

鹅不食草中三萜类化学成分及其抗炎活性研究

薛鹏辉¹, 李金妍¹, 刘 达², 康 宁², 邓雁如¹, 赵 烽^{3*}, 邱 峰^{1*}

1. 天津中医药大学中药学院 天津市现代中药重点实验室, 天津 301617

2. 天津中医药大学中西医结合学院 天津市现代中药重点实验室, 天津 301617

3. 烟台大学分子药理和药物评价教育部重点实验室, 山东 烟台 351100

摘要:目的 研究鹅不食草 *Centipeda minima* 乙醇提取物中的三萜类化学成分及其抗炎活性。方法 运用反复硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱、ODS、MCI 柱色谱及制备 HPLC 等多种色谱方法对其化学成分进行系统的分离, 利用 NMR、MS 等现代波谱技术对化合物结构进行鉴定; 采用 Griess 法测定化合物对脂多糖 (LPS) 诱导小鼠巨噬细胞 (RAW264.7) 释放炎症介质 NO 的抑制活性, 进而评价化合物的抗炎活性。结果 从鹅不食草乙醇提取物中分离得到三萜类化合物 17 个, 结构分别鉴定为 20-oxo-30-nortaraxastan-3 β -yl acetate (1)、3 β -acetoxytaraxaster-20-en-30-al (2)、3 β -hydroxytaraxaster-20-en-30-al (3)、蒲公英甾醇 (4)、阿里二醇 (5)、3 β ,21 β -dihydroxy-20(30)-en-taraxastane (6)、款冬二醇 (7)、伪蒲公英甾醇乙酸酯 (8)、taraxast-20-ene-3 β ,30-diol (9)、18 α -齐墩果-12-烯-3,11-二酮 (10)、马尼拉二醇 (11)、3 β -羟基-齐墩果-12-烯-11-酮 (12)、coflodiol (13)、羽扇豆醇 (14)、3 β ,16 β -羟基-羽扇豆二酮 (15)、16 β -羟基-羽扇豆-20(29)-烯-3-酮 (16)、garcinielliptone Q (17)。化合物 2、5~6、8~10、12~13、15~17 的抗炎活性筛选结果表明, 化合物 5、15~17 具有较明显的抗炎活性, 其半数抑制浓度 (IC₅₀) 值在 11.9~27.1 μ mol/L。结论 化合物 1 为新天然产物, 并首次对其氢谱和碳谱数据进行归属, 化合物 2~3、6、8~10、12~13、15~16 首次从鹅不食草中分离得到, 为鹅不食草的临床应用提供理论依据。

关键词: 鹅不食草; 三萜; 伪蒲公英甾醇乙酸酯; 18 α -齐墩果-12-烯-3,11-二酮; 20-oxo-30-nortaraxastan-3 β -yl acetate

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)19-4907-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.19.009

Chemical constituents of triterpenes from *Centipeda minima* and its anti-inflammatory activities

XUE Peng-hui¹, LI Jin-yan¹, LIU Da², KANG Ning², DENG Yan-ru¹, ZHAO Feng³, QIU Feng¹

1. Tianjin Key Laboratory of Modern Chinese Medicine, School of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300617, China

2. Department of Biochemistry, School of Integrative Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, 10 Poyanghu Road, West Area, Tuanbo New Town, Jinghai District, Tianjin 301617, China

3. Key Laboratory of Molecular Pharmacology and Drug Evaluation of Ministry of Education, Yantai University, Yantai 351100, China

Abstract: Objective To study triterpenes and their anti-inflammatory activity from the ethanol extract of *Centipeda minima*.

Methods The compounds were isolated and purified by silica gel, Sephadex LH-20, MCI, ODS and RP-HPLC gel column chromatography, and their structures were elucidated by NMR and MS spectroscopic techniques. The inhibitory activity of the compound on the release of inflammatory mediators NO from mouse macrophages (RAW264.7) induced by lipopolysaccharide (LPS) was determined by Griess method, and then the anti-inflammatory activity of the compounds was evaluated. **Results** A total of 17 compounds were isolated and identified as: 20-oxo-30-nortaraxastan-3 β -yl acetate (1), 3 β -acetoxytaraxaster-20-en-30-al (2), 3 β -hydroxytaraxaster-20-en-30-al (3), taraxasterol (4), arnidiol (5), 3 β ,21 β -dihydroxy-20(30)-en-taraxastane (6), faradiol (7),

收稿日期: 2020-03-20

基金项目: 国家重点研发计划资助项目 (2019YFC1711000)

作者简介: 薛鹏辉 (1986—), 男, 博士在读, 主要从事中药药效物质基础研究。E-mail: 418686883@qq.com

*通信作者 赵 烽 (1974—), 女, 教授, 博士生导师, 主要从事天然产物研究。E-mail: ytuzhaofeng@163.com

邱 峰 (1967—), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事中药药效物质基础研究。E-mail: fengqiu20070118@163.com

pseudotaraxasteryl acetate (8), taraxast-20-ene-3 β ,30-diol (9), 18 α -olean-12-ene-3,11-dione (10), maniladiol (11), 3 β -hydroxyolean-12-en-11-one (12), cofiladiol (13), lupeol (14), 3 β ,16 β -dihydroxylup-20(29)-ene (15), 16 β -hydroxylupa-20(29)-en-3-one (16) and garcinielliptone Q (17). Compounds 2, 5—6, 8—10, 12—13, 15—17 displayed moderate inhibitory activity on the overproduction of NO in LPS-activated RAW 264.7 mouse macrophage cell lines, IC₅₀ values ranging from 11.9 to 27.1 μ mol/L.

Conclusion Compound 1 is a new natural product, and its ¹H-NMR and ¹³C-NMR data was first completely assigned on the basis of 1D and 2D NMR spectroscopic evidence. Compounds 2, 3, 6, 8—10, 12, 13, 15 and 16 are isolated from *C. minima* for the first time. This work provided theoretical basis for clinical application of *C. minima*

Key words: *Centipeda minima* (L.) A. Br. et Aschers.; triterpenes; pseudotaraxasteryl acetate; 18 α -olean-12-ene-3,11-dione; 20-oxo-30-nortaraxastan-3 β -yl acetate

鹅不食 *Centipeda minima* (L.) A.Br.et Aschers. 为菊科石胡荽属一年生草本植物,其干燥全草为《中国药典》收载的品种。主要分布在我国广西、湖北、浙江、江苏和东北等地^[1]。其味辛、性温,归肺、肝经,具有祛风通窍、解毒消肿之功效,临床上用于治疗风寒头痛、咳嗽痰多、鼻塞不通、鼻渊流涕等症状^[2]。近年来,国内外学者对鹅不食草的药理作用研究表明,其具有抗炎、抗肿瘤、抗菌、抗风湿、神经保护和抗氧化等作用^[3]。关于鹅不食草的化学成分研究显示,从鹅不食草分离到的化合物主要包括单萜类、倍半萜类、三萜及三萜苷类、黄酮及黄酮苷类、百里香酚类、甾体类、有机酸类等^[3]。为进一步完善其药效物质基础,发现具有抗炎活性的化学成分,本课题组对鹅不食草干燥全草乙醇提取物中的石油醚流分进行了系统的分离,运用多种色谱方法共分离 17 个三萜类化合物,分别鉴定为 20-oxo-30-nortaraxastan-3 β -yl acetate (1)、3 β -acetoxytaraxaster-20-en-30-al (2)、3 β -hydroxytaraxaster-20-en-30-al (3)、蒲公英甾醇(taraxasterol, 4)、阿里二醇(arnidiol, 5)、3 β ,21 β -二醇-20(30)-烯-蒲公英甾烷[3 β ,21 β -dihydroxy-20(30)-entaraxastane, 6]、款冬二醇(faradiol, 7)、伪蒲公英甾醇乙酸酯(pseudotaraxasteryl acetate, 8)、taraxast-20-ene-3 β ,30-diol (9)、18 α -齐墩果-12-烯-3,11-二酮(18 α -olean-12-ene-3,11-dione, 10)、马尼拉二醇(maniladiol, 11)、3 β -羟基-齐墩果-12-烯-11-酮(3 β -hydroxyolean-12-en-11-one, 12)、coflodiol (13)、羽扇豆醇(lupeol, 14)、3 β ,16 β -羟基-羽扇豆二醇[3 β ,16 β -dihydroxylup-20(29)-ene, 15]、16 β -羟基-羽扇豆-20(29)-烯-3-酮[16 β -hydroxylupa-20(29)-en-3-one, 16]、garcinielliptone Q (17); 其中化合物 1 是新天然产物,化合物 2~3、6、8~10、12~13、15~16 为首次从鹅不食草中分离得到。采用 Griess 法评价化合物 2、5、6、8~10、12、13、

15~17 对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞模型的抗炎活性,结果表明,化合的 5、15~17 具有较明显的抗炎活性,其半数抑制浓度(IC₅₀)值在 11.9~27.1 μ mol/L。

1 仪器与材料

Bruker AVANCE III600 MHz 核磁共振波谱仪(瑞士 Bruker 公司), Waters Xevo G2-S UPLC-Q/TOF(美国 Waters 公司), EYELA N-1100 系列旋转蒸发仪(日本东京理化 EYELA 公司), SB25-1DTN 超声清洗仪(宁波新芝生物科技有限公司), 万分之一电子天平 A1204 [梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司], ZF-20D 暗箱式紫外分析仪(上海顾村电光仪器厂), Waters e2695 分析型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司), Waters 2535 制备型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司), 分析型 RP C18 色谱柱: 250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m, YMC-pack-A, Japan, 250 mm $\times$ 20 mm, 5 μ m, YMC-pack-AJapan。高压蒸汽灭菌器(北方勤诚盛达科技仪器有限公司); 气套式二氧化碳培养箱 [施都凯仪器设备(上海)有限公司]; 超净工作台(上海博讯实业有限公司医疗设备厂); 倒置荧光显微镜(日本尼康公司); 多功能酶标仪(美国 Molecular Devices 公司)。

柱色谱硅胶(100~200、200~300 目, 青岛海洋化工厂); ODS-A-HG 12 nm S-50 μ m(日本 YMC 公司); MCI gel CHP20P (75~150 μ m, 日本三菱公司); Silica gel 60 F₂₅₄(美国 Merck 公司); TLC Silica gel 60 RP-18 F₂₅₄(美国 Merck 公司); Sephadex LH-20(美国 GE 公司); 薄层制备硅胶 GF₂₅₄(于成化工上海有限公司); 分析级石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯、丙酮、甲醇(天津市康科德科技有限公司), 色谱级甲醇、乙腈(天津市康科德科技有限公司), 氘代试剂 CDCl₃(上海皓素化学技术有限公司), 吡啶美辛(批号 CAK7733), WAKO 公司; 注射用氢化可的松琥珀酸钠(批号 20180712D1), 天津市化学生物制药有限公司; Griess 试剂法一氧

化氮检测试剂盒(碧云天生物技术研究);脂多糖(LPS, Sigma-Aldrich 公司);RPMI 1640 (Gibco 公司)。

小鼠巨噬细胞 RAW 264.7 (中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心)。

本实验所用鹅不食草药材,购买于河北省安国市中药材市场,经天津中医药大学张丽娟教授鉴定为菊科石胡荽属植物鹅不食草 *Centipeda minima* (L.) A. Br. et Aschers. 的干燥全草,现保存于天津中医药大学中医药研究院 (No.20180704)。

2 提取与分离

鹅不食草干燥全草4.8 kg剪碎后用10倍量95%和70%乙醇回流提取各3次,每次2 h,抽滤,合并提取液,在35℃减压浓缩,回收乙醇,得到总浸膏。浸膏用10 L水混悬,分别用石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯和正丁醇萃取,得石油醚提取物238 g、二氯甲烷提取物167 g、醋酸乙酯提取物105 g和正丁醇提取物103 g。石油醚流分提取物经硅胶柱色谱,石油醚-醋酸乙酯(100:1→1:1)梯度洗脱,得到9个流分(Fr. A~I)。

Fr. D (30.0 g)经硅胶柱色谱分离,石油醚-醋酸乙酯(30:1→10:1)梯度洗脱,得到8个流分(Fr. D1~D8)。Fr. D3 (5.3 g)经硅胶柱色谱分离,石油醚-醋酸乙酯(30:1→10:1)梯度洗脱,得到5个流分(Fr. D3-1~D3-5)。Fr. D3-3 (1.9 g)经Sephadex LH-20 凝胶柱色谱,二氯甲烷-甲醇(1:1)洗脱,得到化合物2 (12.8 mg)。Fr. D6 (5.2 g)经硅胶柱色谱,石油醚-醋酸乙酯(30:1→10:1)梯度洗脱,得到5个流分(Fr. D6-1~D6-5)。Fr. D6-2 (1.5 g)经硅胶柱色谱,石油醚-醋酸乙酯(20:1)等度洗脱,得到6个流分(Fr. D6-2-1~D6-2-6)。Fr. D6-2-4 (82.5 mg)经制备HPLC (YMC-Pack ODS-A, 250 mm×10 mm, 5 μm, 88%甲醇)得到化合物3 (t_R = 24.3 min, 4.8 mg)、4 (t_R = 57.5 min, 5.2 mg)、10 (t_R = 67.2 min, 7.6 mg)。Fr. D6-2-6 (43.2 mg)采用高效制备薄层色谱法石油醚-醋酸乙酯(10:1),再经过Sephadex LH-20 凝胶柱色谱,二氯甲烷-甲醇(1:1)洗脱,得到化合物1 (8.2 mg)。Fr. D6-3 (2.1 g)经硅胶柱石油醚-醋酸乙酯(20:1)等度洗脱,得到10个流分(Fr. D6-3-1~D6-3-10)。Fr. D6-3-10 (51.8 mg)经过Sephadex LH-20 凝胶柱色谱,二氯甲烷-甲醇(1:1)洗脱,得到化合物14 (8.7 mg)。

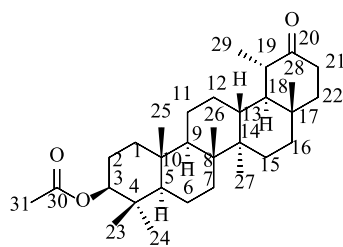
Fr. F (30.0 g)经硅胶柱色谱,石油醚-醋酸乙酯(10:1→1:1)梯度洗脱,得到8个流分(Fr. F1~F8)。Fr. F3 (3.8 g)经过Sephadex LH-20 凝胶柱色谱,二氯甲烷-甲醇(1:1)洗脱,得到8个流分(Fr. F3-1~F3-8)。Fr. F3-5 (1.7 g)经MCI柱色谱,甲醇-水(70:30→100:0)梯度洗脱,得到12个流分(Fr. F3-5-A~F3-5-L)。Fr. F3-5-D (238.6 mg)经反相ODS柱色谱,以甲醇-水(75%→100%)梯度洗脱,得到4个流分(Fr. F3-5-D-1~F3-5-D-4)。Fr. F3-5-H (268.3 mg)经制备HPLC (YMC-Pack ODS-A, 250 mm×10 mm, 5 μm, 75%乙腈),得到化合物5 (t_R = 11.5 min, 10.5 mg)、7 (t_R = 29.3 min, 11.6 mg)、8 (t_R = 32.3 min, 11.6 mg)、11 (t_R = 36.6 min, 12.4 mg)、13 (t_R = 40.1 min, 6.8 mg)、15 (t_R = 45.5 min, 12.3 mg)。Fr. F3-5-K (38.6 mg)经制备HPLC (YMC-Pack ODS-A, 250 mm×10 mm, 5 μm, 75%乙腈),得到化合物6 (t_R = 23.6 min, 7.3 mg)、16 (t_R = 30.4 min, 6.4 mg)。Fr. F3-5-L (56.8 mg)经制备HPLC (YMC-Pack ODS-A, 250 mm×10 mm, 5 μm, 75%乙腈),得到化合物12 (t_R = 40.2 min, 6.6 mg)和17 (t_R = 45.8 min, 8.2 mg)。Fr. F7 (2.7 g)经Sephadex LH-20 凝胶柱色谱,二氯甲烷-甲醇(1:1)洗脱,得到10个流分(Fr. F7-1~F7-10)。Fr. F7-10 (2.2 g)经MCI柱色谱,甲醇-水(70:30→100:0)梯度洗脱,得到10个流分(Fr. F7-0-A~F7-0-J)。Fr. F7-0-I (3.3 g)经制备HPLC (YMC-Pack ODS-A, 250 mm×10 mm, 5 μm, 88%乙腈),得到化合物9 (t_R = 27.3 min, 9.5 mg)。

3 结构鉴定

化合物1: 白色粉末, $[\alpha]_D^{25}$ 30.0 (c 0.12, MeOH), HR-ESI-MS 给出了分子离子峰为 m/z 493.365 4 $[M+Na]^+$ (计算值 493.365 8, $C_{31}H_{50}O_3Na$)。结合 1H -和 ^{13}C -NMR 谱数据,确定化学式为 $C_{31}H_{50}O_3$ 。

在 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) (表1)中,显示8个甲基氢信号 δ_H 0.85 (3H, s), 0.84 (3H, s), 0.87 (3H, s), 1.01 (3H, s), 0.95 (3H, s), 0.75 (3H, s), 1.11 (3H, d, J = 7.3 Hz) 和2.05 (3H, s)、8个角甲基氢信号和1个连氧次甲基氢信号 δ_H 4.48 (1H, dd, J = 11.0, 5.5 Hz) 提示该化合物可能是乌苏烷型五环三萜。在 ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) (表1)中,给出了3个特征碳信号: 1个酮羰基碳信号 δ_C 218.9、1个酯羰基碳信号 δ_C 171.2和1个连氧次甲基碳信号 δ_C 81.0, 结合上述1D-NMR 数据,说明化合物1

可能是含有酮羰基的乌苏烷乙酸酯三萜类似物。分析上述氢谱与碳谱数据,发现该化合物谱图数据与化合物 3 β -acetoxy-20-taraxastene 相似,说明两者具有相似母核结构。化合物 **1** 与化合物 3 β -acetoxy-20-taraxastene 主要不同在于 C-20 连接的基团发生了改变,端基烯被酮羰基所替代。在 HMBC 谱中,显示 H-3 (δ_{H} 4.48) 与 C-30 (δ_{C} 171.2) 相关, H-29 (δ_{H} 1.11)、H-22 (δ_{H} 1.40) 与 C-20 (δ_{C} 218.9) 相关,说明酯羰基与 C-3 相连,酮羰基与 C-20 相连;同时,结合 ^1H - ^1H COSY 和 NOESY 相关信号,确定化合物的结构为 20-oxo-30-nortaraxastan-3 β -yl acetate。化合物 **1** 的 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 信号结合 HSQC 和 HMBC 谱图数据进行碳氢信号归属(表 1)。通过 Scifinder 检索,与文献报道^[4]合成中间产物具有相同的结构,而相关文献未见波谱数据报道。鉴于此,确定化合物 **1** 为新天然产物。

图 1 化合物 **1** 的结构Fig. 1 Chemical structure of compound **1**

化合物 **2**: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出分子离子峰为 m/z 483.381 8 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (计算值 483.383 8, $\text{C}_{32}\text{H}_{51}\text{O}_3$), 提示其分子式为 $\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{O}_3$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 0.83 (3H, s, H-23), 0.84 (3H, s, H-24), 0.86 (3H, s, H-25), 1.02 (3H, s, H-26), 0.94 (3H, s, H-27), 0.66 (3H, s, H-28), 1.00 (3H, d, $J=6.4$ Hz, H-29), 2.03 (3H, s, H-32), 6.69 (3H, dd, $J=6.7$, 2.7 Hz), 9.35 (1H, s, H-30), 4.47 (1H, dd, $J=10.8$, 5.8 Hz); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 38.5 (C-1), 23.8 (C-2), 81.0 (C-3), 37.9 (C-4), 55.5 (C-5), 18.3 (C-6), 34.2 (C-7), 41.1 (C-8), 50.4 (C-9), 37.1 (C-10), 21.5 (C-11), 27.3 (C-12), 39.1 (C-13), 42.3 (C-14), 27.0 (C-15), 34.6 (C-16), 34.9 (C-17), 48.3 (C-18), 29.5 (C-19), 148.5 (C-20), 149.3 (C-21), 43.1 (C-22), 28.0 (C-23), 16.6 (C-24), 16.4 (C-25), 16.1 (C-26), 14.8 (C-27), 17.6 (C-28), 23.3 (C-29), 194.1 (C-30), 171.1 (C-31), 21.4 (C-32)。以上波谱数据与文献报道基本

表 1 化合物 **1** 的 ^1H (600 MHz, CDCl_3) 和 ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) 核磁数据Table 1 ^1H (600 MHz) and ^{13}C (150 MHz) NMR data of compound **1**

碳位	δ_{H}	δ_{C}
1	1.72 (1H, m), 1.01 (1H, m)	38.6
2	1.63 (2H, m)	23.8
3	4.48 (1H, dd, $J=11.0$, 5.5 Hz)	81.0
4		37.7
5	0.80 (1H, m)	55.6
6	1.53 (1H, m), 1.39 (1H, m)	18.3
7	1.40 (2H, m)	34.1
8		41.0
9	1.34 (1H, m)	50.5
10		37.9
11	1.54 (1H, m), 1.24 (1H, m)	21.3
12	1.59 (1H, m), 1.10 (1H, m)	25.8
13	1.56 (1H, m)	39.1
14		41.9
15	1.72 (1H, m), 1.04 (1H, m)	26.7
16	1.36 (1H, m), 1.26 (1H, m)	36.5
17		37.2
18	1.32 (1H, m)	49.9
19	2.05 (1H, m)	46.3
20		218.9
21	2.53 (1H, m), 2.33 (1H, m)	33.4
22	1.40 (2H, m)	34.3
23	0.85 (3H, s)	28.0
24	0.84 (3H, s)	16.5
25	0.87 (3H, s)	16.6
26	1.01 (3H, s)	16.0
27	0.95 (3H, s)	14.7
28	0.75 (3H, s)	17.0
29	1.11 (3H, d, $J=7.3$ Hz)	22.1
30		171.2
31	2.05 (3H, s)	21.5

一致^[5], 故鉴定化合物 **2** 为 3 β -acetoxytaraxaster-20-en-30-al。

化合物 **3**: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出分子离子峰为 m/z 461.340 5 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (计算值 461.339 6, $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_2\text{Na}$), 提示其分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_2$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 1.08 (3H, s, H-23), 1.03 (3H, s, H-24), 0.96 (3H, s, H-25), 1.02 (3H, s, H-26), 0.98

(3H, s, H-27), 0.68 (3H, s, H-28), 1.01 (3H, d, $J=6.5$ Hz, H-29), 6.72 (3H, dd, $J=6.7, 2.7$ Hz, H-21), 9.37 (1H, s, H-30); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 39.8 (C-1), 34.3 (C-2), 218.3 (C-3), 47.5 (C-4), 55.0 (C-5), 19.8 (C-6), 33.6 (C-7), 41.0 (C-8), 49.9 (C-9), 36.9 (C-10), 22.1 (C-11), 27.4 (C-12), 39.2 (C-13), 42.5 (C-14), 27.0 (C-15), 36.5 (C-16), 34.9 (C-17), 48.3 (C-18), 29.5 (C-19), 148.5 (C-20), 149.3 (C-21), 43.1 (C-22), 26.8 (C-23), 21.2 (C-24), 16.3 (C-25), 16.0 (C-26), 14.8 (C-27), 17.7 (C-28), 23.3 (C-29), 194.2 (C-30)。以上数据与化合物 **2** 的 1D-NMR 数据相似, 其主要差别在化合物 **3** 的 C-3 位发生了改变, 由化合物 **2** 的乙酰氧基变成了化合物 **3** 中的酮羰基 (δ 218.3)。在 HMBC 谱中, 给出 H-1 (δ 1.96), H-23 (δ 1.08), H-24 (δ 1.03) 均与 C-3 (δ 218.3) 相关, 提示酮羰基在 3 位, 结合 HSQC、HMBC 相关数据和文献报道^[5]类似化合物 3 β -acetoxytaraxaster-20-en-30-al 的波谱数据, 故鉴定化合物 **3** 为 3 β -hydroxytaraxaster-20-en-30-al。

化合物 **4**: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出分子离子峰为 m/z 449.376 2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (计算值 449.375 9, $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{ONa}$), 提示其分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 1.02 (3H, s, H-23), 0.86 (3H, s, H-24), 0.93 (3H, s, H-25), 0.85 (3H, s, H-26), 0.77 (3H, s, H-27), 0.97 (3H, s, H-28), 1.01 (3H, d, $J=6.5$ Hz, H-29), 4.62 (1H, m, H-30a), 4.60 (1H, m, H-30b); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 38.8 (C-1), 27.4 (C-2), 79.0 (C-3), 38.8 (C-4), 55.3 (C-5), 18.3 (C-6), 34.1 (C-7), 40.9 (C-8), 50.5 (C-9), 37.1 (C-10), 21.4 (C-11), 26.2 (C-12), 39.2 (C-13), 40.2 (C-14), 26.7 (C-15), 38.3 (C-16), 34.5 (C-17), 48.6 (C-18), 39.4 (C-19), 154.7 (C-20), 25.6 (C-21), 38.9 (C-22), 28.0 (C-23), 15.4 (C-24), 16.8 (C-25), 15.9 (C-26), 14.8 (C-27), 19.5 (C-28), 25.5 (C-29), 107.1 (C-30)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[6], 故鉴定化合物 **4** 为蒲公英甾醇。

化合物 **5**: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出分子离子峰为 m/z 465.370 0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (计算值 465.370 9, $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2\text{Na}$), 提示其分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 1.02 (3H, s, H-23), 0.85 (3H, s, H-24), 0.97 (3H, s, H-25), 0.84 (3H, s, H-26), 0.76 (3H, s, H-27), 0.98 (3H, s, H-28), 1.03 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-29), 4.65 (1H, m, H-30a), 4.63 (1H, m, H-30b);

^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 38.8 (C-1), 27.4 (C-2), 79.0 (C-3), 38.9 (C-4), 55.4 (C-5), 18.3 (C-6), 34.0 (C-7), 40.0 (C-8), 50.0 (C-9), 37.1 (C-10), 21.4 (C-11), 25.9 (C-12), 38.8 (C-13), 42.3 (C-14), 36.0 (C-15), 77.4 (C-16), 40.9 (C-17), 47.7 (C-18), 39.0 (C-19), 153.6 (C-20), 25.0 (C-21), 35.3 (C-22), 28.0 (C-23), 15.4 (C-24), 16.4 (C-25), 16.3 (C-26), 15.9 (C-27), 12.8 (C-28), 25.3 (C-29), 107.4 (C-30)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[7], 故鉴定化合物 **5** 为阿里二醇。

化合物 **6**: 白色固体。HR-ESI-MS 给出了分子离子峰为 m/z 443.388 2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (计算值 443.388 9, $\text{C}_{30}\text{H}_{51}\text{O}_2$), 提示其分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 0.97 (3H, s, H-23), 0.77 (3H, s, H-24), 0.85 (3H, s, H-25), 1.02 (3H, s, H-26), 0.93 (3H, s, H-27), 0.77 (3H, s, H-28), 1.21 (3H, d, $J=6.7$ Hz, H-29), 4.98 (1H, d, $J=6.7$ Hz, H-30a), 4.89 (1H, d, $J=6.7$ Hz, H-30b); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 38.8 (C-1), 27.5 (C-2), 79.1 (C-3), 39.1 (C-4), 55.5 (C-5), 18.4 (C-6), 34.1 (C-7), 41.0 (C-8), 50.5 (C-9), 37.2 (C-10), 21.5 (C-11), 26.3 (C-12), 39.0 (C-13), 42.3 (C-14), 26.5 (C-15), 37.8 (C-16), 34.2 (C-17), 48.5 (C-18), 38.2 (C-19), 156.7 (C-20), 71.4 (C-21), 48.9 (C-22), 28.1 (C-23), 15.5 (C-24), 16.4 (C-25), 16.0 (C-26), 14.9 (C-27), 18.3 (C-28), 28.5 (C-29), 113.7 (C-30)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[7], 故鉴定化合物 **6** 为 3 β ,21 β -二醇-20(30)-烯-蒲公英甾烷。

化合物 **7**: 白色结晶性粉末。HR-ESI-MS 给出分子离子峰为 m/z 465.370 2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (计算值 465.370 9, $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2\text{Na}$), 提示其分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 0.99 (3H, s, H-23), 0.76 (3H, s, H-24), 0.84 (3H, s, H-25), 1.05 (3H, s, H-26), 1.00 (3H, s, H-27), 0.72 (3H, s, H-28), 1.01 (3H, d, $J=6.0$ Hz, H-29), 1.64 (3H, brs, H-30), 5.30 (1H, d, $J=7.0$ Hz, H-21), 3.20 (1H, dd, $J=11.4, 4.7$ Hz, H-3), 3.43 (1H, dd, $J=11.5, 4.8$ Hz, H-16); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 38.9 (C-1), 28.4 (C-2), 79.1 (C-3), 38.9 (C-4), 55.4 (C-5), 18.4 (C-6), 34.3 (C-7), 41.2 (C-8), 47.7 (C-9), 37.2 (C-10), 21.7 (C-11), 27.5 (C-12), 36.0 (C-13), 42.6 (C-14), 36.7 (C-15), 76.5 (C-16), 40.0 (C-17), 50.0 (C-18), 39.0 (C-19), 139.9 (C-20), 118.4 (C-21), 37.7 (C-22), 28.1

(C-23), 15.5 (C-24), 16.2 (C-25), 16.4 (C-26), 21.7 (C-27), 11.7 (C-28), 16.5 (C-29), 22.6 (C-30)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[8], 故鉴定化合物 **7** 为款冬二醇。

化合物 **8**: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出分子离子峰为 m/z 483.383 0 $[M+H]^+$ (计算值 483.383 8, $C_{32}H_{51}O_3$), 提示其分子式为 $C_{32}H_{50}O_3$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.84 (3H, s, H-23), 0.85 (3H, s, H-24), 0.88 (3H, s, H-25), 0.96 (3H, s, H-26), 0.92 (3H, s, H-27), 1.06 (3H, s, H-28), 1.12 (3H, d, $J=6.5$ Hz, H-29), 1.89 (3H, brs, H-30), 2.05 (3H, s, H-32), 5.71 (1H, brs, H-21), 4.48 (1H, dd, $J=11.3, 5.2$ Hz, H-3); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 38.5 (C-1), 23.8 (C-2), 81.0 (C-3), 37.9 (C-4), 54.4 (C-5), 18.2 (C-6), 34.3 (C-7), 41.2 (C-8), 50.3 (C-9), 37.1 (C-10), 21.8 (C-11), 27.8 (C-12), 38.5 (C-13), 42.1 (C-14), 26.4 (C-15), 28.6 (C-16), 44.9 (C-17), 45.4 (C-18), 36.9 (C-19), 162.8 (C-20), 123.1 (C-21), 206.2 (C-22), 28.1 (C-23), 16.7 (C-24), 16.5 (C-25), 16.2 (C-26), 14.7 (C-27), 18.8 (C-28), 22.8 (C-29), 22.3 (C-30), 171.2 (C-31), 21.5 (C-32)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **8** 为伪蒲公英甾醇乙酸酯。

化合物 **9**: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出分子离子峰为 m/z 465.373 9 $[M+Na]^+$ (计算值 465.370 9, $C_{30}H_{50}O_2Na$), 提示其分子式为 $C_{30}H_{50}O_2$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.97 (3H, s, H-23), 0.76 (3H, s, H-24), 0.85 (3H, s, H-25), 1.04 (3H, s, H-26), 0.96 (3H, s, H-27), 0.77 (3H, s, H-28), 1.01 (3H, d, $J=6.5$ Hz, H-29), 5.59 (1H, dd, $J=6.5, 1.7$ Hz, H-21), 3.20 (1H, dd, $J=11.5, 4.8$ Hz, H-3), 4.12 (1H, d, $J=12.7$ Hz, H-30a), 4.01 (1H, d, $J=12.7$ Hz, H-30b); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 38.9 (C-1), 27.7 (C-2), 79.2 (C-3), 39.0 (C-4), 55.4 (C-5), 18.4 (C-6), 34.3 (C-7), 41.2 (C-8), 50.6 (C-9), 37.2 (C-10), 21.7 (C-11), 27.1 (C-12), 39.3 (C-13), 42.5 (C-14), 27.5 (C-15), 36.8 (C-16), 34.6 (C-17), 48.6 (C-18), 32.1 (C-19), 143.8 (C-20), 120.8 (C-21), 41.8 (C-22), 28.1 (C-23), 15.5 (C-24), 16.4 (C-25), 16.1 (C-26), 14.9 (C-27), 17.8 (C-28), 22.6 (C-29), 65.6 (C-30)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **9** 为 taraxast-20-ene-3 β ,30-diol。

化合物 **10**: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出分子离子峰为 m/z 439.356 6 $[M+H]^+$ (计算值 439.357 6,

$C_{30}H_{47}O_2$), 提示其分子式为 $C_{30}H_{46}O_2$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 1.07 (3H, s, H-23), 1.27 (3H, s, H-24), 0.89 (3H, s, H-25), 0.87 (3H, s, H-26), 1.37 (3H, s, H-27), 1.10 (3H, s, H-28), 1.17 (3H, s, H-29), 0.91 (3H, s, H-30), 5.62 (1H, brs, H-12); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 39.9 (C-1), 34.6 (C-2), 217.4 (C-3), 47.9 (C-4), 55.6 (C-5), 18.9 (C-6), 32.3 (C-7), 36.8 (C-8), 61.2 (C-9), 32.5 (C-10), 199.7 (C-11), 128.2 (C-12), 171.3 (C-13), 43.7 (C-14), 26.6 (C-15), 26.5 (C-16), 32.5 (C-17), 47.8 (C-18), 45.4 (C-19), 31.2 (C-20), 34.4 (C-21), 36.6 (C-22), 26.7 (C-23), 21.6 (C-24), 15.8 (C-25), 18.7 (C-26), 23.6 (C-27), 28.9 (C-28), 33.2 (C-29), 23.5 (C-30)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **10** 为 18 α -齐墩果-12-烯-3,11-二酮。

化合物 **11**: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出分子离子峰为 m/z 465.370 9 $[M+Na]^+$ (计算值 465.370 9, $C_{30}H_{50}O_2Na$), 提示其分子式为 $C_{30}H_{50}O_2$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 1.00 (3H, s, H-23), 0.79 (3H, s, H-24), 0.94 (3H, s, H-25), 0.99 (3H, s, H-26), 1.22 (3H, s, H-27), 0.80 (3H, s, H-28), 0.89 (3H, s, H-29), 0.91 (3H, s, H-30), 5.25 (1H, t, $J=3.4$ Hz, H-12), 3.23 (1H, dd, $J=11.4, 4.3$ Hz, H-3), 4.20 (1H, dd, $J=11.4, 4.3$ Hz, H-16); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 38.7 (C-1), 27.4 (C-2), 79.1 (C-3), 38.9 (C-4), 55.3 (C-5), 18.5 (C-6), 32.8 (C-7), 40.0 (C-8), 47.0 (C-9), 37.5 (C-10), 23.7 (C-11), 122.5 (C-12), 143.7 (C-13), 43.9 (C-14), 35.7 (C-15), 66.2 (C-16), 37.0 (C-17), 49.2 (C-18), 46.7 (C-19), 31.1 (C-20), 34.3 (C-21), 30.7 (C-22), 28.2 (C-23), 15.7 (C-24), 15.6 (C-25), 17.0 (C-26), 27.3 (C-27), 21.6 (C-28), 33.4 (C-29), 24.1 (C-30)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **11** 为马尼拉二醇。

化合物 **12**: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出分子离子峰为 m/z 441.373 3 $[M+H]^+$ (计算值 441.373 3, $C_{30}H_{49}O_2$), 提示其分子式为 $C_{30}H_{48}O_2$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 1.00 (3H, s, H-23), 1.13 (3H, s, H-24), 0.80 (3H, s, H-25), 1.14 (3H, s, H-26), 1.35 (3H, s, H-27), 0.90 (3H, s, H-28), 0.85 (3H, s, H-29), 0.88 (3H, s, H-30), 5.58 (1H, s, H-12), 3.23 (1H, dd, $J=11.3, 5.1$ Hz, H-3), 2.13 (1H, dd, $J=11.4, 4.5$ Hz, H-18); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 39.3 (C-1), 26.6 (C-2), 78.9 (C-3), 39.3 (C-4), 55.1 (C-5), 17.6

(C-6), 32.9 (C-7), 43.5 (C-8), 61.9 (C-9), 37.2 (C-10), 200.5 (C-11), 128.6 (C-12), 170.8 (C-13), 45.6 (C-14), 26.6 (C-15), 27.5 (C-16), 32.5 (C-17), 47.7 (C-18), 45.5 (C-19), 31.2 (C-20), 34.6 (C-21), 36.7 (C-22), 28.9 (C-23), 16.5 (C-24), 15.7 (C-25), 18.9 (C-26), 23.6 (C-27), 28.2 (C-28), 33.2 (C-29), 23.6 (C-30)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **12** 为 3 β -羟基-齐墩果-12-烯-11-酮。

化合物 **13**: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出分子离子峰为 m/z 465.369 0 $[M+Na]^+$ (计算值 465.370 9, $C_{30}H_{50}O_2Na$), 提示其分子式为 $C_{30}H_{50}O_2$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.99 (3H, s, H-23), 0.76 (3H, s, H-24), 0.85 (3H, s, H-25), 0.86 (3H, s, H-26), 1.24 (3H, s, H-27), 1.00 (3H, s, H-28), 0.94 (3H, s, H-29), 0.70 (3H, s, H-30), 3.23 (1H, d, $J=11.4, 4.5$ Hz, H-3), 3.58 (1H, dd, $J=12.7, 3.6$ Hz, H-16); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 39.0 (C-1), 27.5 (C-2), 79.1 (C-3), 38.9 (C-4), 55.5 (C-5), 18.5 (C-6), 35.1 (C-7), 41.3 (C-8), 50.5 (C-9), 37.4 (C-10), 21.8 (C-11), 25.2 (C-12), 134.5 (C-13), 46.3 (C-14), 27.5 (C-15), 75.9 (C-16), 40.1 (C-17), 131.8 (C-18), 34.9 (C-19), 33.0 (C-20), 35.4 (C-21), 38.7 (C-22), 28.2 (C-23), 15.6 (C-24), 16.5 (C-25), 17.9 (C-26), 22.9 (C-27), 16.8 (C-28), 32.3 (C-29), 24.4 (C-30)。以上数据的氢谱和质谱数据与文献报道一致^[14], 并结合 HSQC、HMBC 和 ^{13}C -NMR 谱, 综合分析, 对化合物 **13** 的碳谱数据进行归属, 故鉴定化合物 **13** 为 coflodiol。

化合物 **14**: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出分子离子峰为 m/z 427.392 6 $[M+H]^+$ (计算值 427.394 0, $C_{30}H_{51}O$), 提示其分子式为 $C_{30}H_{51}O$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.99 (3H, s, H-23), 0.75 (3H, s, H-24), 0.88 (3H, s, H-25), 1.03 (3H, s, H-26), 0.96 (3H, s, H-27), 0.86 (3H, s, H-28), 1.68 (3H, s, H-30), 4.70 (1H, d, $J=1.9$ Hz, H-29a), 4.56 (1H, brs, H-29b), 3.12 (1H, dd, $J=11.4, 4.8$ Hz, H-3); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 39.5 (C-1), 28.2 (C-2), 80.2 (C-3), 38.9 (C-4), 57.0 (C-5), 19.6 (C-6), 32.2 (C-7), 40.2 (C-8), 50.9 (C-9), 35.9 (C-10), 22.3 (C-11), 24.2 (C-12), 38.4 (C-13), 42.2 (C-14), 27.3 (C-15), 34.5 (C-16), 43.7 (C-17), 49.0 (C-18), 48.8 (C-19), 152.9 (C-20), 31.0 (C-21), 40.2 (C-22), 28.7 (C-23), 16.2 (C-24), 17.0 (C-25), 16.9 (C-26), 15.3 (C-27), 19.7 (C-28), 109.9 (C-29), 19.8 (C-30)。以上波谱数据与文

献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 **14** 为羽扇豆醇。

化合物 **15**: 白色末粉。HR-ESI-MS 给出分子离子峰为 m/z 465.368 4 $[M+Na]^+$ (计算值 465.370 9, $C_{30}H_{50}O_2Na$), 提示其分子式为 $C_{30}H_{50}O_2$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.95 (3H, s, H-23), 0.78 (3H, s, H-24), 0.81 (3H, s, H-25), 1.02 (3H, s, H-26), 0.97 (3H, s, H-27), 0.75 (3H, s, H-28), 1.67 (3H, s, H-30), 4.70 (1H, brs, H-29a), 4.59 (1H, brs, H-29b); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 38.9 (C-1), 27.5 (C-2), 79.0 (C-3), 38.9 (C-4), 55.4 (C-5), 18.4 (C-6), 34.3 (C-7), 41.0 (C-8), 50.1 (C-9), 37.2 (C-10), 21.0 (C-11), 24.9 (C-12), 37.4 (C-13), 44.2 (C-14), 37.0 (C-15), 77.1 (C-16), 48.7 (C-17), 47.8 (C-18), 47.7 (C-19), 150.1 (C-20), 30.0 (C-21), 37.8 (C-22), 28.1 (C-23), 15.5 (C-24), 16.3 (C-25), 16.2 (C-26), 16.1 (C-27), 11.8 (C-28), 109.9 (C-29), 19.5 (C-30)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[16-17], 故鉴定化合物 **15** 为 3 β ,16 β -羟基-羽扇豆二醇。

化合物 **16**: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出了分子离子峰为 m/z 463.354 6 $[M+Na]^+$ (计算值 463.355 2, $C_{30}H_{48}O_2Na$), 提示其分子式为 $C_{30}H_{48}O_2$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 1.07 (3H, s, H-23), 1.02 (3H, s, H-24), 0.93 (3H, s, H-25), 1.08 (3H, s, H-26), 1.00 (3H, s, H-27), 0.81 (3H, s, H-28), 1.68 (3H, s, H-30), 4.71 (1H, d, $J=1.5$ Hz, H-29a), 4.60 (1H, brs, H-29b), 3.62 (1H, dd, $J=11.1, 4.7$ Hz, H-16); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 39.7 (C-1), 34.3 (C-2), 218.2 (C-3), 47.7 (C-4), 55.1 (C-5), 19.8 (C-6), 33.7 (C-7), 41.0 (C-8), 49.5 (C-9), 37.0 (C-10), 21.5 (C-11), 25.0 (C-12), 36.9 (C-13), 44.3 (C-14), 37.5 (C-15), 77.2 (C-16), 48.8 (C-17), 47.8 (C-18), 47.5 (C-19), 150.1 (C-20), 30.0 (C-21), 37.8 (C-22), 26.8 (C-23), 21.2 (C-24), 16.2 (C-25), 16.1 (C-26), 15.9 (C-27), 11.8 (C-28), 110.0 (C-29), 19.5 (C-30)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[18], 故鉴定化合物 **16** 为 16 β -羟基-羽扇豆-20(29)-烯-3-酮。

化合物 **17**: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出分子离子峰为 m/z 433.388 2 $[M+H]^+$ (计算值 433.388 9, $C_{30}H_{53}O_2$), 提示其分子式为 $C_{30}H_{53}O_2$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.96 (3H, s, H-18), 0.77 (3H, s, H-19), 1.14 (3H, s, H-21), 1.62 (3H, s, H-26), 1.69 (3H, s, H-27), 0.84 (3H, s, H-28), 0.97 (3H, s, H-29), 0.88 (3H, s, H-30), 5.12 (1H, t, $J=7.4$ Hz, H-24), 3.20

(1H, dd, $J = 11.6, 4.8$ Hz, H-3); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 39.0 (C-1), 27.4 (C-2), 79.0 (C-3), 39.0 (C-4), 49.9 (C-5), 18.3 (C-6), 27.5 (C-7), 42.3 (C-8), 50.6 (C-9), 37.1 (C-10), 21.5 (C-11), 31.2 (C-12), 40.4 (C-13), 50.2 (C-14), 35.2 (C-15), 24.8 (C-16), 55.9 (C-17), 15.5 (C-18), 15.3 (C-19), 75.4 (C-20), 25.4 (C-21), 40.5 (C-22), 22.5 (C-23), 124.7 (C-24), 131.7 (C-25), 17.7 (C-26), 25.7 (C-27), 16.2 (C-28), 28.0 (C-29), 16.4 (C-30)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[19], 故鉴定化合物 **17** 为 garcinielliptone Q。

4 抗炎活性测定

取处于对数生长期的 RAW 264.7 细胞, 按 1×10^5 个/mL 浓度稀释, 细胞稀释液加至 96 孔细胞培养板中, 每孔加入 200 μL 细胞悬液。随后, 在 37°C 、5% CO_2 培养箱中培养 1 h, 每孔再加入 LPS (其终质量浓度 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 及测试样品 (50~12.5 $\mu\text{mol}/\text{L}$), 样品活性筛选时设置给药组 (50~12.5 $\mu\text{mol}/\text{L}$)、LPS 组 (不加被测样品)、空白对照组 (等体积 DMSO) 和阳性药吲哚美辛 (Indomethacin)、氢化可地松 (HSS) 组。小鼠巨噬细胞 RAW 264.7 在 37°C 、5% CO_2 恒温培养箱中培养 24 h 后吸取培养液上清液 100 μL 转移到酶标板中, 测定 540 nm 处的吸光度 (A) 值, 并采用 Griess 法^[20-21]测定化合物对 NO 释放的抑制率。并计算半数抑制浓度 (IC_{50}), 结果见表 2。

5 讨论

本实验采用多种色谱技术, 从鹅不食草全草的

表2 化合物对 LPS 诱导巨噬细胞释放炎症介质 NO 的抑制活性 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Inhibitory activity of compounds on NO production ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

化合物	IC_{50} ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) ^a
5	11.9 ± 0.3
15	19.8 ± 1.6
16	22.3 ± 0.3
17	24.5 ± 0.2
Indomethacin	16.7 ± 1.2
HSS	46.4 ± 3.5

^a 化合物 **2**、**6**、**8**~**10**、**12**~**13** 对 LPS 诱导巨噬细胞释放炎症介质 NO 的测试无活性 ($\text{IC}_{50} > 40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。

^aCompounds **2**, **6**, **8**—**10**, **12**—**13** were inactive against cell lines tested ($\text{IC}_{50} > 40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$).

NO 释放抑制率 = $([\text{NO}_2^-]_{\text{LPS}} - [\text{NO}_2^-]_{\text{LPS+样品}}) / ([\text{NO}_2^-]_{\text{LPS}} - [\text{NO}_2^-]_{\text{空白}})$

$[\text{NO}_2^-]_{\text{LPS}}$ 为 LPS 组细胞培养基上清液中 NO_2^- 的浓度, $[\text{NO}_2^-]_{\text{LPS+样品}}$ 为给药组细胞培养基上清液中 NO_2^- 的浓度, $[\text{NO}_2^-]_{\text{空白}}$ 为空白对照组细胞培养基上清液中 NO_2^- 的浓度

乙醇提取物中分离得到 17 个三萜类化合物, 通过其理化性质和波谱学数据鉴定全部化合物的结构, 其中化合物 **1** 为新天然产物, 并首次对其氢谱和碳谱数据进行归属, 化合物 **2**~**3**、**6**、**8**~**10**、**12**~**13**、**15**~**16** 首次从鹅不食草中分离得到。在抗炎活性测试中, 化合物 **5**、**15**~**17** 显示了中等强度的抗炎活性。

近年来, 我国传统中药鹅不食草化学成分的生物活性一直被学者们研究, 旨在完善鹅不食草药效物质基础, 丰富其结构类型, 为进一步研究其药理作用和临床应用奠定基础。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1983.
- [2] 张舒娜, 张亚玉. 鹅不食草的临床应用及药理研究进展 [J]. 吉林农业, 2015(19): 76-77.
- [3] 冉茂莲, 何文生, 梁天娇等. 鹅不食草的研究进展 [J]. 中南药学, 2019, 17(11): 1874-1879.
- [4] Akhmetova V R, Shakurova E R, Khalilova A Z, et al. Synthesis and transformations of 20-oxo-30-nortaraxasteryl acetate derivatives [J]. Russ J Org Chem, 2007, 43(3): 363-369.
- [5] Shiojima K, Suzuki H, Koder N, et al. Composite constituents: Thirty-nine triterpenoids including two novel compounds from *Ixeris chinensis* [J]. Chem Pharm Bull, 1996, 44(3): 509-514.
- [6] 陈国良, 李新莉, 石凌刚, 等. 烟管蓟地上部分化学成分研究 [J]. 中药材, 2007, 30(3): 291-294.
- [7] Dai J Q, Zhou B, Wang Y L, et al. Two new triterpenoids from *Saussurea petrovii* [J]. Chin Chem Lett, 2001, 12(2): 151-154.
- [8] Yahra S, Morita Y, Nohara T. Studies on the constituents of *Chrysanthemi Flos* [J]. Jpn J Pharmacog, 1990, 44(4): 335-338.
- [9] Kuo Y H, Chaing Y M. Five new taraxastane-type triterpenes from the aerial roots of *Ficus microcarpa* [J]. Chem Pharm Bull, 1999, 47(4): 498-500.
- [10] Dai J, Zhao C, Zhang Q, et al. Taraxastane-type triterpenoids from *Saussurea petrovii* [J]. Phytochemistry, 2001, 58(7): 1107-1111.

- [11] 梁光义, 周 滢, 曹佩雪, 等. 四川清风藤的化学成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2005, 39(12): 900-902.
- [12] Quijano L, Rios T, Fronczek F R, *et al.* The molecular structure of maniladiol from *Baccharis salicina* [J]. *Phytochemistry*, 1998, 49(7): 2065-2068.
- [13] Martins L R, Takahashi J A. Rearrangement and oxidation of β -amyrin promoted by growing cells of *Lecanicillium muscarinium* [J]. *Nat Prod Res*, 2010, 24(8): 767-774.
- [14] Pyrek J St. Terpenes of compositae plants. Part VIII. amyrin derivatives in *Calendula officinalis* L. flowers. The structure of cofladiol (ursadiol) and isolation of manilladiol [J]. *Ann Soc Chim Polon*, 1977, 51(12): 2493-2497.
- [15] 刘玉艳. 鹅不食草乙酸乙酯部位抗肿瘤活性成分的研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2010.
- [16] Mahato S B, Kundu A P. ^{13}C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids—a compilation and some salient features [J]. *Phytochemistry*, 1994, 37(6): 1517-1575.
- [17] 宋建平, 崔秀明, 曾 江, 等. 三七种子脂溶性化学成分研究 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(3): 565-567.
- [18] Wei Y, Ma C, Chen D, *et al.* Anti-HIV-1 protease triterpenoids from *Stauntonia obovatifoliola* Hayata subsp. *intermedia* [J]. *Phytochemistry*, 2008, 69(9): 1875-1879.
- [19] Lin K W, Huang A M, Yang S C, *et al.* Cytotoxic and antioxidant constituents from *Garcinia subelliptica* [J]. *Food Chem*, 2012, 135(2): 851-859.
- [20] Zhao F, Chen L, Zhang M, *et al.* Inhibition of lipopolysaccharide-induced iNOS and COX-2 expression by indole alkaloid, 3-(hydroxymethyl)-6,7-dihydroindolo [2,3-a] quinolizin-(12*H*)-one, via NF- κ B inactivation in RAW 264.7 macrophages [J]. *Planta Med*, 2013, 79(9): 782-787.
- [21] Jin X, Song S, Wang J, *et al.* Tiliroside, the major component of *Agrimonia pilosa* Ledeb ethanol extract, inhibits MAPK/JNK/p38-mediated inflammation in lipopolysaccharide-activated RAW 264.7 macrophages [J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12(1): 499-505.