

# 羌活中的香豆素类成分及其抑制脂多糖诱导的 RAW 264.7 细胞 NO 生成活性的研究

吴秀稳<sup>1,2</sup>, 杨秀伟<sup>1\*</sup>

1. 北京大学药学院 天然药物学系, 天然药物及仿生药物国家重点实验室, 北京 100191

2. 河北医科大学药学院, 河北 石家庄 050017

**摘要:** 目的 研究羌活 *Notopterygium incisum* 的香豆素类成分及其抗炎活性。方法 采用硅胶、HPLC 等柱色谱方法进行分离纯化, 通过质谱、核磁共振波谱数据鉴定化合物的结构; 采用脂多糖 (LPS) 诱导的小鼠巨噬细胞 RAW 264.7 炎症反应模型, 考察羌活中香豆素类成分对炎症反应模型一氧化氮 (NO) 生成的影响。结果 从羌活甲醇提取物分离得到 24 个香豆素类化合物, 分别鉴定为异欧前胡素 (1)、川白芷素 (2)、补骨脂素 (3)、香柑内酯 (4)、茵陈素 (5)、欧芹酚 (6)、5-去氢羌活醇 (7)、环氧脱水羌活醇 (8)、7'-O-甲基异羌活醇 (9)、佛手柑素 (10)、7-异戊烯氧基-6-甲氧基-香豆素 (11)、栓翅芹烯醇 (12)、羌活醇 (13)、去甲呋喃羽叶芸香素 (14)、异羌活醇 (15)、蛇床子内酯 (16)、6-异戊烯氧基伞形花内酯 (17)、紫花前胡苷元 (18)、异虎耳草素 (19)、紫花前胡苷 (20)、前胡苷 V (21)、前胡苷 I (22)、印楝苷元-11-O-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→6)-β-D-吡喃葡萄糖苷 (23)、羌活苷 (24)。化合物 7~10、13 和 15 抑制 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞 NO 生成活性最强, 最大半数抑制浓度 (IC<sub>50</sub>) 值为 8.50~35.12 μmol/L。结论 化合物 7 为新的天然产物, 化合物 17 为首次从羌活中分离得到; C-5 位上具有多烯结构的香豆素抑制 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞 NO 生成活性较强。

**关键词:** 羌活; 香豆素; 5-去氢羌活醇; 6-异戊烯氧基伞形花内酯; 抑制 NO 生成

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2020)13-3383-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.13.004

## Coumarins from *Notopterygium incisum* and their inhibitory effect against lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in RAW 264.7 macrophage cells

WU Xiu-wen<sup>1,2</sup>, YANG Xiu-wei<sup>1</sup>

1. State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, Department of natural medicines, School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100191, China

2. School of Pharmaceutical Sciences, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China

**Abstract: Objective** To study coumarins from *Notopterygium incisum* and their anti-inflammatory effect. **Methods** Coumarins were separated and purified by repeated column chromatography on silica gel and HPLC, and their chemical structures were determined by spectral data analyses of MS and NMR. Lipopolysaccharide (LPS)-induced RAW 264.7 macrophage cells accompanying overproduction of pro-inflammatory mediator nitric oxide (NO) were applied to investigate the anti-inflammatory effect of these purified coumarins. **Results** Twenty-four coumarins were obtained and identified as isoimperatorin (1), angenomalin (2), psoralen (3), bergapten (4), capillarin (5), osthenol (6), 5-dehydronotoptol (7), anhydronotoptol (8), 7'-O-methylnotoptol (9), bergamottin (10), 7-isopentenyl-6-methoxy-coumarin (11), pabulenol (12), notoptol (13), demethylfuopinarin (14), notoptol (15), cnidilin (16), 6-isopentenylumbelliferone (17), nodakenitin (18), isopimpinellin (19), nodakenin (20), decuroside V (21), decuroside I (22), marmesin-11-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside (23), and forbeside (24), respectively. Coumarins 7—10, 13, and 15 exhibited potent inhibitory activity against LPS-induced NO production in RAW 264.7 cells with half maximal inhibitory concentration values from 8.50 to 35.12 μmol/L. **Conclusion** Compound 7 is a new natural product; compound 17 is obtained from

收稿日期: 2019-12-20

作者简介: 吴秀稳 (1988—), 女, 博士, 讲师, 主要从事天然药物化学研究。

\*通信作者 杨秀伟 E-mail: xwyang@bjmu.edu.cn

the roots and rhizomes of *N. incisum* for the first time; Unsaturated double bond on C-5 in the aromatic ring significantly improved the anti-inflammatory activity of coumarins.

**Key words:** *Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang; coumarins; 5-dehydronotopterol; 6-isopentenylxyumbelliferone; inhibition on NO production

羌活为伞形科植物羌活 *Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang 和宽叶羌活 *Notopterygium franchetii* H. de Boiss. 的干燥根及根茎, 历版《中国药典》皆有收载。羌活性温, 味辛、苦, 入膀胱、肾经, 具有解表散寒、祛风胜湿、止痛的功效, 临床上多用于治疗风寒感冒、头痛项强、风湿痹痛、肩背酸痛等<sup>[1]</sup>。中药物质基础研究是中药继承、发展、创新的关键科学问题<sup>[2]</sup>, 有关羌活的物质基础即化学成分的研究已有诸多报道, 其主要含有挥发油、香豆素、有机酸、萜类、炔类、氨基酸、糖类<sup>[3-8]</sup>等化学成分。近年研究发现, 羌活具有较强的抗炎作用, 这些研究的对象不仅包括羌活提取物<sup>[9]</sup>, 还涉及多炔类<sup>[4]</sup>、酚酸类<sup>[6]</sup>等羌活单体化合物。前期研究也证实羌活中的主要酚及其酚酸酯类化合物苯乙基阿魏酸酯、4-甲氧基苯乙基阿魏酸酯和(-)-龙脑阿魏酸酯均具有抗炎作用, 效果优于阳性对照药 *L-N<sup>6</sup>-(1-亚氨基乙基)赖氨酸盐酸盐* [*L-N<sup>6</sup>-(1-Iminoethyl) lysine hydrochloride, L-NIL*] 和吲哚美辛 (*Indomethacin, IND*)<sup>[6]</sup>。作为羌活物质基础研究的延续, 本研究从羌活甲醇提取物分离鉴定了 24 个香豆素类化合物, 分别为异欧前胡素 (*isoimperatorin, 1*)、川白芷素 (*angenomalin, 2*)、补骨脂素 (*psoralen, 3*)、香柑内酯 (*bergapten, 4*)、茵陈素 (*capillarin, 5*)、欧芹酚 (*osthenol, 6*)、5-去氢羌活醇 (5-dehydronotopterol, *7*)、环氧脱水羌活酚 (*anhydronotopoloxide, 8*)、7'-O-甲基异羌活醇 (7'-O-methylnotoptol, *9*)、佛手柑素 (*bergamottin, 10*)、7-异戊烯氧基-6-甲氧基-香豆素 (7-isopentenylxy-6-methoxy-coumarin, *11*)、栓翅芹烯醇 (*pabulenol, 12*)、羌活醇 (*notopterol, 13*)、去甲呋喃羽叶芸香素 (*demethylfuropinarine, 14*)、异羌活醇 (*notoptol, 15*)、蛇床子内酯 (*cnidilin, 16*)、6-异戊烯氧基伞形花内酯 (6-isopentenyl-oxyumbelliferone, *17*)、紫花前胡苷元 (*nodakenitin, 18*)、异虎耳草素 (*isopimpinellin, 19*)、紫花前胡苷 (*nodakenin, 20*)、前胡苷 V (*decuroside V, 21*)、前胡苷 I (*decuroside I, 22*)、印楝苷元-11-O-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→6)-β-D-吡喃葡萄糖苷 (*marmesin-11-O-β-D-*

*glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside, 23*)、羌活苷 (*forbesoside, 24*)。化合物的结构见图 1。其中化合物 *7* 为新的天然产物, 化合物 *17* 为首次从羌活中分离得到。此外, 采用脂多糖 (LPS) 诱导的小鼠巨噬细胞 RAW 264.7 炎症反应模型评价了上述香豆素成分的抗炎作用, 结果显示化合物 *7*~*10*、*13* 和 *15* 抑制一氧化氮 (NO) 生成活性最强。

## 1 仪器与材料

Bruker AV III 400 型核磁共振波谱仪 (Bruker BioSpin AG Facilities, Fällanden, Switzerland), TMS 为内标; Shimadzu 8050 triple quadrupole 质谱仪 (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan); 创新通恒 LC 3000 半制备高效液相色谱仪, 配置 P3050 型二元泵, UV3000 型 UV 检测器, CXTH-3000 工作站; Phenomenex Prodigy ODS 柱 (250 mm×21.2 mm, 10 μm; Phenomenex, Torrance, CA, USA); BSC-1100-IIB2 型哈东联生物安全柜 (北京东联哈尔仪器制造有限公司); SANYO MCO-18AIC 二氧化碳培养箱 (日本 Sanyo 公司); PHS-25 型酸度计 (上海精密科学仪器有限公司); STIK 高压蒸气灭菌器 (上海施都凯仪器设备有限公司); XDS-1 倒置显微镜 (重庆光电仪器总公司); AR4120 型万分之一电子天平 [奥豪斯国际贸易 (上海) 有限公司]; Thermo Multiskan MK3 酶标仪 (Thermo-Labsystem, Franklin, MA, USA)。

柱色谱硅胶 (200~300、300~400 目)、硅胶 H 和 GF<sub>254</sub> 薄层色谱 (TLC) 硅胶购自青岛海洋化工厂; 分析纯环己烷、石油醚、醋酸乙酯、丙酮、三氯甲烷、甲醇、正丁醇购自北京化工厂; 制备用色谱纯乙腈、甲醇购自北京通广精细化工公司; 96 孔板购自 Corning Costar (Cambridge, MA, USA) 公司; DMEM 培养基、胎牛血清 (FBS) 购自美国 Gibco 公司; 磷酸盐缓冲液 (PBS)、二甲基亚砜 (DMSO)、Griess 试剂、LPS、L-NIL、IND 和 MTT 购自美国 Sigma 公司。

羌活药材于 2014 年 9 月采自甘孜藏族自治州丹巴县, 经四川省中医药科学院蒋顺媛博士鉴定为羌活 *Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang 的根和

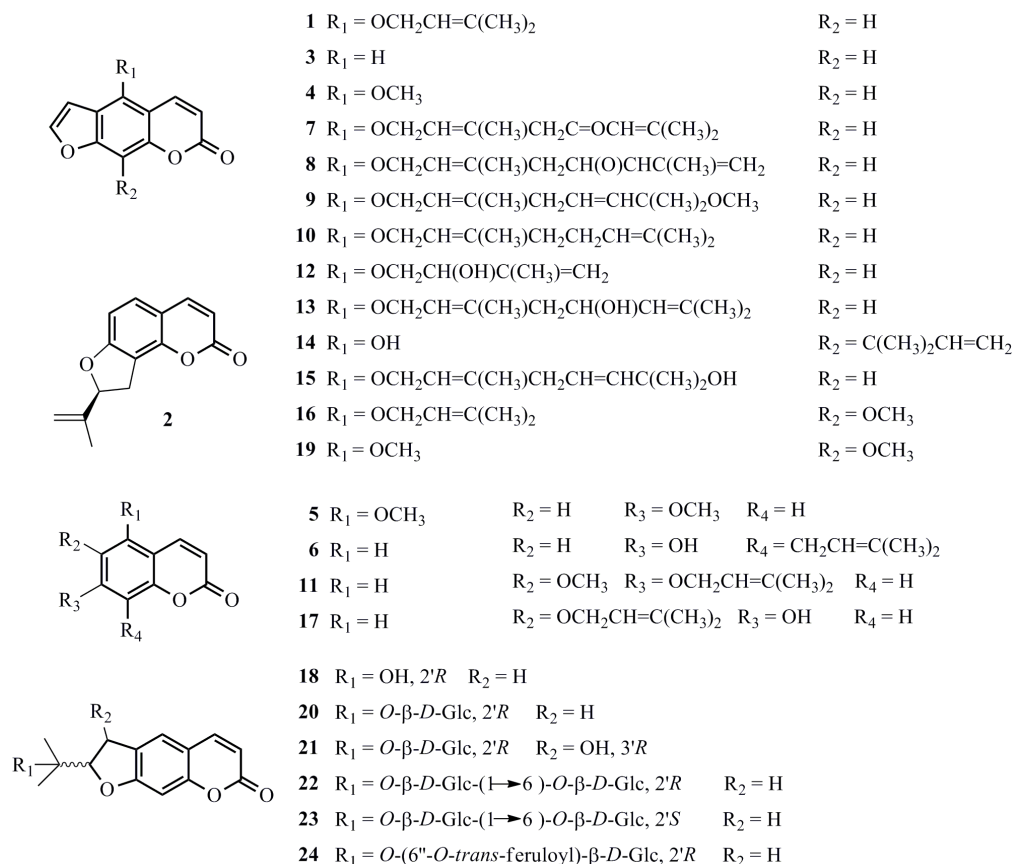


图 1 羌活中香豆素的化学结构

Fig. 1 Structures of coumarins in roots and rhizomes of *N. incisum*

根茎, 凭证标本 (QH201409) 保存在北京大学药学院天然药物及仿生药物国家重点实验室。

小鼠单核巨噬细胞株 RAW 264.7 (3111C0001CCC000146) 购自中国医学科学院基础医学研究所基础医学细胞中心。

## 2 提取与分离

羌活干燥根和根茎粗粉 2.0 kg 加入 3 倍体积的甲醇回流提取 4 次, 第 1 次提取 2 h, 以后每次提取 1 h, 滤过, 合并滤液, 减压回收甲醇, 得浸膏 513.0 g (收率为 25.7%)。将浸膏用适量水溶解分散, 依次用环己烷、醋酸乙酯、正丁醇各萃取 5 次, 得环己烷萃取物 89.0 g (按投料生药计算收率为 4.46%, 下同)、醋酸乙酯萃取物 150.0 g (收率 7.51%)、正丁醇萃取物 29.0 g (收率 1.45%) 和残留水层。

取环己烷萃取物 (89.0 g), 经硅胶柱色谱, 环己烷-醋酸乙酯 (50:1 $\rightarrow$ 0:1) 梯度洗脱, 析出结晶部分经环己烷-醋酸乙酯反复重结晶得化合物 1 (3.0 g), 其余流经薄层色谱 (TLC) 检识, 相同流分合并, 得组分 Fr. 1~4。Fr. 1 (6.8 g) 经硅胶柱

色谱、半制备性 HPLC (甲醇-水 70:30) 分离、纯化得化合物 2 (20 mg,  $t_R=37$  min)。Fr. 2 (20.6 g) 经半制备性 HPLC (甲醇-水 65:35) 分离得组分 Fr. 2-1~2-3。Fr. 2-1 经半制备性 HPLC (乙腈-水 35:65) 分离得组分 Fr. 2-1-1、Fr. 2-1-2、化合物 3 (15 mg,  $t_R=80$  min) 和 4 (200 mg,  $t_R=134$  min); Fr. 2-1-1 经硅胶柱色谱, 三氯甲烷-醋酸乙酯 (20:1) 洗脱得化合物 5 (10 mg); Fr. 2-1-2 经硅胶柱色谱, 三氯甲烷-醋酸乙酯 (20:1) 洗脱得化合物 6 (20 mg)。Fr. 2-2 经硅胶柱色谱, 三氯甲烷-醋酸乙酯 (30:1) 洗脱得化合物 7 (6 mg)。Fr. 2-3 经硅胶柱色谱, 三氯甲烷-丙酮 (100:1) 洗脱得化合物 8 (5 mg) 和 9 (5 mg)。Fr. 3 (6.5 g) 经硅胶柱色谱, 三氯甲烷-醋酸乙酯 (30:1) 洗脱得组分 Fr. 3-1、Fr. 3-2 和化合物 10 (30 mg)。Fr. 3-1 经半制备性 HPLC (甲醇-水 45:55) 分离得化合物 11 (20 mg,  $t_R=58$  min)。Fr. 3-2 经半制备性 HPLC (乙腈-水 30:70) 分离得化合物 12 (10 mg,  $t_R=42$  min)。

取醋酸乙酯萃取物 (150.0 g), 经硅胶柱色谱,

石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱(10:1→0:1),析出结晶部分经三氯甲烷反复重结晶得化合物 **13** (2.0 g),其余流分经 TLC 检识,合并相同流分,得组分 Fr. 1~3。Fr. 1 (2.5 g) 经硅胶柱色谱,三氯甲烷-醋酸乙酯(10:1)洗脱得组分 Fr. 1-1~1-2。Fr. 1-1 经半制备性 HPLC (乙腈-水 60:40) 分离得化合物 **14** (10 mg,  $t_R=59$  min)。Fr. 1-2 经半制备性 HPLC (乙腈-水 70:30) 分离得化合物 **15** (30 mg,  $t_R=62$  min) 和 **16** (15 mg,  $t_R=78$  min)。Fr. 2 (26.2 g) 经半制备性 HPLC (甲醇-水 60:40) 分离得组分 Fr. 2-1~2-2; Fr. 2-1 经半制备性 HPLC (乙腈-水 45:55) 分离得化合物 **17** (5 mg,  $t_R=31$  min)。Fr. 3 (3.9 g) 经硅胶柱色谱,三氯甲烷-醋酸乙酯(50:1)洗脱得组分 Fr. 3-1~3-2。Fr. 3-1 经半制备性 HPLC (乙腈-水 40:60) 分离得化合物 **18** (20 mg,  $t_R=21$  min) 和 **19** (5 mg,  $t_R=38$  min)。Fr. 3-2 经硅胶柱色谱,三氯甲烷-甲醇(50:1)洗脱得化合物 **20** (30 mg)。

取正丁醇萃取物(29.0 g),经硅胶柱色谱,三氯甲烷-甲醇梯度洗脱(50:1→0:1),TLC 检识、合并相同流分,得组分 Fr. 1 和 Fr. 2。Fr. 1 经半制备性 HPLC (甲醇-水 25:75) 分离得化合物 **21** (20 mg,  $t_R=58$  min)、**22** (15 mg,  $t_R=96$  min) 和 **23** (10 mg,  $t_R=103$  min)。Fr. 2 经半制备性 HPLC (乙腈-水 20:80) 分离得化合物 **24** (10 mg,  $t_R=47$  min)。

### 3 结构鉴定

化合物 **1**: 针状结晶(环己烷-醋酸乙酯); ESI-MS  $m/z$ : 271  $[M+H]^+$ , 分子式  $C_{16}H_{14}O_4$ ;  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 8.11 (1H, d,  $J=9.8$  Hz, H-4), 7.57 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-2'), 7.09 (1H, s, H-8), 6.93 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-3'), 6.23 (1H, d,  $J=9.8$  Hz, H-3), 5.51 (1H, t,  $J=7.0$  Hz, H-2''), 4.89 (2H, d,  $J=7.0$  Hz, H-1''), 1.77 (3H, s, 4''-CH<sub>3</sub>), 1.68 (3H, s, 5''-CH<sub>3</sub>);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 161.2 (C-2), 158.0 (C-7), 152.5 (C-9), 148.9 (C-5), 144.8 (C-2'), 139.7 (C-3''), 139.5 (C-4), 119.0 (C-2''), 114.0 (C-6), 112.4 (C-3), 107.3 (C-10), 105.0 (C-3'), 94.0 (C-8), 69.6 (C-1''), 25.7 (C-4''), 18.1 (C-5'')。以上数据与文献报道一致<sup>[10-11]</sup>, 故鉴定化合物 **1** 为异欧前胡素。

化合物 **2**: 淡黄色粉末(甲醇-水); ESI-MS  $m/z$ : 229  $[M+H]^+$ , 分子式  $C_{14}H_{12}O_3$ ;  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.63 (1H, d,  $J=9.6$  Hz, H-4), 7.29 (1H, d,  $J=8.4$  Hz, H-5), 6.77 (1H, d,  $J=8.4$  Hz, H-6), 6.21 (1H, d,  $J=9.6$  Hz, H-3), 5.36 (1H, t,  $J=9.9$  Hz, H-2'),

5.11 (1H, s, H-5'a), 4.96 (1H, s, H-5'b), 3.52 (1H, dd,  $J=15.9, 9.9$  Hz, H-3'a), 3.18 (1H, dd,  $J=15.9, 9.9$  Hz, H-3'b), 1.78 (3H, s, 6'-CH<sub>3</sub>);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 163.9 (C-7), 161.1 (C-2), 151.5 (C-9), 144.1 (C-4), 143.0 (C-4'), 128.9 (C-5), 113.5 (C-10), 113.1 (C-3), 112.9 (C-8), 112.2 (C-5'), 106.8 (C-6), 87.8 (C-2'), 31.4 (C-3'), 17.1 (C-6')。以上数据与文献报道一致<sup>[12]</sup>, 故鉴定化合物 **2** 为川白芷素。

化合物 **3**: 白色粉末(乙腈-水); ESI-MS  $m/z$ : 187  $[M+H]^+$ , 分子式  $C_{11}H_6O_3$ ;  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.80 (1H, d,  $J=9.6$  Hz, H-4), 7.70 (1H, d,  $J=2.3$  Hz, H-2'), 7.69 (1H, s, H-5), 7.48 (1H, s, H-8), 6.83 (1H, dd,  $J=2.3, 1.0$  Hz, H-3'), 6.38 (1H, d,  $J=9.6$  Hz, H-3);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 161.3 (C-2), 156.4 (C-7), 152.0 (C-9), 146.9 (C-2'), 144.1 (C-4), 125.0 (C-6), 120.0 (C-5), 115.4 (C-10), 114.7 (C-3), 106.4 (C-3'), 99.9 (C-8)。以上数据与文献报道一致<sup>[12]</sup>, 故鉴定化合物 **3** 为补骨脂素。

化合物 **4**: 白色针晶(乙腈-水); ESI-MS  $m/z$ : 217  $[M+H]^+$ , 分子式  $C_{12}H_8O_4$ ;  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 8.16 (1H, d,  $J=9.8$  Hz, H-4), 7.59 (1H, d,  $J=2.4$  Hz, H-2'), 7.14 (1H, s, H-8), 7.02 (1H, d,  $J=2.4$  Hz, H-3'), 6.28 (1H, d,  $J=9.8$  Hz, H-3), 4.27 (3H, s, 5-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道一致<sup>[13]</sup>, 故鉴定化合物 **4** 为香柑内酯。

化合物 **5**: 白色针晶(丙酮); ESI-MS  $m/z$ : 207  $[M+H]^+$ , 分子式  $C_{11}H_{10}O_4$ ;  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.95 (1H, d,  $J=9.7$  Hz, H-4), 6.40 (1H, d,  $J=2.2$  Hz, H-8), 6.27 (1H, d,  $J=2.2$  Hz, H-6), 6.14 (1H, d,  $J=9.7$  Hz, H-3), 3.88 (3H, s, 5-OCH<sub>3</sub>), 3.85 (3H, s, 7-OCH<sub>3</sub>);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 163.8 (C-2), 161.6 (C-5), 157.1 (C-9), 157.0 (C-7), 138.8 (C-4), 111.1 (C-3), 104.2 (C-10), 95.0 (C-6), 93.0 (C-8), 56.1 (5-OCH<sub>3</sub>), 56.0 (7-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道一致<sup>[14]</sup>, 故鉴定化合物 **5** 为茵陈素。

化合物 **6**: 白色粉末(丙酮); ESI-MS  $m/z$ : 231  $[M+H]^+$ , 分子式  $C_{14}H_{14}O_3$ ;  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.64 (1H, d,  $J=9.4$  Hz, H-4), 7.23 (1H, d,  $J=8.5$  Hz, H-5), 6.83 (1H, d,  $J=8.4$  Hz, H-6), 6.66 (1H, s, 7-OH), 6.25 (1H, d,  $J=9.4$  Hz, H-3), 5.27 (1H, t,  $J=7.2$  Hz, H-2''), 3.60 (2H, d,  $J=7.2$  Hz, H-1''), 1.84 (3H, s, 4''-CH<sub>3</sub>), 1.73 (3H, s, 5''-CH<sub>3</sub>);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 161.9 (C-2), 158.5 (C-7), 153.2

(C-9), 144.4 (C-4), 135.8 (C-3'), 126.6 (C-5), 120.4 (C-2'), 114.9 (C-8), 113.3 (C-3), 112.7 (C-10), 112.3 (C-6), 22.1 (C-1'), 25.8 (C-4''), 18.1 (C-5''). 以上数据与文献报道一致<sup>[15]</sup>, 故鉴定化合物 **6** 为欧芹酚。

化合物 **7**: 黄色粉末 (三氯甲烷-醋酸乙酯); ESI-MS  $m/z$ : 353  $[M+H]^+$ , 分子式  $C_{21}H_{20}O_5$ ;  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 8.16 (1H, d,  $J = 9.8$  Hz, H-4), 7.60 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-2'), 7.16 (1H, s, H-8), 6.96 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-3'), 6.27 (1H, d,  $J = 9.8$  Hz, H-3), 6.06 (1H, t,  $J = 6.8$  Hz, H-2''), 5.63 (1H, s, H-6''), 5.00 (2H, d,  $J = 6.8$  Hz, H-1''), 3.16 (2H, s, H-4''), 2.15 (3H, s, 8''-CH<sub>3</sub>), 1.89 (3H, s, 10''-CH<sub>3</sub>), 1.73 (3H, s, 9''-CH<sub>3</sub>);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 197.6 (C-5''), 161.3 (C-2), 158.2 (C-7), 157.1 (C-7''), 152.7 (C-9), 148.8 (C-5), 145.0 (C-2'), 139.5 (C-4), 137.1 (C-3''), 123.4 (C-2''), 122.8 (C-6''), 114.1 (C-6), 112.7 (C-3), 107.5 (C-10), 105.0 (C-3'), 94.4 (C-8), 69.5 (C-1''), 54.7 (C-4''), 27.8 (C-9''), 20.9 (C-8''), 17.3 (C-10''). 化合物 **7** 的 NMR 波谱数据与熟知的化合物 **13** 相比, 缺失 C-5'' 位的质子信号, 出现 C-5'' 位的羰基信号。因此, 化合物 **7** 为 5-去氢羌活醇 (5-dehydronotopterol)。该化合物曾在测定羌活醇的结构时通过氧化反应得到<sup>[16]</sup>, 所以本研究定义其为新的天然产物。

化合物 **8**: 无色油状物 (三氯甲烷-丙酮); ESI-MS  $m/z$ : 353  $[M+H]^+$ , 分子式  $C_{21}H_{20}O_5$ ;  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 8.15 (1H, d,  $J = 9.8$  Hz, H-4), 7.60 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-2'), 7.16 (1H, s, H-8), 6.96 (1H, d,  $J = 2.6$  Hz, H-3'), 6.28 (1H, d,  $J = 9.8$  Hz, H-3), 5.64 (1H, t,  $J = 7.2$  Hz, H-2''), 5.00 (2H, d,  $J = 15.8$  Hz, H-8''), 4.95 (2H, d,  $J = 7.7$  Hz, H-1''), 3.40 (1H, d,  $J = 4.8$  Hz, H-6''), 3.19 (1H, dd,  $J = 7.2$ , 4.8 Hz, H-5''), 2.20 (2H, t,  $J = 7.2$  Hz, H-4''), 1.77 (6H, s, H-9'', 10'');  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 161.3 (C-2), 158.1 (C-7), 152.7 (C-9), 148.8 (C-5), 145.0 (C-2'), 139.7 (C-3''), 139.5 (C-4), 138.2 (C-7''), 120.8 (C-2''), 114.1 (C-6), 112.7 (C-3), 112.5 (C-8''), 107.5 (C-10), 105.0 (C-3'), 94.4 (C-8), 69.5 (C-6''), 58.1 (C-1''), 56.9 (C-5''), 36.2 (C-4''), 20.0 (C-9''), 17.5 (C-10''). 以上数据与文献报道基本一致<sup>[17]</sup>, 故鉴定化合物 **8** 为环氧脱水羌活醇。

化合物 **9**: 白色粉末 (三氯甲烷-丙酮); ESI-MS  $m/z$ : 391  $[M+Na]^+$ , 分子式  $C_{22}H_{24}O_5$ ;  $^1H$ -NMR (400

MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 8.16 (1H, d,  $J = 10.0$  Hz, H-4), 7.60 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-2'), 7.17 (1H, s, 8-H), 6.95 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-3'), 6.28 (1H, d,  $J = 10.0$  Hz, H-3), 5.57 (1H, t,  $J = 6.8$  Hz, H-2''), 5.51 (1H, dd,  $J = 16.0$ , 4.8 Hz, H-5''), 5.49 (1H, d,  $J = 16.0$  Hz, H-6''), 4.96 (2H, d,  $J = 6.8$  Hz, H-1''), 3.14 (3H, s, 7''-OCH<sub>3</sub>), 2.79 (2H, d,  $J = 4.8$  Hz, H-4''), 1.25 (6H, s, 8'', 9''-CH<sub>3</sub>), 1.68 (3H, s, 10''-CH<sub>3</sub>);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 161.3 (C-2), 158.1 (C-7), 152.7 (C-5), 148.9 (C-9), 144.9 (C-2'), 141.8 (C-4), 139.6 (C-3''), 138.1 (C-5''), 126.7 (C-6''), 119.8 (C-2''), 114.3 (C-6), 112.7 (C-3), 107.6 (C-10), 105.0 (C-3'), 94.4 (C-8), 74.8 (C-7''), 69.7 (C-1''), 50.3 (7''-OCH<sub>3</sub>), 42.5 (C-4''), 25.8 (C-9'', 10''), 16.8 (C-8''). 以上数据与文献报道一致<sup>[18]</sup>, 故鉴定化合物 **9** 为 7''-O-甲基异羌活醇。

化合物 **10**: 无色针状结晶 (三氯甲烷-醋酸乙酯); ESI-MS  $m/z$ : 339  $[M+H]^+$ , 分子式  $C_{21}H_{22}O_4$ ;  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 8.17 (1H, d,  $J = 9.8$  Hz, H-4), 7.59 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-2'), 7.16 (1H, s, H-8), 6.96 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-3'), 6.27 (1H, d,  $J = 9.8$  Hz, H-3), 5.53 (1H, m, H-2''), 5.06 (1H, m, H-6''), 4.95 (2H, d,  $J = 6.9$  Hz, H-1''), 2.10 (4H, m, H-4'', 5''), 1.69 (3H, s, 8''-CH<sub>3</sub>), 1.67 (3H, s, 10''-CH<sub>3</sub>), 1.60 (3H, s, 9''-CH<sub>3</sub>);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 161.4 (C-2), 158.1 (C-7), 152.6 (C-9), 149.0 (C-5), 107.5 (C-10), 144.9 (C-2'), 143.1 (C-3''), 139.7 (C-4), 132.1 (C-7''), 123.5 (C-2''), 118.9 (C-6''), 114.2 (C-6), 112.5 (C-3), 105.1 (C-3'), 94.2 (C-8), 69.8 (C-1''), 39.5 (C-4''), 26.2 (C-5''), 25.7 (C-9''), 17.8 (C-8''), 16.7 (C-10''). 以上数据与文献报道一致<sup>[17]</sup>, 故鉴定化合物 **10** 为佛手柑素。

化合物 **11**: 淡黄色粉末 (甲醇-水); ESI-MS  $m/z$ : 261  $[M+H]^+$ , 分子式  $C_{15}H_{16}O_4$ ;  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.61 (1H, d,  $J = 9.5$  Hz, H-4), 6.84 (1H, s, H-8), 6.83 (1H, s, H-5), 6.27 (1H, d,  $J = 9.5$  Hz, H-3), 5.49 (1H, m, H-2'), 4.66 (2H, d,  $J = 6.7$  Hz, H-1'), 3.90 (3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>), 1.78 (3H, s, 3'-CH<sub>3</sub>), 1.77 (3H, s, 3'-CH<sub>3</sub>);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 161.6 (C-2), 152.2 (C-7), 150.0 (C-9), 146.7 (C-6), 143.4 (C-4), 139.0 (C-3'), 118.7 (C-2'), 113.4 (C-3), 111.4 (C-10), 108.1 (C-5), 101.2 (C-8), 66.3 (C-1'), 56.4 (6-OCH<sub>3</sub>), 25.9 (3'-CH<sub>3</sub>), 18.4 (3'-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道的一致<sup>[17]</sup>, 故鉴定化合物 **11** 为 7-异戊烯

氧基-6-甲氧基-香豆素。

化合物 **12**: 无色针状结晶 (乙腈-水); ESI-MS  $m/z$ : 287  $[M+H]^+$ , 分子式  $C_{16}H_{14}O_5$ ;  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 8.19 (1H, d,  $J = 9.8$  Hz, H-4), 7.61 (1H,  $J = 2.4$  Hz, H-2'), 7.19 (1H, s, H-8), 6.97 (1H,  $J = 2.4$  Hz, H-3'), 6.30 (1H, d,  $J = 9.8$  Hz, H-3), 5.20 (1H, s, H-4''b), 5.07 (1H, s, H-4''a), 4.40 (1H, dd,  $J = 9.7$ , 7.3 Hz, H-1''a), 4.47 (1H, dd,  $J = 9.7$ , 3.6 Hz, H-1''b), 4.55 (1H, dd,  $J = 7.3$ , 3.6 Hz, H-2''), 1.83 (3H, s, 5''-CH<sub>3</sub>);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 160.5 (C-2), 157.3 (C-7), 151.9 (C-5), 145.2 (C-2'), 143.6 (C-9), 143.5 (C-3''), 139.5 (C-4), 113.4 (C-6), 113.5 (C-3), 113.8 (C-4''), 106.7 (C-10), 104.7 (C-3'), 94.7 (C-8), 75.6 (C-2''), 74.2 (C-1''), 18.7 (C-5'')。以上数据与文献报道一致<sup>[18]</sup>, 故鉴定化合物 **12** 为栓翅芹烯醇。

化合物 **13**: 无色针状结晶 (石油醚-醋酸乙酯); ESI-MS  $m/z$ : 377  $[M+Na]^+$ , 分子式  $C_{21}H_{22}O_5$ ;  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 8.13 (1H, d,  $J = 9.7$  Hz, H-4), 7.59 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-2'), 7.13 (1H, s, H-8), 6.94 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-3'), 6.25 (1H, d,  $J = 9.7$  Hz, H-3), 5.63 (1H, t,  $J = 6.8$  Hz, H-2''), 5.17 (1H, m, H-6''), 4.96 (2H, d,  $J = 6.8$  Hz, H-1''), 4.50 (1H, dd,  $J = 8.3$ , 5.0 Hz, H-5''), 2.30 (1H, dd,  $J = 8.3$ , 13.7 Hz, H-4''b), 2.21 (1H, dd,  $J = 5.0$ , 13.7 Hz, H-4''a), 1.75 (3H, s, 8''-CH<sub>3</sub>), 1.68 (3H, s, 9''-CH<sub>3</sub>), 1.71 (3H, s, 10''-CH<sub>3</sub>);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 161.2 (C-2), 158.1 (C-7), 152.7 (C-9), 148.8 (C-5), 145.0 (C-2'), 139.6 (C-3''), 139.5 (C-4), 135.6 (C-7''), 127.4 (C-2''), 122.1 (C-6''), 114.1 (C-6), 112.7 (C-3), 107.4 (C-10), 105.0 (C-3'), 94.3 (C-8), 69.5 (C-1''), 66.5 (C-5''), 47.7 (C-4''), 25.8 (C-9''), 18.2 (C-8''), 17.1 (C-10'')。结合文献报道的数据<sup>[17]</sup>, 鉴定化合物 **13** 为羌活醇。

化合物 **14**: 淡黄色粉末 (三氯甲烷-醋酸乙酯); ESI-MS  $m/z$ : 271  $[M+H]^+$ , 分子式  $C_{16}H_{14}O_4$ ;  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$ : 8.25 (1H, d,  $J = 9.8$  Hz, H-4), 7.88 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-2'), 7.17 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-3'), 6.30 (1H, dd,  $J = 17.6$ , 10.3 Hz, H-2''), 6.17 (1H, d,  $J = 9.7$  Hz, H-3), 4.93 (1H, d,  $J = 17.6$  Hz, H-3''a), 4.91 (1H, d,  $J = 10.3$  Hz, H-3''b), 1.69 (6H, s, 1''-CH<sub>3</sub>×2)。以上数据与文献报道一致<sup>[18]</sup>, 故鉴定化合物 **14** 为去甲基呋喃羽叶芸香素。

化合物 **15**: 无色针状结晶 (乙腈-水); ESI-MS

$m/z$ : 377  $[M+Na]^+$ , 分子式  $C_{21}H_{22}O_5$ ;  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 8.12 (1H, d,  $J = 9.9$  Hz, H-4), 7.56 (1H, d,  $J = 2.5$  Hz, H-2'), 7.11 (1H, s, H-8), 6.91 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-3'), 6.24 (1H, d,  $J = 9.9$  Hz, H-3), 4.93 (2H, d,  $J = 6.9$  Hz, H-1''), 5.66 (1H, t,  $J = 6.9$  Hz, H-2''), 2.73 (2H, d,  $J = 6.0$  Hz, H-4''), 5.52 (1H, dt,  $J = 2.4$ , 5.2 Hz, H-5''), 5.58 (1H, t,  $J = 5.2$  Hz, H-6''), 1.29 (6H, s, 8'', 9''-CH<sub>3</sub>), 1.64 (3H, s, 10''-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道一致<sup>[18]</sup>, 故鉴定化合物 **15** 为异羌活醇。

化合物 **16**: 白色粉末 (乙腈-水); ESI-MS  $m/z$ : 323  $[M+Na]^+$ , 分子式  $C_{17}H_{16}O_5$ ;  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 8.11 (1H, d,  $J = 9.8$  Hz, H-4), 7.62 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-2'), 6.99 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-3'), 6.27 (1H, d,  $J = 9.8$  Hz, H-3), 5.60 (1H, t,  $J = 8.0$  Hz, H-2''), 4.84 (2H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-1''), 4.17 (3H, s, 8-OCH<sub>3</sub>), 1.73 (3H, s, 4''-CH<sub>3</sub>), 1.69 (3H, s, 5''-CH<sub>3</sub>);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 160.6 (C-2), 150.8 (C-5), 145.1 (C-2'), 144.4 (C-9), 144.4 (C-7), 139.7 (C-3''), 139.4 (C-4), 127.0 (C-8), 119.9 (C-2''), 114.7 (C-6), 112.8 (C-3), 107.6 (C-10), 105.1 (C-3'), 70.4 (C-1''), 60.8 (8-OCH<sub>3</sub>), 25.8 (C-4''), 18.1 (C-5'')。以上数据与文献报道一致<sup>[19]</sup>, 故鉴定化合物 **16** 为蛇床子内酯。

化合物 **17**: 淡黄色粉末 (乙腈-水); 分子式  $C_{14}H_{14}O_4$ ; ESI-MS  $m/z$ : 247  $[M+H]^+$ ;  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.63 (1H, d,  $J = 9.5$  Hz, H-4), 7.24 (1H, s, H-8), 6.80 (1H, s, H-5), 6.25 (1H, d,  $J = 9.5$  Hz, H-3), 6.17 (1H, s, 7-OH), 5.27 (1H, t,  $J = 7.2$  Hz, H-2'), 3.62 (2H, d,  $J = 7.2$  Hz, H-1'), 1.86 (3H, s, 4'-CH<sub>3</sub>), 1.76 (3H, s, 5'-CH<sub>3</sub>);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 161.6 (C-2), 150.2 (C-9), 149.7 (C-7), 144.0 (C-6), 143.5 (C-4), 139.8 (C-3'), 118.9 (C-2'), 113.3 (C-3), 111.5 (C-10), 107.5 (C-5), 103.2 (C-8), 66.5 (C-1'), 26.0 (3'-CH<sub>3</sub>), 18.5 (3'-CH<sub>3</sub>)。上述数据与文献报道一致<sup>[13]</sup>, 故鉴定化合物 **17** 为 6-异戊烯氧基伞形花内酯。

化合物 **18**: 块状结晶 (乙腈-水); ESI-MS  $m/z$ : 247  $[M+H]^+$ , 分子式  $C_{14}H_{14}O_4$ ;  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.57 (1H, d,  $J = 9.5$  Hz, H-4), 7.20 (1H, s, H-5), 6.69 (1H, s, H-8), 6.18 (1H, d,  $J = 9.5$  Hz, H-3), 4.72 (1H, t,  $J = 8.8$  Hz, H-2'), 3.20 (2H, m, H-3'), 1.36 (3H, s, 4'-CH<sub>3</sub>), 1.22 (3H, s, 4'-CH<sub>3</sub>);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 163.2 (C-7), 161.5 (C-2), 155.6

(C-9), 143.7 (C-4), 125.1 (C-6), 123.4 (C-5), 112.8 (C-10), 112.2 (C-3), 97.9 (C-8), 91.2 (C-2'), 71.7 (C-4'), 29.5 (C-3'), 26.1 (4'-CH<sub>3</sub>), 24.4 (4'-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道一致<sup>[18]</sup>, 故鉴定化合物 **18** 为紫花前胡苷元。

化合物 **19**: 淡黄色粉末(乙腈-水); ESI-MS  $m/z$ : 247 [M+H]<sup>+</sup>, 分子式 C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 7.97 (1H, d,  $J$  = 9.7 Hz, H-4), 6.42 (1H, d,  $J$  = 2.1 Hz, H-2'), 6.28 (1H, d,  $J$  = 2.1 Hz, H-3'), 6.16 (1H, d,  $J$  = 9.7 Hz, H-3), 3.87 (6H, s, 5, 8-OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 160.5 (C-2), 150.1 (C-7), 145.2 (C-2'), 144.4 (C-5), 143.9 (C-9), 139.6 (C-4), 128.4 (C-8), 115.0 (C-6), 113.2 (C-3), 107.9 (C-10), 105.4 (C-3'), 61.9 (8-OCH<sub>3</sub>), 60.7 (5-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道一致<sup>[13]</sup>, 故鉴定化合物 **19** 为异虎耳草素。

化合物 **20**: 无色粉末(三氯甲烷-甲醇); ESI-MS  $m/z$ : 431 [M+Na]<sup>+</sup>, 分子式 C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>9</sub>; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 7.93 (1H, d,  $J$  = 9.5 Hz, H-4), 7.47 (1H, s, H-5), 6.80 (1H, s, H-8), 6.21 (1H, d,  $J$  = 9.5 Hz, H-3), 4.90 (1H, t,  $J$  = 8.5 Hz, H-2'), 4.40 (1H, d,  $J$  = 7.5 Hz, Glc-H-1''), 3.26 (2H, d,  $J$  = 8.5 Hz, H-3'), 3.67 (1H, dd,  $J$  = 11.5, 6.0 Hz, Glc-H-6''a), 3.42 (H, dd,  $J$  = 11.5, 2.0 Hz, Glc-H-6''b), 3.38 (H, dd,  $J$  = 9.5, 7.5, 2.0 Hz, Glc-H-5''), 3.25 (1H, dd,  $J$  = 9.0, 5.0 Hz, Glc-H-3''), 3.00 (1H, ddd,  $J$  = 9.5, 9.0, 5.0 Hz, Glc-H-4''), 2.87 (1H, dd,  $J$  = 9.0, 7.5 Hz, Glc-H-2''), 1.30 (3H, s, CH<sub>3</sub>-5'), 1.12 (3H, s, CH<sub>3</sub>-6'); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 163.0 (C-7), 160.4 (C-2), 155.0 (C-9), 144.7 (C-4), 125.5 (C-6), 123.9 (C-5), 112.2 (C-3), 111.3 (C-10), 97.2 (C-8), 96.8 (C-1''), 89.7 (C-2'), 77.0 (C-4'), 76.9 (C-5''), 76.7 (C-3''), 73.5 (C-2''), 70.3 (C-4''), 61.2 (C-6''), 29.1 (C-3'), 23.2 (C-5'), 20.6 (C-6')。以上数据与文献报道一致<sup>[19]</sup>, 故鉴定化合物 **20** 为紫花前胡苷。

化合物 **21**: 白色粉末(甲醇-水); ESI-MS  $m/z$ : 447 [M+Na]<sup>+</sup>, 分子式 C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>10</sub>; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 8.02 (1H, d,  $J$  = 9.6 Hz, H-4), 7.68 (1H, s, H-5), 6.92 (1H, s, H-8), 6.26 (1H, d,  $J$  = 9.6 Hz, H-3), 5.25 (1H, d,  $J$  = 6.6 Hz, H-3'), 5.23 (1H, d,  $J$  = 4.8 Hz, 3'-OH), 5.20 (1H, d,  $J$  = 4.8 Hz, 2''-OH), 4.98 (1H, d,  $J$  = 5.1 Hz, 3''-OH), 4.89 (1H, d,  $J$  = 4.5 Hz, 4''-OH), 4.54 (1H, d,  $J$  = 6.3 Hz, H-2'),

4.52 (1H, d,  $J$  = 7.8 Hz, H-1''), 4.30 (1H, d,  $J$  = 5.7 Hz, 6''-OH), 3.38 (1H, dd,  $J$  = 11.6, 6.5 Hz, Glc-H-6''a), 3.12 (1H, dd,  $J$  = 11.6, 2.0 Hz, Glc-H-6''b), 3.05 (1H, dd,  $J$  = 9.5, 9.0, 2.0 Hz, Glc-H-5''), 3.06 (1H, dd,  $J$  = 9.0, 5.0 Hz, Glc-H-3''), 3.04 (1H, ddd,  $J$  = 9.5, 9.0, 5.0 Hz, Glc-H-4''), 2.87 (1H, dd,  $J$  = 9.0, 7.8 Hz, Glc-H-2''), 1.46 (6H, s, 5', 6'-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 162.2 (C-7), 160.3 (C-2), 156.0 (C-9), 144.8 (C-4), 128.5 (C-6), 125.6 (C-5), 112.7 (C-10), 111.7 (C-3), 97.6 (C-1''), 97.2 (C-8), 91.8 (C-2'), 77.4 (C-3'), 76.8 (C-3''), 76.6 (C-5''), 73.3 (C-2''), 70.0 (C-4''), 69.7 (C-4'), 60.7 (C-6''), 24.5 (C-5'), 22.7 (C-6')。以上数据与文献报道一致<sup>[20]</sup>, 故鉴定化合物 **21** 为前胡苷 V。

化合物 **22**: 白色粉末(甲醇-水); ESI-MS  $m/z$ : 593 [M+Na]<sup>+</sup>, 分子式 C<sub>26</sub>H<sub>34</sub>O<sub>14</sub>; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 7.92 (1H, d,  $J$  = 9.5 Hz, H-4), 7.47 (1H, s, H-5), 6.80 (1H, s, H-8), 6.20 (1H, d,  $J$  = 9.5 Hz, H-3), 4.78 (1H, dd,  $J$  = 7.8, 4.7 Hz, H-2'), 4.42 (1H, d,  $J$  = 8.0 Hz, H-1'''), 4.21 (1H, d,  $J$  = 7.8 Hz, H-1''), 3.93 (1H, brd,  $J$  = 11.0 Hz, H-6'''a), 3.66 (1H, brd,  $J$  = 11.5 Hz, H-6''a), 3.53 (1H, dd,  $J$  = 11.0, 6.5 Hz, H-6'''b), 3.40 (1H, dd,  $J$  = 11.5, 4.5 Hz, H-6''b), 3.27 (2H, m, H-3'), 3.13 (2H, m, H-3'', 3'''), 3.06 (4H, m, H-4'', 5'', 4''', 5'''), 2.97 (1H, m, H-2'''), 2.89 (1H, m, H-2''), 1.31 (3H, s, 5'-CH<sub>3</sub>), 1.10 (3H, s, 6'-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 163.1 (C-7), 160.5 (C-2), 155.0 (C-9), 144.7 (C-4), 125.6 (C-6), 123.9 (C-5), 112.2 (C-10), 111.2 (C-3), 103.3 (C-1'''), 97.0 (C-1''), 96.8 (C-8), 89.6 (C-2'), 77.1 (C-4'), 76.9 (C-3'''), 76.7 (C-3''), 76.7 (C-5'''), 75.2 (C-5''), 73.5 (C-2''), 73.4 (C-2'''), 70.3 (C-4''), 70.1 (C-4'''), 69.0 (C-6''), 61.1 (C-6'''), 29.1 (C-3'), 23.4 (C-5'), 20.7 (C-6')。以上数据与文献报道一致<sup>[21]</sup>, 故鉴定化合物 **22** 为前胡苷 I。

化合物 **23**: 白色粉末(甲醇-水); ESI-MS  $m/z$ : 593 [M+Na]<sup>+</sup>, 分子式 C<sub>26</sub>H<sub>34</sub>O<sub>14</sub>; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 7.93 (1H, d,  $J$  = 9.5 Hz, H-4), 7.48 (1H, s, H-5), 6.82 (1H, s, H-8), 6.21 (1H, d,  $J$  = 9.5 Hz, H-3), 4.86 (1H, dd,  $J$  = 9.0, 8.5 Hz, H-2'), 4.41 (1H, d,  $J$  = 8.0 Hz, H-1'''), 4.21 (1H, d,  $J$  = 7.5 Hz, H-1''), 3.78 (1H, brd,  $J$  = 11.0 Hz, H-6''a), 3.66 (1H, brd,  $J$  = 11.5 Hz, H-6''a), 3.51 (1H, dd,  $J$  = 11.0, 6.5

Hz, H-6''b), 3.42 (1H, dd,  $J = 11.5, 4.5$  Hz, H-6''b), 3.28 (1H, dd,  $J = 16.0, 9.0$  Hz, H-3'a), 3.20 (1H, dd,  $J = 16.0, 8.5$  Hz, H-3'b), 3.14 (2H, m, H-3'', 3'''), 3.02 (4H, m, H-4'', 5'', 4''', 5'''), 2.93 (1H, dd,  $J = 8.0, 8.0$  Hz, H-2'''), 2.87 (1H, dd,  $J = 8.0, 7.5$  Hz, H-2''), 1.24 (3H, s, 5'-CH<sub>3</sub>), 1.22 (3H, s, 6'-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 163.1 (C-7), 160.5 (C-2), 155.0 (C-9), 144.7 (C-4), 125.6 (C-6), 124.0 (C-5), 112.2 (C-10), 111.3 (C-3), 103.2 (C-1'''), 97.1 (C-1''), 96.9 (C-8), 90.0 (C-2'), 77.1 (C-4'), 76.9 (C-3'''), 76.7 (C-3''), 76.6 (C-5'''), 75.6 (C-5''), 73.5 (C-2''), 73.4 (C-2'''), 70.1 (C-4''), 69.9 (C-4'''), 68.2 (C-6''), 61.1 (C-6'''), 28.9 (C-3'), 22.9 (C-5'), 21.8 (C-6')。以上数据与文献报道一致<sup>[22]</sup>, 故鉴定化合物 **23** 为印楝苷元-11-*O*- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **24**: 无色粉末 (乙腈-水); ESI-MS  $m/z$ : 607 [M+Na]<sup>+</sup>, 分子式 C<sub>30</sub>H<sub>32</sub>O<sub>12</sub>; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 7.79 (1H, d,  $J = 9.5$  Hz, H-4), 7.45 (1H, d,  $J = 15.8$  Hz, H-7'''), 7.36 (1H, s, H-5), 7.14 (1H, d,  $J = 1.4$  Hz, H-2'''), 6.86 (1H, dd,  $J = 8.1, 1.4$  Hz, H-6'''), 6.71 (1H, s, H-8), 6.68 (1H, d,  $J = 8.1$  Hz, H-5'''), 6.33 (1H, d,  $J = 15.9$  Hz, H-8'''), 6.14 (1H, d,  $J = 9.5$  Hz, H-3), 5.03 (1H, d,  $J = 5.0$  Hz, H-2'), 4.87 (1H, d,  $J = 8.7$  Hz, H-1''), 4.49 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-6''b), 4.39 (1H, dd,  $J = 10.1, 1.4$  Hz, H-6''a), 3.74 (3H, s, 3'''-OCH<sub>3</sub>), 3.47 (1H, ddd,  $J = 9.0, 8.7, 1.4$  Hz, H-5''), 3.20 (2H, d,  $J = 8.6$  Hz, H-3'), 3.19 (1H, dd,  $J = 9.0, 5.5$  Hz, H-3''), 3.10 (1H, ddd,  $J = 9.0, 8.7, 5.0$  Hz, H-4''), 2.93 (1H, ddd,  $J = 9.0, 8.7, 5.5$  Hz, H-2''), 1.29 (3H, s, 5'-CH<sub>3</sub>), 1.11 (3H, s, 6'-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 166.4 (C-9''), 162.9 (C-7), 160.4 (C-2), 154.9 (C-9), 149.4 (C-4'''), 147.8 (C-3'''), 145.1 (C-7''), 144.5 (C-4), 125.4 (C-1'''), 125.2 (C-6), 124.0 (C-5), 123.0 (C-6'''), 115.4 (C-5'''), 114.1 (C-8'''), 112.3 (C-10), 111.2 (C-2'''), 111.0 (C-3), 97.2 (C-1''), 96.8 (C-8), 89.6 (C-2'), 77.2 (C-4'), 73.4 (C-5''), 76.7 (C-3''), 73.4 (C-2''), 70.5 (C-4''), 63.7 (C-6''), 55.6 (3'''-OCH<sub>3</sub>), 29.2 (C-3'), 23.1 (C-5'), 20.9 (C-6')。以上数据与文献报道一致<sup>[23]</sup>, 故鉴定化合物 **24** 为羌活苷。

#### 4 抑制 NO 产生活性测定

按照文献方法<sup>[24]</sup>进行测定。用含 20% FBS 的

DMEM 培养基复苏冻存的 RAW 264.7 细胞株, 在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 条件下培养, 待细胞状态、生长速度正常后, 改用含 10% FBS 的 DMEM 培养基培养, 每天换液, 细胞生长至 80% 汇合时传代, 传代比例为 1:3~1:5。取对数生长期 RAW 264.7 细胞, 制成密度为  $3 \times 10^5$  个/mL 的细胞悬液, 接种于 96 孔板中 (边缘用无菌水填充), 每孔 100  $\mu$ L。37 °C、5% CO<sub>2</sub> 条件下温孵培养 12 h 后加入 50  $\mu$ L 终浓度为 1  $\mu$ g/mL 的 LPS 和 50  $\mu$ L 不同浓度的待测样品 (化合物 **1**~**24**), 同时设模型组、阳性对照组 (L-NIL 和 1-咪唑美辛)、正常对照组 (细胞接种后, 只加入培养液) 和空白对照组 (只加入培养液, 不加细胞以调零), 每组设 3 个平行孔, 继续温孵培养 24 h。每孔取上清 100  $\mu$ L 置于 96 孔板中, 加入 100  $\mu$ L 配制好的 Griess 试剂, 室温下反应 15 min, 酶标仪 540 nm 处测定吸光度值, 标准曲线法计算浓度 (NaNO<sub>2</sub> 作为对照品)。按上述操作取出上清后, 原培养板每孔加入 20  $\mu$ L 的 MTT (5 mg/mL) 工作液, 继续温孵培养 4 h 后, 每孔加入三联液 100  $\mu$ L, 培养箱中放置 10 h。用酶标仪测定 490 nm 处的吸光度值, 计算细胞存活率。要求在实验条件下, 所有组的细胞存活率 > 95%。为保证结果的可靠性及实验的稳定性, 所有实验在相同的条件下均重复进行 3 次。所获数据用 SPSS 16.0 软件统计处理, 计算半数抑制浓度 (IC<sub>50</sub>), 结果见表 1。

#### 5 讨论

本研究从羌活干燥根和根茎中分离鉴定了 24 个香豆素类化合物, 其中化合物 **7** 为新的天然产物, 化合物 **17** 为首次从羌活中分离得到。对分离得到的 24 个化合物进行抑制 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞 NO 生成活性筛选。结果发现, 化合物 **1**~**3**、**5**~**20** 和 **24** 均有一定的抑制 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞 NO 生成活性, IC<sub>50</sub> 值在 150  $\mu$ mol/L 以下; 而化合物 **4**、**21**~**23** 的抑制 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞 NO 生成活性较弱, IC<sub>50</sub> 值均在 200  $\mu$ mol/L 以上。化合物 **7**~**10**、**13** 和 **15** 抑制 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞 NO 生成活性最强, IC<sub>50</sub> 值为 8.50~35.12  $\mu$ mol/L; 其中化合物 **10** 的活性与阳性药 L-NIL 相当, 化合物 **7**~**9**、**13** 和 **15** 的活性介于阳性药 L-NIL 和 IND 之间。化合物 **7**~**10**、**13** 和 **15** 结构类似, 均含有多烯羟基, 是羌活中含量较高的一类成分, 因此该系列化合物的活性对羌活的整体活性具有代表意义。化合物 **20** 为单糖苷, 化合物 **22** 为双糖苷,

表 1 羌活中的香豆素类化合物、吲哚美辛和 L-NIL 抑制 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞 NO 生成活性的 IC<sub>50</sub> 值 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 1 IC<sub>50</sub> values for inhibition of different coumarins, indomethacin, and L-NIL on production of NO in LPS-stimulated RAW 264.7 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

| 化合物 | IC <sub>50</sub> /( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) | 化合物 | IC <sub>50</sub> /( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) | 化合物   | IC <sub>50</sub> /( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) |
|-----|-----------------------------------------------------------|-----|-----------------------------------------------------------|-------|-----------------------------------------------------------|
| 1   | 86.39 ± 3.68                                              | 10  | 8.50 ± 0.73                                               | 19    | 89.33 ± 2.41                                              |
| 2   | 58.29 ± 3.94                                              | 11  | 48.54 ± 16.56                                             | 20    | 147.15 ± 10.12                                            |
| 3   | 124.21 ± 6.15                                             | 12  | 79.37 ± 9.32                                              | 21    | 194.52 ± 37.13                                            |
| 4   | >200                                                      | 13  | 16.80 ± 3.74                                              | 22    | >200                                                      |
| 5   | 123.48 ± 9.70                                             | 14  | 61.31 ± 0.77                                              | 23    | >200                                                      |
| 6   | 56.47 ± 6.23                                              | 15  | 25.19 ± 2.44                                              | 24    | 85.25 ± 8.78                                              |
| 7   | 32.75 ± 4.55                                              | 16  | 73.83 ± 3.46                                              | IND   | 55.79 ± 1.15                                              |
| 8   | 35.12 ± 5.14                                              | 17  | 68.17 ± 1.59                                              | L-NIL | 9.37 ± 1.57                                               |
| 9   | 20.01 ± 0.97                                              | 18  | 133.49 ± 13.03                                            |       |                                                           |

化合物 24 为阿魏酰单糖苷，化合物 20、22 和 24 的苷元相同，其活性由弱到强的顺序为：22 < 20 < 24。因此，糖基增多 NO 生成抑制活性减弱，阿魏酰化有助于增强 NO 生成抑制活性。总体来看，羌活中的香豆素苷元的 NO 生成抑制活性优于香豆素苷。结合本研究的结果和文献报道的香豆素结构及其 NO 生成抑制活性<sup>[25-30]</sup>，总结发现构效关系如下：（1）异戊烯基、连氧异戊烯基、酯基、多烯烷基或倍半萜衍生基团取代，香豆素的活性增强；（2）羟基或环氧基取代，香豆素的活性减弱；（3）双香豆素苷元的活性较强；（4）二氢呋喃香豆素苷元的活性较弱；（5）香豆素苷元的活性优于香豆素苷的活性。口服给予羌活，其含有的香豆素苷在肠内细菌的作用下水解为香豆素苷元<sup>[31]</sup>，能更好地发挥其生物学活性。本研究证实香豆素类成分是羌活发挥抗炎作用的有效成分，是其潜在的质量标志物<sup>[32]</sup>，可进一步支持和指导羌活临床用于风湿性关节炎等疾病的治疗。

#### 参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.  
 [2] 杨秀伟. 中药物质基础研究是中药继承、发展、创新的关键科学问题 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(17): 3429-3434.  
 [3] Wu S B, Zhao Y, Fan H, et al. New guaiane sesquiterpenes and furanocoumarins from *Notopterygium incisum* [J]. *Planta Med*, 2008, 74(15): 1812-1817.  
 [4] Blunder M, Liu X, Kunert O, et al. Polyacetylenes from *Radix et Rhizoma Notopterygii incisum* with an inhibitory effect on nitric oxide production *in vitro* [J]. *Planta Med*, 2014, 80(5): 415-418.

[5] Liu X, Kunert O, Blunder M, et al. Polyene hybrid compounds from *Notopterygium incisum* with peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonistic effects [J]. *J Nat Prod*, 2014, 77(11): 2513-2521.  
 [6] Wu X W, Wei W, Yang X W, et al. Anti-inflammatory phenolic acid esters from the roots and rhizomes of *Notopterygium incisum* and their permeability in the human Caco-2 monolayer cell model [J]. *Molecules*, 2017, 22(6): 935-944.  
 [7] Azieta J T, Ma H, Yu X A, et al. A review of the ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of *Notopterygium incisum* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 202: 241-255.  
 [8] 郭培, 郎拥军, 张国桃. 羌活化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中成药, 2019, 41(10): 2445-2459.  
 [9] Pan T, Jia Y R, Cheng T F, et al. Anti-rheumatoid arthritis effects of traditional Chinese herb couple in adjuvant-induced arthritis in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 205: 1-7.  
 [10] 寇桂凤, 张友波, 杨秀伟, 等. 裂叶羌活中一个新的天然产物 O-甲基羌活醇 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(9): 1134-1136.  
 [11] 肖永庆, 孙友富, 刘晓宏. 羌活化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 1994, 19(7): 421-422.  
 [12] 杨秀伟, 郭庆梅, 张才煜, 等. 独活化学成分的进一步研究 [J]. 解放军药学学报, 2008, 24(5): 389-392.  
 [13] 赵爱红, 杨秀伟, 杨鑫宝, 等. 祁白芷根中新的天然产物 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(16): 2400-2407.  
 [14] 沈建伟, 张晓峰, 汤子俊, 等. 两面针中的香豆素成分 [J]. 中草药, 2004, 35(6): 619-621.  
 [15] Shen D Y, Chan Y Y, Hwang T L, et al. Constituents of the roots of *Clausena lansium* and their potential anti-inflammatory activity [J]. *J Nat Prod*, 2014, 77(5):

- 1215-1223.
- [16] Mitsugi K, Masayo F, Youko M, *et al.* Chemical studies on the constituents of Chinese crude drug “Qiang Huo” [J]. *Chem Pharm Bull*, 1983, 31(8): 2712-2717.
- [17] 肖永庆, 马场きみ江, 谷口雅颜. 中药羌活中的香豆素 [J]. *药学报*, 1995, 30(4): 274-279.
- [18] 张 鹏, 杨秀伟. 羌活化学成分进一步研究 [J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(24): 2918-2921.
- [19] 李艳辉. 双花千里光、川芎及宽叶羌活的化学成分研究 [D]. 成都: 中国科学院成都生物研究所, 2006.
- [20] 肖永庆, 李 丽, 谷口雅颜, 等. 云南羌活的苷类成分 [J]. *药学报*, 2001, 36(7): 519-522.
- [21] Matano Y, Okuyama T, Shibata S, *et al.* Studies on coumarins of a Chinese drug “qian-hu”; VII. Structures of new coumarin-glycosides of zi-hua qian-hu and effect of coumarin-glycosides on human platelet aggregation [J]. *Planta Med*, 1986, 52(2): 135-138.
- [22] You M, Xiong J, Zhao Y, *et al.* Glycosides from the methanol extract of *Notopterygium incisum* [J]. *Planta Med*, 2011, 77(17): 1939-1943.
- [23] 杨秀伟. 应用 2D NMR 技术研究羌活苷的结构 [J]. *波谱学杂志*, 2006, 23(4): 429-442.
- [24] 郑怡然, 韦 玮, 杨秀伟. 川芎中抑制脂多糖诱导的 RAW 264.7 和 BV2 细胞系 NO 生成的新的丁苯酞衍生物—川芎螺内酯 [J]. *中草药*, 2018, 49(7): 1497-1503.
- [25] Motai T, Daikonya A, Kitanaka S. Sesquiterpene coumarins from *Ferula fukanensis* and nitric oxide production inhibitory effects [J]. *J Nat Prod*, 2004, 67(3): 432-436.
- [26] Yoshikawa M, Nishida N, Ninomiya K, *et al.* Inhibitory effects of coumarin and acetylene constituents from the roots of *Angelica furcijuga* on D-galactosamine/lipopolysaccharide-induced liver injury in mice and on nitric oxide production in lipopolysaccharide-activated mouse peritoneal macrophages [J]. *Bioorg Med Chem*, 2006, 14(2): 456-463.
- [27] Nakamura T, Kodama N, Oda M, *et al.* The structure-activity relationship between oxycoumarin derivatives showing inhibitory effects on iNOS in mouse macrophage RAW264.7 cells [J]. *J Nat Med*, 2009, 63(1): 15-20.
- [28] Deng G G, Wei W, Yang X W, *et al.* New coumarins from the roots of *Angelica dahurica* var. *formosana* cv. Chuanbaizhi and their inhibition on NO production in LPS-activated RAW264.7 cells [J]. *Fitoterapia*, 2015, 101: 194-200.
- [29] Wei W, Wu X W, Deng G G, *et al.* Anti-inflammatory coumarins with short-and long-chain hydrophobic groups from roots of *Angelica dahurica* cv. Hangbaizhi [J]. *Phytochemistry*, 2016, 123: 58-68.
- [30] Su J, Wu Z J, Zhang W D, *et al.* Two new bis-coumarin glycosides from *Daphne giraldii* Nitsche [J]. *Chem Pharm Bull*, 2008, 56(4): 589-591.
- [31] Wang R F, Yuan M, Yang X B, *et al.* Intestinal bacterial transformation-A nonnegligible part of Chinese medicine research [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2013, 15(5): 532-549.
- [32] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物 (Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. *中草药*, 2016, 47(9): 1443-1457.