

## • 化学成分 •

## 藏药甘青乌头化学成分研究

卢晨娜, 杨悦, 陈倩雯, 刘婷, 王智民, 冯伟红, 刘晓谦, 谢胡敏, 李春\*

中国中医科学院中药研究所, 中药质量控制技术国家工程实验室, 北京 100700

**摘要:** 目的 对甘青乌头 *Aconitum tanguticum* 抗炎活性部位中的化学成分进行研究, 以阐明其清热解毒的药效物质基础。方法 采用脂多糖诱导的小鼠巨噬细胞 RAW264.7 的炎症模型, 以 NO 释放量为评价指标考察甘青乌头各部位的抗炎活性, 确定活性部位, 然后采用多种现代色谱技术对活性部位的化学成分进行分离纯化, 经过光谱技术以及文献值比对的方法鉴定化合物结构。结果 甘青乌头乙醇提取物上大孔吸附树脂后的 30%乙醇洗脱部位抗炎活性最好, 从该部位中共分离鉴定了 13 个化合物, 分别是香草酸 (1)、七聚己内酰胺 (2)、榜嘎昔 D (3)、槲皮素-3-O- $\alpha$ -L-鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 2)-[ $\beta$ -D-葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -L-(4-O-反式-对香豆酰基鼠李糖基)-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-甘露糖基-7-O- $\alpha$ -L-鼠李糖基 (4)、山柰酚-3-O-[ $\alpha$ -L-鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-甘露糖基-7-O- $\alpha$ -L-鼠李糖基 (5)、4-二羟基苯乙氧基-8-O- $\beta$ -D-[6-O-(4-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基)-阿魏酰基]-吡喃葡萄糖基 (6)、榜嘎昔 C (7)、山柰酚-3-O- $\beta$ -D-葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)-[ $\alpha$ -L-鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-甘露糖基-7-O- $\alpha$ -L-鼠李糖基 (8)、槲皮素 3-O- $\alpha$ -L-鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-甘露糖基-7-O- $\alpha$ -L-鼠李糖基 (9)、榜嘎昔 A (10)、2-甲氧基-4-羧基-苯基-O- $\beta$ -D-[6-O-(4-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基)-阿魏酰基]-吡喃葡萄糖基 (11)、槲皮素-3-O-[ $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -L-吡喃鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-吡喃半乳糖基]-7-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -L-吡喃鼠李糖基 (12)、槲皮素-3-O-[ $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 3)-(4-O-反式-咖啡酰基)- $\alpha$ -L-吡喃鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-吡喃半乳糖基]-7-O- $\alpha$ -L-吡喃鼠李糖基 (13)。结论 化合物 11~13 为新化合物, 分别命名为榜嘎酸 A、榜嘎昔 E、榜嘎昔 F; 化合物 8 为首次从甘青乌头中分离得到, 研究结果不仅部分阐明了甘青乌头清热解毒的药效物质基础, 而且丰富了天然产物的结构类型。

**关键词:** 甘青乌头; 抗炎; 榜嘎酸 A; 榜嘎昔 E; 榜嘎昔 F; 山柰酚-3-O- $\beta$ -D-葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)-[ $\alpha$ -L-鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-甘露糖基-7-O- $\alpha$ -L-鼠李糖基

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)17-5757-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.17.002

Chemical components of *Aconitum tanguticum*

LU Chenna, Yang Yue, CHEN Qianwen, LIU Ting, WANG Zhimin, FENG Weihong, LIU Xiaoqian, XIE Humin, LI Chun

Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, National Engineering Laboratory for Quality Control Technology of Chinese Herbal Medicines, Beijing 100700, China

**Abstract: Objective** To study chemical components in the anti-inflammatory active fractions of *Aconitum tanguticum*, so as to elucidate the pharmacodynamic substance basis for its heat-clearing and detoxifying properties. **Methods** An inflammatory model of mouse macrophage cells RAW264.7 induced by lipopolysaccharide (LPS) was used, with NO release as the evaluation index to investigate the anti-inflammatory activities of various parts of *A. tanguticum* and determine the active fractions. And a variety of modern chromatographic techniques were then employed to separate and purify the chemical constituents in these active fractions. The structures of the compounds were identified by four major spectroscopic techniques and comparison with literature values. **Results** The 30% ethanol elution fraction from the ethanol extract of *A. tanguticum* after treatment with macroporous adsorption resin showed the best anti-inflammatory activity. From this fraction, a total of 13 compounds were separated and identified, including vanillic acid (1), PA6 heptamer (2), ponkaroside D (3), quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[ $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -L-(4-O-trans-

收稿日期: 2024-05-14

基金项目: 中国中医科学院科技创新工程项目 (CI2021A04402, CI2021A04412, CI2021A04206, CI2021A04807)

作者简介: 卢晨娜, 博士研究生, 研究方向为中药化学。E-mail: 1718978609@qq.com

\*通信作者: 李春, 研究员, 博士生导师, 从事中药化学研究。E-mail: cli@icmm.ac.cn

*p*-coumaroyl-rhamnopyranosyl)-(1→6)]-β-*D*-galactopyranoside-7-*O*-α-*L*-rhamnopyranoside (4), kaempferol-3-*O*-[α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→6)-β-*D*-galactopyranoside]-7-*O*-α-*L*-rhamnopyranoside (5), 4-dihydroxyphenethoxy-8-*O*-β-*D*-[6-*O*-(4-*O*-β-*D*-glucopyranosyl)-feruloyl]-glucopyranoside (6), ponkaroside C (7), kaempferol-3-*O*-β-*D*-glucopyranosyl-(1→2)-*O*-[α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→6)]-β-*D*-galactopyranoside-7-*O*-α-*L*-rhamnopyranoside (8), quercetin-3-*O*-α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→6)-β-*D*-galactopyranoside-7-*O*-α-*L*-rhamnopyranoside (9), ponkaroside A (10), 2-methoxy-4-carboxyl-phenyl-*O*-β-*D*-[6-*O*-(4-*O*-β-*D*-glucopyranosyl)-feruloyl]-glucopyranoside (ponka acid A, 11), quercetin-3-*O*-[β-*D*-glucopyranosyl-(1→3)-α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→6)]-β-*D*-galactopyranoside]-7-*O*-β-*D*-glucopyranosyl-(1→3)-α-*L*-rhamnopyranosyl (ponkaroside E, 12), quercetin-3-*O*-[β-*D*-glucopyranosyl-(1→3)-(4-*O*-*trans*-*p*-caffeoyl)-α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→6)]-β-*D*-rhamnopyranosyl]-7-*O*-α-*L*-rhamnopyranosyl (ponkaroside F, 13). **Conclusion** Compounds 11—13 are new compounds, named as ponka acid A, ponkaroside E, and ponkaroside F respectively, and compound 8 was isolated from *A. tanguticum* for the first time. The research results not only partially elucidate the pharmacodynamic substance basis of *A. tanguticum* for heat-clearing and detoxifying properties, but also enrich the structural types of natural products.

**Key words:** *Aconitum tanguticum* (Maxim.) Stapf.; anti-inflammatory; ponka acid A; ponkaroside E; ponkaroside F; kaempferol-3-*O*-β-*D*-glucopyranosyl-(1→2)-*O*-[α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→6)]-β-*D*-galactopyranoside-7-*O*-α-*L*-rhamnopyranoside

甘青乌头系毛茛科 (Ranunculaceae) 乌头属 *Aconitum* Linnaeus 植物甘青乌头 *Aconitum tanguticum* (Maxim.) Stapf. 的干燥全草, 为藏医常用药材, 藏药名榜嘎<sup>[1]</sup>, 其性凉、味苦, 有小毒, 具清热解毒功效, 常用于治疗传染病发热、肝胆热病、肺热、肠热、流行性感冒及食物中毒等<sup>[2]</sup>。现代研究表明甘青乌头中含有二萜生物碱<sup>[3-4]</sup>、黄酮<sup>[5]</sup>、酚酸<sup>[6]</sup>等成分, 其中二萜生物碱和黄酮为其主要化学成分, 而且总生物碱在抗菌<sup>[7]</sup>、抗炎<sup>[8-9]</sup>、抗病毒<sup>[10]</sup>及抗肿瘤<sup>[7]</sup>等方面均有良好的生物活性。但是, 甘青乌头清热解毒的药效物质基础至今仍不明了。鉴于清热解毒类药物往往具有良好的抗炎活性, 被广泛用于治疗与炎症相关的疾病, 因此本研究拟采用脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 刺激小鼠巨噬细胞 RAW264.7 的体外细胞炎症模型, 对于甘青乌头乙醇提取物不同大孔树脂洗脱部位样品抑制细胞释放 NO 的作用进行考察, 发现 30%乙醇洗脱部位抗炎活性最好, 故对该部位进行深入的化学成分研究, 共得到 13 个化合物, 分别鉴定为香草酸 (vanillic acid, 1)、庚内酰胺 (2-azocanone, 2)、榜嘎昔 D (ponkaroside D, 3)、槲皮素-3-*O*-α-*L*-鼠李糖基-(1→2)-[β-*D*-葡萄糖基-(1→3)-α-*L*-(4-*O*-反式-对香豆酰基鼠李糖基)-(1→6)]-β-*D*-甘露糖基-7-*O*-α-*L*-鼠李糖苷 (quercetin-3-*O*-α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→2)-[β-*D*-glucopyranosyl-(1→3)-α-*L*-(4-*O*-*trans*-*p*-coumaroyl-rhamnopyranosyl)-(1→6)]-β-*D*-galactopyranoside-7-*O*-α-*L*-rhamnopyranoside, 4)、山柰酚-3-*O*-[α-*L*-鼠李糖基-(1→6)]-β-*D*-甘露糖基-7-*O*-α-*L*-鼠李糖苷 (kaempferol-3-*O*-[α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→6)]-β-*D*-

galactopyranoside]-7-*O*-α-*L*-rhamnopyranoside, 5)、4-二羟基苯乙氧基-8-*O*-β-*D*-[6-*O*-(4-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖基)-阿魏酰基]-吡喃葡萄糖苷 (4-dihydroxyphenethoxy-8-*O*-β-*D*-[6-*O*-(4-*O*-β-*D*-glucopyranosyl)-feruloyl]-glucopyranoside, 6)、榜嘎昔 C (ponkaroside C, 7)、山柰酚-3-*O*-β-*D*-葡萄糖基-(1→2)-[α-*L*-鼠李糖基-(1→6)]-β-*D*-甘露糖基-7-*O*-α-*L*-鼠李糖苷 (kaempferol-3-*O*-β-*D*-glucopyranosyl-(1→2)-*O*-[α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→6)]-β-*D*-galactopyranoside-7-*O*-α-*L*-rhamnopyranoside, 8)、槲皮素-3-*O*-α-*L*-鼠李糖基-(1→6)-β-*D*-甘露糖基-7-*O*-α-*L*-鼠李糖苷 (quercetin-3-*O*-α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→6)-β-*D*-galactopyranoside-7-*O*-α-*L*-rhamnopyranoside, 9)、榜嘎昔 A (ponkaroside A, 10)、2-甲氧基-4-羧基-苯基-*O*-β-*D*-[6-*O*-(4-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖基)-阿魏酰基]-吡喃葡萄糖苷 (2-methoxy-4-carboxyl-phenyl-*O*-β-*D*-[6-*O*-(4-*O*-β-*D*-glucopyranosyl)-feruloyl]-glucopyranoside, 11)、槲皮素-3-*O*-[β-*D*-吡喃葡萄糖基-(1→3)-α-*L*-吡喃鼠李糖基-(1→6)]-β-*D*-吡喃半乳糖基]-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖基-(1→3)-α-*L*-吡喃鼠李糖苷 (quercetin-3-*O*-[β-*D*-glucopyranosyl-(1→3)-α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→6)]-β-*D*-galactopyranoside]-7-*O*-β-*D*-glucopyranosyl-(1→3)-α-*L*-rhamnopyranosyl, 12)、槲皮素-3-*O*-[β-*D*-吡喃葡萄糖基-(1→3)-(4-*O*-反式-咖啡酰基)-α-*L*-吡喃鼠李糖基-(1→6)]-β-*D*-吡喃半乳糖基]-7-*O*-α-*L*-吡喃鼠李糖苷 (quercetin-3-*O*-[β-*D*-glucopyranosyl-(1→3)-(4-*O*-*trans*-*p*-caffeoyl)-α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→6)]-β-*D*-rhamnopyranosyl]-7-*O*-α-*L*-rhamnopyranosyl, 13)。其中, 化合物 11~13 为

新化合物, 分别命名为榜嘎酸 A (11)、榜嘎昔 E (12)、榜嘎昔 F (13)。化合物 8 为首次从甘青乌头中分离得到, 该结果可为阐明榜嘎清热解毒物质基础及榜嘎药材的深入开发利用提供基础。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

LC3000 型制备液相色谱仪(北京创新通恒科技有限公司), XevoG2-SQTOF 型高分辨飞行时间质谱仪(美国 Waters 公司), DionexU-3000 型高效液相色谱仪(美国 Dionex 公司), R-220 型旋转蒸发器(郑州长城科工贸有限公司), XS105DU 型十万分之一天平(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司), BrukerAvanceIII600/500-NMRspectrometer 超导核磁共振仪(德国 Bruker 公司), ZF-1 型四用暗箱式紫外分析仪(北京天创尚邦仪器设备有限公司), 二氧化碳细胞培养箱(美国 Thermo 公司), 倒置显微镜(Olympus 公司), 酶标仪(Bio-tek 公司), 红外光谱仪(美国 PerkinElmer 公司), 7890A 型气相色谱仪(美国 Agilent 公司)。

### 1.2 试剂

DMEM 培养基、胎牛血清(Foetal Bovine Serum, FBS)、0.25%胰酶-EDTA、1%双抗(青霉素与链霉素)、PBS 溶液购自 Gibco 公司; LPS、二甲基亚砜(DMSO)、Griess 试剂购自 Sigma-Aldrich 公司; CCK-8 试剂购自 Dojindolaboratories 公司; NO 试剂盒购自碧云天公司; SephadexLH-20 凝胶购自 GE 公司; MCI 填料 CHP20/P120 购自日本三菱化学公司; 反相 ODS 填料购自金欧亚科技发展有限公司; AB-8 大孔吸附树脂购自安徽酷儿生物工程有限公司; 聚酰胺树脂购自郑州和成新材料科技有限公司; 200~300 目柱色谱用硅胶购自青岛海洋化工厂; 氘代试剂购自美国 CIL 有限公司; 色谱甲醇和乙腈购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司; 纯净水购自杭州娃哈哈集团有限公司。

### 1.3 材料

甘青乌头购自青海三件宝商贸有限公司, 经中国中医科学院中药研究所李春研究员鉴定为毛茛科乌头属植物甘青乌头 *A. tanguticum* (Maxim.) Stapf. 的干燥全草。

L-半乳糖(批号 A27I8213965)、D-半乳糖(批号 S26IB227036)、L-葡萄糖(批号 A27GB159073)、鼠李糖(批号 O27GS165538)及 D-(+)-无水葡萄糖(批号 N03IB230669)均购自上海源叶生物科技有限

公司, 以上对照品经 HPLC 面积归一化法计算其质量分数均 $\geq 98\%$ 。

### 1.4 细胞株

RAW264.7 小鼠巨噬细胞购于北京协和细胞资源中心。

## 2 方法

### 2.1 甘青乌头不同部位样品的制备

取甘青乌头药材 7.0 kg, 粉碎为粗粉, 分别加入 8、6、6 倍量的 40%乙醇超声(频率 40 kHz、功率 550 W)提取 3 次, 每次 40 min, 纱布滤过, 合并滤液, 减压干燥至无醇味, 水溶液浓缩至 25 L。取干净 AB-8 大孔吸附树脂, 先用 95%乙醇冲干净后, 再用水冲至无醇味, 备用。样品用水溶解后上样于已处理好的 AB-8 大孔吸附树脂, 依次用水及 30%、50%、70%、95%乙醇洗脱, 各洗脱 25 L, 合并各部分洗脱液, 减压回收得浸膏, 得到水部位(28.02 g)、30%乙醇部位(232.24 g)、50%乙醇部位(92.64 g)、70%乙醇部位(10.72 g)和 95%乙醇部位(6.18 g)。

### 2.2 细胞培养

小鼠巨噬细胞 RAW264.7 中加入含 10%胎牛血清的 DMEM 高糖培养基(内含 100 U/mL 的青霉素和 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的链霉素), 置于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  的培养箱中培养。

### 2.3 CCK-8 法检测细胞活力

待细胞融合至 70%~80%时, 消化细胞以  $5 \times 10^5$  个/孔接种于 96 孔板中, DMEM 完全培养基(含 10% FBS)培养 24 h 后, 分为空白组、正常对照组和给药组。其中空白组不含细胞只加入培养液, 正常对照组加入正常培养基, 各给药组则分别加入含有各洗脱部位质量浓度为 62.5~1 000.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的培养基, 每组 6 个复孔。待培养 24 h 后, 加入 CCK-8 试剂 10  $\mu\text{L}/\text{孔}$ , 于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  的培养箱中继续培养 30 min, 然后置于酶标仪 450 nm 处检测吸光度(A)值, 计算细胞活力。

$$\text{细胞活力} = (A_{\text{实验}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

### 2.4 Griess 法检测细胞产生 NO 含量

采用 Griess 法检测甘青乌头各部位样品对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞分泌 NO 的抑制作用。取对数生长期的 RAW264.7 细胞, 以约  $5 \times 10^5$  个/孔接种于 96 孔板中, 在 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  浓度的培养箱中培养 24 h 后, 进行给药处理。设定对照组、模型组和给药组, 给药组和模型组添加 LPS (终质量浓

度 1  $\mu\text{g/mL}$ ), 给药组再分别加入含有不同质量浓度 (31.125、62.5、125、500  $\mu\text{g/mL}$ ) 洗脱部位的培养基, 继续在该条件下进行培养 24 h 后, 吸取各处理组细胞培养上清液 (100  $\mu\text{L}$ ) 与相同体积的 Griess 试剂以十字交叉法混匀, 在室温下避光反应 5~10 min 后, 在 540 nm 处使用酶标仪测定混合物的 A 值, 绘制标准曲线并计算 NO 含量。

## 2.5 单体成分的分纯化

取甘青乌头 30%乙醇洗脱部位样品 150 g, 上 MCI 色谱柱, 用水-甲醇 (100:0~0:100) 梯度洗脱, 丙酮冲柱, 得到组分  $M_1\sim M_9$ 。

组分  $M_5$  (44.17 g) 经聚酰胺柱色谱, 水-甲醇 (100:0~0:100) 梯度洗脱, 经薄层色谱和 HPLC 检识合并各流分, 共得到 8 个组分  $M_{5.1}\sim M_{5.8}$ 。其中组分  $M_{5.8}$  中出现固体, 经过反复洗脱得化合物 **1** (15.0 mg) 和 **2** (32.0 mg)。

$M_{5.7}$  (1.072 4 g) 经 Flash ODS 柱色谱分离, 水-甲醇 (100:0~0:100) 梯度洗脱, 相同流分合并, 得到 4 个组分  $M_{5.7.1}\sim M_{5.7.4}$ 。  $M_{5.7.2}$  经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离, 50%甲醇洗脱得到 4 个组分  $M_{5.7.2.1}\sim M_{5.7.2.4}$ 。  $M_{5.7.2.4}$  经高压制备液相色谱分离, 乙腈-水 (17:83) 洗脱, 得化合物 **3** ( $t_R=25.791$  min, 13.0 mg)。  $M_{5.7.3}$  经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离, 50%甲醇洗脱得到 5 个组分  $M_{5.7.3.1}\sim M_{5.7.3.5}$ 。其中组分  $M_{5.7.3.5}$  出现黄色固体, 经过反复洗涤得化合物 **4** (28.0 mg)。

$M_{5.3}$  (9.081 2 g) 经 Flash ODS 柱色谱分离, 水-甲醇 (100:0~0:100) 梯度洗脱, 得到组分  $M_{5.3.1}\sim M_{5.3.5}$ 。  $M_{5.3.2}$  经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离, 50%甲醇洗脱得到 9 个组分  $M_{5.3.2.1}\sim M_{5.3.2.9}$ 。  $M_{5.3.2.8}$  和  $M_{5.3.2.9}$  中均出现黄色固体, 经过反复洗涤得化合物 **5** (129.8 mg)。  $M_{5.3.3}$  经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离, 50%甲醇洗脱得到 11 个组分  $M_{5.3.3.1}\sim M_{5.3.3.11}$ 。其中组分  $M_{5.3.3.10}$  和  $M_{5.3.3.11}$  中均出现白色固体, 经过反复洗涤得化合物 **6** (45.1 mg)。

$M_{5.4}$  (13.544 2 g) 经 Flash ODS 柱色谱分离, 水-甲醇 (100:0~0:100) 梯度洗脱, 得到组分  $M_{5.4.1}\sim M_{5.4.5}$ 。  $M_{5.4.2}$  经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离, 50%甲醇洗脱得到 4 个组分。组分  $M_{5.4.2.4}$  中出现黄色固体, 经过反复洗涤得化合物 **8** (35 mg); 组分  $M_{5.4.3}$  进一步纯化, 得到 10 个组分  $M_{5.4.3.1}\sim M_{5.4.3.10}$ 。组分  $M_{5.4.3.10}$  中出现黄色固体, 经过反复洗涤得化合物 **9** (28.0 mg)。

$M_{6.3}$  (约 13.0014 g) 经 Flash ODS 柱色谱分离, 水-甲醇 (100:0~0:100) 梯度洗脱, 得到组分  $M_{6.3.1}\sim M_{6.3.3}$ 。  $M_{6.3.2}$  经 Flash ODS 柱色谱进一步分离, 得到组分  $M_{6.3.2.1}\sim M_{6.3.2.4}$ 。  $M_{6.3.2.2}$  经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离, 50%甲醇洗脱得到组分  $M_{6.3.2.2.1}\sim M_{6.3.2.2.3}$ 。  $M_{6.3.2.2.2}$  经高压制备液相色谱分离, 乙腈-水 (17:83) 洗脱, 得化合物 **7** ( $t_R=22.393$  min, 136.8 mg) 和 **10** ( $t_R=38.599$  min, 58.0 mg)。  $M_{6.3.2.2.3}$  经高压制备液相色谱分离, 乙腈-水 (16:84) 洗脱, 得化合物 **11** ( $t_R=19.723$  min, 11.0 mg)。  $M_{6.3.3}$  经 Flash ODS 柱色谱法分离, 得到组分  $M_{6.3.3.1}\sim M_{6.3.3.3}$ 。  $M_{6.3.3.2}$  经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离, 50%甲醇洗脱得到 4 个组分  $M_{6.3.3.2.1}\sim M_{6.3.3.2.3}$ 。  $M_{6.3.3.2.2}$  经高压制备液相色谱分离, 乙腈-水 (15:85) 洗脱, 得化合物 **12** ( $t_R=17.023$  min, 18.0 mg)。  $M_{6.3.3.2.4}$  经高压制备液相色谱分离, 乙腈-水 (16:84) 洗脱, 得化合物 **13** ( $t_R=11.223$  min, 5.0 mg)。

## 2.6 糖绝对构型的确定

**2.6.1 单糖衍生化** 称取单糖对照品各 2 mg, 分别溶于 1 mL 的质量浓度为 2 mg/mL 的 L-半胱氨酸甲酯盐酸盐溶液中, 60  $^{\circ}\text{C}$  条件下反应 2 h,  $\text{N}_2$  吹干。残渣溶解于 0.2 mL 的 N-三甲基硅咪唑溶液中, 60  $^{\circ}\text{C}$  下加热反应 1 h, 正己烷-水体系萃取, 各 2 mL, 取正己烷层进行气相色谱 (GC) 分析。

**2.6.2 黄酮苷酸水解及衍生化** 参照文献方法<sup>[11]</sup>, 取 2 mg 的化合物 **12**, 加入 2 mol/L 的 HCL 溶液 2 mL, 90  $^{\circ}\text{C}$  下水解 4 h, 冷却至室温后, 用三氯甲烷萃取 3 次, 每次 2 mL, 弃去三氯甲烷层, 剩余水层减压干燥。残渣溶于 1 mL 质量浓度为 2 mg/mL 的 L-半胱氨酸甲酯盐酸盐溶液中, 混合均匀, 60  $^{\circ}\text{C}$  条件下反应 2 h,  $\text{N}_2$  吹干。残渣溶解于 0.2 mL 的 N-三甲基硅咪唑溶液中, 60  $^{\circ}\text{C}$  下加热反应 1 h, 正己烷-水体系萃取, 各 2 mL, 取正己烷层进行 GC 分析。

**2.6.3 GC 条件**<sup>[12]</sup> 色谱柱: HP-5 (30 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 0.25  $\mu\text{m}$ ); 检测条件 230  $^{\circ}\text{C}$ , 恒温 30 min; 载气为  $\text{N}_2$ , 体积流量 1.0 mL/min; 进样器温度 250  $^{\circ}\text{C}$ ; FID 检测器, 检测器温度 250  $^{\circ}\text{C}$ , 空气和氢气发生器, 体积流量分别为 400、40 mL/min; 进样量 2  $\mu\text{L}$ , 分流比 20:1。

## 3 结果

### 3.1 甘青乌头不同大孔树脂洗脱部位抗炎活性筛选研究

**3.1.1 甘青乌头各部位样品对于 RAW264.7 细胞活力的影响** 采用 CCK-8 法测定不同质量浓度的

各样品的细胞毒性，以确定安全的药物浓度。实验结果表明，甘青乌头的6个大孔树脂洗脱部位在质量浓度62.5~1 000 μg/mL对细胞活力均无明显抑制作用(图1)，细胞活力均在90%，可作为后续实验所用的药物质量浓度梯度。

**3.1.2 甘青乌头各部位样品对于RAW264.7细胞释放NO的影响** 炎症反应的发生常伴随着大量NO的生成，因此，NO被广泛用作判断炎症反应是否发生及发生严重程度的评价指标<sup>[13]</sup>。本研究以LPS

诱导的RAW264.7细胞产生NO的量为评价指标对甘青乌头不同部位样品进行抗炎活性初筛，结果见图2。结果显示，与对照组比较，模型组NO浓度显著升高，说明造模成功；与模型组相比，各部位样品均可显著降低NO水平，其中水部位和30%乙醇洗脱部位的抗炎活性最强，可显著抑制LPS诱导的RAW264.7细胞中NO的释放，但由于水部位极性过大，因此优先选择30%乙醇洗脱部位进行化学成分分离，以进一步明确其发挥抗炎作用的主要活性成分。

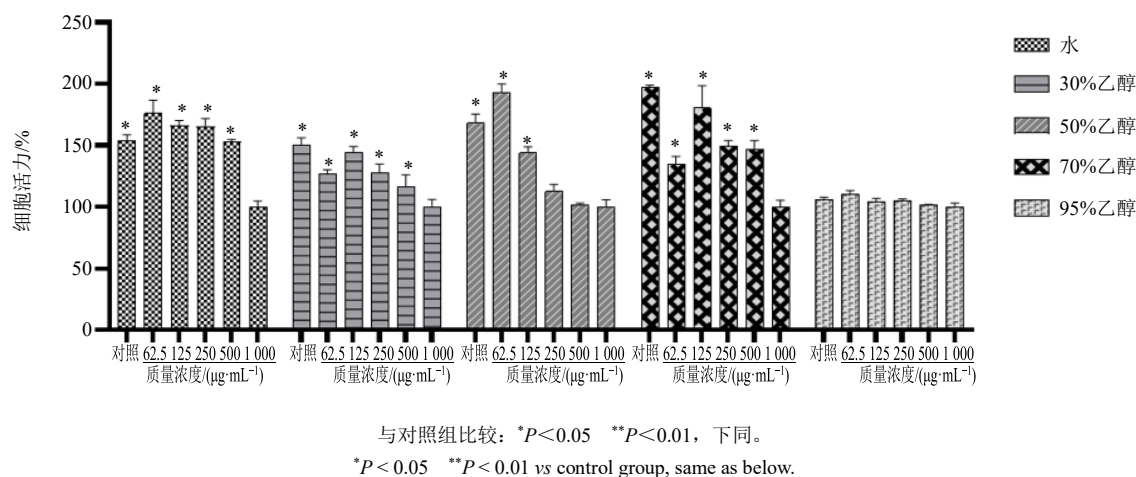


图1 甘青乌头不同洗脱部位对RAW264.7细胞活力的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Fig. 1 Effects of different elution fractions from *A. tanguticum* on RAW264.7 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

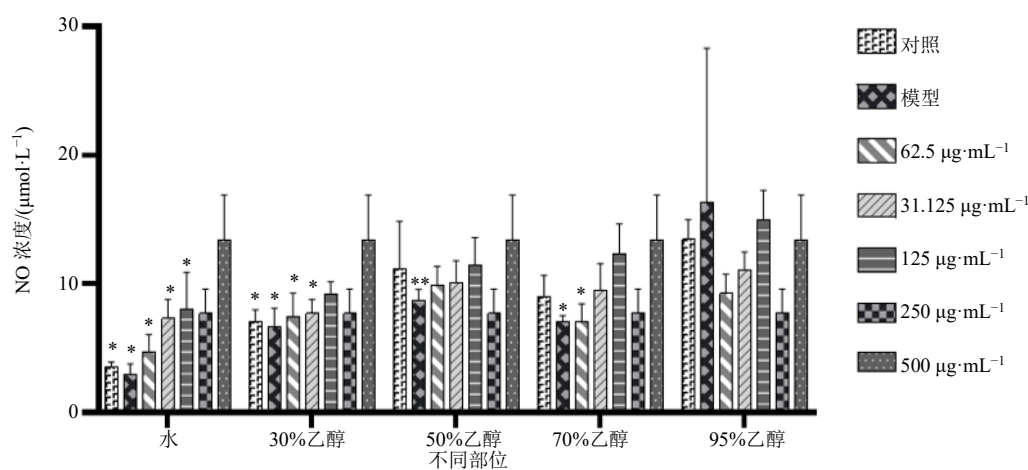


图2 甘青乌头不同洗脱部位对NO抑制作用 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Fig. 2 Inhibitory effects of different elution fractions from *A. tanguticum* on NO production ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

### 3.2 已知化合物的结构鉴定

化合物1: 白色粉末; HR-ESI-MS显示分子离子峰  $m/z$  167  $[M-H]^-$ , 推测分子式为  $C_8H_8O_4$ ;  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 7.54 (2H, m, H-2, 6), 6.83 (1H, d,  $J = 12.0$  Hz, H-5), 3.88 (3H, s,  $-OCH_3$ );  $^{13}C$ -

NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 121.6 (C-1), 114.4 (C-2), 147.2 (C-3), 151.2 (C-4), 112.3 (C-5), 123.8 (C-6), 168.6 ( $-COOH$ ), 54.9 ( $-OCH_3$ )。以上数据与文献报道基本一致<sup>[14]</sup>, 故鉴定化合物1为香草酸。

化合物2: 白色粉末; HR-ESI-MS给出分子离子

子峰  $m/z$  790  $[M-H]^-$ , 分子式  $C_{42}H_{77}N_7O_7$ ;  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 7.64 (7H, s, -NH), 3.18 (14H, t,  $J=7.2$  Hz, H-2), 1.34 (14H, m, H-3), 1.63 (14H, m, H-4), 1.52 (14H, m, H-5), 2.19 (14H, t,  $J=7.2$  Hz, H-6);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 174.5 (C-1), 38.9 (C-2), 28.7 (C-3), 26.1 (C-4), 25.3 (C-5), 35.8 (C-6)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[5]</sup>, 鉴定化合物 **2** 为七聚己内酰胺。

化合物 **3**: 黄色无定型粉末; HR-ESI-MS 给出分子离子峰  $m/z$  1 209  $[M-H]^-$ , 分子式  $C_{54}H_{66}O_{31}$ ;  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 6.56 (1H, m, H-6), 6.83 (1H, d,  $J=6.6$  Hz, H-8), 8.08 (2H, m, H-2', 6'), 6.75 (2H, d,  $J=8.6$  Hz, H-3', 5'), 5.04 (1H, d,  $J=7.8$  Hz, 7-Glu-H-1), 3.48 (1H, m, 7-Glu-H-6), 4.94 (1H, brs, 7-Rha-H-1), 0.87 (3H, d,  $J=6.0$  Hz, 7-Rha-H-6), 4.12 (1H, dd,  $J=7.8, 2.7$  Hz, 3-Glu-H-1), 3.60 (1H, m, 3-Glu-H-6), 5.46 (1H, brs, 3-Rha-H-1), 1.19 (3H, d,  $J=6.0$  Hz, 3-Rha-H-6), 4.23 (1H, m, 3-Gal-H-1), 3.77 (1H, dd,  $J=12.0, 1.7$  Hz, 3-Gal-H-6), 7.41 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, coumaroyl-H-2, coumaroyl-H-6), 6.83 (2H, d,  $J=6.6$  Hz, coumaroyl-H-3, coumaroyl-H-5), 7.48 (1H, d,  $J=16.0$  Hz, coumaroyl-H-7), 6.21 (1H, d,  $J=16.0$  Hz, coumaroyl-H-8);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 158.4 (C-2), 134.6 (C-3), 178.3 (C-4), 161.4 (C-5), 99.4 (C-6), 162.1 (C-7), 94.3 (C-8), 156.6 (C-9), 105.8 (C-10), 121.0 (C-1'), 131.3 (C-2', 6'), 114.9 (C-3', 5'), 159.9 (C-4'), 104.0 (7-Glu-C-1), 71.6 (7-Glu-C-2), 73.4 (7-Glu-C-3), 69.1 (7-Glu-C-4), 73.7 (7-Glu-C-5), 66.6 (7-Glu-C-6), 101.1 (7-Rha-C-1), 69.6 (7-Rha-C-2), 76.2 (7-Rha-C-3), 72.3 (7-Rha-C-4), 68.0 (7-Rha-C-5), 16.5 (7-Rha-C-6), 104.2 (3-Glu-C-1), 74.0 (3-Glu-C-2), 76.2 (3-Glu-C-3), 69.7 (3-Glu-C-4), 76.3 (3-Glu-C-5), 60.8 (3-Glu-C-6), 98.1 (3-Rha-C-1), 69.5 (3-Rha-C-2), 81.1 (3-Rha-C-3), 71.0 (3-Rha-C-4), 69.7 (3-Rha-C-5), 16.8 (3-Rha-C-6), 104.4 (3-Gal-C-1), 74.2 (3-Gal-C-2), 76.4 (3-Gal-C-3), 70.6 (3-Gal-C-4), 77.8 (3-Gal-C-5), 60.9 (3-Gal-C-6), 125.9 (coumaroyl-C-1), 129.9 (coumaroyl-C-2, coumaroyl-C-6), 115.5 (coumaroyl-C-3, coumaroyl-C-5), 160.5 (coumaroyl-C-4), 145.4 (coumaroyl-C-7), 114.1 (coumaroyl-C-8), 167.4 (coumaroyl-C-9)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[5]</sup>, 故鉴定化合物 **3** 为榜嘎昔 D。

化合物 **4**: 黄色无定型粉末; HR-ESI-MS 给出

分子离子峰  $m/z$  1 209  $[M-H]^-$ , 分子式  $C_{54}H_{66}O_{31}$ ;  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$ : 12.67 (1H, s, 5-OH), 6.44 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-6), 6.75 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-8), 6.83 (1H, d,  $J=8.5$  Hz, H-5'), 7.73 (1H, dd,  $J=8.4, 2.2$  Hz, H-6'), 5.54 (1H, brs, 7-Rha-H-1), 1.13 (3H, d,  $J=6.1$  Hz, 7-Rha-H-6), 5.64 (1H, d,  $J=7.7$  Hz, 3-Gal-H-1), 3.76 (2H, m, 3-Gal-H-6), 5.07 (1H, brs, 3-Rha-H-1), 0.80 (3H, d,  $J=6.1$  Hz, 3-Rha-H-6), 4.53 (1H, brs, 3-Rha-H-1), 0.97 (3H, d,  $J=6.1$  Hz, 3-Rha-H-6), 4.26 (1H, d,  $J=7.7$  Hz, 3-Glu-H-1), 3.43 (2H, m, 3-Glu-H-6), 7.54 (2H, s, coumaroyl-H-2, 6), 6.80 (2H, d,  $J=8.3$  Hz, coumaroyl-H-3, 5), 6.33 (1H, d,  $J=16.0$  Hz, coumaroyl-H-8);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$ : 156.6 (C-2), 133.0 (C-3), 177.3 (C-4), 160.8 (C-5), 99.2 (C-6), 161.5 (C-7), 94.3 (C-8), 155.7 (C-10), 105.4 (C-2), 120.8 (C-1'), 115.7 (C-2'), 144.4 (C-3'), 115.1 (C-5'), 122.1 (C-6'), 98.3 (7-Rha-C-1), 69.5 (7-Rha-C-2), 70.0 (7-Rha-C-3), 72.0 (7-Rha-C-4), 69.7 (7-Rha-C-5), 17.8 (7-Rha-C-6), 98.9 (3-Gal-C-1), 74.8 (3-Gal-C-2), 73.7 (3-Gal-C-3), 70.6 (3-Gal-C-4), 73.3 (3-Gal-C-5), 68.1 (3-Gal-C-6), 100.5 (3-Rha-C-1), 70.1 (3-Rha-C-2), 70.5 (3-Rha-C-3), 71.5 (3-Rha-C-4), 68.2 (3-Rha-C-5), 17.1 (3-Rha-C-6), 99.6 (3-Rha-C-1), 71.8 (3-Rha-C-2), 76.2 (3-Rha-C-3), 72.0 (3-Rha-C-4), 66.0 (3-Rha-C-5), 17.4 (3-Rha-C-6), 103.2 (3-Glu-C-1), 72.8 (3-Glu-C-2), 76.2 (3-Glu-C-3), 69.4 (3-Glu-C-4), 76.4 (3-Glu-C-5), 60.6 (3-Glu-C-6), 125.1 (coumaroyl-C-1), 130.1 (coumaroyl-C-2, 6), 115.6 (coumaroyl-C-3, 5), 159.6 (coumaroyl-C-4), 144.8 (coumaroyl-C-7), 114.3 (coumaroyl-C-8), 166.0 (coumaroyl-C-9)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[11]</sup>, 鉴定化合物 **4** 为槲皮素-3- $O$ - $\alpha$ -L-鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 2)-[ $\beta$ -D-葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -L-(4- $O$ -反式-对香豆酰基鼠李糖基)-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-甘露糖基-7- $O$ - $\alpha$ -L-鼠李糖苷。

化合物 **5**: 黄色无定型粉末; HR-ESI-MS 给出分子离子峰  $m/z$  739  $[M-H]^-$  ( $C_{33}H_{40}O_{19}$ );  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$ : 6.46 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-6), 6.81 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-8), 8.10 (2H, m, H-2', 6'), 6.88 (2H, m, H-3', 5'), 4.40 (1H, brs, 7-Rha-H-1), 1.13 (3H, d,  $J=6.2$  Hz, 7-Rha-H-6), 5.35 (1H, d,  $J=7.7$  Hz, 3-Gal-H-1), 3.85 (1H, dd,  $J=3.4, 1.8$  Hz, 3-Gal-H-6), 5.56 (1H, brs, 3-Rha-H-1), 1.06 (3H, d,  $J=6.2$  Hz, 3-Rha-H-6);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$ : 155.9

(C-2), 133.5 (C-3), 177.5 (C-4), 160.5 (C-5), 99.2 (C-6), 161.5 (C-7), 94.6 (C-8), 157.0 (C-9), 105.5 (C-10), 120.5 (C-1'), 131.0 (C-2', 6'), 115.0 (C-3', 5'), 160.0 (C-4'), 98.3 (7-Rha-C-1), 70.0 (7-Rha-C-2), 70.0 (7-Rha-C-3), 71.4 (7-Rha-C-4), 69.6 (7-Rha-C-5), 17.8 (7-Rha-C-6), 101.8 (3-Gal-C-1), 70.9 (3-Gal-C-2), 72.7 (3-Gal-C-3), 68.1 (3-Gal-C-4), 73.5 (3-Gal-C-5), 65.1 (3-Gal-C-6), 99.9 (3-Rha-C-1), 70.2 (3-Rha-C-2), 70.3 (3-Rha-C-3), 71.7 (3-Rha-C-4), 67.8 (3-Rha-C-5), 17.8 (3-Rha-C-6)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[6]</sup>, 鉴定化合物 **5** 为山柰酚-3-*O*-[ $\alpha$ -*L*-鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -*D*-甘露糖基-7-*O*- $\alpha$ -*L*-鼠李糖苷。

化合物 **6**: 白色粉末; HR-ESI-MS 给出分子离子峰  $m/z$  637 [M-H]<sup>-</sup> (C<sub>30</sub>H<sub>38</sub>O<sub>15</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.02 (2H, d,  $J$  = 8.5 Hz, H-2, 6), 6.63 (2H, d,  $J$  = 8.5 Hz, H-3, 5), 2.83 (2H, t,  $J$  = 7.7 Hz, H-7), 3.54 (1H, m, H-8), 3.88 (1H, m, H-8), 5.32 (1H, d,  $J$  = 7.7 Hz, H-1'), 7.20 (1H, d,  $J$  = 2.0 Hz, H-2''), 7.16 (1H, d,  $J$  = 8.5 Hz, H-5''), 7.06 (1H, dd,  $J$  = 8.5, 2.0 Hz, H-6''), 7.63 (1H, d,  $J$  = 16.0 Hz, H-7''), 6.45 (1H, d,  $J$  = 16.0 Hz, H-8''), 4.33 (1H, d,  $J$  = 7.8 Hz, H-1'''), 3.86 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 130.6 (C-1), 130.9 (C-2, 6), 117.0 (C-3), 156.8 (C-4), 116.2 (C-5, 5''), 36.6 (C-7), 71.9 (C-8), 104.6 (C-1'), 72.5 (C-2), 75.1 (C-3'), 68.7 (C-4'), 75.4 (C-5'), 64.9 (C-6'), 130.3 (C-1''), 112.3 (C-2''), 151.0 (C-3''), 150.5 (C-4''), 123.8 (C-6''), 146.4 (C-7''), 117.2 (C-8''), 168.7 (C-9''), 100.2 (C-1'''), 73.0 (C-2'''), 75.9 (C-3'''), 72.1 (C-4'''), 78.0 (C-5'''), 62.9 (C-6'''), 56.8 (-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[6]</sup>, 故鉴定化合物 **6** 为 4-二羟基苯乙氧基-8-*O*- $\beta$ -*D*-[6-*O*-(4-*O*- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基)-阿魏酰基]-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **7**: 黄色无定型粉末; HR-ESI-MS 给出分子离子峰  $m/z$  1 225 [M-H]<sup>-</sup> (C<sub>54</sub>H<sub>66</sub>O<sub>32</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 6.45 (1H, d,  $J$  = 2.0 Hz, H-6), 6.59 (1H, s, H-8), 7.91 (1H, d,  $J$  = 2.0 Hz, H-2'), 6.89 (1H, d,  $J$  = 8.5 Hz, H-5'), 7.68 (1H, m, H-6'), 4.22 (1H, d,  $J$  = 7.8 Hz, 7-Glu-H-1), 5.54 (1H, brs, 7-Rha-H-1), 1.29 (3H, d,  $J$  = 6.6 Hz, 7-Rha-H-6), 4.22 (1H, d,  $J$  = 7.8 Hz, 3-Glu-H-1), 4.64 (1H, brs, 3-Rha-H-1), 0.96 (3H, d,  $J$  = 6.0 Hz, 3-Rha-H-6), 5.16 (1H, d,  $J$  = 7.8 Hz, 3-Gal-H-1), 7.53 (2H, d,  $J$  = 8.5 Hz, coumaroyl-H-2, 6), 6.85 (2H, d,  $J$  = 8.5 Hz, coumaroyl-H-3, 5), 7.59 (1H,

$J$  = 16.0 Hz, coumaroyl-H-7), 6.31 (1H, d,  $J$  = 16.0 Hz, coumaroyl-H-8); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 159.5 (C-2), 136.1 (C-3), 179.5 (C-4), 162.7 (C-5), 100.8 (C-6), 163.5 (C-7), 95.7 (C-8), 157.9 (C-9), 107.2 (C-10), 122.5 (C-1'), 118.1 (C-2'), 146.9 (C-3'), 150.4 (C-4'), 116.2 (C-5'), 123.5 (C-6'), 102.5 (7-Glu-C-1), 73.2 (7-Glu-C-2), 74.8 (7-Glu-C-3), 70.5 (7-Glu-C-4), 75.1 (7-Glu-C-5), 68.1 (7-Glu-C-6), 102.5 (7-Rha-C-1), 71.0 (7-Rha-C-2), 77.6 (7-Rha-C-3), 73.8 (7-Rha-C-4), 69.4 (7-Rha-C-5), 18.0 (7-Rha-C-6), 105.6 (3-Glu-C-1), 75.5 (3-Glu-C-2), 77.5 (3-Glu-C-3), 71.0 (3-Glu-C-4), 79.2 (3-Glu-C-5), 62.2 (3-Glu-C-6), 99.5 (3-Rha-C-1), 70.9 (3-Rha-C-2), 82.6 (3-Rha-C-3), 72.4 (3-Rha-C-4), 71.2 (3-Rha-C-5), 18.3 (3-Rha-C-6), 105.9 (3-Gal-C-1), 75.6 (3-Gal-C-2), 77.7 (3-Gal-C-3), 72.0 (3-Gal-C-4), 77.8 (3-Gal-C-5), 62.3 (3-Gal-C-6), 127.3 (coumaroyl-C-1), 131.4 (coumaroyl-C-2), 116.3 (coumaroyl-C-3), 161.3 (coumaroyl-C-4), 117.0 (coumaroyl-C-5), 132.8 (coumaroyl-C-6), 146.0 (coumaroyl-C-7), 115.5 (coumaroyl-C-8), 168.8 (coumaroyl-C-9)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[5]</sup>, 故鉴定化合物 **7** 为榜嘎昔 C。

化合物 **8**: 黄色无定型粉末; HR-ESI-MS 给出分子离子峰  $m/z$  901 [M-H]<sup>-</sup> (C<sub>39</sub>H<sub>50</sub>O<sub>24</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 6.49 (1H, d,  $J$  = 2.0 Hz, H-6), 6.84 (1H, d,  $J$  = 2.0 Hz, H-8), 8.10 (2H, m, H-2', 6'), 6.88 (2H, m, H-3', 5'), 5.59 (1H, brs, 7-Rha-H-1), 1.15 (3H, d,  $J$  = 6.0 Hz, 7-Rha-6), 5.36 (1H, d,  $J$  = 7.7 Hz, 3-Gal-H-1), 4.40 (1H, brs, 3-Rha-H-1), 1.06 (3H, d,  $J$  = 6.0 Hz, 3-Rha-H-6), 4.48 (1H, d,  $J$  = 7.7 Hz, 3-Glu-H-1); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 155.9 (C-2), 133.4 (C-3), 177.5 (C-4), 160.8 (C-5), 99.9 (C-6), 161.3 (C-7), 94.8 (C-8), 157.0 (C-9), 105.6 (C-10), 120.6 (C-1'), 131.0 (C-2', C-6'), 115.0 (C-3', C-5'), 160.1 (C-4'), 98.2 (7-Rha-C-1), 69.8 (7-Rha-C-2), 70.5 (7-Rha-C-3), 71.8 (7-Rha-C-4), 69.5 (7-Rha-C-5), 17.8 (7-Rha-C-6), 99.4 (3-Gal-C-1), 80.6 (3-Gal-C-2), 73.5 (3-Gal-C-3), 67.9 (3-Gal-C-4), 72.8 (3-Gal-C-5), 65.1 (3-Gal-C-6), 101.7 (3-Rha-C-1), 70.4 (3-Rha-C-2), 70.3 (3-Rha-C-3), 71.0 (3-Rha-C-4), 68.1 (3-Rha-C-5), 17.8 (3-Rha-C-6), 104.5 (3-Glu-C-1), 73.9 (3-Glu-C-2), 76.7 (3-Glu-C-3), 68.9 (3-Glu-C-4), 76.1 (3-Glu-C-5), 60.9 (3-Glu-C-6)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[7]</sup>, 鉴定化合



物山柰酚-3-*O*- $\beta$ -*D*-葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)-[ $\alpha$ -*L*-鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -*D*-甘露糖基-7-*O*- $\alpha$ -*L*-鼠李糖苷。

化合物 **9**: 黄色无定型粉末; HR-ESI-MS 给出分子离子峰  $m/z$  755 [M-H]<sup>-</sup>, 分子式 C<sub>33</sub>H<sub>40</sub>O<sub>20</sub>; <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 12.59 (1H, s, 5-OH), 6.44 (1H, d,  $J$  = 2.0 Hz, H-6), 6.78 (1H, s, H-8), 7.58 (1H, d,  $J$  = 2.0 Hz, H-2'), 6.84 (1H, d,  $J$  = 8.5 Hz, H-5'), 7.68 (1H, s, H-6'), 5.55 (1H, brs, 7-Rha-H-1), 1.13 (3H, d,  $J$  = 6.0 Hz, 7-Rha-H-6), 5.36 (1H, d,  $J$  = 7.7 Hz, 3-Gal-H-1), 4.42 (1H, brs, 3-Rha-H-1), 1.07 (3H, d,  $J$  = 6.0 Hz, 3-Rha-H-6); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 155.8 (C-2), 133.6 (C-3), 177.4 (C-4), 161.5 (C-5), 99.3 (C-6), 160.7 (C-7), 94.3 (C-8), 156.7 (C-9), 105.4 (C-10), 120.8 (C-1'), 115.1 (C-2'), 144.7 (C-3'), 148.6 (C-4'), 116.0 (C-5'), 121.9 (C-6'), 98.3 (7-Rha-C-1), 70.5 (7-Rha-C-2), 70.1 (7-Rha-C-3), 71.5 (7-Rha-C-4), 69.7 (7-Rha-C-5), 17.8 (7-Rha-C-6), 101.7 (3-Gal-C-1), 71.0 (3-Gal-C-2), 72.9 (3-Gal-C-3), 68.1 (3-Gal-C-4), 73.5 (3-Gal-C-5), 64.9 (3-Gal-C-6), 99.8 (3-Rha-C-1), 70.0 (3-Rha-C-2), 70.3 (3-Rha-C-3), 71.8 (3-Rha-C-4), 67.9 (3-Rha-C-5), 17.8 (3-Rha-C-6)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[18]</sup>, 鉴定化合物 **9** 为槲皮素 3-*O*- $\alpha$ -*L*-鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -*D*-甘露糖基-7-*O*- $\alpha$ -*L*-鼠李糖苷。

化合物 **10**: 黄色无定型粉末; HR-ESI-MS 给出分子离子峰  $m/z$  1241 [M-H]<sup>-</sup>, 分子式 C<sub>54</sub>H<sub>66</sub>O<sub>33</sub>; <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 12.59 (1H, s, 5-OH), 6.48 (1H, d,  $J$  = 2.0 Hz, H-6), 6.80 (1H, d,  $J$  = 2.0 Hz, H-8), 7.59 (1H, d,  $J$  = 2.0 Hz, H-2'), 6.84 (1H, d,  $J$  = 8.5 Hz, H-5'), 7.69 (1H, dd,  $J$  = 8.5, 2.0 Hz, H-6'), 5.38 (1H, d,  $J$  = 7.7 Hz, 7-Glu-H-1), 4.56 (1H, s, 7-Rha-H-1), 0.98 (3H, d,  $J$  = 6.1 Hz, 7-Rha-H-6), 4.27 (1H, d,  $J$  = 7.7 Hz, 3-Glu-H-1), 5.59 (1H, s, 3-Rha-H-1), 1.15 (3H, d,  $J$  = 6.0 Hz, 3-Rha-H-6), 4.48 (1H, d,  $J$  = 7.7 Hz, 3-Gal-H-1), 7.03 (1H, d,  $J$  = 2.0 Hz, caffeoyl-H-2), 6.76 (1H, d,  $J$  = 8.5 Hz, caffeoyl-H-5), 6.99 (1H, d,  $J$  = 8.5 Hz, caffeoyl-H-6), 7.44 (1H, d,  $J$  = 16.0 Hz, caffeoyl-H-7), 6.23 (1H, d,  $J$  = 16.0 Hz, caffeoyl-H-8); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 156.7 (C-2), 133.7 (C-3), 177.4 (C-4), 160.7 (C-5), 99.4 (C-6), 161.3 (C-7), 94.5 (C-8), 155.7 (C-9), 105.5 (C-10), 120.8 (C-1'), 116.0 (C-2'), 148.6 (C-3', 4'), 115.1 (C-5'), 121.9 (C-6'), 101.8 (7-Glu-C-1), 71.0 (7-Glu-C-2), 72.9 (7-Glu-

C-3), 67.7 (7-Glu-C-4), 73.2 (7-Glu-C-5), 64.8 (7-Glu-C-6), 99.6 (7-Rha-C-1), 69.5 (7-Rha-C-2), 76.3 (7-Rha-C-3), 72.0 (7-Rha-C-4), 66.0 (7-Rha-C-5), 17.4 (7-Rha-C-6), 103.2 (3-Glu-C-1), 73.3 (3-Glu-C-2), 76.1 (3-Glu-C-3), 69.4 (3-Glu-C-4), 76.4 (3-Glu-C-5), 60.6 (3-Glu-C-6), 98.2 (3-Rha-C-1), 68.9 (3-Rha-C-2), 80.6 (3-Rha-C-3), 70.4 (3-Rha-C-4), 69.5 (3-Rha-C-5), 17.8 (3-Rha-C-6), 104.5 (3-Gal-C-1), 73.9 (3-Gal-C-2), 76.2 (3-Gal-C-3), 69.8 (3-Gal-C-4), 76.6 (3-Gal-C-5), 60.9 (3-Gal-C-6), 125.6 (caffeoyl-C-1), 114.7 (caffeoyl-C-2), 145.4 (caffeoyl-C-3), 148.1 (caffeoyl-C-4), 115.6 (caffeoyl-C-5), 121.2 (caffeoyl-C-6), 144.8 (caffeoyl-C-7), 114.1 (caffeoyl-C-8), 166.0 (caffeoyl-C-9)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[5]</sup>, 故鉴定化合物 **10** 为槲嘎昔 A。

### 3.3 新化合物的结构解析

化合物 **11**: 白色无定型粉末; HR-ESI-MS 给出分子离子峰  $m/z$  667.188 0 [M-H]<sup>-</sup>, 确定分子式为 C<sub>30</sub>H<sub>36</sub>O<sub>17</sub>。 <sup>1</sup>H-NMR 谱 (表 1) 显示, 1 对反式取代的烯氢信号  $\delta_{\text{H}}$  7.59 (1H, d,  $J$  = 16.0 Hz) 和 6.58 (1H, d,  $J$  = 16.0 Hz); 2 组呈 ABX 耦合的芳香氢信号, 分别是  $\delta_{\text{H}}$  7.52 (1H, dd,  $J$  = 8.5, 2.0 Hz), 7.15 (1H, d,  $J$  = 8.5 Hz), 7.47 (1H, d,  $J$  = 2.0 Hz) 以及 7.21 (1H, dd,  $J$  = 8.5, 2.0 Hz), 7.06 (1H, d,  $J$  = 8.5 Hz), 7.39 (1H, d,  $J$  = 2.0 Hz), 提示结构中有 2 个三取代苯环; 2 个糖的端基氢信号  $\delta_{\text{H}}$  5.27 (1H, d,  $J$  = 7.9 Hz) 和 5.22 (1H, d,  $J$  = 7.9 Hz); 2 个甲氧基信号  $\delta_{\text{H}}$  3.84 (3H, s) 和 3.81 (3H, s), 以及  $\delta_{\text{H}}$  3.30~5.20 的多个糖上的氢信号和羟基信号。 <sup>13</sup>C-NMR 和 DEPT 谱共显示 8 个季碳、18 个叔碳、2 个仲碳和 2 个伯碳。综合分析 <sup>13</sup>C-NMR 和 HSQC 谱可知, <sup>13</sup>C-NMR 谱中有 2 个羰基碳信号  $\delta_{\text{C}}$  166.9 和  $\delta_{\text{C}}$  166.3, 12 个芳香碳信号  $\delta_{\text{C}}$  110.9~150.2, 2 个反式烯碳信号  $\delta_{\text{C}}$  144.6 和  $\delta_{\text{C}}$  115.5, 两个糖的端基碳信号  $\delta_{\text{C}}$  97.8, 10 个糖上碳信号  $\delta_{\text{C}}$  60.8~74.7, 以及 2 个甲氧基碳信号  $\delta_{\text{C}}$  55.5 和  $\delta_{\text{C}}$  55.7。仔细分析 HSQC 谱, 对各个直接相连的碳氢信号进行了归属。

与课题组之前从甘青乌头中分离得到的新化合物 3,4-dihydroxyphenethoxy-8-*O*- $\beta$ -*D*-[6-*O*-(4-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl)-feruloyl]-glucopyranoside<sup>[6]</sup> 比较后发现, 化合物 **11** 中同样含有 1 个 (4-*O*- $\beta$ -*D*-葡萄糖基) 阿魏酸 9-*O*- $\beta$ -*D*-葡萄糖苷片段, 与前者相比, **11** 少了前者结构中的 3,4-二羟基苯乙氧基片段, 取



表 1 化合物 11 的 NMR 信号数据 (600/150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)

Table 1 NMR signals data of compound 11 (600/150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)

碳位	$\delta_H$	$\delta_C$
1		150.2
2		148.6
3	7.47 (1H, d, $J = 2.0$ Hz)	112.8
4		124.4
5	7.52 (1H, dd, $J = 8.5, 2.0$ Hz)	123.2
6	7.15 (1H, d, $J = 8.5$ Hz)	114.1
7		167.0
8-OCH <sub>3</sub>	3.84 (3H, s)	55.6
1'	5.27 (1H, d, $J = 7.9$ Hz)	97.8
2'	3.54 (m)	69.9
3'	3.93 (m)	71.7
4'	3.58 (m)	67.1
5'	4.05 (1H, ddd, $J = 9.1, 6.4, 2.1$ Hz)	71.6
6'	4.39 (1H, dd, $J = 12.0, 2.1$ Hz)	63.6
	4.22 (1H, dd, $J = 11.9, 6.5$ Hz)	
1''		148.9
2''		149.0
3''	7.39 (1H, d, $J = 2.0$ Hz)	110.9
4''		127.9
5''	7.21 (1H, dd, $J = 8.5, 2.0$ Hz)	122.7
6''	7.06 (1H, d, $J = 8.5$ Hz)	114.5
7''	7.59 (1H, d, $J = 16.0$ Hz)	144.6
8''	6.58 (1H, d, $J = 16.0$ Hz)	115.8
9''		166.5
10''-OCH <sub>3</sub>	3.81 (3H, s)	55.5
1'''	5.22 (1H, d, $J = 7.8$ Hz)	97.8
2'''	3.43 (m)	66.9
3'''	3.54 (m)	69.8
4'''	3.71 (m)	74.6
5'''	3.58 (m)	71.6
6'''	3.67 (1H, dd, $J = 12.0, 2.2$ Hz)	60.8

而代之的是 1 个 3-甲氧基-4-羟基苯甲酸片段。各基团的连接方式由 HMBC 确定：H-1' ( $\delta_H$  5.27) 与 C-1 ( $\delta_C$  150.2) 相关，H-1''' ( $\delta_H$  5.22) 与 C-1'' ( $\delta_C$  148.9) 相关，H-5' ( $\delta_H$  7.52) 与 C-7 ( $\delta_C$  167.0)、C-1 ( $\delta_C$  150.2) 和 C-3 ( $\delta_C$  112.8) 相关，H-5'' ( $\delta_H$  7.21) 与 C-7'' ( $\delta_C$  144.6)、C-3'' ( $\delta_C$  110.9) 和 C-6'' ( $\delta_C$  114.5) 相关，H-6' ( $\delta_H$  4.22) 与 C-9'' ( $\delta_C$  166.5) 相关 (主要 HMBC 相关见图 3)。2 个糖端基氢  $\delta_H$  5.27 (1H, d,  $J = 7.9$  Hz) 和 5.22 (1H, d,  $J = 7.9$  Hz) 的耦合常数提示其为  $\beta$  构型。综合分析以上信息，确定化合物 11 的结构为 2-甲氧基-4-羧基-苯基-*O*- $\beta$ -D-[6-*O*-(4-*O*- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基)-阿魏酰基]-吡喃葡萄糖苷，见图 4。

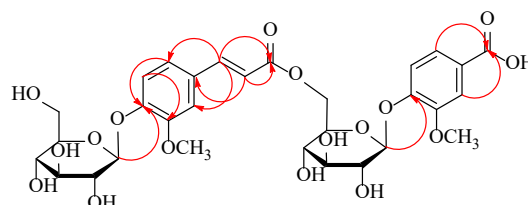


图 3 化合物 11 的主要 HMBC 相关

Fig. 3 Key HMBC correlations of compound 11

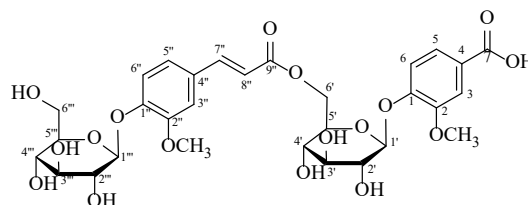


图 4 化合物 11 的化学结构

Fig. 4 Structure of compound 11

经 Scifinder 检索，确定其为新化合物，命名为榜嘎酸 A。

化合物 12: 黄色无定型粉末，盐酸-镁粉反应阳性，提示该化合物为黄酮类成分。HR-ESI-MS 给出分子离子峰  $m/z$  1 079.320 4 [M-H]<sup>-</sup>，确定分子式为 C<sub>45</sub>H<sub>60</sub>O<sub>30</sub>。IR 谱中显示羟基 (3 307.61 cm<sup>-1</sup>)、羰基 (1 652.65 cm<sup>-1</sup>) 和苯环 (1 595.57、1 490.67 cm<sup>-1</sup>) 的吸收。

<sup>1</sup>H-NMR 谱 (表 2) 显示典型的槲皮素的基本母核，其中  $\delta_H$  6.81 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz) 和 6.48 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz) 为槲皮素 A 环的 H-6 和 H-8 的信号； $\delta_H$  7.69 (1H, dd,  $J = 8.5, 2.0$  Hz)、6.84 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz) 和 7.59 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz)，分别为 B 环的 H-2'、H-3' 和 H-6' 的信号； $\delta_H$  12.60 (1H, s) 为 5 位羟基质子信号。此外，<sup>1</sup>H-NMR 还显示 5 个糖的端基氢信号，分别是  $\delta_H$  5.59 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz), 5.35 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz), 4.48 (2H, d,  $J = 6.6$  Hz) 和 4.32 (1H, d,  $J = 7.7$  Hz)。在高场部分，<sup>1</sup>H-NMR 还显示 2 个典型的鼠李糖的 6 位甲基氢信号，分别是  $\delta_H$  1.14 (3H, d,  $J = 6.1$  Hz) 和 1.08 (3H, d,  $J = 6.1$  Hz)。<sup>13</sup>C-NMR 谱上共有 45 个碳信号。<sup>13</sup>C-NMR 和 DEPT 谱结合显示，化合物 12 的结构中共包含 11 个季碳、29 个叔碳、3 个仲碳和 2 个伯碳。<sup>13</sup>C-NMR 谱显示，1 个羰基碳信号  $\delta_C$  177.5，为槲皮素 4 位碳信号； $\delta_C$  115.1~161.3 共 11 个碳信号，为槲皮素母核上的碳信号；5 个糖端基碳信号，分别为  $\delta_C$  98.2、 $\delta_C$  99.8、

表2 化合物12和13的NMR数据 (600/150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  
Table 2 NMR signals data of compounds 12 and 13 (600/150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)

碳位	12		13	
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
2		156.7		157.1
3		133.7		133.9
4		177.4		177.1
5		160.7		159.9
6	6.48 (1H, d, $J = 2.0$ Hz)	99.4	6.46 (1H, d, $J = 2.0$ Hz)	98.9
7		161.3		161.2
8	6.81 (1H, d, $J = 2.0$ Hz)	94.6	6.41 (1H, s)	93.8
9		155.8		155.3
10		105.5		104.7
1'		120.8		120.2
2'	7.58 (1H, d, $J = 2.0$ Hz)	116.1	8.02 (1H, s)	116.3
3'		144.8		143.4
4'		148.6		147.9
5'	6.84 (1H, d, $J = 8.5$ Hz)	115.1	6.98 (1H, d, $J = 8.5$ Hz)	115.1
6'	7.69 (1H, dd, $J = 8.5, 2.2$ Hz)	121.9	7.16 (1H, d, $J = 8.5$ Hz)	121.6
7-Glc-1	4.48 (1H, d, $J = 6.6$ Hz)	104.5		
2	3.10 (m)	73.9		
3	3.08 (m)	76.5		
4	3.09 (m)	69.8		
5	3.18 (m)	80.6		
6	3.68 (m), 3.44 (m)	60.9		
7-Rha-1	5.59 (1H, d, $J = 1.8$ Hz)	98.2	5.44 (1H, d, $J = 7.5$ Hz)	97.1
2	4.12 (brs)	68.9	3.83 (m)	69.4
3	3.78 (m)	80.6	3.63 (m)	69.0
4	3.52 (m)	70.4	3.53 (m)	69.2
5	3.51 (m)	69.6	3.76 (m)	70.4
6	1.14 (3H, d, $J = 6.1$ Hz)	17.8	1.26 (3H, d, $J = 6.1$ Hz)	16.1
3-Gal-1	5.35 (1H, d, $J = 7.6$ Hz)	101.8	5.03 (1H, d, $J = 7.6$ Hz)	103.7
2	3.34 (m)	70.7	3.91 (m)	70.7
3	3.43 (m)	72.9	3.87 (m)	71.4
4	3.63 (m)	67.8	3.99 (m)	68.4
5	3.61 (m)	73.1	3.51 (m)	72.2
6	3.64 (m), 3.27 (m)	64.7	3.68 (m), 3.12 (m)	69.2
3-Rha-1	4.48 (1H, d, $J = 6.6$ Hz)	99.8	4.71 (1H, brs)	100.9
2	3.71 (m)	69.5	3.83 (m)	69.2
3	3.53 (m)	81.5	3.29 (m)	76.8
4	4.99 (m)	71.0	4.91 (m)	71.5
5	3.48 (m)	67.6	3.88 (m)	65.7
6	1.08 (3H, d, $J = 6.1$ Hz)	17.7	0.76 (3H, d, $J = 6.2$ Hz)	15.5
3-Glc-1	4.32 (1H, d, $J = 7.7$ Hz)	104.3	4.08 (1H, brs)	103.6
2	3.03 (m)	73.9	3.67 (m)	72.6
3	3.18 (m)	76.0	3.12 (m)	75.0
4	3.71 (m)	69.2	4.07 (m)	69.6
5	3.18 (m)	76.6	3.88 (m)	75.0
6	3.44 (m), 3.68 (m)	60.7	3.73 (m), 3.89 (m)	59.6
caffeoyl-1				125.8
2			7.25 (1H, s)	113.9
3				144.3
4				147.2
5			6.98 (1H, d, $J = 8.5$ Hz)	114.3
6			7.67 (1H, d, $J = 8.5$ Hz)	121.6
7			7.54 (1H, d, $J = 16.0$ Hz)	145.6
8			6.30 (1H, d, $J = 16.0$ Hz)	113.3
9				167.3

$\delta_c$  101.8、 $\delta_c$  104.3 和  $\delta_c$  104.5; 2 个典型的鼠李糖的 6 位甲基碳信号  $\delta_c$  17.7 和  $\delta_c$  17.8, 以及  $\delta_c$  61.7~81.5 的 23 个糖上碳信号。以上信息提示, 化合物 **12** 的结构为 1 个槲皮素糖苷, 结构中共有 5 个六碳糖, 其中 2 个为鼠李糖。以上数据与文献报道的榜嘎昔 A 的 NMR 数据<sup>[5]</sup>相比, 苷元槲皮素的 NMR 数据基本吻合, 说明该化合物同样是在槲皮素的 3 位和 7 位连接糖基成苷。同时, 与榜嘎昔 A 的 NMR 数据比较也提示, 化合物 **12** 中具有 1 个半乳糖基, 2 个鼠李糖基和 2 个葡萄糖基的结构单元。仔细分析 HSQC 谱, 对所有直接相连的碳氢信号进行了归属。

取化合物 **12** 单体成分按照文献方法<sup>[11]</sup>进行酸水解和衍生化处理, GC 分析结果显示, 化合物 **12** 的糖基部分衍生物与 *D*-葡萄糖、*D*-半乳糖和 *L*-鼠李糖标准品的衍生物保留时间(其保留时间依次为 7.122、7.514、5.314 min)一致, 故确定化合物 **12** 的结构中含有 *D*-葡萄糖基、*D*-半乳糖基和 *L*-鼠李糖基。依据端基氢的耦合常数, 化合物 **12** 结构中的 2 个 *D*-葡萄糖 [端基氢分别为  $\delta_H$  4.48 (1H, d,  $J=6.6$  Hz) 和  $\delta_H$  4.32 (1H, d,  $J=7.7$  Hz)] 和 1 个 *D*-半乳糖 [端基氢为  $\delta_H$  5.35 (1H, d,  $J=7.6$  Hz)] 均为  $\beta$  构型。

糖的连接位置和连接方式由 HMBC 谱确定, 分别是 Gal-H-1 ( $\delta_H$  5.35) 与 C-3 ( $\delta_c$  133.7) 相关, Rha-H-1 ( $\delta_H$  5.59) 与 C-7 ( $\delta_c$  161.3) 相关, 说明两个糖链分别连接在母核 3、7 位上, 3 位直接相连的糖为半乳糖, 7 位直接相连的为鼠李糖; 7-Glc-H-1 ( $\delta_H$  4.48) 与 7-Rha-C-3 ( $\delta_c$  80.6) 相关, 说明有一个葡萄糖连接在 7 位连接的鼠李糖的 C-3 位上; 3-Gal-H-6 ( $\delta_H$  3.64 和 3.27) 与 3-Rha-C-1 ( $\delta_c$  99.8) 相关, 说明有 1 个鼠李糖连接在 3 位连接的半乳糖的 C-6 位上; 而 3-Glc-H-1 ( $\delta_H$  4.33) 与 3-Rha-C-3 ( $\delta_c$  81.5) 相关, 则说明还有 1 个葡萄糖连接在该半乳糖的 C-3 位置上。主要相关见图 5。

综合以上分析, 化合物 **12** 的结构鉴定为槲皮素-3-*O*-[ $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -*L*-吡喃鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -*D*-吡喃半乳糖基]-7-*O*- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -*L*-吡喃鼠李糖苷(表 2)。经 Scifinder 检索, 其为新化合物, 命名为榜嘎昔 E (ponkaroside E, 图 6)。NMR 数据的全归属见表 2。

化合物 **13**: 黄色无定形粉末, 盐酸-镁粉反应阳性, 提示该化合物为黄酮类成分。HR-ESI-MS 给出分子离子峰  $m/z$  1 079.302 5 [M-H]<sup>-</sup>, 确定其分子式为 C<sub>48</sub>H<sub>56</sub>O<sub>28</sub>。将化合物 **13** 的 NMR 数据与 **12** 相

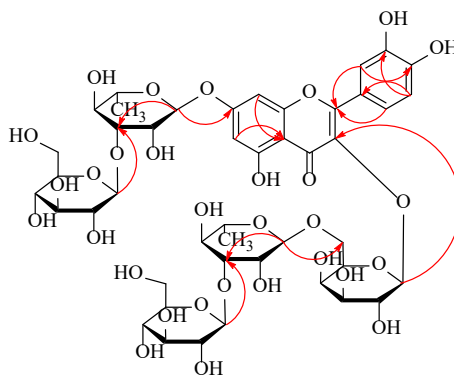


图 5 化合物 **12** 的主要 HMBC 相关

Fig. 5 Key HMBC correlations of compound **12**

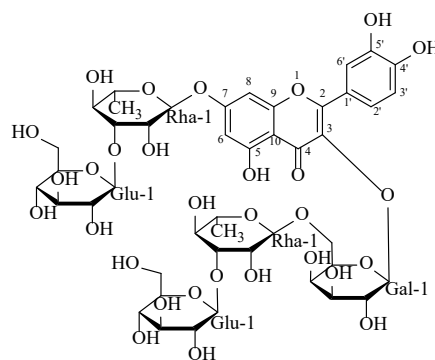


图 6 化合物 **12** 的化学结构

Fig. 6 Structure of compound **12**

比发现, 化合物 **13** 含有 1 个完整的槲皮素的结构单元, 同时有 4 个糖的端基碳氢信号, 端基氢信号分别是  $\delta_H$  5.45 (1H, brs), 5.03 (1H, d,  $J=7.6$  Hz), 4.71 (H, brs) 和 4.08 (1H, brs), 端基碳信号对应为  $\delta_c$  97.1,  $\delta_c$  103.7,  $\delta_c$  100.9 和  $\delta_c$  103.6, 而且碳氢谱中显示 2 个典型的鼠李糖的 6 位甲基信号 [ $\delta_H$  1.26 (3H, d,  $J=6.1$  Hz) 和  $\delta_c$  16.1;  $\delta_H$  0.76 (3H, d,  $J=6.1$  Hz) 和  $\delta_c$  15.5], 说明 4 个糖中的 2 个为鼠李糖。除此之外, 化合物 **13** 的 NMR 谱中还显示 1 个典型的反式咖啡酰基的结构单元, 分别是氢谱上的 1 对反式烯氢信号  $\delta_H$  7.54 (1H, d,  $J=16.0$  Hz) 和 6.30 (1H, d,  $J=16.0$  Hz), 低场区的 1 组呈 ABX 系统的芳香氢信号,  $\delta_H$  7.16 (1H, d,  $J=8.5$  Hz)、6.98 (1H, d,  $J=8.5$  Hz) 和 7.25 (1H, s), 以及碳谱上的 9 个低场碳信号  $\delta_c$  125.8, 113.9, 144.3, 147.2, 114.3, 121.6, 145.6, 113.3 和 167.3。以上信息提示化合物 **13** 同样是 1 个槲皮素糖苷, 结构中含有 4 个糖(包含 2 个鼠李糖), 以及 1 个反式咖啡酰基的结构单元。

因为化合物 **13** 中的槲皮素苷元的碳谱数据与化合物 **12** 中的数据几乎完全一致(表 2), 因此提

示 **13** 的结构同样是槲皮素的 C-3 和 C-7 位连接糖基形成槲皮素糖苷。此外,与化合物 **12** 的 NMR 数据以及文献值<sup>[19-20]</sup>比较,推测化合物 **13** 除含有两个鼠李糖基外,还含有 1 个葡萄糖基和 1 个半乳糖基。利用 DEPT 和 HSQC 对碳氢信号进行全归属。各基团的连接方式由 HMBC 谱确定, Gal-H-1 ( $\delta_{\text{H}}$  5.03) 与 C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  133.9) 相关, Rha-H-1 ( $\delta_{\text{H}}$  5.44) 与 C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  161.2) 相关,说明糖分别连接在母核 3, 7 位上。3-Rha-H-1 ( $\delta_{\text{H}}$  4.71) 与 3-Gal-C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  69.3) 相关,说明有 1 个鼠李糖连接在母核 3 位连接的半乳糖的 C-3 位上; 而该鼠李糖的 3-Rha-H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  4.91) 与咖啡酰基的 caffeoyl-C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  167.3) 相关,说明反式咖啡基片段连接在鼠李糖的 C-4 位上; 另外有 1 个葡萄糖的端基氢 3-Glu-H-1 ( $\delta_{\text{H}}$  4.08) 与该鼠李糖的 3-Rha-C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  76.8) 相关,说明有 1 个葡萄糖连接在该鼠李糖的 C-3 位上。以上主要相关见图 7。

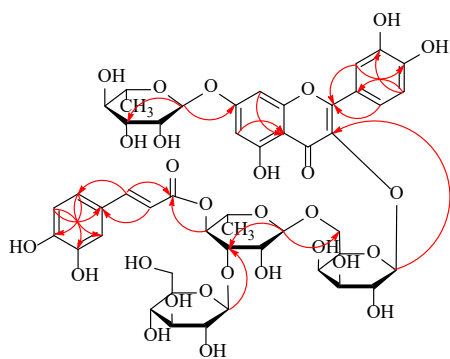


图 7 化合物 **13** 的主要 HMBC 相关

Fig. 7 Key HMBC correlations of compound **13**

综合分析,化合物 **13** 的结构鉴定为槲皮素-3-*O*-[ $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 3)-(4-*O*-反式-咖啡酰基)- $\alpha$ -L-吡喃鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-吡喃半乳糖基]-7-*O*- $\alpha$ -L-吡喃鼠李糖苷。经 Scifinder 检索,其为新化合物,命名为榜嘎昔 F (ponkaroside F),见图 8。

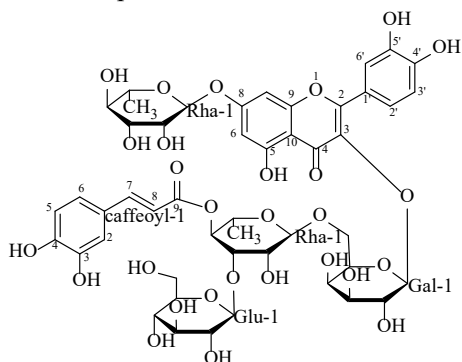


图 8 化合物 **13** 的化学结构

Fig. 8 Structure of compound **13**

## 4 讨论

课题组前期已围绕甘青乌头做了大量的研究,表明其具有良好的抗炎活性。本研究通过体外细胞实验研究表明,甘青乌头乙醇提取物上大孔吸附树脂后的 30%乙醇洗脱部位样品抗炎效果最好,因此针对该部位进行了系统的化学成分研究。结合各种分离手段,共从中分离鉴定了 13 个化合物,包括 10 个黄酮苷类成分,2 个芳香酸类成分,1 个酰胺类化合物,其中化合物 **11**~**13** 为新化合物,化合物 **8** 为首次从榜嘎中分离得到的,化合物 **2** 应是聚酰胺填料中存在的杂质被分离出来,而不是植物本身含有的成分。研究结果进一步阐明了甘青乌头清热解毒的药效物质基础,并丰富了毛茛科乌头属植物化学成分的结构类型,为榜嘎药材的开发利用提供了依据。单体化合物的抗炎活性将在后续研究中展开。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] 藏药标准 [S]. 青海: 青海人民出版社, 1979: 101.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草藏药卷 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2002: 306-307.
- [3] Ye X, Wang Y, Chen Q W, et al. Anti-inflammatory diterpenoid alkaloids from *Aconitum tanguticum* (Maxim.) stapf [J]. *Phytochemistry*, 2023, 206: 113524.
- [4] Fan X R, Yang L H, Liu Z H, et al. Diterpenoid alkaloids from the whole plant of *Aconitum tanguticum* (Maxim.) Stapf [J]. *Phytochemistry*, 2019, 160: 71-77.
- [5] 兰钧, 夏柯, 李启发, 等. 藏药榜嘎中黄酮类化学成分的研究 [J]. 药物分析杂志, 2018, 38(6): 964-972.
- [6] Xu L, Luo M, Lin L M, et al. Three new phenolic glycosides from the Tibetan medicinal plant *Aconitum tanguticum* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2013, 15(7): 743-749.
- [7] 傅永红. 藏药甘青乌头抗菌、抗肿瘤活性研究以及兔耳草抗病毒活性研究 [D]. 兰州: 兰州大学, 2008.
- [8] 瞿燕. 藏药榜嘎总生物碱的抗炎实验研究 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(10): 2412-2413.
- [9] Wu G T, Du L D, Zhao L, et al. The total alkaloids of *Aconitum tanguticum* protect against lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 155(3): 1483-1491.
- [10] 张春江, 李薇, 孙振鹏, 等. 藏药甘青乌头生物碱抗单纯疱疹病毒 II 型体内外作用 [J]. 兰州大学学报: 医学版, 2010, 36(4): 1-6.
- [11] Xu L, Zhang X, Lin L M, et al. Two new flavonol glycosides from the Tibetan medicinal plant *Aconitum tanguticum* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2013, 15(7): 737-742.

- [12] 关亮俊. 华重楼药效成分研究及甾体皂苷合成关键基因筛选 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2022.
- [13] Vural C, Gungor A. The effect of topical fluticasone on nasal nitric oxide levels in a patient with allergic rhinitis [J]. *Ear Nose Throat J*, 2003, 82(8): 592-597.
- [14] 原源, 来威, 杨琦, 等. 葱子化学成分的研究 (II) [J]. *药学实践杂志*, 2010, 28(6): 426-428.
- [15] Abe Y, Mutsuga M, Ohno H, *et al.* Isolation and quantification of polyamide cyclic oligomers in kitchen utensils and their migration into various food simulants [J]. *PLoS One*, 2016, 11(7): e0159547.
- [16] Luan G X, Wang H L, Lv H H, *et al.* Separation and purification of five flavone glucosides and one lignan from *Caragana korshinskii* kom. by the combination of HSCCC and semi-preparative RPLC [J]. *Chromatographia*, 2016, 79(13): 823-831.
- [17] Liu Q, Liu M, Mabry TJ, *et al.* Flavonol glycosides from *Cephalocereus senilis* [J]. *Phytochemistry*, 1994, 36(1): 229-231.
- [18] Schaufelberger D, Gupta M P, Hostettmann K. Flavonol and secoiridoid glycosides from *Coutoubea spicata* [J]. *Phytochemistry*, 1987, 26(8): 2377-2379.
- [19] Shrestha B B, Dall'Acqua S, Gewali M B, *et al.* New flavonoid glycosides from *Aconitum naviculare* (Brühl) Stapf, a medicinal herb from the *trans*-Himalayan region of Nepal [J]. *Carbohydr Res*, 2006, 341(12): 2161-2165.
- [20] Mariani C, Braca A, Vitalini S, *et al.* Flavonoid characterization and *in vitro* antioxidant activity of *Aconitum anthora* L. (Ranunculaceae). [J]. *Phytochemistry*, 2008, 69(5): 1220-1226.

[责任编辑 王文倩]