

大叶铁线莲乙醇提取物正丁醇部位的化学成分研究

张倩, 陆云阳, 刘杨, 汤海峰*

空军军医大学 药理学系, 中药与天然药物学教研室, 陕西 西安 710032

摘要: 目的 研究大叶铁线莲 *Clematis heracleifolia* 全草的化学成分。方法 利用硅胶、Sephadex LH-20 凝胶、ODS 反相色谱和半制备高效液相色谱等分离方法进行分离纯化, 结合核磁共振、质谱等波谱学技术鉴定其化学结构。结果 从大叶铁线莲全草 75% 乙醇提取物的正丁醇萃取部位分离鉴定了 10 个化合物, 包括三萜皂苷 6 个、黄酮苷 1 个、木栓烷型三萜 2 个和植物甾醇 1 个, 分别为 3,23-二羟基-齐墩果-18-烯-28-酸-*O*- α -L-吡喃鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-吡喃葡萄糖苷 (1)、刺楸皂苷 B (2)、粗齿铁线莲皂苷 B (3)、刺五加苷 A₁ (4)、皂苷 PJ₃ (5)、异株五加苷 B (6)、金丝桃苷 (7)、木栓酮 (8)、表木栓醇 (9) 和 β -谷甾醇 (10)。结论 化合物 1 是新化合物, 命名为大叶铁线莲皂苷 D; 化合物 2~9 均为首次从大叶铁线莲中分离得到。

关键词: 大叶铁线莲; 3,23-二羟基-齐墩果-18-烯-28-酸-*O*- α -L-吡喃鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-吡喃葡萄糖苷; 大叶铁线莲皂苷 D; 刺楸皂苷 B; 粗齿铁线莲皂苷 B; 刺五加苷 A₁; 木栓酮

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)17-5185-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.17.008

Chemical constituents of *n*-BuOH fraction from ethanolic extract of *Clematis heracleifolia*

ZHANG Qian, LU Yun-yang, LIU Yang, TANG Hai-feng

Department of Chinese Materia Medica and Natural Medicines, Pharmacy School, Air Force Medical University, Xi'an 710032, China

Abstract: **Objective** To investigate the chemical constituents from the whole plants of *Clematis heracleifolia*. **Methods** The *n*-BuOH part of 75% ethanol extraction of the whole plants was isolated by silica gel, Sephadex LH-20, ODS column chromatographies and semi-preparative HPLC. The structures of compounds were identified by NMR, MS, and other spectroscopic techniques. **Results** Ten compounds, including 3,23-dihydroxyolean-18-en-28-oic acid-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside (1), kalopanax saponin B (2), clemargenoside B (3), ciwujianoside A₁ (4), saponin PJ₃ (5), sieboldianoside B (6), hyperin (7), friedelin (8), epifriedelinol (9), and β -sitosterol (10) were isolated and identified. **Conclusion** Compound 1 is a new compound named clemahergenioside D, and compounds 2—9 are isolated from the whole plants of *C. heracleifolia* for the first time.

Key words: *Clematis heracleifolia* DC.; 3,23-dihydroxyolean-18-en-28-oic acid-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside; clemahergenioside D; kalopanax saponin B; clemargenoside B; ciwujianoside A₁; friedelin

毛茛科 (Ranunculaceae) 铁线莲属 *Clematis* L. 植物在全球分布广泛, 有 350 多种, 其中 93 种为我国特有, 85 种为药用植物^[1-2]。该属植物自古因其利尿通淋、祛风止痛的药用价值而被广泛使用, 如

《证类本草》中记载的川木通和最早收录在《集验方》中的威灵仙^[3-4]。《中国药典》2020 年版也收录了川木通和威灵仙^[5]。大叶铁线莲 *Clematis heracleifolia* DC. 作为铁线莲属药用植物, 主要分布于我国华中

收稿日期: 2021-07-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81274029)

作者简介: 张倩 (1990—), 女, 博士, 主要从事天然药化研究。Tel: 17791539129 E-mail: qianqiangoodok@163.com

*通信作者: 汤海峰 (1971—), 男, 沈阳药科大学 1998 级博士研究生药理学专业校友。主任药师、教授, 博士生导师, 空军军医大学药物研究所所长、药理学系中药与天然药物学教研室主任, 空军军医大学中药学一级学科带头人, 空军高层次科技人才; 主要从事天然药化研究和中药、海洋药物开发, 曾获得军队和省级科技奖励 6 项、社会力量办奖 6 项。

Tel: (029)84711551 E-mail: tanghaifeng71@163.com

和西南地区, 常见于山坡沟谷、林边及路旁的灌丛中^[6], 常以全草或根茎入药, 用于治疗风湿关节痛、皮肤炎症、瘰管等病^[7]。国内外学者对大叶铁线莲的化学成分研究较少, 活性研究也以粗提物为主^[8]。基于课题组前期对大叶铁线莲全草化学成分的初步探究^[9], 为了进一步明确其药效物质基础, 从而为大叶铁线莲的开发与利用提供理论依据, 本实验继续对其 75%乙醇水提取物的正丁醇层萃取部位进行化学成分研究, 共分离得到 10 个化合物, 分别鉴定为 3,23-二羟基-齐墩果-18-烯-28-酸-*O*- α -L-吡喃鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-吡喃葡萄糖苷 [3,23-dihydroxyolean-18-en-28-oic acid-*O*- α -L-rhamnopyransyl-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside, **1**]、刺楸皂苷 B (kalopanax saponin B, **2**)、粗齿铁线莲皂苷 B (clemargenoside B, **3**)、刺五加苷 A₁ (ciwujianoside A₁, **4**)、皂苷 PJ₃ (saponin PJ₃, **5**)、异株五加苷 B (sieboldianoside B, **6**)、金丝桃苷 (hyperin, **7**)、木栓酮 (friedelin, **8**)、表木栓醇 (epifriedelinol, **9**) 和 β -谷甾醇 (β -sitosterol, **10**)。化合物 **1** 是新化合物, 命名为大叶铁线莲皂苷 D, 化合物 **2**~**9** 均为首次从大叶铁线莲中分离鉴定。

1 仪器与材料

电子分析天平 (赛多利斯科学仪器公司); XT5 型显微熔点测定仪 (北京科仪电光仪器厂); Quattro 质谱仪 (Micromass 公司); PL343 型旋光仪 (Perkin-Elmer 公司); AVANCE 500 型超导核磁共振仪、AVANCE 800 型超导核磁共振仪 (Bruker 公司); 戴安 P680 高效液相色谱仪 (戴安公司, P680 系列单泵、UV-VS 检测器、CHROMELON 工作站); Agilent GC-6820 气相色谱仪 [Agilent 公司, 配 HP-5 弹性石英毛细管柱 (30 m $\times$ 0.32 mm, 0.25 μ m), 氢火焰离子化检测器]; 柱色谱硅胶 (100~200、200~300 目, 青岛海洋化工厂); 薄层色谱用硅胶 H (青岛海洋化工厂); Rp-18 高效薄层预制硅胶板 G (Merck 公司); ODS C₁₈ 填料 (Pharmacia 公司); Sephadex LH-20 柱 (北京欧亚新技术公司); *N*-(三甲基硅基)咪唑 (Sigma 公司); 对照品 *D*-葡萄糖 (*D*-Glc)、*D*-核糖 (*D*-Rib)、*L*-鼠李糖 (*L*-Rha)、*L*-阿拉伯糖 (*L*-Ara) 和 *D*-木糖 (*D*-Xyl), Sigma 公司; 试剂均为分析纯; 制备液相所用试剂均为色谱纯。

药材于 2014 年 9 月采自陕西省宝鸡市太白山, 经陕西中医药大学王继涛教授鉴定为大叶铁线莲

C. heracleifolia DC. 的全草, 标本 (20140909) 存于空军军医大学药理学系中药与天然药物学教研室。

2 提取与分离

取干燥大叶铁线莲全草 6 kg, 粉碎, 用 10 倍体积的 75%乙醇加热回流提取 3 次, 每次 2 h, 合并滤液并减压蒸馏至无醇味, 将得到的浸膏加水分散, 水溶液用等体积石油醚萃取 4 次, 回收石油醚层, 再加入等体积的水饱和正丁醇萃取 3 次, 合并正丁醇层溶液, 减压蒸馏得到浸膏 130 g。取 100 g 浸膏用硅胶拌样后进行硅胶柱色谱分离, 用三氯甲烷-甲醇-水系统 (50:1:0~65:35:10) 梯度洗脱, 得到 12 个组分 (Fr. A~L)。Fr. A 采用 Sephadex LH-20 柱色谱分离, 流动相为三氯甲烷-甲醇 (1:1), 得到化合物 **8** (32 mg)、**9** (70 mg) 和 **10** (110 mg); Fr. F 进行 Sephadex LH-20 柱色谱, 三氯甲烷-甲醇 (1:1) 洗脱除去杂质, 再进行半制备高效液相色谱分离, 流动相为 85%甲醇, 得到化合物 **7** (t_R =10.3 min, 32 mg); Fr. G 进行硅胶柱色谱, 用三氯甲烷-甲醇-水系统 (10:1:0~8:1:0.1) 梯度洗脱, 再结合 Sephadex LH-20 柱色谱和半制备高效液相色谱 (流动相为 65%甲醇) 分离, 得到化合物 **5** (t_R =12.9 min, 18 mg); Fr. J 利用 Sephadex LH-20 柱色谱和 ODS 反相柱色谱 (依次以 30%、50%和 70%甲醇洗脱) 分离, 结合半制备高效液相色谱 (流动相为 35%甲醇) 纯化, 得到化合物 **2** (t_R =18.7 min, 3 mg)、**3** (t_R =16.2 min, 8 mg) 和 **4** (t_R =14.5 min, 16 mg); Fr. K 通过硅胶柱色谱, 以三氯甲烷-甲醇-水系统 (8:2:0.2~7:2.5:0.25) 梯度洗脱, 再结合 Sephadex LH-20 柱色谱和半制备高效液相色谱 (流动相为 65%甲醇) 分离, 得到化合物 **6** (t_R =20.6 min, 34 mg); Fr. L 利用 Sephadex LH-20 柱色谱、ODS 反相柱色谱 (依次以 30%、50%、70%甲醇溶液洗脱) 分离, 结合半制备高效液相色谱 (流动相为 55%甲醇) 纯化, 得到化合物 **1** (t_R =33.3 min, 30 mg)。

3 皂苷类化合物酸水解

称取化合物 **1**~**6** 各 1.5 mg 分别加入 2 mL 三氟乙酸 (2 mol/L) 中, 120 $^{\circ}$ C 加热 2 h, 蒸干溶剂, 分别向反应物中加入二氯甲烷和水进行萃取。蒸干水层, 向残留物中加入 1 mL 无水吡啶溶液和 2 mL *L*-半胱氨酸甲酯盐酸盐的无水吡啶溶液 (0.1 mol/L), 60 $^{\circ}$ C 加热 2 h, 氮气吹干; 加入 1 mL 吡啶和 0.5 mL *N*-(三甲基硅基)咪唑, 60 $^{\circ}$ C 加热 1 h, 蒸干溶液, 以

正己烷和水萃取, 有机相层进行 GC 分析 (气化室 250 °C; 柱温 180~250 °C, 5 °C/min; 检测器 280 °C; 进样量 1 μ L; 载气为氮气) [10]。通过比较标准糖衍生物和样品单糖衍生物的保留时间确定化合物中的单糖的种类。标准糖衍生物的保留时间分别为 *D*-Glc 为 16.78 min、*L*-Ara 为 9.65 min、*D*-Xyl 为 13.43 min、*L*-Rha 为 12.31 min 和 *D*-Rib 为 9.16 min。

4 结构鉴定

化合物 **1**: 白色无定形粉末, 易溶于甲醇和吡啶, $[\alpha]_D^{25} + 1.3^\circ$ (c 0.13, 甲醇), Liebermann-Burchard 反应与 Molish 反应均呈阳性, 推测为皂苷类化合物。HR-ESI-MS 显示准分子离子峰 $[M-H]^-$ m/z 941.513 2 ($C_{48}H_{77}O_{18}$ 计算值为 941.511 0), 结合氢谱和碳谱数据, 确定化合物 **1** 的分子式为 $C_{48}H_{78}O_{18}$, 不饱和度为 10。

1H -NMR (500 MHz, pyridine- d_5) 数据 (表 1) 高场区显示 6 个角甲基的信号峰 δ_H 0.83、0.95、0.99、

1.05、1.05 和 1.17, 1 个烯氢的宽单峰信号 δ_H 5.25 (1H, brs, H-19)。在 HSQC 谱中可依次找到相应的 6 个角甲基碳信号 δ_C 15.6、17.7、29.5、13.3、16.8 和 31.0。结合 ^{13}C -NMR (125 MHz, pyridine- d_5) 谱 δ_C 175.8 (C-28) 和 δ_C 73.7 (C-3) 信号, 提示 C-28 位形成酯苷键, C-3 位未形成氧苷键。推测化合物 **1** 为齐墩果烷型皂苷。在 HMBC 谱 (图 1) 中, δ_H 2.30 (H-21) 和 1.42 (H-16) 信号与 δ_C 138.2 信号存在远程偶合关系, 而 δ_H 5.25 信号与 δ_C 41.6 (C-13)、49.1 (C-17)、33.9 (C-21)、32.6 (C-20)、29.5 (C-29) 和 31.0 (C-30) 均存在相关峰, 因此可以推测双键位置在 C-18(19) 位。结合 1H - 1H COSY、HMBC、TOCSY、HSQC、NOESY 谱, 可归属苷元上的所有碳、氢信号 (表 1)。对照文献报道 [11] 的具有 C-18(19) 双键的金盏花皂苷 A (calendasaponin A), 其碳谱数据基本一致, 进一步验证了化合物 **1** 的苷元结构与该化合物相同, 即黄连木酸。对化合物 **1** 进行酸水解后

表 1 化合物 **1** 的 ^{13}C -NMR (125 MHz) 和 1H -NMR (500 MHz) 数据
Table 1 ^{13}C -NMR (125 MHz) and 1H -NMR (500 MHz) data of compound **1**

碳位	δ_C	δ_H	碳位	δ_C	δ_H
1	39.5	1.04 (m), 1.68 (m)	25	17.7	0.95 (s)
2	28.2	1.93 (m)	26	16.8	1.17 (s)
3	73.7	4.56 (m)	27	15.6	0.83 (s)
4	41.4		28	175.8	
5	49.3	1.45 (m)	29	29.5	0.99 (s)
6	18.8	1.44 (m)	30	31.0	1.05 (s)
7	34.3	1.49 (m)	28-O-sugar-GlcI-1	96.2	6.36 (d, $J = 8.5$ Hz)
8	43.3		2	74.3	4.10 (m)
9	51.9	1.41 (m)	3	79.1	4.21 (m)
10	37.7		4	71.2	4.28 (m)
11	21.6	1.24 (m), 1.50 (m)	5	78.4	4.09 (m)
12	26.7	1.20 (m), 1.63 (m)	6	69.6	4.29 (m)
13	41.6	2.66 (d, $J = 11.0$ Hz)	GlcII-1	105.3	4.95 (d, $J = 8.0$ Hz)
14	43.3		2	75.6	3.94 (m)
15	30.2	1.21 (m), 2.14 (m)	3	76.8	4.16 (m)
16	35.0	1.42 (m)	4	78.6	4.40 (m)
17	49.1		5	77.5	3.68 (m)
18	138.2		6	61.7	4.10 (m)
19	133.2	5.25 (brs)	Rha-1	103.1	5.85 (brs)
20	32.6		2	72.9	4.68 (brs)
21	33.9	1.71 (m), 2.30 (m)	3	73.1	4.56 (m)
22	34.1	1.36 (m), 2.55 (m)	4	74.3	4.34 (m)
23	68.1	3.70 (m), 4.17 (m)	5	70.6	4.98 (m)
24	13.3	1.05 (s)	6	18.8	1.70 (d, $J = 6.5$ Hz)

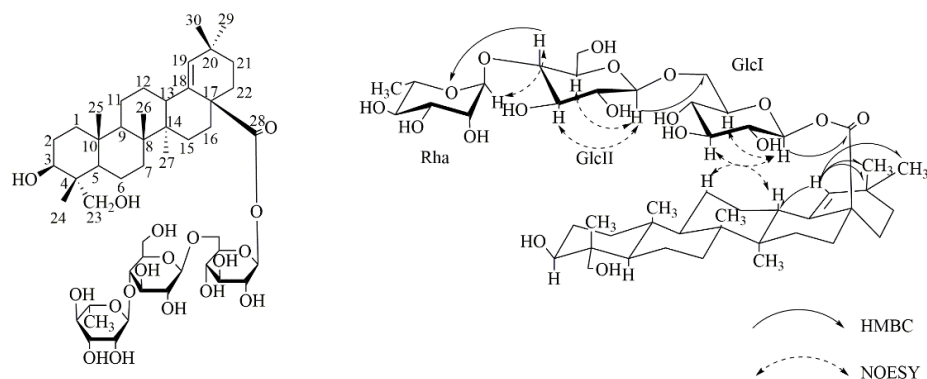


图 1 化合物 1 的结构式及主要 HMBC 和 NOESY 相关

Fig. 1 Structure and key HMBC, NOESY correlations of compound 1

制备衍生物^[12-13], 经 GC 分析, 确定化合物 1 所含糖为 *D*-Glc、*L*-Rha, 比例为 2 : 1。¹H-NMR 谱中发现 3 个糖的端基氢信号 δ_{H} 6.36 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, GlcI-H-1) 5.85 (1H, brs, Rha-H-1), 4.95 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, GlcII-H-1); HSQC 谱匹配到相应糖基的端基碳信号: δ_{C} 96.2 (GlcI-C-1), 103.1 (Rha-C-1), 105.3 (GlcII-C-1)。由葡萄糖基端基氢偶合常数 $J = 8.5$ Hz 可得糖苷键的相对构型为 β ; 鼠李糖基的端基氢信号为宽单峰, 3 位和 5 位碳的化学位移值分别为: δ_{C} 73.1 (Rha-C-3) 和 δ_{C} 70.6 (Rha-C-5), 可判断出相应糖苷键为 α 构型^[14]。结合 TOCSY 谱, 可通过 ¹H-¹H COSY 谱归属所有糖基的氢信号, 再通过 HSQC 谱归属了所有糖基的碳信号。HMBC 谱中, 可观察到 GlcI-H-1/C-28, GlcII-H-1/GlcI-C-6 以及 Rha-H-1/GlcII-C-4 相关, 从而确定了糖基与苷元和各糖基之间的连接位点与顺序。这些信息可以通过 NOESY 谱得到进一步的验证, 见图 1。

综上, 化合物 1 结构鉴定为 3,23-二羟基-齐墩果-18-烯-28-酸-*O*- α -*L*-吡喃鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 4)- β -*D*-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- β -*D*-吡喃葡萄糖苷, 经 SciFinder 数据库查询, 确定其为新化合物, 命名为大叶铁线莲 D (clemahergenoid D)。

化合物 2: 白色无定形粉末, 易溶于吡啶和甲醇, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -16.4^{\circ}$ (c 0.16, 甲醇), Lieberman-Buchard 反应与 Molish 反应均呈阳性, 与 10% 硫酸显色剂呈紫红色, ESI-MS m/z : 1057 $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ 。采用与化合物 1 相同方法进行酸水解, 检出 Glc、Rha 和 Ara, 经过 GC 分析确定它们的比例为 2 : 2 : 1。¹H-NMR (800 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 0.87 (3H, s, H-24), 0.89 (3H, s, H-25), 0.94 (3H, s, H-26), 0.98 (3H, s, H-27), 1.13 (3H, s, H-29), 1.18 (3H, s, H-30), 5.41 (1H, brs,

H-12), 5.80 (1H, brs, 3-*O*-Ara-H-1), 6.29 (1H, brs, 3-*O*-Rha-H-1), 6.19 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, 28-*O*-GlcI-H-1), 4.96 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, 28-*O*-GlcII-H-1), 4.71 (1H, d, $J = 6.1$ Hz, 28-*O*-Rha-H-1); ¹³C-NMR (200 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 38.8 (C-1), 26.3 (C-2), 80.9 (C-3), 43.1 (C-4), 47.6 (C-5), 18.0 (C-6), 32.6 (C-7), 39.7 (C-8), 48.3 (C-9), 36.3 (C-10), 23.6 (C-11), 122.7 (C-12), 144.1 (C-13), 42.3 (C-14), 28.2 (C-15), 23.1 (C-16), 46.8 (C-17), 41.3 (C-18), 45.8 (C-19), 30.5 (C-20), 33.7 (C-21), 32.1 (C-22), 63.5 (C-23), 13.7 (C-24), 15.8 (C-25), 17.3 (C-26), 25.7 (C-27), 176.3 (C-28), 32.8 (C-29), 23.4 (C-30), 经过 HMBC 谱发现糖链连接顺序为 Rha(1 $\rightarrow$ 2)Ara-和 Rha(1 $\rightarrow$ 4)GlcII (1 $\rightarrow$ 6)GlcI-, 103.8 (3-*O*-Ara-C-1), 75.9 (3-*O*-Ara-C-2), 74.5 (3-*O*-Ara-C-3), 69.0 (3-*O*-Ara-C-4), 65.3 (3-*O*-Ara-C-5), 100.9 (3-*O*-Rha-C-1), 72.0 (3-*O*-Rha-C-2), 72.3 (3-*O*-Rha-C-3), 73.9 (3-*O*-Rha-C-4), 69.5 (3-*O*-Rha-C-5), 18.3 (3-*O*-Rha-C-6), 95.3 (28-*O*-GlcI-C-1), 73.7 (28-*O*-GlcI-C-2), 78.6 (28-*O*-GlcI-C-3), 70.6 (28-*O*-GlcI-C-4), 77.9 (28-*O*-GlcI-C-5), 69.0 (28-*O*-GlcI-C-6), 104.6 (28-*O*-GlcII-C-1), 75.0 (28-*O*-GlcII-C-2), 76.3 (28-*O*-GlcII-C-3), 78.0 (28-*O*-GlcII-C-4), 76.9 (28-*O*-GlcII-C-5), 61.0 (28-*O*-GlcII-C-6), 102.5 (28-*O*-Rha-C-1), 72.3 (28-*O*-Rha-C-2), 72.5 (28-*O*-Rha-C-3), 73.8 (28-*O*-Rha-C-4), 70.1 (28-*O*-Rha-C-5), 18.3 (28-*O*-Rha-C-6)。以上波谱数据与文献数据基本一致^[15], 故鉴定化合物 2 为刺楸皂苷 B。

化合物 3: 白色无定形粉末, 易溶于吡啶和甲醇, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -13.4^{\circ}$ (c 0.09, 甲醇), Lieberman-Buchard 反应与 Molish 反应均呈阳性, 与 10% 硫酸显色剂呈紫红色, ESI-MS m/z : 1213 $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ 。采用与化合物

1 相同方法进行酸水解, 检出 Glc、Rha、Ara 和 Rib, 经过 GC 分析确定它们的比例为 2 : 1 : 1 : 1。¹H-NMR (800 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 0.87 (3H, s, H-25), 0.87 (3H, s, H-29), 0.87 (3H, s, H-30), 1.05 (3H, s, H-26), 1.10 (3H, s, H-24), 1.21 (3H, s, H-27), 1.24 (3H, s, H-23), 5.43 (1H, brs, H-12), 6.26 (1H, brs, 3-*O*-Ara-H-1), 6.20 (1H, d, J = 8.0 Hz, 3-*O*-Rha-H-1), 6.24 (1H, d, J = 8.0 Hz, 28-*O*-GlcI-H-1), 5.00 (1H, d, J = 7.6 Hz, 28-*O*-Rib-H-1), 4.81 (1H, d, J = 6.0 Hz, 28-*O*-GlcII-H-1); ¹³C-NMR (200 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 39.0 (C-1), 26.5 (C-2), 88.6 (C-3), 39.3 (C-4), 55.8 (C-5), 18.1 (C-6), 33.3 (C-7), 39.7 (C-8), 47.4 (C-9), 36.8 (C-10), 23.4 (C-11), 122.6 (C-12), 144.3 (C-13), 42.0 (C-14), 28.0 (C-15), 22.9 (C-16), 46.8 (C-17), 41.4 (C-18), 46.0 (C-19), 31.0 (C-20), 33.6 (C-21), 31.4 (C-22), 27.9 (C-23), 16.8 (C-24), 15.6 (C-25), 17.3 (C-26), 25.8 (C-27), 176.3 (C-28), 33.0 (C-29), 22.8 (C-30)。经过 HMBC 谱可知, 糖链连接顺序为 C-3 位 Rib(1 $\rightarrow$ 3)Rha(1 $\rightarrow$ 2)Ara-和 C-28 位 GlcII(1 $\rightarrow$ 6)GlcI-, 105.2 (3-*O*-Ara-C-1), 75.1 (3-*O*-Ara-C-2), 74.0 (3-*O*-Ara-C-3), 69.3 (3-*O*-Ara-C-4), 65.6 (3-*O*-Ara-C-5), 101.2 (3-*O*-Rha-C-1), 71.8 (3-*O*-Rha-C-2), 81.0 (3-*O*-Rha-C-3), 72.3 (3-*O*-Rha-C-4), 69.7 (3-*O*-Rha-C-5), 18.3 (3-*O*-Rha-C-6), 104.5 (3-*O*-Rib-C-1), 72.0 (3-*O*-Rib-C-2), 67.8 (3-*O*-Rib-C-3), 70.1 (3-*O*-Rib-C-4), 65.2 (23-*O*-Rib-C-5), 95.8 (28-*O*-GlcI-C-1), 73.4 (28-*O*-GlcI-C-2), 78.5 (28-*O*-GlcI-C-3), 70.7 (28-*O*-GlcI-C-4), 78.3 (28-*O*-GlcI-C-5), 69.3 (28-*O*-GlcI-C-6), 105.1 (28-*O*-GlcII-C-1), 75.0 (28-*O*-GlcII-C-2), 78.3 (28-*O*-GlcII-C-3), 71.4 (28-*O*-GlcII-C-4), 77.8 (28-*O*-GlcII-C-5), 63.0 (28-*O*-GlcII-C-6)。以上波谱数据与文献数据基本一致^[16], 故鉴定化合物 **3** 为粗齿铁线莲皂苷 B。

化合物 **4**: 白色无定形粉末, 易溶于吡啶和甲醇, $[\alpha]_D^{25}$ -10.5° (c 0.18, 甲醇), Lieberman-Buchard 反应与 Molish 反应均呈阳性, 与 10%硫酸显色剂呈紫红色, ESI-MS m/z : 1219 $[M-H]^-$ 。采用与化合物 **1** 相同方法进行酸水解, 检出 Glc、Rha 和 Ara, 经过 GC 分析确定它们的比例为 3 : 1 : 1。¹H-NMR (800 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 0.90 (3H, s, H-25), 0.92 (3H, s, H-29), 0.96 (3H, s, H-30), 1.15 (3H, s, H-26), 1.11 (3H, s, H-24), 1.26 (3H, s, H-27), 1.29 (3H, s, H-23), 5.44 (1H, brs, H-12), 5.82 (1H, brs,

3-*O*-Ara-H-1), 6.20 (1H, d, J = 8.0 Hz, 3-*O*-Glc-H-1), 4.98 (1H, d, J = 7.6 Hz, 28-*O*-GlcI-H-1), 4.83 (1H, d, J = 6.2 Hz, 28-*O*-GlcII-H-1), 5.40 (1H, d, J = 7.4 Hz, 28-*O*-Rha-H-1); ¹³C-NMR (200 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 38.8 (C-1), 26.5 (C-2), 88.8 (C-3), 39.6 (C-4), 55.8 (C-5), 18.6 (C-6), 33.4 (C-7), 39.9 (C-8), 48.2 (C-9), 37.1 (C-10), 23.8 (C-11), 122.9 (C-12), 144.2 (C-13), 42.2 (C-14), 28.3 (C-15), 23.5 (C-16), 47.3 (C-17), 41.8 (C-18), 46.3 (C-19), 30.9 (C-20), 34.1 (C-21), 32.7 (C-22), 28.2 (C-23), 16.9 (C-24), 15.6 (C-25), 17.6 (C-26), 26.2 (C-27), 176.6 (C-28), 33.3 (C-29), 23.8 (C-30)。经过 HMBC 谱可知糖链连接顺序为 C-3 位 Glc(1 $\rightarrow$ 2)Ara-和 C-28 位 Rha(1 $\rightarrow$ 4)GlcII (1 $\rightarrow$ 6)GlcI-, 104.8(3-*O*-Ara-C-1), 81.2 (3-*O*-Ara-C-2), 73.6 (3-*O*-Ara-C-3), 68.3 (3-*O*-Ara-C-4), 65.4 (3-*O*-Ara-C-5), 106.2 (3-*O*-Glc-C-1), 76.8 (3-*O*-Glc-C-2), 78.5 (3-*O*-Glc-C-3), 71.8 (3-*O*-Glc-C-4), 78.4 (3-*O*-Glc-C-5), 62.9 (3-*O*-Glc-C-6), 95.8 (28-*O*-GlcI-C-1), 73.9 (28-*O*-GlcI-C-2), 78.8 (28-*O*-GlcI-C-3), 71.0 (28-*O*-GlcI-C-4), 78.3 (28-*O*-GlcI-C-5), 69.4 (28-*O*-GlcI-C-6), 104.9 (28-*O*-GlcII-C-1), 75.5 (28-*O*-GlcII-C-2), 76.6 (28-*O*-GlcII-C-3), 78.5 (28-*O*-GlcII-C-4), 77.4 (28-*O*-GlcII-C-5), 61.5 (28-*O*-GlcII-C-6), 102.8 (28-*O*-Rha-C-1), 72.8 (28-*O*-Rha-C-2), 73.0 (28-*O*-Rha-C-3), 74.3 (28-*O*-Rha-C-4), 70.8 (28-*O*-Rha-C-5), 18.8 (28-*O*-Rha-C-6)。以上波谱数据与文献数据基本一致^[17], 故鉴定化合物 **4** 为刺五加苷 A₁。

化合物 **5**: 白色无定形粉末, 易溶于吡啶和甲醇; Lieberman-Buchard 反应与 Molish 反应均呈阳性, 与 10%硫酸显色剂呈紫红色; ESI-MS m/z : 1203 $[M-H]^-$ 。采用与化合物 **1** 相同方法进行酸水解, 检出 Glc、Rha 和 Ara, 经过 GC 分析确定它们的比例为 2 : 2 : 1。¹H-NMR (800 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 0.91 (3H, s, H-25), 0.92 (3H, s, H-29), 0.93 (3H, s, H-30), 0.98 (3H, s, H-26), 1.11 (3H, s, H-24), 1.26 (3H, s, H-27), 1.29 (3H, s, H-23), 5.40 (1H, brs, H-12), 5.80 (1H, brs, 3-*O*-Ara-H-1), 6.27 (1H, brs, 3-*O*-Rha-H-1), 6.18 (1H, d, J = 8.0 Hz, 28-*O*-GlcI-H-1), 5.02 (1H, d, J = 7.4 Hz, 28-*O*-GlcII-H-1), 4.80 (1H, d, J = 6.0 Hz, 28-*O*-Rha-H-1); ¹³C-NMR (200 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 38.8 (C-1), 26.5 (C-2), 88.5 (C-3), 39.3 (C-4), 55.6 (C-5), 18.3 (C-6), 33.0 (C-7), 39.8 (C-8), 48.0 (C-9), 36.8 (C-10), 23.6 (C-11), 123.0

(C-12), 144.0 (C-13), 41.9 (C-14), 28.1 (C-15), 23.2 (C-16), 46.8 (C-17), 41.5 (C-18), 46.0 (C-19), 30.5 (C-20), 33.8 (C-21), 32.3 (C-22), 28.0 (C-23), 16.8 (C-24), 15.3 (C-25), 17.3 (C-26), 25.8 (C-27), 176.3 (C-28), 33.0 (C-29), 23.5 (C-30)。由 HMBC 谱发现糖链连接顺序为 C-3 位 Rha(1→2)Ara-和 C-28 位 Rha(1→4)GlcII(1→6)GlcI-, 104.3 (3-O-Ara-C-1), 75.3 (3-O-Ara-C-2), 73.9 (3-O-Ara-C-3), 68.6 (3-O-Ara-C-4), 64.5 (3-O-Ara-C-5), 101.3 (3-O-Rha-C-1), 72.6 (3-O-Rha-C-2), 72.4 (3-O-Rha-C-3), 73.8 (3-O-Rha-C-4), 70.0 (3-O-Rha-C-5), 18.3 (3-O-Rha-C-6), 95.8 (28-O-GlcI-C-1), 73.5 (28-O-GlcI-C-2), 78.3 (28-O-GlcI-C-3), 70.7 (28-O-GlcI-C-4), 78.0 (28-O-GlcI-C-5), 69.0 (28-O-GlcI-C-6), 104.7 (28-O-GlcII-C-1), 75.3 (28-O-GlcII-C-2), 76.4 (28-O-GlcII-C-3), 78.0 (28-O-GlcII-C-4), 76.9 (28-O-GlcII-C-5), 61.0 (28-O-GlcII-C-6), 102.6 (28-O-Rha-C-1), 72.4 (28-O-Rha-C-2), 72.3 (28-O-Rha-C-3), 73.8 (28-O-Rha-C-4), 69.7 (28-O-Rha-C-5), 18.3 (28-O-Rha-C-6)。以上波谱数据与文献数据基本一致^[18], 故鉴定化合物 **5** 为皂苷 PJ₃。

化合物 **6**: 白色无定形粉末, 易溶于吡啶和甲醇, Lieberman-Buchard 反应与 Molish 反应均呈阳性, 与 10%硫酸显色剂呈紫红色, ESI-MS m/z : 1335 $[M-H]^-$ 。采用与化合物 **1** 相同方法进行酸水解, 检出 Glc、Rha、Xyl 和 Ara, 经过 GC 分析确定它们的比例为 2:2:1:1。¹H-NMR (800 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 0.90 (3H, s, H-25), 0.91 (3H, s, H-29), 0.93 (3H, s, H-30), 0.97 (3H, s, H-26), 1.12 (3H, s, H-24), 1.27 (3H, s, H-27), 1.28 (3H, s, H-23), 5.42 (1H, brs, H-12), 5.87 (1H, brs, 3-O-Ara-H-1), 6.32 (1H, brs, 3-O-Rha-H-1), 6.25 (1H, brs, 3-O-Xyl-H-1), 5.01 (1H, d, J = 8.0 Hz, 28-O-GlcI-H-1), 4.85 (1H, d, J = 6.4 Hz, 28-O-GlcII-H-1), 5.37 (1H, d, J = 7.6 Hz, 28-O-Rha-H-1); ¹³C-NMR (200 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 39.2 (C-1), 27.0 (C-2), 89.1 (C-3), 39.9 (C-4), 56.3 (C-5), 18.8 (C-6), 33.4 (C-7), 40.2 (C-8), 48.3 (C-9), 37.3 (C-10), 24.1 (C-11), 123.2 (C-12), 144.4 (C-13), 42.4 (C-14), 28.6 (C-15), 23.6 (C-16), 47.3 (C-17), 41.9 (C-18), 46.5 (C-19), 31.0 (C-20), 34.3 (C-21), 32.8 (C-22), 28.5 (C-23), 17.5 (C-24), 16.0 (C-25), 17.8 (C-26), 26.4 (C-27), 176.9 (C-28), 33.4 (C-29), 24.0 (C-30)。经过 HMBC 谱发现糖链连接顺序为:

C-3 位 Xyl(1→3)Rha(1→2)Ara-和 C-28 Rha(1→4)GlcII(1→6)GlcI-, 105.6 (3-O-Ara-C-1), 75.6 (3-O-Ara-C-2), 75.2 (3-O-Ara-C-3), 69.8 (3-O-Ara-C-4), 65.5 (3-O-Ara-C-5), 101.7 (3-O-Rha-C-1), 72.4 (3-O-Rha-C-2), 81.5 (3-O-Rha-C-3), 73.1 (3-O-Rha-C-4), 70.2 (3-O-Rha-C-5), 18.8 (3-O-Rha-C-6), 106.7 (3-O-Xyl-C-1), 75.3 (3-O-Xyl-C-2), 78.4 (3-O-Xyl-C-3), 70.9 (3-O-Xyl-C-4), 66.1 (3-O-Xyl-C-5), 95.9 (28-O-GlcI-C-1), 74.2 (28-O-GlcI-C-2), 79.0 (28-O-GlcI-C-3), 71.1 (28-O-GlcI-C-4), 78.3 (28-O-GlcI-C-5), 69.4 (28-O-GlcI-C-6), 105.1 (28-O-GlcII-C-1), 75.6 (28-O-GlcII-C-2), 76.8 (28-O-GlcII-C-3), 78.5 (28-O-GlcII-C-4), 77.4 (28-O-GlcII-C-5), 61.5 (28-O-GlcII-C-6), 103.0 (28-O-Rha-C-1), 72.9 (28-O-Rha-C-2), 73.0 (28-O-Rha-C-3), 74.3 (28-O-Rha-C-4), 70.6 (28-O-Rha-C-5), 18.8 (28-O-Rha-C-6)。以上波谱数据与文献数据基本一致^[19], 故鉴定化合物 **6** 为异株五加苷 B。

化合物 **7**: 淡黄色晶体 (氯仿-甲醇), 易溶于二甲基亚砜, mp 225~226 °C; Molish 反应呈阳性; ESI-MS m/z 487 $[M+Na]^+$, 463 $[M-H]^-$, 推测分子式为 C₂₁H₂₀O₁₂。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.63 (1H, s, 5-OH), 10.88 (1H, s, 7-OH), 9.76 (1H, s, 4'-OH), 9.10 (1H, s, 3'-OH), 7.64 (1H, dd, J = 8.2, 1.6 Hz, H-6'), 7.51 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-2'), 6.80 (1H, d, J = 8.3 Hz, H-5'), 6.44 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 6.24 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 5.43 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-1'), 5.20 (1H, d, J = 4.5 Hz, 4''-OH), 4.88 (1H, d, J = 5.5 Hz, 2''-OH), 4.43 (2H, m, 3'', 6''-OH), 3.64 (1H, m, H-6''b), 3.62 (1H, m, H-6''a), 3.50 (1H, m, H-5''), 3.39 (1H, m, H-4''), 3.37 (1H, m, H-2''), 3.30 (1H, m, H-3''); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 156.4 (C-2), 133.7 (C-3), 177.9 (C-4), 161.4 (C-5), 98.9 (C-6), 164.2 (C-7), 93.7 (C-8), 156.4 (C-9), 103.9 (C-10), 122.0 (C-1'), 115.2 (C-2'), 144.9 (C-3'), 148.5 (C-4'), 115.9 (C-5'), 120.9 (C-6'), 101.7 (C-1''), 71.1 (C-2''), 73.1 (C-3''), 67.9 (C-4''), 75.8 (C-5''), 60.1 (C-6'')。以上波谱数据与文献数据基本一致^[20], 故鉴定化合物 **7** 为金丝桃苷。

化合物 **8**: 白色针状结晶 (石油醚-丙酮), 易溶于石油醚和氯仿, mp 257~258 °C; 与 10%硫酸甲醇显色剂反应呈紫红色。ESI-MS m/z 449 $[M+Na]^+$, 推测分子式为 C₃₀H₅₀O。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 0.70 (3H, s, H-24), 0.83 (3H, s, H-25), 0.84

(3H, d, $J = 6.2$ Hz, H-23), 0.94 (3H, s, H-26), 0.97 (3H, s, H-27), 0.98 (3H, s, H-28); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 22.2 (C-1), 41.6 (C-2), 213.1 (C-3), 58.1 (C-4), 42.2 (C-5), 41.2 (C-6), 18.3 (C-7), 53.0 (C-8), 37.4 (C-9), 59.4 (C-10), 35.7 (C-11), 30.4 (C-12), 39.6 (C-13), 38.2 (C-14), 32.4 (C-15), 35.9 (C-16), 29.8 (C-17), 42.7 (C-18), 35.2 (C-19), 28.3 (C-20), 32.7 (C-21), 39.3 (C-22), 6.8 (C-23), 14.5 (C-24), 17.8 (C-25), 20.3 (C-26), 18.7 (C-27), 32.0 (C-28), 35.1 (C-29), 31.8 (C-30)。以上波谱数据与文献数据基本一致^[21], 故鉴定化合物 **8** 为木栓酮。

化合物 **9**: 白色针状晶体 (甲醇), 易溶于三氯甲烷, mp 284~286 °C; 与 10%硫酸甲醇显色剂反应呈紫红色。ESI-MS 正离子模式下 m/z 451 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$, 推测分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{52}\text{O}$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) 谱可观察到 8 个甲基峰 δ 1.19 (3H, s, H-28), 1.02 (3H, s, H-27), 1.01 (3H, s, H-26), 0.99 (3H, s, H-29), 0.98 (3H, s, H-30), 0.93 (3H, s, H-23), 0.92 (3H, s, H-25) 和 0.87 (3H, s, H-24), δ 3.73 是 C-3 位的氢; ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 22.2 (C-1), 35.3 (C-2), 72.6 (C-3), 49.3 (C-4), 37.3 (C-5), 41.7 (C-6), 17.6 (C-7), 53.4 (C-8), 37.9 (C-9), 61.0 (C-10), 35.5 (C-11), 30.4 (C-12), 38.3 (C-13), 39.6 (C-14), 32.2 (C-15), 36.0 (C-16), 30.0 (C-17), 42.7 (C-18), 35.2 (C-19), 28.0 (C-20), 32.7 (C-21), 39.3 (C-22), 11.5 (C-23), 16.3 (C-24), 18.0 (C-25), 18.5 (C-26), 20.0 (C-27), 31.9 (C-28), 35.2 (C-29), 32.3 (C-30)。以上波谱数据与文献数据基本一致^[22], 故鉴定化合物 **9** 为表木栓醇。

化合物 **10**: 无色针状结晶 (氯仿), 易溶于甲醇; mp 136~139 °C, Lieberman-Buchard 反应呈阳性, 与 10%硫酸显色剂呈紫红色反应; 经与对照品 β -谷甾醇共薄层, 在 3 种溶剂系统中与对照品 R_f 值相同, 且混合熔点不下降, 故鉴定化合物 **10** 为 β -谷甾醇。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李杨, 张伟, 赫雪锋, 等. 铁线莲属植物的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中南药学, 2018, 16(3): 355-362.
- [2] 刘慧, 张钦德. 铁线莲属药用植物的研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2012, 40(27): 13324-13327.
- [3] 乌兰其其格, 白玉华. 川木通的研究进展 [J]. 中国民族医药杂志, 2015, 21(1): 30-32.
- [4] 徐涛, 万德光. 威灵仙本草新考 [J]. 中药材, 2001, 24(4): 293-294.
- [5] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 38, 262
- [6] 李璟琦, 马倩, 李濮. 秦岭铁线莲属植物资源及其利用研究 [J]. 陕西农业科学, 2016, 62(12): 1-5.
- [7] 王文采. 铁线莲属研究随记 (I) [J]. 植物分类学报, 2000, 38(4): 305-336.
- [8] 邢天天, 李春磊, 王义坤, 等. 大叶铁线莲提取物抗炎作用实验研究 [J]. 山东中医药大学学报, 2014, 38(5): 480-481.
- [9] 张倩, 王玉梅, 邱瑞桂, 等. 大叶铁线莲全草中的化学成分研究 [J]. 中南药学, 2016, 14(1): 5-8.
- [10] 樊培, 陆云阳, 刘杨, 等. 巴山重楼的皂苷类化学成分研究 [J]. 中南药学, 2021, 19(5): 794-800.
- [11] Yoshikawa M, Murakami T, Kishi A, et al. Medicinal flowers. III. Marigold. (1): Hypoglycemic, gastric emptying inhibitory, and gastroprotective principles and new oleanane-type triterpene oligoglycosides, calendasaponins A, B, C, and D, from Egyptian *Calendula officinalis* [J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 2001, 49(7): 863-870.
- [12] 刘杨. 南重楼和毛重楼的化学成分研究 [D]. 西安: 中国人民解放军空军军医大学, 2018.
- [13] 陆云阳. 面包海星中的甾体苷成分及其抗胶质瘤机制研究 [D]. 西安: 中国人民解放军空军军医大学, 2018.
- [14] Zheng Q, Koike K, Han L K, et al. New biologically active triterpenoid saponins from *Scabiosa tschiliensis* [J]. J Nat Prod, 2004, 67(4): 604-613.
- [15] 卢旭然, 刘烁, 王满元, 等. 五指那藤三萜类化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(23): 4629-4636.
- [16] 赵美. 粗齿铁线莲的化学成分研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2011.
- [17] 王啸洋. 三种太白山药用植物的活性成分研究 [D]. 西安: 第四军医大学, 2014.
- [18] 海文利. 九管血和粗齿铁线莲活性成分的研究 [D]. 西安: 第四军医大学, 2012.
- [19] Kizu H, Shimana H, Tomimori T. Studies on the constituents of *Clematis* species. VI. The constituents of *Clematis stans* Sieb. et Zucc [J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 1995, 43(12): 2187-2194.
- [20] 苑祥, 李震源, 梅丽娟, 等. 醉马草中黄酮类化学成分研究 [J]. 中草药, 2021, 52(4): 937-942.
- [21] 陈君, 韦建华, 蔡少芳, 等. 白花鬼针草化学成分研究 [J]. 中药材, 2013, 36(3): 410-413.
- [22] 赵明, 黄淑蕾, 徐阳宏, 等. 东北岩高兰中三萜类化学成分研究 [J]. 中草药, 2018, 49(1): 69-74.

[责任编辑 王文倩]