

## 裸花紫珠醋酸乙酯部位化学成分及抗炎活性研究

杨国栋<sup>1</sup>, 刘昱甫<sup>1</sup>, 刘永林<sup>1</sup>, 马 瑜<sup>1</sup>, 李诒光<sup>1,2\*</sup>, 陈 杰<sup>1\*</sup>

1. 江西中医药大学, 江西 南昌 330004

2. 江中药业股份有限公司, 江西 南昌 330004

**摘要:** 目的 研究裸花紫珠 *Callicarpa nudiflora* 叶的化学成分, 并对分离的化合物进行初步的抗炎筛选。方法 采用各种色谱方法(硅胶、MCI、羟丙基葡聚糖凝胶、ODS)进行分离纯化, 并结合核磁、质谱数据明确其结构。通过 Griess 法对分离得到的化合物进行初步的抗炎活性筛选。结果 从裸花紫珠叶中醋酸乙酯部位分离得到 17 个单体化合物, 分别鉴定为(6*S*,7*R*)-3-oxo-megastigma-4,8-dien-7-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside (1)、phoebenoside A (2)、(6*R*,9*R*)-3-oxo- $\alpha$ -ionol-9-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (3)、blumenol C glucoside (4)、异毛蕊花糖苷(5)、myricoside (6)、肉苁蓉苷 D (7)、地黄苷(8)、木通苯乙醇苷 B (9)、4,4'-dimethoxy-3'-hydroxy-7,9':7',9'-diepoxy lignan-3-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (10)、木犀草素-7-*O*-葡萄糖苷(11)、木犀草素-7-*O*- $\beta$ -*D*-葡萄糖苷(12)、木犀草素-4'-*O*- $\beta$ -*D*-葡萄糖苷(13)、大波斯菊苷(14)、luteolin-7-*O*- $\beta$ -*L*-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (15)、芹菜素-7-*O*- $\beta$ -*D*-新橙皮苷(16)、2-*O*-butyl-1-*O*-(2'-ethylhexyl) benzene-1,8-dicarboxylate (17)。化合物 7、14 对 NO 生成抑制率达到 45%以上。结论 化合物 1~4、9~11、17 为首次从该属植物中分离获得。其中化合物 7 和 14 能显著抑制 NO 的产生, 具有良好的体外抗炎效果。

**关键词:** 裸花紫珠; 抗炎活性; 苯乙醇苷; 黄酮; 肉苁蓉苷 D; 大波斯菊苷

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)16-5146-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.16.003

## Chemical constituents from ethyl acetate extract of *Callicarpa nudiflora* and its anti-inflammatory activity

YANG Guo-dong<sup>1</sup>, LIU Yu-fu<sup>1</sup>, LIU Yong-lin<sup>1</sup>, MA Yu<sup>1</sup>, LI Yi-guang<sup>1,2</sup>, CHEN jie<sup>1</sup>

1. Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

2. Jiangzhong Pharmaceutical Co., Ltd, Nanchang 330004, China

**Abstract: Objective** To study of the chemical composition of the ethyl acetate parts of *Callicarpa nudiflora*, and preliminary screen out the isolated compounds with anti-inflammatory activities. **Methods** Various chromatographic methods (silica gel, MCI, hydroxypropyl dextran gel, ODS) were used for the isolation and purification, and the structure was clarified by combination with NMR and MS data. The isolated compounds were screened for preliminary anti-inflammatory activity by the Griess method. **Results** Seventeen monomeric compounds were isolated from *C. nudiflora*, which were identified as (6*S*,7*R*)-3-oxo-megastigma-4,8-dien-7-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside (1), phoebenoside A (2), (6*R*,9*R*)-3-oxo- $\alpha$ -ionol-9-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (3), blumenol C glucoside (4), isoacteoside (5), myricoside (6), cistanoside D (7), martynoside (8), calceolarioside B (9), 4,4'-dimethoxy-3'-hydroxy-7,9':7',9'-diepoxy lignan-3-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (10), luteolin-7-*O*-glucuronide (11), luteolin-7-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside (12), luteolin-4'-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside (13), apigenin-7-*O*-glucoside (14), luteolin-7-*O*- $\beta$ -*L*-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (15), apigenin-7-*O*- $\beta$ -*D*-neohesperidoside (16), 2-*O*-butyl-1-*O*-(2'-ethylhexyl) benzene-1,8-dicarboxylate (17). Compounds 7 and 14 inhibited NO production by more than 45%. **Conclusion** Compounds 1—4, 9—11 and 17 are the first isolated from this genus. Among them, compounds 7 and 14 significantly inhibited NO production and had good *in vitro* anti-inflammatory effects.

**Key words:** *Callicarpa nudiflora* Hook. Et Arn.; anti-inflammatory activity; phenylethanol glycoside; flavonoid; cistanoside D; apigenin-7-*O*-glucoside

收稿日期: 2023-01-29

基金项目: 江西省重点研发计划项目(20212BBG71007)

作者简介: 杨国栋(1996—), 男, 研究方向为中药药效物质基础。E-mail: yang2428844581@163.com

\*通信作者: 陈 杰, 女, 副教授, 研究方向为中药药效物质基础。E-mail: 19960246@jxutcm.edu.cn

李诒光, 男, 博士, 教授, 研究方向为中药质量控制及产品开发。E-mail: lyg@crjz.com

裸花紫珠 *Callicarpa nudiflora* Hook. Et Arn. 为马鞭草科 (Verbenaceae) 紫珠属 *Callicarpa* L. 植物。目前, 被收录的紫珠属植物共 190 余种, 其中 46 种存在于中国, 并广泛分布于华南、华中、西南等地, 植物资源丰富<sup>[1]</sup>。裸花紫珠的药用部位为茎枝及叶, 具有化瘀止血、抗菌解毒、消炎消肿、祛风除湿的作用。它还可以用来防御呼吸道和消化系统的出血、脓疱、急性病毒性肝炎、水火烫伤和金疮出血等病症<sup>[2]</sup>。研究表明裸花紫珠主要包括挥发油类、黄酮类、苯乙醇苷类和萜类成分<sup>[3]</sup>, 具有消炎止血、杀菌、抗癌、抗阿尔兹海默症、保护肝脏等药理作用<sup>[4]</sup>。目前, 裸花紫珠水提取物已开发成新药, 收载于《中国药典》2020 年版, 其中供临床应用的中成药制剂有裸花紫珠片、裸花紫珠胶囊、裸花紫珠颗粒、裸花紫珠分散片等, 主要用于治疗细菌感染引起的炎症、消化道和呼吸道出血、急性传染性肝炎等症。所以, 为了更深入阐明裸花紫珠叶的化学成分, 以丰富该植物的化学多样性, 本实验对裸花紫珠干燥叶水提物的醋酸乙酯部位进行成分分离, 最终获得 17 个单体成分, 通过氢谱、碳谱和质谱等手段分别鉴定为 (6*S*,7*R*)-3-oxo-megastigma-4,8-dien-7-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside (1)、phoebenoside A (2)、(6*R*,9*R*)-3-oxo- $\alpha$ -ionol-9-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (3)、blumenol C glucoside (4)、异毛蕊花糖苷 (isoacteoside, 5)、myricoside (6)、肉苁蓉苷 D (cistanoside D, 7)、地黄苷 (martynoside, 8)、calceolarioside B (9)、4,4'-dimethoxy-3'-hydroxy-7,9':7,9'-diepoxyignan-3-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (10)、luteolin-7-*O*-glucuronide (11)、木犀草素-7-*O*- $\beta$ -*D*-葡萄糖苷 (luteolin-7-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside, 12)、木犀草素-4'-*O*- $\beta$ -*D*-葡萄糖苷 (luteolin-4'-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside, 13)、大波斯菊苷 (apigenin-7-*O*-glucoside, 14)、luteolin-7-*O*- $\beta$ -*L*-rhamnopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (15)、芹菜素-7-*O*- $\beta$ -*D*-新橙皮苷 (apigenin-7-*O*- $\beta$ -*D*-neohesperidoside, 16)、2-*O*-butyl-1-*O*-(2'-ethylhexyl)benzene-1,8-dicarboxylate (17)。其中, 化合物 1~4、9~11、17 为首次从该属植物中分离得到。初步研究了 17 个化合物的抗炎活性, 可为裸花紫珠及其制剂质量标准提升, 民族药用资源合理开发和利用提供依据。

## 1 材料与仪器

### 1.1 仪器与试剂

Bruker AM 600 MHz 型核磁共振仪 (德国

Bruker 公司); 德国 IKA RV10 auto 旋转蒸发仪 (德国 IKA 公司); 依利特 P3500 半制备液相色谱仪 (中国依利特公司); SCIEX Triple ESI 5600+型高分辨飞行时间质谱联用仪 (美国 SCIEX 公司); Sephadex LH-20 (美国 Pharmacia 公司); C<sub>18</sub> 半制备型色谱柱 (日本 YMC 公司); MCI-凝胶 (日本三菱化学公司); 柱色谱硅胶 (青岛海洋化工厂); 脂多糖、地塞米松 (美国 Sigma 公司); DMEM 高糖培养基 (中国 Solarbio 公司); 胎牛血清 (美国 Gibco 公司); NO 和 CCK-8 试剂盒 (上海碧云天生物科技有限公司); 所有试剂都是色谱纯或分析纯。

### 1.2 材料

小鼠小胶质细胞 BV2, 购置于武汉大学中国典型培养物保藏中心; 裸花紫珠药材购自海南省白沙黎族自治县细水乡白水港村, 经江西中医药大学药学院范崔生教授所鉴定为裸花紫珠 *C. nudiflora* Hook. et Arn., 标本 (Y202101G) 保存于江中药业研发中心。

## 2 方法

### 2.1 提取与分离

裸花紫珠干燥叶 3.0 kg, 加水冷浸 12 h, 之后加热煎煮 3 次 (3、3、2 h), 滤过合并药液, 将药液浓缩成浸膏状, 之后加水溶解, 通过醋酸乙酯萃取 3 次, 减压浓缩, 获浸膏 314 g。再与硅胶混合后通过硅胶柱色谱开始粗分, 首先用二氯甲烷-甲醇 (500:1~5:1) 进行梯度分离, 薄层色谱引导合并, 最后产生 9 个流分 (Fr 1~9)。

Fr 6 (30.14g) 在 MCI 柱上分离, 用甲醇-水溶剂体系 (50%~90%) 梯度分离后, 点板归并得到 Fr 6-1~6-5。其中 Fr 6-1 (8.15 g) 通过硅胶柱色谱, 以二氯甲烷-甲醇 (300:1~5:1) 梯度获取 Fr 6-1-1~6-1-6 共 6 个组分。Fr 6-1-3 (1.04 g) 使用 ODS 柱色谱 (甲醇-水)、半制备液相 (甲醇-水, 43:57) 获得化合物 8 (0.8 mg,  $t_R=29.5$  min) 和 11 (1.6 mg,  $t_R=45.3$  min)。Fr 6-1-4 (0.95 g) 再经半制备 HPLC (甲醇-水 45:55) 得到化合物 15 (1.8 mg,  $t_R=32.6$  min)、16 (2.3 mg,  $t_R=35.7$  min)。Fr 6-4 (5.85 g) 运用硅胶柱色谱纯化, 二氯甲烷-甲醇 (430:1~5:1) 梯度获取 Fr 6-4-1~6-4-6 共 6 个组分, Fr 6-4-1 经半制备液相 (甲醇-水 52:48) 分离得化合物 1 (3.6 mg,  $t_R=24.9$  min)。Fr 6-4-2 采用半制备液相色谱 (甲醇-水 54:46) 获得化合物 4 (3.8 mg,  $t_R=20.4$  min) 和 7 (4.2 mg,  $t_R=33.6$  min)。

Fr 4 (86.82 g) 采用 Sephadex LH-20 柱色谱 (甲醇) 进一步分离, 共得 4 个组分 Fr 4-1~4-4。Fr 4-1 (12.37 g) 经硅胶柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (40:1~5:1) 梯度洗脱, 得到化合物 **2** (8 mg) 和 **6** (12 mg)。组分 Fr 4-2 (9.12 g) 以硅胶柱色谱纯化, 经二氯甲烷-甲醇 (30:1~5:1) 分离后, 再经半制备液相色谱 (甲醇-水 53:47) 得到化合物 **3** (2.2 mg,  $t_R=25.4$  min) 和 **10** (4.4 mg,  $t_R=34.7$  min)。组分 Fr 4-3 (6.16 mg) 使用 Sephadex LH-20 柱色谱 (甲醇) 进一步分离, 薄层色谱引导合并, 纯化 Fr 4-3-1~4-3-5 为 5 个部分。Fr 4-3-1 (2.24 g) 以硅胶为固定相, 二氯甲烷-甲醇 (20:1~5:1) 梯度获取化合物 **9** (2.2 mg) 和 **12** (5.4 mg)。Fr 4-3-3 (2.54 g) 选取硅胶柱色谱纯化, 二氯甲烷-甲醇 (20:1~5:1) 分离为 5 个部分 Fr 4-3-3-1~4-3-3-5, Fr 4-3-3-1 再用半制备液相色谱 (甲醇-水 42:58) 得到化合物 **13** (1.6 mg,  $t_R=31.9$  min) 和 **14** (1.7 mg,  $t_R=42.1$  min)。Fr 4-3-3-3 再经半制备液相色谱 (甲醇-水 44:56) 得到化合物 **5** (1.7 mg,  $t_R=31.6$  min)。

Fr 3 (61.15 g) 用 MCI 柱纯化, 选取甲醇-水 (70:30~100:0) 梯度分离后, 薄层色谱引导合并, 以硅胶为固定相, 二氯甲烷-甲醇 (30:1~5:1) 继续分离, 再经半制备液相色谱 (甲醇-水 48:52) 得到化合物 **17** (1.3 mg,  $t_R=32.6$  min)。

## 2.2 体外抗炎活性评价

### 2.2.1 细胞的培养及毒性评价

BV2 小胶质细胞放置于培养箱中 (37 °C、5%CO<sub>2</sub>), 以含有 10% FBS 的 DMEM 高糖培养液为生长液, 当其生长密度至 90% 时进行传代。采用 CCK-8 法测验化合物对 BV2 细胞毒性的作用。然后于 96 孔板中接种处于对数生长期的 BV2 细胞, 每孔细胞为  $9 \times 10^3$  个, 每孔 100  $\mu$ L, 细胞贴壁后, 分为空白组、地塞米松组、给药组 (25  $\mu$ mol/L), 每组 3 个平行, 于上述条件下培养 24 h。加入 10% CCK-8 培养基, 在 37 °C 下培养 3.5 h。之后, 在 450 nm 处测定吸光度 (*A*) 值。

### 2.2.2 NO 含量的测定

于 96 孔板接种 BV2 细胞, 每孔细胞为  $9 \times 10^3$  个。待细胞贴壁后, 设定空白组、模型组、阳性药物组和不同浓度给药组, 每组设置 3 个平行。空白组只更换培养液, 阳性药物组和目标药物组在加入脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 前预处理 3.5 h, 然后和模型组同时加入脂多糖 (终质量浓度为 1  $\mu$ g/mL), 培养 24 h 后, 收集细胞培养液, 严格按照 NO 评测试剂盒说明书进行测试。

### 2.2.3 统计学分析

应用软件 GraphPad Prism 8.0 对数据进行处理和统计学说明; 以 NO 抑制率表示化合物体外抗炎活性强度, 每个实验重复 3 次, 所有结果均以  $\bar{x} \pm s$  形式表示。

## 3 结果与分析

### 3.1 结构鉴定

化合物 **1**: 无色油状物, 分子式 C<sub>19</sub>H<sub>30</sub>O<sub>7</sub>; ESI-MS *m/z*: 393.2 [M+Na]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 5.89 (1H, s, H-4), 5.79 (1H, dd, *J* = 15.4, 6.5 Hz, H-8), 5.65 (1H, m, H-9), 4.41 (1H, t, *J* = 7.8 Hz, H-1'), 4.36 (1H, m, H-7), 3.67 (1H, dd, *J* = 11.9, 5.4 Hz, H-6'), 3.36 (1H, m, H-5'), 3.29 (1H, m, H-4'), 3.22 (1H, m, H-3'), 3.18 (1H, m, H-2'), 2.69 (1H, d, *J* = 8.9 Hz, H-6), 2.44 (1H, d, *J* = 16.8 Hz, H-2a), 2.06 (1H, d, *J* = 16.8 Hz, H-2b), 1.95 (3H, s, H-11), 1.30 (3H, d, *J* = 4.8 Hz, H-10), 1.04 (3H, s, H-13), 1.01 (3H, s, H-12); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 37.1 (C-1), 48.3 (C-2), 202.1 (C-3), 126.1 (C-4), 165.9 (C-5), 56.8 (C-6), 77.0 (C-7), 138.2 (C-8), 128.8 (C-9), 21.0 (C-10), 23.8 (C-11), 28.0 (C-12), 27.6 (C-13), 102.5 (C-1'), 75.3 (C-2'), 78.0 (C-3'), 71.5 (C-4'), 78.1 (C-5'), 62.7 (C-6')。以上数据与文献报道一致<sup>[5]</sup>, 故鉴定化合物 **1** 为 (6*S*,7*R*)-3-oxo-megastigma-4,8-dien-7-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside。

化合物 **2**: 无定形粉末, 分子式 C<sub>19</sub>H<sub>32</sub>O<sub>7</sub>; ESI-MS *m/z*: 373.2 [M+H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 4.37 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-1'), 3.92 (1H, m, H-9), 3.87 (1H, dd, *J* = 5.0, 12.4 Hz, H-6'a), 3.67 (1H, dd, *J* = 12.4, 2.0 Hz, H-6'b), 3.36 (1H, t, *J* = 8.7 Hz, H-3'), 3.34 (1H, m, H-4'), 3.28 (1H, m, H-5'), 3.19 (1H, dd, *J* = 7.5, 8.9 Hz, H-2'), 2.55 (1H, m, H-7), 2.45 (1H, m, H-3), 1.83 (1H, t, *J* = 7.0 Hz, H-2), 1.77 (3H, s, H-13), 1.68 (1H, m, H-8), 1.31 (1H, d, *J* = 6.3 Hz, H-10), 1.21 (3H, s, H-11), 1.21 (3H, s, H-12); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 37.7 (C-1), 38.4 (C-2), 35.1 (C-3), 201.6 (C-4), 131.7 (C-5), 168.5 (C-6), 27.1 (C-7), 36.4 (C-8), 77.7 (C-9), 21.8 (C-10), 27.2 (C-11), 27.6 (C-12), 11.8 (C-13), 104.1 (C-1'), 75.4 (C-2'), 77.9 (C-3'), 71.7 (C-4'), 78.3 (C-5'), 62.8 (C-6')。以上数据与文献报道一致<sup>[6]</sup>, 故鉴定化合物 **2** 为 phoebenoside A。

化合物 **3**: 白色粉末, 分子式 C<sub>19</sub>H<sub>30</sub>O<sub>7</sub>; ESI-MS *m/z*: 393.2 [M+Na]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$ : 5.89 (1H, brs, H-4), 5.79 (1H, dd,  $J = 15.4, 6.5$  Hz, H-8), 5.66 (1H, dd,  $J = 15.4, 9.3$  Hz, H-7), 4.41 (1H, m, H-9), 4.36 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-1'), 3.83 (1H, dd,  $J = 11.8, 2.4$  Hz, H-6'), 3.67 (1H, dd,  $J = 11.8, 5.4$  Hz, H-6'), 3.37 (1H, m, H-3'), 3.34 (1H, m, H-4'), 3.30 (1H, d,  $J = 9.2$  Hz, H-2'), 3.18 (1H, m, H-5'), 2.69 (1H, d,  $J = 9.3$  Hz, H-6), 2.44 (1H, d,  $J = 16.8$  Hz, H-2a), 2.06 (1H, d,  $J = 16.8$  Hz, H-2b), 1.95 (3H, s, H-13), 1.30 (3H, d,  $J = 6.4$  Hz, H-10), 1.04 (3H, s, H-12), 1.02 (3H, s, H-11);  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 37.1 (C-1), 48.3 (C-2), 202.1 (C-3), 126.1 (C-4), 165.9 (C-5), 56.8 (C-6), 128.8 (C-7), 138.2 (C-8), 77.0 (C-9), 21.0 (C-10), 27.6 (C-11), 28.0 (C-12), 23.8 (C-13), 102.5 (C-1'), 75.3 (C-2'), 78.1 (C-3'), 71.5 (C-4'), 78.0 (C-5'), 62.7 (C-6')。以上数据与文献报道一致<sup>[7]</sup>, 故鉴定化合物 **3** 为 (6*R*,9*R*)-3-oxo- $\alpha$ -ionol-9-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside。

化合物 **4**: 红棕色油状液体, 分子式  $\text{C}_{19}\text{H}_{32}\text{O}_7$ ; ESI-MS  $m/z$ : 395.2  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 5.81 (1H, s, H-4), 4.33 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-1'), 3.85 (1H, dd,  $J = 11.8, 1.6$  Hz, H-6a'), 3.83 (1H, m, H-9), 3.66 (1H, dd,  $J = 11.8, 5.1$  Hz, H-6b'), 2.50 (1H, d,  $J = 17.4$  Hz, H-2), 2.06 (3H, d,  $J = 1.4$  Hz, H-13), 2.00 (1H, m, H-6), 1.81 (1H, m, H-7), 1.70 (1H, m, H-8), 1.68 (1H, m, H-7), 1.62 (1H, m, H-8), 1.26 (3H, d,  $J = 6.3$  Hz, H-10), 1.11 (3H, s, H-12), 1.03 (3H, s, H-11);  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 37.4 (C-1), 48.1 (C-2), 202.4 (C-3), 125.4 (C-4), 169.9 (C-5), 52.6 (C-6), 26.7 (C-7), 37.4 (C-8), 77.9 (C-9), 21.9 (C-10), 29.0 (C-11), 27.5 (C-12), 25.0 (C-13), 104.0 (C-1'), 75.3 (C-2'), 78.2 (C-3'), 71.7 (C-4'), 77.6 (C-5'), 62.8 (C-6')。以上数据与文献报道一致<sup>[8]</sup>, 故鉴定化合物 **4** 为 blumenol C glucoside。

化合物 **5**: 白色粉末, 分子式为  $\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{O}_{15}$ ; ESI-MS  $m/z$ : 647.2  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.61 (1H, d,  $J = 15.6$  Hz, H-7'''), 6.29 (1H, d,  $J = 15.9$  Hz, H-8'''), 6.72 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-2), 6.69 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-5), 6.58 (1H, dd,  $J = 2.1, 8.0$  Hz, H-6), 2.81 (2H, m, H-7), 3.31~4.07 (2H, m, H-8), 4.40 (1H, d,  $J = 7.9$  Hz, H-1'), 5.21 (1H, s, H-1''), 1.11 (3H, d,  $J = 6.2$  Hz, H-6''), 7.07 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-2'''), 6.80 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz, H-5'''), 6.97 (1H, dd,  $J = 2.1, 8.2$  Hz, H-6''');  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,

$\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 131.5 (C-1), 117.1 (C-2), 146.8 (C-3), 146.1 (C-4), 116.5 (C-5), 121.3 (C-6), 72.3 (C-7), 36.6 (C-8), 104.2 (C-1'), 76.0 (C-2'), 81.6 (C-3'), 70.4 (C-4'), 76.2 (C-5'), 62.3 (C-6'), 103.0 (C-1''), 72.3 (C-2''), 72.0 (C-3''), 74.0 (C-4''), 70.6 (C-5''), 18.5 (C-6''), 127.7 (C-1'''), 114.7 (C-2'''), 146.8 (C-3'''), 149.8 (C-4'''), 116.5 (C-5'''), 123.2 (C-6'''), 115.2 (C- $\alpha$ ), 144.7 (C- $\beta$ ), 168.3 (C=O)。以上数据与文献报道一致<sup>[9]</sup>, 故鉴定化合物 **5** 为异毛蕊花糖苷。

化合物 **6**: 无定形粉末, 分子式  $\text{C}_{34}\text{H}_{44}\text{O}_{19}$ ; ESI-MS  $m/z$ : 779.3  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 6.71 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-2), 6.69 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-5), 6.57 (1H, dd,  $J = 8.1, 2.1$  Hz, H-6), 2.80 (2H, m, H-7), 4.07 (1H, m, H-8a), 3.74 (1H, m, H-8b), 4.39 (1H, d,  $J = 7.9$  Hz, H-1'), 3.88 (1H, m, H-3'), 4.94 (1H, t,  $J = 9.6$  Hz, H-4'), 3.56 (1H, m, H-5'), 3.63 (1H, s, H-6'a), 3.42 (1H, m, H-6'b), 5.29 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-1''), 3.85 (1H, d,  $J = 9.2$  Hz, H-2''), 3.68 (1H, dd,  $J = 9.4, 3.3$  Hz, H-3''), 1.13 (3H, d,  $J = 6.2$  Hz, H-6'''), 5.22 (1H, d,  $J = 2.7$  Hz, H-1'''), 7.08 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-2'''), 6.82 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz, H-5'''), 6.99 (1H, dd,  $J = 8.2, 2.1$  Hz, H-6'''), 7.60 (1H, d,  $J = 15.9$  Hz, H-7'''), 6.26 (1H, d,  $J = 15.9$  Hz, H-8''');  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 131.5 (C-1), 116.2 (C-2), 146.1 (C-3), 144.6 (C-4), 117.0 (C-5), 121.2 (C-6), 72.2 (C- $\alpha$ ), 36.5 (C- $\beta$ ), 104.1 (C-1'), 75.9 (C-2'), 80.4 (C-3'), 70.3 (C-4'), 76.4 (C-5'), 62.2 (C-6'), 102.1 (C-1''), 72.4 (C-2''), 80.1 (C-3''), 72.5 (C-4''), 68.8 (C-5''), 18.7 (C-6''), 111.4 (C-1'''), 78.5 (C-2'''), 80.0 (C-3'''), 74.8 (C-4'''), 65.7 (C-5'''), 127.6 (C-1'''), 115.2 (C-2'''), 146.9 (C-3'''), 149.9 (C-4'''), 116.6 (C-5'''), 123.3 (C-6'''), 114.6 (C- $\alpha$ ), 148.0 (C- $\beta$ ), 168.2 (C=O)。以上数据与文献报道一致<sup>[10]</sup>, 故鉴定化合物 **6** 为 myricoside。

化合物 **7**: 白色粉末; 分子式  $\text{C}_{31}\text{H}_{40}\text{O}_{15}$ ; ESI-MS  $m/z$ : 675.2  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 6.82 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-2), 6.74 (1H, d,  $J = 8.1$  Hz, H-5), 6.69 (1H, dd,  $J = 8.2, 2.1$  Hz, H-6), 2.83 (2H, m, H-7), 4.07 (1H, t,  $J = 9.7$  Hz, H-8a), 3.85 (1H, m, H-8b), 3.82 (3H, s,  $\text{OCH}_3$ ), 4.39 (1H, d,  $J = 7.9$  Hz, H-1'), 4.93 (1H, t,  $J = 9.3$  Hz, H-4'), 5.21 (1H, s, H-1''), 1.11 (3H, d,  $J = 6.2$  Hz, H-6''), 7.20 (1H, d,  $J = 1.9$  Hz, H-2'''), 6.83 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-5'''), 7.09

(1H, dd,  $J = 8.2, 2.0$  Hz, H-6'''), 7.67 (1H, d,  $J = 15.9$  Hz, H-7'''), 6.38 (1H, d,  $J = 15.9$  Hz, H-8'''), 3.89 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 132.9 (C-1), 112.8 (C-2), 147.9 (C-3), 147.5 (C-4), 117.1 (C-5), 121.1 (C-6), 36.5 (C-7), 72.3 (C-8), 56.4 (3-OCH<sub>3</sub>), 104.2 (C-1'), 76.0 (C-2'), 81.5 (C-3'), 70.4 (C-4'), 76.0 (C-5'), 62.4 (C-6'), 103.0 (C-1''), 72.1 (C-2''), 72.3 (C-3''), 73.8 (C-4''), 70.6 (C-5''), 18.4 (C-6''), 127.6 (C-1'''), 111.8 (C-2'''), 147.4 (C-3'''), 149.4 (C-4'''), 116.5 (C-5'''), 124.4 (C-6'''), 149.4 (C-7'''), 115.1 (C-8'''), 168.3 (C-9'''), 56.5 (3'-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道一致<sup>[11]</sup>, 故鉴定化合物 **7** 为肉苁蓉苷 D。

化合物 **8**: 棕黄色油状物; 分子式 C<sub>31</sub>H<sub>40</sub>O<sub>15</sub>; ESI-MS  $m/z$ : 675.2 [M+Na]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.67 (1H, d,  $J = 15.9$  Hz, H-7'''), 6.38 (1H, d,  $J = 15.9$  Hz, H-8'''), 7.21 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-2'''), 7.09 (1H, dd,  $J = 8.2, 2.0$  Hz, H-6'''), 6.82 (2H, dd,  $J = 8.2, 10.0$  Hz, H-5, 5'''), 6.75 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-2), 6.70 (1H, dd,  $J = 8.2, 2.2$  Hz, H-6), 3.90 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 2.83 (2H, m, H-7), 4.39 (1H, d,  $J = 7.9$  Hz, H-1'), 4.93 (1H, t,  $J = 9.4$  Hz, H-4'), 5.21 (1H, s, H-1''), 1.11 (3H, d,  $J = 6.2$  Hz, H-6''), 3.82 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 132.9 (C-1), 112.8 (C-2), 147.6 (C-3), 147.4 (C-4), 117.1 (C-5), 121.1 (C-6), 72.1 (C-7), 36.6 (C-8), 56.5 (4-OCH<sub>3</sub>), 104.2 (C-1'), 76.2 (C-2'), 81.5 (C-3'), 70.6 (C-4'), 76.1 (C-5'), 62.4 (C-6'), 103.0 (C-1''), 72.4 (C-2''), 72.1 (C-3''), 73.8 (C-4''), 70.4 (C-5''), 18.4 (C-6''), 127.5 (C-1'''), 111.7 (C-2'''), 149.5 (C-3'''), 151.1 (C-4'''), 116.5 (C-5'''), 124.4 (C-6'''), 147.9 (C-7'''), 115.0 (C-8'''), 168.3 (C-9'''), 56.4 (4'''-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道一致<sup>[12]</sup>, 故鉴定化合物 **8** 为地黄苷。

化合物 **9**: 棕色油状物; 分子式 C<sub>23</sub>H<sub>26</sub>O<sub>11</sub>; ESI-MS  $m/z$ : 501.1 [M+Na]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 6.68 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-2), 6.64 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-5), 6.55 (1H, dd,  $J = 8.1, 2.3$  Hz, H-6), 2.79 (2H, m,  $J = 7.6$  Hz, H-7), 3.97 (1H, m, H-8a), 3.72 (1H, m, H-8b), 4.33 (1H, d,  $J = 7.9$  Hz, H-1'), 3.23 (1H, m, H-2'), 3.40 (1H, m, H-3'), 3.37 (1H, m, H-4'), 3.52 (1H, m, H-5'), 4.51 (1H, m, H-6a'), 4.34 (1H, m, H-6b'), 7.04 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-2''), 6.90 (1H, dd,  $J = 8.3, 2.3$  Hz, H-6''), 6.78 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz, H-5''), 7.57 (1H, d,  $J = 15.8$  Hz, H-7''), 6.30 (1H,

d,  $J = 15.9$  Hz, H-8''); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 131.4 (C-1), 116.5 (C-2), 146.8 (C-3), 146.1 (C-4), 116.3 (C-5), 121.2 (C-6), 72.4 (C- $\alpha$ ), 36.7 (C- $\beta$ ), 104.6 (C-1'), 75.1 (C-2'), 77.9 (C-3'), 71.7 (C-4'), 75.5 (C-5'), 64.6 (C-6'), 127.7 (C-1''), 114.8 (C-2''), 147.2 (C-3''), 149.6 (C-4''), 117.1 (C-5''), 123.2 (C-6''), 144.7 (C-7''), 115.0 (C-8''), 169.2 (C-9'')。以上数据与文献报道一致<sup>[13]</sup>, 故鉴定化合物 **9** 为 calceolarioside B。

化合物 **10**: 白色粉末, 分子式 C<sub>26</sub>H<sub>32</sub>O<sub>11</sub>; ESI-MS  $m/z$ : 543.2 [M+Na]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.15 (1H, d,  $J = 8.3$  Hz, H-5), 7.04 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-2), 6.95 (1H, d,  $J = 1.9$  Hz, H-2'), 6.93 (1H, dd,  $J = 8.4, 2.0$  Hz, H-6), 6.82 (1H, dd,  $J = 8.4, 2.0$  Hz, H-6'), 6.77 (1H, d,  $J = 8.1$  Hz, H-5'), 4.72 (1H, d,  $J = 6.1$  Hz, H-1''), 4.24~4.28 (2H, m, H-9, 9'), 3.88 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 3.86 (1H, s, OCH<sub>3</sub>), 3.85 (1H, s), 3.69 (2H, m, H-9'), 3.49 (1H, m, H-6''a), 3.47 (1H, m, H-6''b), 3.39~3.40 (4H, m, H-2''~5''), 3.14 (2H, m, H-8, H-8'); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 137.5 (C-1), 111.6 (C-2), 147.5 (C-3), 151.0 (C-4), 118.0 (C-5), 119.8 (C-6), 87.1 (C-7), 55.5 (C-8), 72.7 (C-9), 133.7 (C-1'), 111.0 (C-2'), 147.4 (C-3'), 149.1 (C-4'), 116.1 (C-5'), 120.1 (C-6'), 87.5 (C-7'), 55.4 (C-8'), 72.7 (C-9'), 56.4 (4-OCH<sub>3</sub>), 56.7 (4'-OCH<sub>3</sub>), 102.9 (C-1''), 74.9 (C-2''), 77.8 (C-3''), 71.3 (C-4''), 78.2 (C-5''), 62.5 (C-6'')。以上数据与文献报道一致<sup>[14]</sup>, 故鉴定化合物 **10** 为 4,4'-dimethoxy-3'-hydroxy-7,9':7',9'-diepoxy lignan-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside。

化合物 **11**: 淡黄色粉末, 分子式 C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>O<sub>12</sub>; ESI-MS  $m/z$ : 462.1 [M-H]<sup>-</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.45 (1H, dd,  $J = 8.4, 2.1$  Hz, H-6'), 7.43 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-2'), 6.94 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5'), 6.79 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-8), 6.64 (1H, s, H-3), 6.51 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-6), 5.21 (1H, d,  $J = 7.9$  Hz, H-1''), 3.56~4.19 (4H, m, H-2''~5''); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 166.9 (C-2), 104.2 (C-3), 184.1 (C-4), 163.0 (C-5), 101.4 (C-6), 164.4 (C-7), 96.0 (C-8), 158.9 (C-9), 107.3 (C-10), 123.5 (C-1'), 114.3 (C-2'), 147.1 (C-3'), 151.2 (C-4'), 116.8 (C-5'), 120.5 (C-6'), 101.0 (C-1''), 74.4 (C-2''), 77.0 (C-3''), 72.8 (C-4''), 76.7 (C-5''), 170.8 (C-6'')。以上数据与文献报道一致<sup>[15]</sup>, 故鉴定化合物 **11** 为 luteolin-7-O-glucuronide。

化合物 **12**: 淡黄色粉末, 分子式 C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>11</sub>;

ESI-MS  $m/z$ : 449.1  $[M+H]^+$ 。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 12.99 (1H, s, 5-OH), 7.47 (1H, dd,  $J = 8.5, 2.3$  Hz, H-6'), 7.45 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-2'), 7.33 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-5'), 6.62 (1H, s, H-3), 6.46 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-8), 6.22 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-6), 4.95 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz, H-1''), 3.93~3.44 (6H, m, sugar-H);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 165.5 (C-2), 103.2 (C-3), 183.8 (C-4), 159.5 (C-5), 100.3 (C-6), 166.3 (C-7), 95.1 (C-8), 163.3 (C-9), 105.4 (C-10), 119.8 (C-1'), 114.9 (C-2'), 148.7 (C-3'), 150.0 (C-4'), 118.0 (C-5'), 127.3 (C-6'), 105.1 (C-1''), 71.3 (C-2''), 74.8 (C-3''), 78.5 (C-4''), 77.5 (C-5''), 62.4 (C-6'')。以上数据与文献报道一致<sup>[16]</sup>, 故鉴定化合物 **12** 为木犀草素-7-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷。

化合物 **13**: 淡黄色粉末, 分子式  $C_{21}H_{20}O_{11}$ ; ESI-MS  $m/z$ : 449.1  $[M+H]^+$ 。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 12.92 (1H, s, 5-OH), 7.47 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-6'), 7.45 (1H, s, H-2'), 7.33 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-5'), 6.62 (1H, s, H-3), 6.46 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-8), 6.22 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-6), 4.95 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz, H-1''), 3.93~3.44 (6H, m, H-2''~6'');  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 166.3 (C-2), 105.1 (C-3), 183.8 (C-4), 163.3 (C-5), 100.3 (C-6), 165.5 (C-7), 95.1 (C-8), 159.5 (C-9), 105.4 (C-10), 127.3 (C-1'), 114.9 (C-2'), 148.7 (C-3'), 150.0 (C-4'), 118.0 (C-5'), 119.8 (C-6'), 103.2 (C-1''), 74.8 (C-2''), 78.5 (C-3''), 71.3 (C-4''), 77.5 (C-5''), 62.4 (C-6'')。以上数据与文献报道一致<sup>[17]</sup>, 故鉴定该化合物 **13** 为木犀草素-4'-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷。

化合物 **14**: 淡黄色粉末, 分子式  $C_{21}H_{20}O_{10}$ ; ESI-MS  $m/z$ : 471.2  $[M+K]^+$ 。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 7.90 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-6', 2'), 6.94 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5', 3'), 6.84 (1H, s, H-3), 6.67 (1H, s, H-8), 6.51 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-6), 5.08 (1H, d,  $J = 6.3$  Hz, H-1'');  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 166.8 (C-2), 104.1 (C-3), 184.1 (C-4), 159.0 (C-5), 101.2 (C-6), 164.8 (C-7), 96.1 (C-8), 162.9 (C-9), 107.1 (C-10), 123.0 (C-1'), 129.7 (C-2', 6'), 117.1 (C-3', 5'), 163.2 (C-4'), 101.6 (C-1''), 74.7 (C-2''), 77.9 (C-3''), 71.3 (C-4''), 78.4 (C-5''), 62.5 (C-6'')。以上数据与文献报道一致<sup>[18]</sup>, 故鉴定化合物 **14** 为大波斯菊苷。

化合物 **15**: 淡黄色粉末, 分子式  $C_{27}H_{30}O_{15}$ ; ESI-MS  $m/z$ : 593.2  $[M-H]^-$ 。 $^1H$ -NMR (600 MHz,

$CD_3OD$ )  $\delta$ : 7.43 (1H, dd,  $J = 8.3, 2.3$  Hz, H-6'), 7.41 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-2'), 6.91 (1H, d,  $J = 8.3$  Hz, H-5'), 6.77 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-8), 6.61 (1H, s, H-3), 6.47 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-6), 5.30 (1H d,  $J = 1.8$  Hz, H-1'''), 5.21 (1H, d,  $J = 7.7$  Hz, H-1''), 1.34 (3H, d,  $J = 6.2$  Hz, H-6''');  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 166.9 (C-2), 104.2 (C-3), 184.0 (C-4), 163.0 (C-5), 100.9 (C-6), 164.4 (C-7), 95.9 (C-8), 159.1 (C-9), 107.1 (C-10), 123.5 (C-1'), 114.3 (C-2'), 147.1 (C-3'), 151.3 (C-4'), 116.8 (C-5'), 120.5 (C-6'), 99.8 (C-1''), 78.3 (C-2''), 79.0 (C-3''), 71.4 (C-4''), 79.1 (C-5''), 62.4 (C-6''), 102.6 (C-1'''), 72.2 (C-2'''), 72.2 (C-3'''), 74.0 (C-4'''), 70.0 (C-5'''), 18.3 (C-6''')。以上数据与文献报道一致<sup>[19]</sup>, 故鉴定化合物 **15** 为 luteolin-7-*O*- $\beta$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranoside。

化合物 **16**: 黄色粉末, 分子式  $C_{27}H_{31}O_{14}$ ; ESI-MS  $m/z$ : 577.2  $[M-H]^-$ 。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 7.78 (2H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-2', 6'), 6.94 (2H, m, H-3', 5'), 6.79 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-8), 6.66 (1H, s, H-3), 6.46 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-6), 5.30 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-1'''), 5.21 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz, H-1''), 1.34 (3H, d,  $J = 6.2$  Hz, H-6''');  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 164.4 (C-2), 104.1 (C-3), 184.0 (C-4), 163.0 (C-5), 102.5 (C-6), 166.8 (C-7), 95.9 (C-8), 159.0 (C-9), 107.0 (C-10), 123.0 (C-1'), 129.6 (C-2', 6'), 117.1 (C-3', 5'), 162.9 (C-4'), 99.8 (C-1''), 79.1 (C-2''), 79.0 (C-3''), 71.4 (C-4''), 78.3 (C-5''), 62.4 (C-6''), 101.0 (C-1'''), 72.2 (C-2'''), 72.2 (C-3'''), 74.0 (C-4'''), 70.0 (C-5'''), 18.3 (C-6''')。以上数据与文献报道基本一致<sup>[20]</sup>, 故鉴定化合物 **16** 为芹菜素-7-*O*- $\beta$ -D-新橙皮苷。

化合物 **17**: 黄色粉末, 分子式  $C_{20}H_{30}O_4$ ; ESI-MS  $m/z$ : 335.2  $[M+H]^+$ 。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 7.73 (2H, dd,  $J = 5.7, 3.3$  Hz, H-3, 6), 7.63 (2H, dd,  $J = 5.8, 3.3$  Hz, H-4, 5), 4.30 (4H, m, H-1'), 4.23 (2H, m, H-1''), 1.72 (3H, m, H-2', 2''), 1.45 (4H, m, H-3', a''), 1.36 (6H, m, H-3''~5''), 0.95 (9H, m,  $3 \times CH_3$ , H-4', 6'', b'');  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 130.6 (C-1, 2), 129.9 (C-3, 6), 133.6 (C-4), 132.4 (C-5), 66.7 (C-1'), 31.7 (C-2'), 20.3 (C-3'), 14.4 (C-4', 6''), 169.3 (CO), 69.1 (C-1''), 40.2 (C-2''), 31.6 (C-3''), 30.1 (C-4''), 24.0 (C-5''), 25.0 (C-a''), 11.4 (C-b'')。以上数据与文献报道基本一致<sup>[21]</sup>,

故鉴定化合物 17 为 2-O-butyl-1-O-(2'-ethylhexyl) benzene-1,8-dicarboxylate。

### 3.2 抗炎活性测试

近年来,治疗炎症性疾病药物的需求在不断上升,抗炎方面的生物活性成为国内外研究的热点。巨噬细胞在炎症的产生当中具有重要影响,其受到外源体等刺激后会产生一定的促炎因子和抗炎因子,在机体的炎症反应当中扮演着重要角色,因此为了缓解炎症可以通过抑制炎症介质的产生以及相关的信号通路的激活<sup>[22]</sup>。NO 是一种值得注意的炎症介质,具有神经毒性,其在中枢神经系统中过量

表达会激活小胶质细胞并引起炎症反应<sup>[23]</sup>。NO 与多种炎症疾病的产生紧密相关,普遍认为是炎症产生的标志。本课题组通过评估所分离的化合物对 LPS 刺激 BV2 细胞分泌炎症介质 NO 的影响,进行抗炎活性初筛。首先,采用 CCK-8 法测定化合物是否具有细胞毒性,以确保后续实验在无毒条件下进行。实验结果表明,当化合物浓度为 25  $\mu\text{mol/L}$  时,所有化合物对 BV2 细胞存活率均高于 85%。之后采用 Griess 法对化合物 1~17 对 LPS 诱导 BV2 细胞产生 NO 的抑制作用进行了进一步的测试,结果见表 1,化合物 7 和 14 能显著抑制 NO 的产生。

表 1 化合物 1~17 对 LPS 诱导的 BV2 细胞产生 NO 的抑制效果

Table 1 Inhibitory effect of compounds 1—17 on NO production in LPS-induced BV2 microglial cells

化合物	NO 抑制率/%	化合物	NO 抑制率/%
1	26.19±0.04	10	36.78±0.06
2	27.28±0.02	11	28.62±0.03
3	25.94±0.04	12	19.00±0.06
4	26.55±0.08	13	22.29±0.03
5	11.57±0.03	14	45.19±0.03
6	25.09±0.06	15	14.13±0.06
7	46.16±0.06	16	8.77±0.02
8	32.03±0.07	17	12.91±0.03
9	14.74±0.11	地塞米松	43.85±0.03

## 4 讨论

近年来,裸花紫珠的研发工作日益拓展广泛,涉及了药材资源、化学物质、生产工艺、药理疗效以及临床使用价值等诸多方面。裸花紫珠相关产品的开发,其化学成分与药理学的系统研究是基础。本研究从裸花紫珠醋酸乙酯部位得到 17 个成分,当中包含了 4 个倍半萜类化合物,5 个苯乙醇苷类化合物,6 个黄酮类化合物,1 个木脂素类化合物和 1 个其他类型化合物。其中,化合物 1~4 属于倍半萜类,5~9 为苯乙醇苷类,10 为木脂素类化合物,11~16 为黄酮类化合物,17 为其他类型化合物。化合物 1~4、9~11、17 为首次从该属中分离得到,抗炎活性结果证明化合物 7 和 14 对 LPS 诱导的小鼠小胶质细胞 BV2 产生炎症介质 NO 具有良好抑制活性,优于阳性对照地塞米松。

综上所述,本实验丰富了裸花紫珠叶化学成分和药效作用的研究,实验结果进一步考证了裸花紫珠叶的传统功效用途,为进一步生物活性研究及质控指标成分提供科学依据,并为该药物在未来的开

发使用过程中提供一定的理论支持。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参考文献

- [1] 裴鉴,陈守良,中国植物志 [第 65(1) 卷] [M]. 北京:科学出版社,1982: 37.
- [2] Yang Y, Li Z Y, Shao J J, et al. *Callicarpa nudiflora* Hook. & Arn.: A comprehensive review of its phytochemistry and pharmacology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 264: 113123.
- [3] Jones W P, Kinghorn A D. Biologically active natural products of the genus *Callicarpa* [J]. *Curr Bioact Compd*, 2008, 4(1): 15-32.
- [4] Tu Y H, Sun L N, Guo M L, et al. The medicinal uses of *Callicarpa* L. in traditional Chinese medicine: An ethnopharmacological, phytochemical and pharmacological review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 146(2): 465-481.
- [5] Zhu L H, Bao T H, Deng Y, et al. Constituents from *Apium graveolens* and their anti-inflammatory effects [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2017, 19(11): 1079-1086.
- [6] Viet Thanh N T, Minh T T, Linh N T, et al. Megastigmane glycosides from *Phoebe tavoyana* [J]. *Nat Prod Commun*,

- 2019, 14(6): 1934578X1985243.
- [7] Kuang H X, Yang B Y, Xia Y G, *et al.* Chemical constituents from the flower of *Datura metel* L [J]. *Arch Pharm Res*, 2008, 31(9): 1094-1097.
- [8] Matsunami K, Otsuka H, Takeda Y. Structural revisions of blumenol C glucoside and byzantionoside B [J]. *Chem Pharm Bull*, 2010, 58(3): 438-441.
- [9] Su B N, Ma L P, Jia Z J. Iridoid and phenylpropanoid glycosides from *Pedicularis artselaeri* [J]. *Planta Med*, 1998, 64(8): 720-723.
- [10] Caliş I, Bedir E, Kirmizibekmez H, *et al.* Secondary metabolites from *Phlomis oppositiflora* [J]. *Nat Prod Res*, 2005, 19(5): 493-501.
- [11] 陈一, 叶彩云, 赵勇. 广防风中苯乙醇类化学成分研究 [J]. *中草药*, 2017, 48(19): 3941-3944.
- [12] Teborg D, Junior P. Martynoside and the novel dimeric open-chain monoterpene glucoside digipenstroside from *Penstemon digitalis* [J]. *Planta Med*, 1989, 55(5): 474-476.
- [13] Ersöz T, Taşdemir D, Çalış İ, *et al.* Phenylethanoid glycosides from *Scutellaria galericulata* [J]. *Turkish J Chem*, 2002, 26: 465-472.
- [14] 李宁, 谭宁华, 周俊. 大叶仙茅中一个新的木脂素苷 (英文) [J]. *云南植物研究*, 2003(6): 711-715.
- [15] Rabelo A S, Oliveira I D, Guimarães A G, *et al.* Antinociceptive, anti-inflammatory and antioxidant activities of aqueous extract from *Remirea maritima* (Cyperaceae) [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 145(1): 11-17.
- [16] 凌云, 何板作, 鲍燕燕, 等. 浮萍的化学成分研究 [J]. *中草药*, 1999(2): 88-90.
- [17] 冀敏, 李淑娟, 马超美. 窄叶蓝盆花花序化学成分及其抗氧化和抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的研究 [J]. *内蒙古大学学报: 自然科学版*, 2014, 45(4): 398-403.
- [18] 任东春, 谢宁, 杨念云, 等. 川芎地上部分化学成分研究 [J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(20): 2417-2418.
- [19] Nascimento R R G, Monteiro J A, Pimenta A T A, *et al.* New flavonoids from *Margaritopsis carrascoana* with antioxidant activity [J]. *Química Nova*, 2014, 38(1): 582-593.
- [20] 陈琳, 向彩朋, 韩佳欣, 等. 华南胡椒的化学成分及其抗胆碱酯酶活性研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2018, 30(9): 1569-1574.
- [21] 高程海, 易湘茜, 林琳, 等. 海洋来源邻苯二甲酸酯类化学成分和构效关系研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2013, 25(10): 1320-1324.
- [22] Liu F Y, Zhang X F, Ling P X, *et al.* Immunomodulatory effects of xanthan gum in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages [J]. *Carbohydr Polym*, 2017, 169: 65-74.
- [23] Doherty G H. Nitric oxide in neurodegeneration: potential benefits of nonsteroidal anti-inflammatories [J]. *Neurosci Bull*, 2011, 27: 366-382.

[责任编辑 王文倩]