射液解热抗炎的活性部位。在此基础上对热毒宁注射液的活性部位进行了系统的化学成分研究,从中共分离得到 14 个化合物,分别鉴定为邻苯二甲酸二丁酯(dibutylphthalate, **1**)、异香草酸(isovanillic acid, **2**)、香草乙酮(acetovanillone, **3**)、苯丙酸(phenylpropionic acid, **4**)、京尼平苷(geniposide, **5**)、jasmigeniposide B(**6**)、京尼平苷酸(geniposidic acid, **7**)、京尼平龙胆二糖苷(genipin-1- β -*D*-gentiobioside, **8**)、6''-*O*-反-对香豆酰基京尼平龙胆二糖(6''-*O*-*trans*-*p*-coumaroylgenipin gentiobioside, **9**)、6''-*O*-反-阿魏酰基京尼平龙胆二糖苷(6''-*O*-*trans*-feruloylgenipin gentiobioside, **10**)、6''-*O*-反-芥子酰基京尼平龙胆二糖苷(6''-*O*-*trans*-sinapoylgenipin gentiobioside, **11**)、jasmigeniposide A(**12**)、6''-*O*-反-桂皮酰基京尼平龙胆二糖苷(6''-*O*-*trans*-cinnamoylgenipin gentiobioside, **13**)、2'-*O*-反-咖啡酰基栀子新苷(2'-*O*-*trans*-caffeoylgardoside, **14**)。并通过 UPLC 定性分析及文献查阅,对这些成分进行药材来源归属。以上研究既丰富了热毒宁注射液的化学成分,也为阐明其发挥临床功效的科学内涵奠定了一定的基础。

1 仪器与材料

Brucker AVANCE400 型核磁共振仪(瑞士 Brucker 公司), Finnigan LCQ Advantage MAX 质谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司), Agilent 1100 分析型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司, 四元泵, DAD 检测器), Waters 超高效液相色谱仪(二元泵, 二极管阵列检测器), Waters SYNAPTTM G2 Q/TOF HDMS 四极杆串联飞行时

间高分辨质谱(Manchester, UK), Agilent 1260 制备型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司, 二元泵, MWD 检测器), Ultimate 3000 半制备型高效液相色谱仪(戴安股份有限公司), ELIX5 纯水系统(上海密理博贸易有限公司), R502B 型旋转蒸发仪(上海申王科技有限公司), HH-4 数显电子恒温水浴锅(江苏金坛市晶玻实验仪器厂), KQ-500 型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司), ZF-I 型三用紫外分析仪(上海顾村电光仪器厂)。分析高效色谱柱为 C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m, Phenomenex 公司), UPLC 色谱柱为 Waters ACQUITYTM BEH C₁₈ 色谱柱(150 mm×2.1 mm, 1.7 μ m), 制备高效色谱柱为 C₁₈ 柱(250 mm×20 mm, 5 μ m, YMC-Pack ODS-A), 半制备高效色谱柱为 C₁₈ 柱(250 mm×10 mm, 5 μ m, YMC-Pack ODS-A), HP-20 大孔树脂(Mitsubishi-Chemical, 日本), 柱色谱硅胶(100~200、200~300 目, 青岛海洋化工厂分厂), 薄层硅胶 GF₂₅₄(烟台市牟平区康必诺化学试剂厂), MCI 填料(CHO20/P120, 日本), ODS 填料(120A 孔径, 50 μ m 均一粒径, YMC 公司); 其余所用试剂为分析纯, 由南京化学试剂股份有限公司和国药集团化学试剂有限公司生产。

热毒宁注射液(江苏康缘药业股份有限公司生产, 批号 150814)、栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的果实从江西省吉安市医疗材料市场购买, 并由连云港康济大药房连锁有限公司吴舟执业药师鉴定。且药材栀子按照热毒宁注射液生产工艺制备得到相应的中间体提取物, 供 UPLC 定性鉴别分析使用。

2 提取与分离

热毒宁注射液成品浓缩液 62.5 kg, 经 HP-20 大孔吸附柱色谱进行分离, 乙醇-水(水、30%乙醇水和 95%乙醇水)梯度洗脱, 得到水洗脱部位 RDN-1(6 228 g)、30%乙醇洗脱部位 RDN-2(4 836 g)、95%乙醇洗脱部位 RDN-3(1 314 g)。取 RDN-3(502 g)进行硅胶柱色谱分离, 二氯甲烷-甲醇(100:0、98:2、95:5、90:10、80:20、70:30、60:40、50:50、0:100)梯度洗脱共得到 16 个流分 Fr. 1~16。Fr. 2 经反复反相 HPLC 制备(甲醇-甲酸水溶液

30:70→100:0 梯度洗脱), 得到化合物 **1** (160.2 mg, t_R =46 min)。Fr. 3 经反复反相 HPLC 制备 (甲醇-甲酸水溶液 30:70→100:0 梯度洗脱), 得到化合物 **2** (4.0 mg, t_R =16 min)、**3** (9.5 mg, t_R =23 min)。Fr. 5 经反相 HPLC 制备 (甲醇-甲酸水溶液 30:70→100:0 梯度洗脱), 得到化合物 **4** (5 mg, t_R =44 min)。Fr. 11 经过 ODS 中低压柱色谱分离, 甲醇-水 20:80→100:0 梯度洗脱, 50%甲醇-水洗脱部位经 HPLC 制备 (甲醇-甲酸水溶液 30:70→100:0 梯度洗脱) 得到化合物 **7** (12.0 mg, t_R =47 min)。Fr. 13 经过 MCI 柱色谱分离, 甲醇-水 (30:70→100:0) 梯度洗脱, 共得到 13 个流分 Fr. 13-1~13-13, Fr. 13-2 经反复反相 HPLC 制备 (甲醇-甲酸水溶液 30:70→100:0 梯度洗脱), 得到化合物 **5** (10.0 g, t_R =20 min), Fr. 13-3 经反复反相 HPLC 制备 (甲醇-甲酸水溶液 30:70→100:0 梯度洗脱), 得到化合物 **6** (10.2 mg, t_R =43 min)。Fr. 13-6 经过 ODS 中低压柱色谱分离, 甲醇-水 20:80→100:0 梯度洗脱, 40%甲醇-水洗脱部位经 HPLC 制备 (甲醇-甲酸水溶液 45:55→100:0 梯度洗脱) 得到化合物 **8** (17.5 mg, t_R =20 min)、**9** (10.0 mg, t_R =25 min), 50%甲醇-水洗脱部位经反相 HPLC 制备 (甲醇-甲酸水溶液 45:55→100:0 梯度洗脱), 得到化合物 **10** (13.4 mg, t_R =21 min)、**11** (194.0 mg, t_R =23 min)、**12** (39.6 mg, t_R =26 min), Fr. 13-7 经反复反相 HPLC 制备 (甲醇-甲酸水溶液 45:55→100:0 梯度洗脱), 得到化合物 **13** (243.8 mg, t_R =20 min)。Fr. 14 经过 ODS 中低压柱色谱分离, 甲醇-水 (20:80→100:0) 梯度洗脱。再经反相 HPLC 制备 (甲醇-甲酸水溶液 45:55→100:0 梯度洗脱) 得到化合物 **14** (21.4 mg, t_R =18 min)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 淡黄色油状物, ESI-MS m/z : 301 $[M+Na]^+$, 提示化合物的相对分子质量为 278。结合 1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据, 推测分子式为 $C_{16}H_{22}O_4$, 计算其不饱和度为 6。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.71 (2H, m, H-3, 6), 7.60 (2H, m, H-4, 5), 4.28 (4H, t, J = 6.6 Hz, H-1', 1''), 1.71 (4H, m, H-2', 2''), 1.45 (4H, m, H-3', 3''), 0.97 (6H, t, J = 7.4 Hz, H-4', 4''); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 169.6 (C=O), 133.9 (C-1, 2), 132.6 (C-4, 5), 130.2 (C-3, 6), 67.0 (C-1', 1''), 32.0 (C-2', 2''), 20.6 (C-3', 3''), 14.3 (C-4', 4'')。上述数据与文献报道^[12]对照基本一致, 故鉴定

化合物 **1** 为邻苯二甲酸二丁酯。

化合物 **2**: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 191 $[M+Na]^+$, 提示化合物的相对分子质量为 168。结合 1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据, 推测分子式为 $C_8H_8O_4$, 计算其不饱和度为 5。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.55 (1H, dd, J = 7.2, 2.0 Hz, H-6), 7.53 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2), 6.82 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5), 3.88 (3H, s, 4-OCH₃); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 170.5 (C-7), 152.4 (C-4), 148.6 (C-3), 125.2 (C-6), 123.8 (C-1), 115.8 (C-2), 113.8 (C-5), 56.4 (4-OCH₃)。上述数据与文献报道^[13]对照基本一致, 故鉴定化合物 **2** 为异香草酸。

化合物 **3**: 白色无定形粉末, ESI-MS m/z : 167 $[M+H]^+$, 189 $[M+Na]^+$, 提示化合物的相对分子质量为 166。结合 1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据, 推测分子式为 $C_9H_{10}O_3$, 计算其不饱和度为 5。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.56 (1H, dd, J = 8.0, 2.0 Hz, H-6), 7.53 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2), 6.86 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5), 3.90 (3H, s, 3-OCH₃), 2.53 (3H, s, 7-CH₃); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 199.8 (C-7), 153.7 (C-4), 149.3 (C-3), 130.8 (C-1), 125.5 (C-6), 116.1 (C-5), 112.2 (C-2), 56.7 (3-OCH₃), 26.5 (C-8)。上述数据与文献报道^[14]对照基本一致, 故鉴定化合物 **3** 为香草乙酮。

化合物 **4**: 黄色针晶 (甲醇), ESI-MS m/z : 149 $[M-H]^-$, 提示化合物的相对分子质量为 150。结合 1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据, 推测确定分子式为 $C_9H_{10}O_2$, 计算其不饱和度为 5。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.21 (5H, overlapped, H-2~6), 2.89 (2H, t, J = 7.8 Hz, H-7), 2.58 (2H, t, J = 7.8 Hz, H-8); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 176.8 (8-COOH), 142.3 (C-1), 129.4 (C-3, 5), 129.3 (C-2, 6), 127.2 (C-4), 37.0 (C-8), 32.1 (C-7)。上述数据与文献报道^[15]对照基本一致, 故鉴定化合物 **4** 为苯丙酸。

化合物 **5**: 白色无定形粉末, ESI-MS m/z : 799 $[2M+Na]^+$, 411 $[M+Na]^+$, 提示化合物的相对分子质量为 388。结合 1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据, 推测确定分子式为 $C_{17}H_{24}O_{10}$, 计算其不饱和度为 6。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.51 (1H, d, J = 1.1 Hz, H-3), 5.80 (1H, brs, H-7), 5.17 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-1), 4.71 (1H, d, J = 7.9 Hz, H-1'), 4.31 (1H, brd, J = 14.8 Hz, H-10a), 4.18 (1H, brd, J = 14.4 Hz, H-10b), 3.86 (1H, dd, J = 12.0, 1.5 Hz, H-6'a), 3.71 (3H, s,

11-OCH₃), 3.64 (1H, dd, $J = 12.0, 4.4$ Hz, H-6'b), 3.40~3.20 (4H, H-2'~5'), 3.19 (1H, overlapped, H-5), 2.82 (1H, dd, $J = 16.3, 8.6$ Hz, H-6a), 2.73 (1H, t, $J = 7.3$ Hz, H-9), 2.10 (1H, ddt, $J = 16.3, 7.9, 2.4$ Hz, H-6b); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 169.5 (C-11), 153.3 (C-3), 144.8 (C-8), 128.3 (C-7), 112.5 (C-4), 100.3 (C-1'), 98.3 (C-1), 78.3 (C-5'), 77.8 (C-3'), 74.8 (C-2'), 71.5 (C-4'), 62.6 (C-6'), 61.4 (C-10), 51.6 (11-OCH₃), 47.0 (C-9), 39.7 (C-6), 36.6 (C-5)。上述数据与文献报道^[16]对照基本一致, 故鉴定化合物 **5** 为京尼平苷。

化合物 **6**: 白色无定形粉末, ESI-MS m/z : 619 [2M+Na]⁺, 提示化合物的相对分子质量为 496。结合 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据, 推测分子式为 C₂₈H₃₄O₁₄, 计算其不饱和度为 11。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.52 (1H, d, $J = 0.9$ Hz, H-3''), 7.51 (1H, d, $J = 1.0$ Hz, H-3), 5.87 (1H, brs, H-7), 5.85 (1H, brs, H-7''), 5.14 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1), 4.71 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1''), 4.70 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 4.62 (1H, brd, $J = 12.6$ Hz, H-10a), 4.43 (1H, brd, $J = 15.0$ Hz, H-10''a), 4.32 (1H, brd, $J = 12.6$ Hz, H-10b), 4.17 (1H, dd, $J = 15.0, 1.8$ Hz, H-10''b), 3.84 (1H, dd, $J = 11.4, 1.2$ Hz, H-6'a), 3.71 (3H, s, 11-OCH₃), 3.62 (1H, dd, $J = 11.4, 5.4$ Hz, H-6'b), 3.36 (1H, m, H-3'), 3.28 (1H, m, H-5'), 3.25 (1H, m, H-4'), 3.18 (1H, m, H-2'), 3.17 (1H, m, H-5), 3.17 (3H, s, 11''-OCH₃), 3.14 (1H, overlapped, H-5''), 2.83 (1H, overlapped, H-6a), 2.83 (1H, overlapped, H-9), 2.83 (1H, m, H-6''a), 2.56 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, H-9''), 2.08 (1H, m, H-6b), 2.08 (1H, m, H-6''b); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 169.6 (C-11''), 169.5 (C-11), 153.6 (C-3''), 153.3 (C-3), 145.2 (C-8''), 140.9 (C-8), 131.4 (C-7), 127.7 (C-7''), 112.4 (C-4''), 112.2 (C-4), 103.0 (C-1''), 100.5 (C-1'), 98.5 (C-1), 78.4 (C-5'), 77.9 (C-3'), 74.9 (C-2'), 71.6 (C-4'), 69.3 (C-10), 62.8 (C-6'), 61.8 (C-10''), 51.7 (11-OCH₃), 51.7 (11''-OCH₃), 47.4 (C-9''), 46.8 (C-9), 39.9 (C-6), 37.2 (C-5''), 36.4 (C-5), 29.8 (C-6'')。上述数据与文献报道^[17]对照基本一致, 故鉴定 **6** 为 jasmigeniposide B。

化合物 **7**: 白色无定形粉末, ESI-MS m/z : 771 [2M+Na]⁺, 397 [M+Na]⁺, 提示化合物的相对分子质量为 374。结合 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据, 推测分子式为 C₁₇H₂₄O₁₀, 计算其不饱和度为 6。¹H-NMR

(400 MHz, CD₃OD) δ : 7.51 (1H, brs, H-3), 5.79 (1H, brs, H-7), 5.16 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1), 4.71 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-1'), 4.31 (1H, brd, $J = 12.0$ Hz, H-10a), 4.18 (1H, brd, $J = 12.0$ Hz, H-10b), 3.86 (1H, brd, $J = 12.0$ Hz, H-6'a), 3.64 (1H, dd, $J = 12.0, 4.0$ Hz, H-6'b), 3.40~3.20 (4H, m, H-2'~5'), 3.19 (1H, overlapped, H-5), 2.83 (1H, m, H-6a), 2.72 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-9), 2.12 (1H, m, H-6b); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 170.5 (C-11), 153.2 (C-3), 144.9 (C-8), 128.4 (C-7), 116.5 (C-4), 100.3 (C-1'), 98.3 (C-1), 78.4 (C-5'), 77.9 (C-3'), 74.9 (C-2'), 71.6 (C-4'), 62.7 (C-6'), 61.5 (C-10), 47.1 (C-9), 39.8 (C-6), 36.8 (C-5)。上述数据与文献报道^[18]对照基本一致, 故鉴定化合物 **7** 为京尼平苷酸。

化合物 **8**: 白色无定形粉末, ESI-MS m/z : 1 123 [2M+Na]⁺, 573 [M+Na]⁺, 提示化合物的相对分子质量为 550。结合 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据, 推测分子式为 C₂₃H₃₄O₁₅, 计算其不饱和度为 6。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.46 (1H, d, $J = 0.8$ Hz, H-3), 5.82 (1H, brs, H-7), 5.13 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1), 4.71 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-1'), 4.53 (1H, dd, $J = 12.0, 1.8$ Hz, H-6''a), 4.40 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1''), 4.30 (1H, overlapped, H-6''b), 4.30 (1H, overlapped, H-10a), 4.19 (1H, brd, $J = 13.4$ Hz, H-10b), 4.10 (1H, dd, $J = 12.0, 1.6$ Hz, H-6'a), 3.74 (1H, dd, $J = 12.0, 7.1$ Hz, H-6'b), 3.69 (3H, s, 11-OCH₃), 3.54 (1H, m, H-5'), 3.52 (1H, m, H-5''), 3.40 (1H, m, H-3'), 3.38 (1H, m, H-3''), 3.35 (1H, m, H-4''), 3.28 (1H, m, H-4'), 3.25 (1H, m, H-2'), 3.21 (1H, m, H-2''), 3.13 (1H, m, H-5), 2.79 (1H, dd, $J = 16.1, 8.3$ Hz, H-6a), 2.69 (1H, t, $J = 7.7$ Hz, H-9), 2.13 (1H, dd, $J = 16.1, 8.2$ Hz, H-6b); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 169.1 (C-11), 153.3 (C-3), 144.7 (C-8), 129.3 (C-7), 112.2 (C-4), 105.2 (C-1''), 100.2 (C-1'), 98.6 (C-1), 77.8 (C-3''), 77.8 (C-5'), 77.6 (C-3'), 75.4 (C-5''), 75.1 (C-2''), 74.2 (C-2'), 71.7 (C-4'), 71.5 (C-4''), 70.1 (C-6'), 62.6 (C-6''), 61.4 (C-10), 51.8 (11-OCH₃), 46.6 (C-9), 39.8 (C-6), 36.6 (C-5)。上述数据与文献报道^[19-20]对照基本一致, 故鉴定化合物 **8** 为京尼平龙胆二糖苷。

化合物 **9**: 黄色无定形粉末, ESI-MS m/z : 1 415 [2M+Na]⁺, 719 [M+Na]⁺, 提示化合物的相对分子质量为 696。结合 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据, 推测分子式为 C₃₂H₄₀O₁₇, 计算其不饱和度为 13。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.65 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-3'''), 7.48 (1H, brs, H-3), 7.47 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5''', 9'''), 6.82 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-6''', 8'''), 6.37 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-2'''), 5.83 (1H, brs, H-7), 5.14 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1), 4.72 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-1'), 4.53 (1H, dd, $J = 12.0, 2.4$ Hz, H-6''a), 4.41 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-1''), 4.31 (1H, overlapped, H-10a), 4.29 (1H, m, H-6''b), 4.19 (1H, brd, $J = 14.3$ Hz, H-10b), 4.10 (1H, dd, $J = 12.0, 1.5$ Hz, H-6'a), 3.75 (1H, dd, $J = 12.0, 7.1$ Hz, H-6'b), 3.69 (3H, s, 11-OCH₃), 3.55 (1H, m, H-5'), 3.53 (1H, m, H-5''), 3.42 (1H, m, H-3'), 3.38 (1H, m, H-3''), 3.36 (1H, m, H-4''), 3.27 (1H, m, H-4'), 3.25 (1H, m, H-2'), 3.21 (1H, m, H-2''), 3.16 (1H, m, H-5), 2.79 (1H, dd, $J = 16.0, 8.4$ Hz, H-6a), 2.70 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, H-9), 2.14 (1H, dd, $J = 16.0, 7.8$ Hz, H-6b); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 169.6 (C-11), 169.2 (C-1'''), 161.4 (C-7'''), 153.4 (C-3), 146.9 (C-3'''), 144.8 (C-8), 131.3 (C-5''', 9'''), 129.1 (C-7), 127.2 (C-4'''), 116.9 (C-6''', 8'''), 115.0 (C-2'''), 112.4 (C-4), 105.0 (C-1''), 100.6 (C-1'), 98.9 (C-1), 77.8 (C-3'), 77.8 (C-3''), 77.6 (C-5'), 75.4 (C-5''), 75.1 (C-2''), 74.8 (C-2'), 71.7 (C-4'), 71.6 (C-4''), 70.2 (C-6'), 64.7 (C-6''), 61.5 (C-10), 51.8 (11-OCH₃), 46.9 (C-9), 39.7 (C-6), 36.7 (C-5)。上述数据与文献报道^[21]对照基本一致, 故鉴定化合物 **9** 为 6''-O-反-对香豆酰基京尼平龙胆二糖。

化合物 **10**: 黄色无定形粉末, ESI-MS m/z : 749 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 725 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 提示化合物的相对分子质量为 726。结合 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据, 推测分子式为 $\text{C}_{33}\text{H}_{42}\text{O}_{18}$, 计算其不饱和度为 13。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.63 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-3'''), 7.46 (1H, brs, H-3), 7.20 (1H, brs, H-5'''), 7.07 (1H, brd, $J = 7.2$ Hz, H-9'''), 6.89 (1H, d, $J = 6.8$ Hz, H-8'''), 6.40 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-2'''), 5.82 (1H, brs, H-7), 5.13 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1), 4.70 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 4.51 (1H, brd, $J = 10.8$ Hz, H-6''a), 4.40 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1''), 4.30 (1H, overlapped, H-6''b), 4.30 (1H, overlapped, H-10a), 4.19 (1H, brd, $J = 13.8$ Hz, H-10b), 4.09 (1H, brd, $J = 12.0$ Hz, H-6'a), 3.88 (3H, s, 11-OCH₃), 3.74 (1H, dd, $J = 12.0, 7.2$ Hz, H-6'b), 3.68 (3H, s, 8'''-OCH₃), 3.54 (1H, m, H-5'), 3.52 (1H, m, H-5''), 3.40 (1H, m, H-3'), 3.38 (1H, m, H-3''), 3.35 (1H, m, H-4''), 3.28 (1H, m, H-4'), 3.25 (1H, m, H-2'), 3.21 (1H, m, H-2''), 3.13 (1H, m, H-5), 2.79 (1H, dd, $J = 16.1, 8.3$ Hz, H-6a), 2.69 (1H, t, $J = 7.7$ Hz, H-9), 2.13 (1H, dd, $J = 16.1, 8.2$ Hz, H-6b); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 169.6 (C-11), 169.2 (C-1'''), 153.4 (C-3), 150.8 (C-7'''), 149.4 (C-6'''), 147.2 (C-3'''), 144.8 (C-8), 129.0 (C-7), 127.6 (C-4'''), 124.3 (C-9'''), 116.5 (C-8'''), 115.2 (C-2'''), 112.3 (C-4), 111.7 (C-5'''), 105.0 (C-1''), 100.6 (C-1'), 98.8 (C-1), 77.8 (C-3'), 77.8 (C-3''), 77.6 (C-5'), 75.4 (C-5''), 75.1 (C-2''), 74.8 (C-2'), 71.7 (C-4'), 71.6 (C-4''), 70.2 (C-6'), 64.7 (C-6''), 61.5 (C-10), 56.5 (8'''-OCH₃), 51.7

(1H, m, H-2'), 3.21 (1H, m, H-2''), 3.15 (1H, m, H-5), 2.78 (1H, dd, $J = 16.2, 8.4$ Hz, H-6a), 2.69 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, H-9), 2.13 (1H, dd, $J = 16.2, 7.8$ Hz, H-6b); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 169.6 (C-11), 169.2 (C-1'''), 153.4 (C-3), 150.8 (C-7'''), 149.4 (C-6'''), 147.2 (C-3'''), 144.8 (C-8), 129.0 (C-7), 127.6 (C-4'''), 124.3 (C-9'''), 116.5 (C-8'''), 115.2 (C-2'''), 112.3 (C-4), 111.7 (C-5'''), 105.0 (C-1''), 100.6 (C-1'), 98.8 (C-1), 77.8 (C-3'), 77.8 (C-3''), 77.6 (C-5'), 75.4 (C-5''), 75.1 (C-2''), 74.8 (C-2'), 71.7 (C-4'), 71.6 (C-4''), 70.2 (C-6'), 64.7 (C-6''), 61.5 (C-10), 56.5 (8'''-OCH₃), 51.7 (11-OCH₃), 46.9 (C-9), 39.8 (C-6), 36.8 (C-5)。上述数据与文献报道^[17]对照基本一致, 故鉴定化合物 **10** 为 6''-O-反-阿魏酰基京尼平龙胆二糖苷。

化合物 **11**: 黄色无定形粉末, ESI-MS m/z : 779 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 755 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 提示化合物的相对分子质量为 756。结合 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据, 推测分子式为 $\text{C}_{34}\text{H}_{44}\text{O}_{18}$, 计算其不饱和度为 13。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.63 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-3'''), 7.46 (1H, d, $J = 0.8$ Hz, H-3), 6.92 (2H, s, H-5''', 9'''), 6.43 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-2'''), 5.82 (1H, brs, H-7), 5.13 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1), 4.71 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-1'), 4.53 (1H, dd, $J = 12.0, 1.8$ Hz, H-6''a), 4.40 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-1''), 4.30 (1H, overlapped, H-10a), 4.30 (1H, overlapped, H-6''b), 4.19 (1H, brd, $J = 13.4$ Hz, H-10b), 4.10 (1H, dd, $J = 12.0, 1.6$ Hz, H-6'a), 3.87 (6H, s, 6''', 8'''-OCH₃), 3.74 (1H, dd, $J = 12.0, 7.1$ Hz, H-6'b), 3.69 (3H, s, 11-OCH₃), 3.54 (1H, m, H-5'), 3.52 (1H, m, H-5''), 3.40 (1H, m, H-3'), 3.38 (1H, m, H-3''), 3.35 (1H, m, H-4''), 3.28 (1H, m, H-4'), 3.25 (1H, m, H-2'), 3.21 (1H, m, H-2''), 3.13 (1H, m, H-5), 2.79 (1H, dd, $J = 16.1, 8.3$ Hz, H-6a), 2.69 (1H, t, $J = 7.7$ Hz, H-9), 2.13 (1H, dd, $J = 16.1, 8.2$ Hz, H-6b); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 169.6 (C-11), 169.2 (C-1'''), 153.4 (C-3), 150.8 (C-7'''), 149.4 (C-6'''), 147.2 (C-3'''), 144.8 (C-8), 129.0 (C-7), 127.6 (C-4'''), 124.3 (C-9'''), 116.5 (C-8'''), 115.2 (C-2'''), 112.3 (C-4), 111.7 (C-5'''), 105.0 (C-1''), 100.6 (C-1'), 98.8 (C-1), 77.8 (C-3'), 77.8 (C-3''), 77.6 (C-5'), 75.4 (C-5''), 75.1 (C-2''), 74.8 (C-2'), 71.7 (C-4'), 71.6 (C-4''), 70.2 (C-6'), 64.7 (C-6''), 61.5 (C-10), 56.5 (8'''-OCH₃), 51.7

(11-OCH₃), 46.9 (C-9), 39.8 (C-6), 36.8 (C-5)。上述数据与文献报道^[21]对照基本一致, 故鉴定化合物 **11** 为 6''-O-反-芥子酰基京尼平龙胆二糖苷。

化合物 **12**: 黄色无定形粉末, ESI-MS m/z : 747 [M+Na]⁺, 724 [M-H]⁻, 提示化合物的相对分子质量为 724。结合 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据, 推测分子式为 C₃₃H₄₀O₁₈, 计算其不饱和度为 14。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.50 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-3'''), 7.45 (1H, brs, H-3), 7.04 (1H, brs, H-5'''), 6.94 (1H, brd, J = 8.4 Hz, H-9'''), 6.78 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-8'''), 6.19 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-2'''), 5.76 (1H, brs, H-7), 5.28 (1H, dd, J = 12.4, 6.0 Hz, H-3''), 5.07 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-1), 4.79 (2H, overlapped, H-10), 4.70 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-1'), 4.16 (1H, brs, H-5''), 3.88 (1H, brd, J = 12.0 Hz, H-6'a), 3.76 (1H, brd, J = 4.4 Hz, H-4''), 3.69 (3H, s, 11-OCH₃), 3.67 (1H, dd, J = 12.0, 4.8 Hz, H-6'b), 3.35 (1H, overlapped, H-3'), 3.31 (1H, overlapped, H-4'), 3.29 (1H, overlapped, H-5'), 3.21 (1H, m, H-2'), 3.16 (1H, m, H-5), 2.78 (2H, overlapped, H-6), 2.78 (1H, overlapped, H-9), 2.23 (2H, m, H-6''), 2.02 (2H, m, H-2''); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 174.7 (C-7''), 169.4 (C-11), 168.2 (C-1'''), 153.2 (C-3), 149.7 (C-7'''), 147.2 (C-3'''), 146.9 (C-6'''), 138.9 (C-8), 131.3 (C-7), 127.6 (C-4'''), 123.1 (C-9'''), 116.6 (C-8'''), 115.2 (C-5'''), 115.1 (C-2'''), 112.3 (C-4), 100.5 (C-1'), 98.2 (C-1), 78.4 (C-5'), 77.8 (C-3'), 75.8 (C-1''), 74.8 (C-2'), 72.3 (C-4''), 72.2 (C-3''), 71.5 (C-4'), 69.9 (C-5''), 64.4 (C-10), 62.8 (C-6'), 51.7 (11-OCH₃), 47.2 (C-9), 39.9 (C-6), 38.1 (C-2''), 38.1 (C-6''), 36.0 (C-5)。上述数据与文献报道^[17]对照基本一致, 故鉴定化合物 **12** 为 jasmigeniposide A。

化合物 **13**: 黄色无定形粉末, Molish 反应阳性, $[\alpha]_D^{18}$ -21.0° (c 0.5, MeOH)。ESI-MS 给出 m/z 1 383 [2M+Na]⁺, 703 [M+Na]⁺, 提示化合物相对分子质量为 680。结合 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据, 推测分子式为 C₃₂H₄₀O₁₆, 计算其不饱和度为 13。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.72 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-3'''), 7.61 (2H, m, H-5''', 9'''), 7.47 (1H, d, J = 1.2 Hz, H-3), 7.40 (3H, m, H-6'''~8'''), 6.57 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-2'''), 5.82 (1H, s, H-7), 5.14 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-1), 4.70 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-1'), 4.53 (1H, dd, J = 12.0, 2.4 Hz, H-6''a), 4.40 (1H, d, J = 8.0 Hz,

H-1''), 4.32 (1H, d, J = 5.6 Hz, H-6''b), 4.29 (1H, d, H-10a), 4.19 (1H, d, J = 14.4 Hz, H-10b), 4.09 (1H, dd, J = 12.0, 2.0 Hz, H-6'a), 3.73 (1H, dd, J = 12.0, 7.2 Hz, H-6'b), 3.68 (3H, s, 11-OCH₃), 3.53 (1H, overlapped, H-5'), 3.53 (1H, overlapped, H-5''), 3.39 (1H, d, J = 9.2 Hz, H-3'), 3.34 (1H, overlapped, H-3''), 3.34 (1H, overlapped, H-4''), 3.25 (1H, m, H-2'), 3.22 (1H, m, H-4'), 3.18 (1H, m, H-2''), 3.15 (1H, m, H-5), 2.79 (1H, dd, J = 16.4, 8.4 Hz, H-6a), 2.69 (1H, t, J = 7.8 Hz, H-9), 2.14 (1H, dd, J = 16.4, 8.0 Hz, H-6b); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 169.6 (C-11), 168.5 (C-1'''), 153.4 (C-3), 146.6 (C-3'''), 144.8 (C-8), 135.7 (C-4'''), 131.6 (C-7'''), 130.0 (C-6'''), 130.0 (C-8'''), 129.3 (C-5'''), 129.3 (C-9'''), 129.0 (C-7), 118.7 (C-2'''), 112.3 (C-4), 105.0 (C-1''), 100.6 (C-1'), 99.0 (C-1), 77.8 (C-3'), 77.8 (C-3''), 77.6 (C-5'), 75.3 (C-5''), 75.1 (C-2''), 74.8 (C-2'), 71.8 (C-4'), 71.6 (C-4''), 70.1 (C-6'), 64.9 (C-6''), 61.5 (C-10), 51.7 (11-OCH₃), 46.9 (C-9), 39.7 (C-6), 36.7 (C-5)。上述数据与文献报道^[21]对照基本一致, 故鉴定化合物 **13** 为 6''-O-反-桂皮酰基京尼平龙胆二糖苷。

化合物 **14**: 淡黄色胶状物, ESI-MS m/z : 1 095 [2M+Na]⁺, 559 [M+Na]⁺, 提示化合物的相对分子质量为 536。结合 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据, 推测分子式为 C₂₅H₃₈O₁₃, 计算其不饱和度为 12。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.52 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-3''), 7.27 (1H, brs, H-3), 7.04 (1H, brs, H-5''), 6.93 (1H, brd, J = 8.0 Hz, H-9''), 6.77 (1H, brd, J = 8.0 Hz, H-8''), 6.19 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-2''), 5.49 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-1), 5.29 (2H, brd, J = 15.6 Hz, H-10), 4.88 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-1'), 4.80 (1H, overlapped, H-2'), 4.31 (1H, brt, J = 6.8 Hz, H-7), 3.93 (1H, brd, J = 12.0 Hz, H-6'a), 3.69 (1H, dd, J = 12.0, 4.0 Hz, H-6'b), 3.62 (1H, m, H-5'), 3.38 (1H, m, H-3'), 3.34 (1H, overlapped, H-4'), 2.99 (1H, overlapped, H-5), 2.16 (1H, m, H-6a), 1.80 (1H, m, H-6b); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 170.6 (C-11), 168.2 (C-1''), 152.9 (C-8), 152.3 (C-3), 149.4 (C-7''), 147.1 (C-3''), 146.7 (C-6''), 128.0 (C-4''), 123.1 (C-9''), 116.5 (C-8''), 115.4 (C-5''), 115.1 (C-2''), 112.0 (C-4), 111.9 (C-10), 97.9 (C-1'), 96.4 (C-1), 78.6 (C-3'), 76.1 (C-5'), 74.7 (C-2'), 73.8 (C-7), 71.8 (C-4'), 62.8 (C-6'), 45.3 (C-9), 39.8 (C-6), 30.9 (C-5)。上述数

据与文献报道^[17]对照基本一致, 故鉴定化合物 14 为 2'-O-反-咖啡酰基梔子新苷。

4 热毒宁注射液、梔子药材的 UPLC 分析

4.1 分析条件

4.1.1 UPLC 色谱条件 Waters ACQUITY™ BEH C₁₈ 色谱柱(150 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 柱温 40 °C, 体积流量 0.4 mL/min, 流动相 A: 0.1%甲酸水溶液, 流动相 B: 乙腈含 0.1%甲酸, 梯度洗脱程序: 0~5 min, 2%~5% B; 5~10 min, 5%~12% B; 10~15 min, 12%~30% B; 15~19 min, 30%~55% B; 19~20 min, 55%~100% B; 20~23 min, 100% B; 23~23.5 min, 100%~2% B。

4.1.2 质谱条件 电喷雾离子化源 (ESI), 离子源毛细管电压正离子模式 3 kV, 负离子模式 -2.5 kV, 锥孔电压正离子模式 35 V, 负离子模式 40 V, 二级锥孔电压 4 V, 源温 100 °C, 脱溶剂气温度 300 °C, 反吹气体积流量 50 L/h, 脱溶剂气体积流量 800 L/h, 氦气为碰撞气, 在 MSE 模式中, 低能通道碰

撞能 5 eV, 高能通道碰撞能 20~50 eV, 在 MS/MS 模式中, 根据不同目标化合物的类型设定相应碰撞能量。质谱扫描范围为 50~1 500, 以甲酸钠溶液校正质量轴, 以亮氨酸脑啡肽 (leucine-enkephalin) 为内标校正质量精度 (正离子模式 m/z 556.277 1, 负离子模式 m/z 554.261 5), LockSpray™ 体积流量 5 μL/min。数据采集为 centroid 模式。紫外检测器全波长扫描范围为 200~400 nm。数据处理软件为 MassLynx V4.1。

4.2 UPLC 定性分析结果

在相同的液质条件下对热毒宁注射液和梔子药材进行 UPLC 分析得到相应的总离子流图 (图 1)。根据 MassLynx V4.1 软件计算出来的化合物精确相对分子质量分别从热毒宁注射液和梔子药材的总离子流图 (TIC 图) 中抽提相应的化合物, 根据抽提得到的各化合物色谱峰的保留时间和元素组成分析确定化合物的药材来源归属, 结果见图 2 和 3。

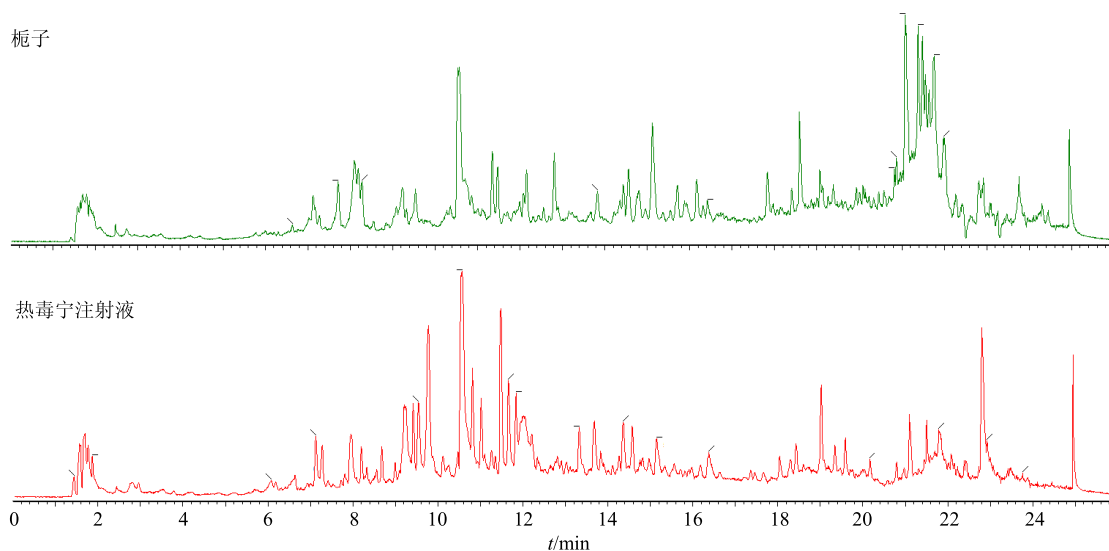


图 1 热毒宁注射液和梔子药材的化学成分的 TIC 图

Fig. 1 TIC of chemical constituents in Reduning Injection and *Gardenia jasminoides*

根据图 2 和 3 详细对比各化合物的保留时间和元素组成分析可发现, 化合物 5、7~13 均来源于梔子药材。以化合物 9 为例简要阐明其药材来源归属, 首先根据 MassLynx V4.1 软件计算得到化合物 9 的精确相对分子质量为 719.216 3。从热毒宁注射液和梔子药材的总离子流图中抽提精确相对分子质量为 719.216 3 的色谱峰, 结果发现热毒宁注射液和梔子药材在相同保留时间上均可抽提得到精确相对

分子质量为 719.216 3 的色谱峰 (图 3), 进一步通过元素组成分析得到化合物 9 的分子式为 C₃₂H₄₀O₁₇ (精确相对分子质量实测值为 719.216 9, 误差为 0.8×10^{-6} , 匹配度为 99.15%, 图 4)。最后, 结合梔子药材已报道的化学成分信息^[21-22], 确定化合物 9 为 6"-O-反-对香豆酰基京尼平龙胆二糖。

5 讨论

本研究综合应用各种色谱手段从热毒宁注射液

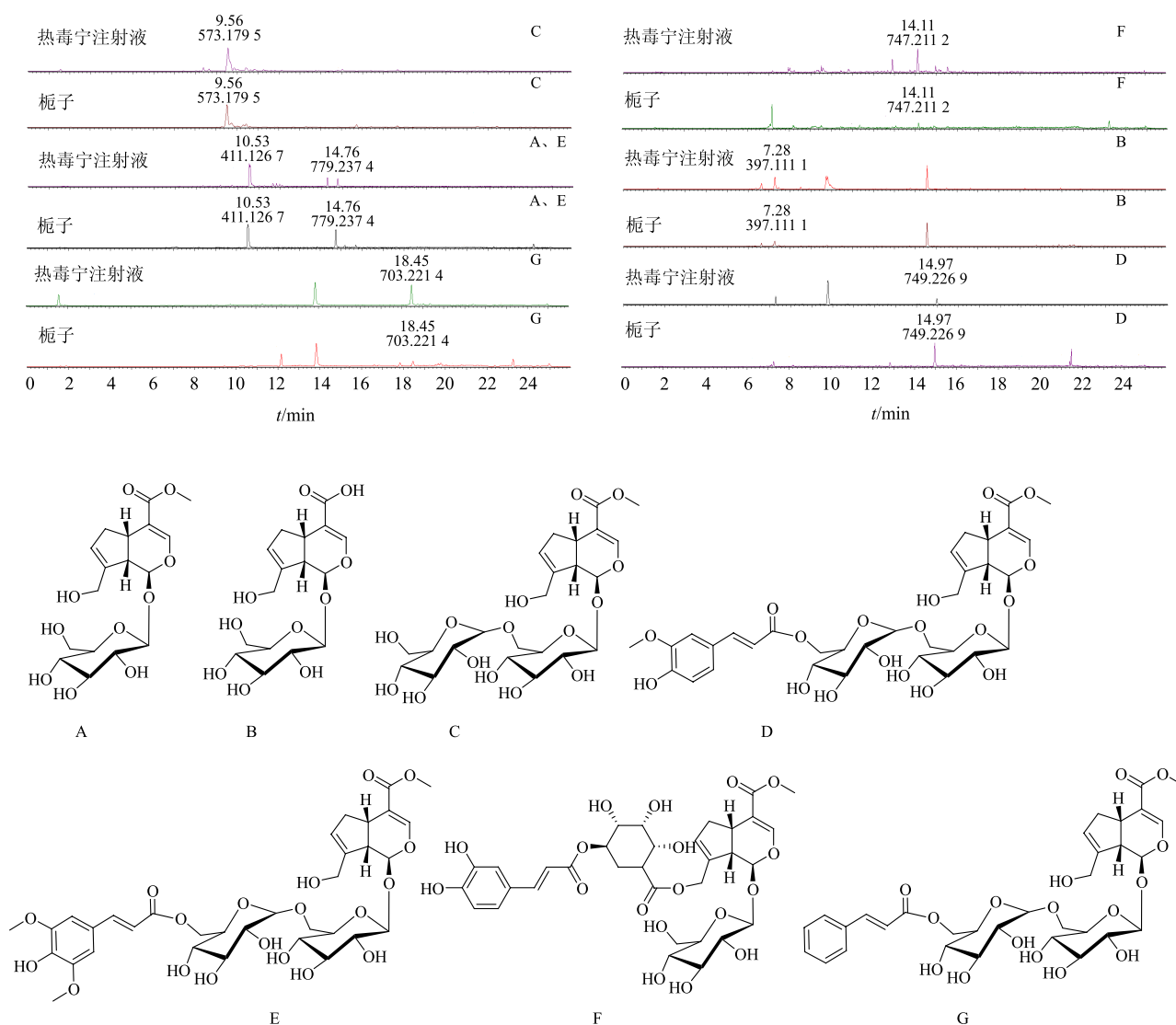


图 2 化合物 5 (A)、7 (B)、8 (C)、10 (D)、11 (E)、12 (F)、13 (G) 的 EIC-MS 色谱图和结构式
Fig. 2 EIC-MS peaks and structures of compounds 5 (A), 7 (B), 8 (C), 10 (D), 11 (E), 12 (F), and 13 (G)

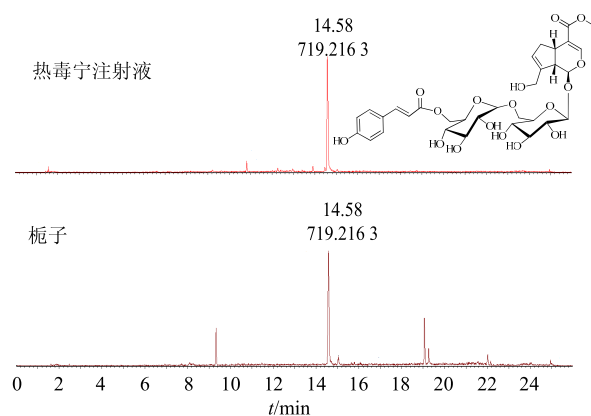


图 3 化合物 9 的 EIC-MS 色谱图
Fig. 3 EIC-MS peak of compound 9

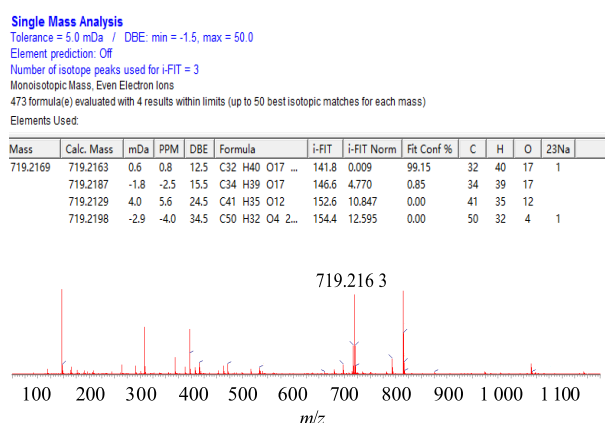


图 4 化合物 9 的 HR-ESI-Q-TOF 分析
Fig. 4 HR-ESI-Q-TOF analysis of compound 9

解热抗炎活性部位共分离鉴定了14个化合物,并采用质谱检识和文献对照相结合的方法对分离得到的化合物进行药材来源归属。结果发现,京尼平苷^[23]、京尼平苷酸、京尼平龙胆二糖苷^[19]、6"-O-反-对香豆酰基京尼平龙胆二糖^[21-22]、6"-O-反-阿魏酰基京尼平龙胆二糖苷^[18]、6"-O-反-芥子酰基京尼平龙胆二糖苷^[21-22]、jasmigeniposide A^[17]和6"-O-反-桂皮酰基京尼平龙胆二糖苷^[21]均来源于梔子。此外,虽然jasmigeniposide B、2'-O-反-咖啡酰基梔子新苷也是从热毒宁注射液分离得到的化学成分,但由于制剂成分的复杂性或在梔子中的量过低,未在梔子和热毒宁注射液TIC图中检测到该成分。以上结果在一定程度上为梔子药材在热毒宁注射液中的贡献提供了依据。在后续研究中,本课题组将继续追踪分离热毒宁注射液解热抗炎活性部位的成分,并通过选择适宜的药理模型对分离得到的化学成分进行活性评价,为热毒宁注射液质量标准的深入研究奠定一定基础。

参考文献

- [1] 郭震浪,苏振宁,王正飞,等.热毒宁与利巴韦林比较治疗小儿急性上呼吸道感染的Meta分析[J].中成药,2016,28(2):278-283.
- [2] 杜娟.中西医结合治疗小儿支气管肺炎[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(3):214-215.
- [3] 庄新荣.热毒宁辅助治疗小儿支气管肺炎的疗效分析[J].中国医药指南,2015,13(5):202-203.
- [4] 潘宇贵,潘雅芳,韦红梅,等.热毒宁治疗手足口病疗效分析[J].中国处方药,2016,13(9):67-68.
- [5] 黄文娟,仇毅,袁树伟.热毒宁注射液治疗小儿手足口病的随机对照试验[J].中成药,2014,36(7):1565-1567.
- [6] 殷殷.用热毒宁注射液治疗小儿秋季腹泻的疗效分析[J].当代医药论丛,2014,12(21):225.
- [7] 杨忠奇,冼绍祥,刘南,等.热毒宁注射液治疗普通型登革热的有效性及安全性临床研究[J].中药新药与临床药理,2016,27(1):135-138.
- [8] 李雄,王国政.热毒宁注射液治疗急性咽喉炎感染100例[J].时珍国医国药,2016,26(4):926.
- [9] 李海波,于洋,王振中,等.热毒宁注射液抗病毒活性成分研究(I)[J].中草药,2014,45(12):1682-1688.
- [10] 李海波,于洋,王振中,等.热毒宁注射液化学成分研究(II)[J].中草药,2015,46(11):1597-1602.
- [11] 李海波,于洋,王振中,等.热毒宁注射液化学成分研究(III)[J].中草药,2016,47(10):1643-1649.
- [12] 李洁,陈全成,林挺,等.刺苋的化学成分研究[J].中草药,2013,44(3):272-276.
- [13] 姜一平,李华,潘学智,等.毛冬青根的化学成分[J].中药材,2013,36(11):1774-1778.
- [14] 段洁,李巍,胡旭佳,等.九子参化学成分研究[J].中草药,2009,40(4):528-530.
- [15] 蒋文贤,罗世林,王英,等.美洲大蠊的化学成分[J].暨南大学学报,2015,36(4):294-301.
- [16] 刘素娟,张现涛,王文明,等.水梔子化学成分的研究[J].中草药,2012,43(2):238-241.
- [17] Li H B, Yu Y, Wang Z Z, et al. Iridoid and bis-iridoid glucosides from the fruit of *Gardenia jasminoides* [J]. *Fitoterapia*, 2013, 88: 7-11.
- [18] Zuhali G, Nurcan K, Yusuf K, et al. Chemical constituents of *Galium tortumense* [J]. *Turk J Chem*, 2006, 30(4): 515-523.
- [19] 黄滔,穆淑珍,郝小江.梔子化学成分研究[J].中药材,2012,35(12):1950-1952.
- [20] 蔡财军,张忠立,左月明,等.梔子环烯醚萜类化学成分研究[J].时珍国医国药,2013,24(2):342-343.
- [21] Yu Y, Xie Z L, Yao X S, et al. Bioactive iridoid glucosides from the fruit of *Gardenia jasminoides* [J]. *J Nat Prod*, 2009, 72(8): 1459-1464.
- [22] 蔡妙婷,左月明,张忠立,等.梔子化学成分(IV)[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(22):88-91.
- [23] 唐娜娜,张静.药用梔子化学成分研究[J].中国药师,2014,17(3):381-383.