

野菊花的化学成分研究

任 尧, 韩依含, 王奕航, 胥鑫林, 刘长鑫, 谢治深, 张振强*, 王 潘*

河南中医药大学 豫药全产业链研发河南省协同创新中心, 河南 郑州 450046

摘要: 目的 研究野菊 *Chrysanthemum indicum* 花 95%乙醇提取物的醋酸乙酯部位的化学成分。方法 采用硅胶、Sephadex LH-20 和半制备液相等色谱方法进行分离纯化, 并运用现代波谱和质谱技术, 以及化学方法鉴定所得化合物的结构, 采用 Nrf2-ARE 荧光素酶报告基因系统评估化合物抗氧化活性。结果 从野菊花中分离纯化得到 12 个化合物, 分别鉴定为 3-羟基-对异丙苄基- β -D-葡萄糖苷 (1)、芝麻素 (2)、(1*S**,2*R**,5*S**,6*S**)-2-(3,5-dimethoxyphenyl)-6-(3,4-methylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane (3)、槲皮素-3-*O*- β -D-葡萄糖苷 (4)、圣草酚 (5)、3',4',5,7-四羟基黄酮 (6)、cirsilineol (7)、homoeriodictyol (8)、thymidine (9)、2*E*,4*E*,12*E*-tetra-decatriene-8,10-diynoic acid isobutylamide (10)、tetradeca-2*E*,4*E*,12*Z*-trien-8,10-diynoic acid isobutylamide (11)、 α -亚麻酸 (12)。结论 其中化合物 1 为新化合物, 命名为野菊苷; 化合物 3、12 为菊科首分化合物。化合物 7 和 11 具有潜在的抗氧化活性。

关键词: 野菊花; 糖苷; 3-羟基-对异丙苄基- β -D-葡萄糖苷; 野菊苷; cirsilineol; α -亚麻酸

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)17-5770-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.17.003

Chemical constituents of *Chrysanthemum indicum*

REN Yao, HAN Yihan, WANG Yihang, XU Xinlin, LIU Changxin, XIE Zhishen, ZHANG Zhenqiang, WANG Pan

Henan University of Chinese Medicine Collaborative Innovation Center of Research and Development on the Whole Industry Chain of YuYao, Zhengzhou 450046, China

Abstract: Objective To isolate and identify chemical constituents in the ethyl acetate part of 95% ethanol extracts of *Chrysanthemum indicum*. **Methods** Chromatographic methods such as silica gel, Sephadex LH-20 and semi preparative high performance liquid chromatography were used for the isolation and purification, and the structures of the obtained compounds were identified by nuclear magnetic resonance, mass spectrometry and other techniques. The Nrf2-ARE luciferase reporter gene system was used to evaluate the antioxidant activity of compounds. **Results** Twelve compounds were isolated and purified from the 95% ethanol extract of wild chrysanthemum, which were identified as 3-hydroxy-*p*-isopropylbenzyl- β -D-glucoside (1), sesamin (2), (1*S**,2*R**,5*S**,6*S**)-2-(3,5-dimethylphenyl)-6-(3,4-methylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo [3.3.0] octane (3), quercetin-3-*O*- β -D-glucoside (4), eriodictyol (5), 3',4',5,7-dioxabicyclo tetrahydroxyflavones (6), cirsilineol (7), homoeriodictyol (8), thymidine (9), 2*E*,4*E*,12*E*-tetra-decatriene-8,10-diynoic acid isobutylamide (10), tetradeca-2*E*,4*E*,12*Z*-trien-8,10-diynoic acid isobutylamide (11), and alpha linolenic acid (12). **Conclusion** Compound 1 is a new compound named chrysanthoside, while compounds 3 and 12 are the first compounds in the Asteraceae family, and compounds 7 and 11 have potential antioxidant activity.

Key words: *Chrysanthemum indicum* L.; glycosides; 3-hydroxy-*p*-isopropylbenzyl- β -D-glucoside; chrysanthoside; cirsilineol; alpha linolenic acid

野菊花为菊科植物野菊 *Chrysanthemum indicum* L. 的干燥头状花序, 野菊花性微寒, 味苦、辛, 归心、肝经, 具有清热解毒、泻火平肝等功效^[1]。

野菊花在我国广泛分布, 以河南、浙江、安徽为主产区。药理学研究发现, 野菊花具有抗肿瘤、抗炎、抗病毒、调节免疫、保护心血管作用^[2]; 野菊花主要

收稿日期: 2024-06-15

基金项目: 河南省高校科技创新人才 (23HASTIT044, 24HASTIT072); 河南省科技攻关项目 (232102310447); 河南省自然科学基金联合基金 (232301420085); 中国博士后科学基金资助项目 (2021M693704)

作者简介: 任 尧 (1997—), 中西医结合基础硕士研究生。E-mail: 1040617048@qq.com

*通信作者: 张振强, 教授, 主要从事中西医结合防治脑病基础研究。E-mail: zhang_zhenqiang@126.com

王 潘, 副研究员, 主要从事中药药效物质基础及新药研发。E-mail: w.p1008@hotmail.com

化学成分为糖苷类、萜类、黄酮类、烯炔类和甾体类等。为进一步丰富野菊花的化学成分, 本实验采用正相、反相硅胶、葡聚糖凝胶、高效液相等多种色谱方法对野菊花的乙醇提取物进行了化学成分及抗氧化活性研究, 共分离纯化得到了 12 个化合物(图 1), 分别鉴定为 3-羟基-对异丙苄基- β -D-葡萄糖苷(3-hydroxy-p-isopropylbenzyl- β -D-glucoside, **1**)、芝麻素(sesamin, **2**)、(1*S**,2*R**,5*S**,6*S**)-2-(3,5-dimethoxyphenyl)-6-(3,4-methylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane(**3**)、槲皮素-3-*O*- β -D-葡萄糖苷(quercetin-3-*O*- β -D-glucoside, **4**)、圣草酚

(eriodictyol, **5**)、3',4',5,7-四羟基黄酮(3',4',5,7-dioxabicyclo tetrahydroxyflavones, **6**)、cirsilineol(**7**)、homoeriodictyol(**8**)、thymidine(**9**)、2*E*,4*E*,12*E*-tetradecatriene-8,10-diynoic acid isobutylamide(**10**)、tetradeca-2*E*,4*E*,12*Z*-trien-8,10-diynoic acid isobutylamide(**11**)、 α -亚麻酸(alpha linolenic acid, **12**)。其中化合物**1**为新化合物, 命名为野菊苷; 化合物**3**、**12**为菊科中首次分离得到。抗氧化活性评价显示, 化合物**7**和**11**在 10 μ mol/L 时具有激活核因子-E2 相关因子 2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)的作用。

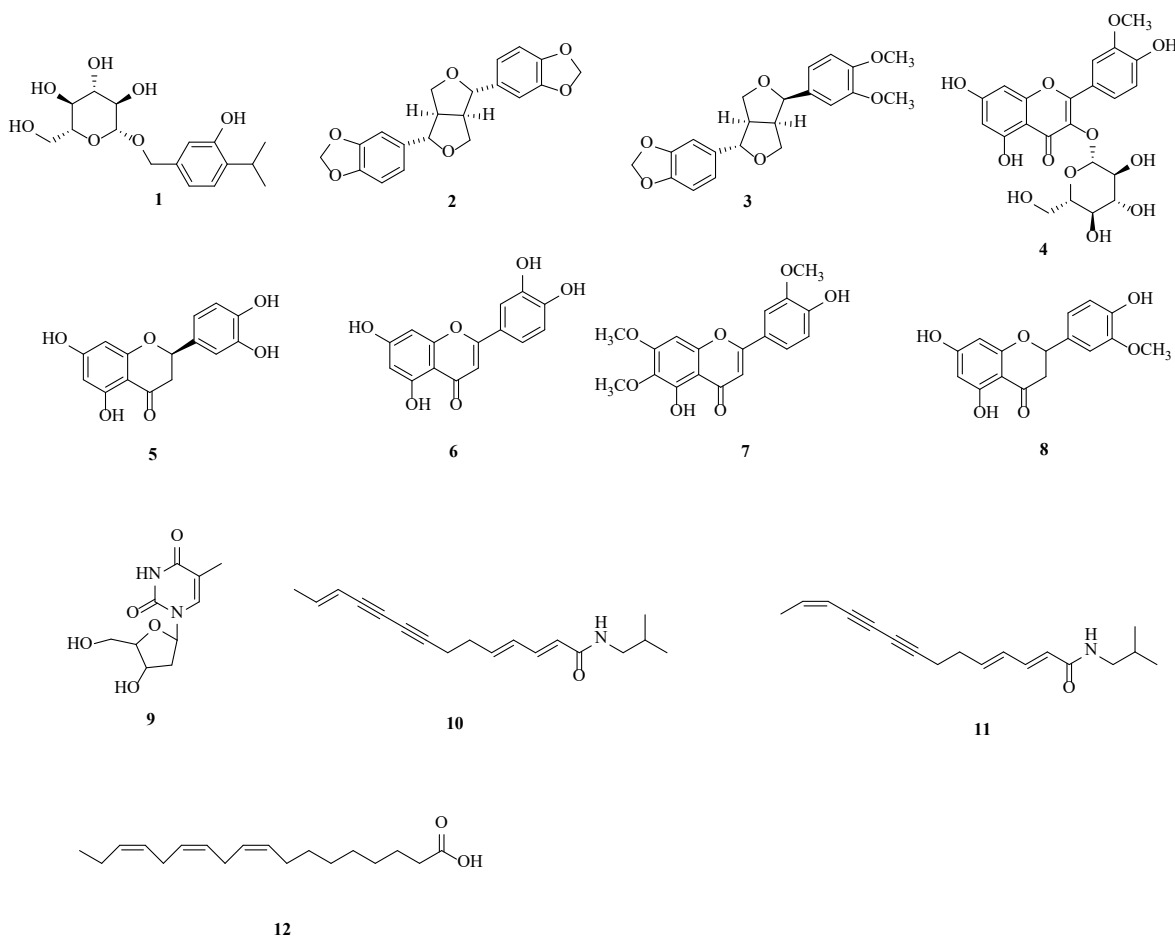


图 1 化合物 1~12 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—12

1 仪器与材料

AVANCE III 500 M 型核磁共振仪(德国布鲁克公司), Agilent 1260 系列分析液相和半制备液相(美国安捷伦科技有限公司), MCP 5100 高精度数字旋光仪(奥地利安东帕有限公司), 5600 三重四级杆质谱仪(美国 AB SCIEX 公司), Q-Exactive 高分辨液相色谱质谱联用仪(美国 ThermoFisher Scientific),

Evolution-201 紫外可见分光光度计(赛默飞世尔科技有限公司), Nicolet iS5 傅里叶红外光谱仪(赛默飞世尔科技有限公司); SpectraMax iD5 多功能酶标仪(上海美谷分子仪器有限公司)。

分析柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m), 半制备柱(250 mm $\times$ 10 mm, 5 μ m)均购于日本 YMC 公司; C₁₈ 反相柱色谱填料(日本 YMC 公司), 十八烷基

硅烷键合硅胶 200~300 目(青岛海洋化工有限公司),薄层色谱硅胶板(烟台江友硅开发有限公司),葡聚糖凝胶(美国通用电气公司);96 孔板和培养皿(无锡耐思生命科技有限公司);分析纯甲醇、二氯甲烷(天津市富宇精细化工有限公司),冰醋酸、三氟乙酸和三氯甲烷(上海麦克林生化科技有限公司),色谱纯乙腈、甲醇(广州千川仪器科技有限公司),1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(PMP,美国 Sigma 公司),单糖标准品(*D*-甘露糖、*L*-鼠李糖、*D*-葡萄糖醛酸、*D*-半乳糖醛酸、*D*-葡萄糖、*D*-半乳糖、*L*-木糖、*L*-岩藻糖和 *L*-阿拉伯糖)均购于美国 Fluka 公司;DMSO 和胰蛋白酶(北京索莱宝科技有限公司);DMEM 培养基(美国 Gibco 公司);胎牛血清(上海吉泰依科赛生物科技有限公司);青链霉素混合液(上海拜力生物科技有限公司);特丁基对苯二酚(美国 MedChemExpress LLC 公司,批号 HY-100489)。

野菊花药材于 2020 年 5 月采购于河南省焦作市,由河南中医药大学谢治深教授鉴定为菊科植物野菊 *C. indicum* L. 的干燥头状花序,样品标本(YJ2020)保存在河南中医药大学中药化学实验室 BN 725。

2 提取与分离

野菊花药材共 5.0 kg 用 95%乙醇浸泡提取 3 次(5 L/次,每次浸泡 7 d),合并提取液后减压浓缩,得到粗浸膏 1.0 kg,用适量的水混悬,醋酸乙酯萃取(3 L/次,3 次),减压浓缩得萃取物 304.5 g,后经过硅胶柱色谱(二氯甲烷-甲醇梯度洗脱),TLC、HPLC 分析合并得 12 个组分(Fr. 1~12)。

Fr. 6 (10.4 g) 经硅胶柱色谱(二氯甲烷-甲醇梯度洗脱)得到组分 Fr. 6.2 (6.8 g),Fr. 6.2 经 ODS 硅胶柱色谱、凝胶柱色谱,后经半制备液相色谱(60%甲醇,体积流量 3 mL/min)制备得到化合物 **5** ($t_R=33.6$ min, 11.3 mg)。Fr. 10 (21.0 g) 经硅胶柱色谱梯度洗脱得到 Fr. 10.3 (11.3 g),Fr. 10.3 经过 ODS 柱色谱(10%~100%甲醇)得 Fr. 10.3.2 (400 mg),后经半制备液相色谱(10%甲醇,体积流量 3 mL/min)得到化合物 **9** ($t_R=10$ min, 2.9 mg)。将 Fr. 4 (160.0 g) 经硅胶柱色谱梯度洗脱得到 Fr. 4.11 (9.5 g),通过 ODS 柱色谱(10%~100%甲醇)得到 Fr. 4.11.1~4.11.19;Fr. 4.11.3 (228 mg) 经半制备液相色谱(47%甲醇,体积流量 3 mL/min)得到化合物 **8** ($t_R=28$ min, 10.9 mg),Fr. 4.11.4 (187.1 mg) 经葡聚糖凝胶柱色谱得到化合物 **7** (50.2 mg),Fr.

4.11.6 (104.4 mg) 经半制备液相色谱(60%甲醇,体积流量 3 mL/min)得到化合物 **3** ($t_R=26$ min, 11.3 mg)、**2** ($t_R=38$ min, 11.9 mg),Fr. 4.11.7 (173.4 mg) 经制备液相色谱(70%甲醇,体积流量 10 mL/min)得到化合物 **10** ($t_R=31$ min, 2.7 mg)、**11** ($t_R=33$ min, 17.4 mg),Fr. 4.11.8 (159.3 mg) 经制备液相色谱(80%甲醇-水,体积流量 10 mL/min)得到化合物 **12** ($t_R=50$ min, 11.4 mg)。Fr. 11 (9.1 g) 经硅胶柱色谱梯度洗脱得到 Fr. 11.5 (3.9 g),后经 ODS 柱色谱(25%~100%甲醇-水)得到 Fr. 11.5.1~11.5.10,Fr. 11.5.3 (240 mg) 经制备液相色谱(55%甲醇-水,体积流量 10 mL/min)得化合物 **6** ($t_R=18$ min, 17.5 mg),Fr. 11.5.5 (280.0 mg) 经葡聚糖凝胶柱色谱得化合物 **4** (40.4 mg),后经制备液相色谱(35%甲醇-水,体积流量 10 mL/min)得化合物 **1** ($t_R=60$ min, 24.8 mg)。

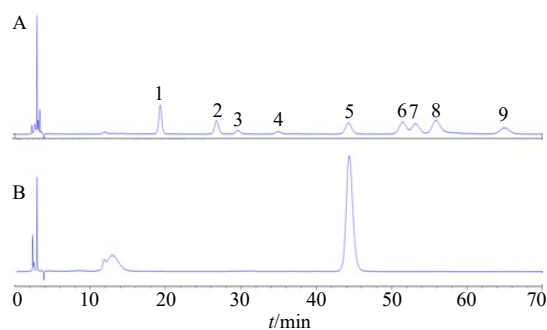
3 水解反应与糖的鉴定

(1) 酸水解:称取 1~2 mg 化合物 **1** 于鸡心瓶中,加 2 mL 去离子水和 2 mL 的 4 mol/L 三氟乙酸(TFA)混匀,密封。放入 110 °C 烘箱中加热水解 4 h。反应完成后,减压蒸干样品。(2) PMP 衍生化过程:加 200 μ L 去离子水溶解水解产物,取出 50 μ L 加入至 2 mL EP 管中,继续加入 0.6 mol/L NaOH 溶液 50 μ L 和现配的 0.5 mol/L PMP 甲醇溶液 100 μ L,混匀。于 70 °C 金属浴中加热 110 min,反应结束后,加入 100 μ L 0.3 mol/L HCl,再加入 600 μ L 去离子水。(3) 萃取:向步骤(2) EP 管中加入三氯甲烷,重复萃取 4 次。取上层水相,用 0.22 μ m 水相微孔滤膜过滤制成供试品。9 种单糖标准品按 1:1 的比例混合而成的混合物用同样的方法进行衍生化,制成标准品^[3]。

HPLC 分析条件:流动相为磷酸盐缓冲液(pH 7.0 的磷酸盐缓冲液与乙腈的体积比为 83:17),柱温为 35 °C,体积流量为 1 mL/min,紫外吸收波长 254 nm,进样量为 10 μ L,检测时间为 70 min。通过对比供试品与标准品的保留时间,见图 2。从而确定化合物 **1** 糖的种类为 *D*-葡萄糖。

4 结构鉴定

化合物 **1**:黄色油状物; $[\alpha]_D^{20} -82.0$ (c 0.10, MeOH)。UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm):219 (3.59), 275 (3.18); IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 395, 2 954, 2 871, 1 615, 1 585, 1 471, 1 372; HR-ESI-MS m/z : 351.141 4 [$\text{M}+\text{Na}$]⁺ ($\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_7\text{Na}$, 351.141 42)。



1-甘露糖; 2-鼠李糖; 3-葡萄糖醛酸; 4-半乳糖醛酸; 5-D-葡萄糖;
6-半乳糖; 7-木糖; 8-阿拉伯糖; 9-岩藻糖。
1-mannose; 2-rhamnose; 3-glucuronic acid; 4-galacturonic acid; 5-D-glucose; 6-galactose; 7-xylose; 8-arabinose; 9-fucose.

图2 单糖标准品 (A) 和化合物 1 (B) 水解 HPLC 色谱图
Fig. 2 Chromatograms of hydrolyzed HPLC analysis of monosaccharide standards (A) and compound 1 (B)

根据高分辨质谱、NMR 数据推测化合物 1 分子式为 $C_{16}H_{24}O_7$ ，不饱和度为 5。IR 光谱图显示该化合物存在羟基 (3395 cm^{-1})、双键 (1615 cm^{-1})。 $^1\text{H-NMR}$ 数据 (表 1) 显示化合物有 2 个甲基质子信号, 2 个亚甲基质子信号。 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据 (表 1) 显示 16 个碳原子信号, 其中有 2 甲基碳、2 个亚甲基碳、9 个次甲基碳、3 个季碳, 该核磁数据与已知的化合物 7-hydroxythymol 3-O- β -D-glucopyranoside 相似^[4]。碳谱显示 δ 155.5 处有个连氧芳碳信号, 推测苯环上连了 1 个羟基。根据化合物 1 的 HMBC 相关信号显示 C-7 与 H-1', 3', 6', 2', 4', 5' 相关, 说明糖苷部分与化合物的 7 位相连; 碳谱上的羟基信号与 H-5, 6, 8 位有相关, 说明羟基连在苯环 3 位。 $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY 谱 (图 3) 显示 H-8 与 H-9, 10 相关, 证明 8 位与 9, 10 位形成了对异丙基。根据以上数据得到该化合物平面结构。其中对化合物 1 进行水解反应与糖的鉴定后, 证明了化合物的糖苷部分为 D-葡萄糖 (图 2)。HSQC 谱图显示 4.37 Hz (1H, d, $J = 7.8$ Hz) 与 102.9 相关, 是 β -D-葡萄糖的端基信号, 所以 7 位连接的是为 β -D-葡萄糖。因此确认化合物 1 的结构为 3-羟基-对异丙苈基- β -D-葡萄糖苷, 经 SciFinder 检索可知, 化合物 1 为新化合物, 命名为野菊苷。

化合物 2: 白色晶体 (甲醇)。分子式为 $C_{20}H_{18}O_6$, ESI-MS m/z : 353.28 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 6.84 (2H, d, $J = 1.7$ Hz, H-2', 2''), 6.82~6.75 (4H, m, H-6', 6'', 5', 5''), 5.94 (4H, s, 2 $\times$ -OCH₂O-), 4.71 (2H, d, $J = 3.9$ Hz, H-2 β , 6 β), 4.25~

表 1 化合物 1 的 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据 (500/125 MHz, CD_3OD)

Table 1 $^1\text{H-NMR}$ and $^{13}\text{C-NMR}$ data for compound 1 (500/125 MHz, CD_3OD)

碳位	δ_{H}	δ_{C}
1		137.0
2	6.84 (1H, d, $J = 1.7$ Hz)	115.9
3		155.5
4		135.7
5	7.12 (1H, d, $J = 7.8$ Hz)	126.9
6	6.87 (1H, dd, $J = 7.8, 1.7$ Hz)	120.7
7	4.84 (1H, d, $J = 11.6$ Hz)	71.6
	4.60 (1H, d, $J = 11.6$ Hz)	
8		27.8
9	1.22 (6H, d, $J = 6.9$ Hz)	23.0
10	1.22 (6H, d, $J = 6.9$ Hz)	23.0
1'	4.37 (1H, d, $J = 7.8$ Hz)	102.9
2'	3.42~3.35 (4H, m)	75.1
3'	3.42~3.35 (4H, m)	78.1
4'	3.42~3.35 (4H, m)	71.7
5'	3.42~3.35 (4H, m)	77.9
6'	3.93 (1H, dd, $J = 12.0, 2.2$ Hz)	62.8
	3.73 (1H, dd, $J = 12.0, 5.6$ Hz)	

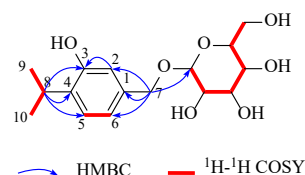


图3 化合物 1 的关键 HMBC 和 $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY 信号
Fig. 3 Key HMBC and $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY correlations of compound 1

4.20 (2H, m, H-4a, 8a), 3.87 (2H, dd, $J = 9.3, 3.2$ Hz, H-4b, 8b), 3.05 (2H, q, $J = 4.1$ Hz, H-1 α , 5 α); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 148.2 (C-3', 3''), 147.3 (C-4', 4''), 135.3 (C-1', 1''), 119.6 (C-6', 6''), 108.5 (C-5', 5''), 106.7 (C-2', 2''), 101.3 (2 $\times$ -OCH₂O-), 86.0 (C-2, 6), 71.9 (C-4, 8), 54.6 (C-1, 5)。以上波谱数据与文献报道数据一致^[5], 故鉴定化合物 2 为芝麻素。

化合物 3: 白色晶体 (甲醇)。分子式为 $C_{21}H_{22}O_6$, ESI-MS m/z : 393.10 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 6.93 (1H, s, H-6'), 6.90~6.76 (5H, m, H-2', 5', 6', 2'', 4''), 5.94 (2H, s, -OCH₂O-), 4.87 (1H, d, $J = 5.6$ Hz, H-2), 4.41 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-6), 4.12 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-4a), 3.90 (3H, s, -OCH₃), 3.87 (3H, s,

-OCH₃), 3.87~3.81 (2H, m, H-4b, 8a), 3.46~3.16 (2H, m, H-1, 8b), 2.87 (1H, q, J = 7.2 Hz, H-5); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 149.0 (C-3'), 148.2 (C-5''), 148.1 (C-3''), 147.4 (C-4'), 135.3 (C-1'), 131.1 (C-1''), 119.7 (C-6'), 117.9 (C-2''), 111.2 (C-4''), 109.1 (C-5'), 108.3 (C-6''), 106.7 (C-2'), 101.2 (-OCH₂O), 87.8 (C-6), 82.2 (C-2), 71.2 (C-4), 69.9 (C-8), 56.1 (2 $\times$ -OCH₃), 54.8 (C-5), 50.3 (C-1)。以上波谱数据与文献报道数据一致^[6], 故鉴定化合物 **3** 为 (1S*,2R*,5S*,6S*)-2-(3,5-dimethoxyphenyl)-6-(3,4-methylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo [3.3.0]octane。

化合物 **4**: 黄色粉末。分子式为 C₂₂H₂₂O₁₂, ESI-MS m/z : 479.13 [M + H]⁺。 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.90 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-2'), 7.56 (1H, dd, J = 8.3, 2.0 Hz, H-6'), 6.88 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 6.34 (1H, s, H-8), 6.16 (1H, s, H-6), 5.43~5.29 (1H, m, H-1''), 3.93 (3H, s, -OCH₃), 3.74~3.26 (6H, m, H-2''~6''); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 179.3 (C-4), 166.2 (C-7), 162.9 (C-5), 158.6 (C-9), 158.4 (C-2), 150.8 (C-4'), 148.3 (C-3'), 135.3 (C-3), 123.8 (C-1'), 123.0 (C-6'), 116.0 (C-2'), 114.3 (C-5'), 105.6 (C-10), 103.8 (C-1''), 100.0 (C-6), 94.8 (C-8), 78.4 (C-3''), 78.0 (C-5''), 75.9 (C-2''), 71.5 (C-4''), 62.6 (C-6''), 56.8 (-OCH₃)。以上波谱数据与文献报道数据一致^[7], 故鉴定化合物 **4** 为槲皮素-3-O- β -D-葡萄糖苷。

化合物 **5**: 黄色粉末。分子式为 C₁₅H₁₂O₆, ESI-MS m/z : 287.25 [M - H]⁻。 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 6.92 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-2'), 6.79 (2H, d, J = 1.6 Hz, H-5', 6'), 5.90 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-6), 5.88 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-8), 5.28 (1H, dd, J = 12.7, 3.0 Hz, H-2), 3.07 (1H, dd, J = 17.2, 12.7 Hz, H-3a), 2.70 (1H, dd, J = 17.1, 3.0 Hz, H-3b); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 197.8 (C-4), 168.4 (C-7), 165.5 (C-5), 164.9 (C-9), 146.9 (C-4'), 146.5 (C-3'), 131.8 (C-1'), 119.2 (C-6'), 116.2 (C-5'), 114.7 (C-2'), 103.4 (C-10), 97.0 (C-6), 96.1 (C-8), 80.5 (C-2), 44.1 (C-3)。以上波谱数据与文献报道数据一致^[8], 故鉴定化合物 **5** 为圣草酚。

化合物 **6**: 黄色粉末。分子式为 C₁₅H₁₀O₆, ESI-MS m/z : 285.15 [M - H]⁻。 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.48~7.24 (2H, m, H-2', 6'), 6.91 (1H, d, J = 9.0 Hz, H-5'), 6.53 (1H, s, H-3), 6.42 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-8), 6.20 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-6); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 183.8 (C-4), 166.3 (C-7), 166.2 (C-

2), 163.2 (C-5), 159.4 (C-9), 151.0 (C-4'), 147.0 (C-3'), 123.7 (C-1'), 120.3 (C-6'), 116.8 (C-5'), 114.1 (C-2'), 105.2 (C-10), 103.8 (C-3), 100.2 (C-6), 95.0 (C-8)。以上波谱数据与文献报道数据一致^[9], 故鉴定化合物 **6** 为 3',4',5,7-四羟基黄酮。

化合物 **7**: 黄色粉末。分子式为 C₁₈H₁₆O₇, ESI-MS m/z : 343.05 [M - H]⁻。 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.46 (1H, dd, J = 8.4, 2.1 Hz, H-6'), 7.42 (1H, s, H-2'), 6.90 (1H, d, J = 8.3 Hz, H-5'), 6.58 (1H, s, H-8), 6.53 (1H, s, H-3), 3.95 (3H, s, H-3'), 3.88 (3H, s, H-6); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 184.2 (C-4), 166.2 (C-2), 158.8 (C-7), 154.6 (C-5), 154.0 (C-9), 152.1 (C-4'), 149.5 (C-3'), 132.9 (C-6), 123.7 (C-1'), 121.7 (C-6'), 116.7 (C-5'), 110.5 (C-2'), 105.1 (C-10), 103.7 (C-3), 95.3 (C-8), 60.9 (6-OCH₃), 56.6 (3'-OCH₃)。以上波谱数据与文献报道数据一致^[10], 故鉴定化合物 **7** 为 cirsilineol。

化合物 **8**: 黄色油状物。分子式为 C₁₆H₁₄O₆, ESI-MS m/z : 301.11 [M - H]⁻。 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.08 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.92 (1H, dd, J = 8.1, 2.0 Hz, H-6'), 6.82 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-5'), 5.91 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-8), 5.89 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-6), 5.36 (1H, dd, J = 12.9, 3.0 Hz, H-2), 3.86 (3H, s, -OCH₃), 3.13 (1H, dd, J = 17.1, 12.9 Hz, H-3a), 2.71 (1H, dd, J = 17.1, 3.0 Hz, H-3b); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 197.8 (C-4), 168.4 (C-7), 165.5 (C-5), 164.9 (C-9), 149.1 (C-3'), 148.1 (C-4'), 131.7 (C-1'), 120.5 (C-6'), 116.1 (C-5'), 111.3 (C-2'), 103.4 (C-10), 97.1 (C-6), 96.2 (C-8), 80.7 (C-2), 56.5 (-OCH₃), 44.2 (C-3)。以上波谱数据与文献报道数据一致^[11], 故鉴定化合物 **8** 为 homoeriodictyol。

化合物 **9**: 白色粉末。分子式为 C₁₀H₁₄N₂O₅, ESI-MS m/z : 265.18 [M + Na]⁺。 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.82 (1H, d, J = 3.7 Hz, H-6), 6.28 (1H, t, J = 6.8 Hz, H-1'), 4.40 (1H, dt, J = 6.7, 3.6 Hz, H-3'), 3.91 (1H, q, J = 3.5 Hz, H-4'), 3.80 (1H, dd, J = 12.0, 3.4 Hz, H-5'a), 3.72 (1H, dd, J = 12.1, 3.7 Hz, H-5'b), 2.48~2.12 (2H, m, H-2'), 1.87 (3H, s, H-CH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 166.5 (C-4), 152.4 (C-2), 138.2 (C-6), 111.5 (C-5), 88.8 (C-4'), 86.2 (C-1'), 72.2 (C-3'), 62.8 (C-5'), 41.2 (C-2'), 12.4 (-CH₃)。以上波谱数据与文献报道数据一致^[12], 故鉴定化合物 **9** 为 thymidine。

化合物 **10**: 白色粉末。分子式为 $C_{18}H_{23}NO$, ESI-MS m/z : 292.13 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.18 (1H, dd, $J = 15.0, 10.7$ Hz, H-3), 6.29 (1H, dq, $J = 15.8, 6.8$ Hz, H-4), 6.19 (1H, dd, $J = 15.2, 10.8$ Hz, H-13), 6.12~6.02 (1H, m, H-5), 5.80 (1H, d, $J = 15.0$ Hz, H-2), 5.50 (2H, d, $J = 15.3$ Hz, H-12), 3.17 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H-2'), 2.44 (2H, dd, $J = 10.5, 4.2$ Hz, H-6), 2.39 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H-7), 1.81 (3H, dd, $J = 6.9, 1.8$ Hz, H-14), 1.61 (1H, s, H-3'), 0.93 (3H, s, H-4'), 0.91 (3H, s, H-5'); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 166.1 (C-1), 143.3 (C-13), 140.6 (C-3), 139.5 (C-5), 129.7 (C-4), 123.1 (C-2), 109.9 (C-12), 81.9 (C-8), 74.5 (C-10), 72.5 (C-11), 66.1 (C-9), 47.0 (C-2'), 31.6 (C-6), 28.7 (C-3'), 20.2 (C-4', 5'), 19.4 (C-7), 18.9 (C-14)。以上波谱数据与文献报道数据一致^[13]。故鉴定化合物 **10** 为 2*E*,4*E*,12*E*-tetradecatriene-8,10-diynoic acid isobutylamide。

化合物 **11**: 白色粉末。分子式为 $C_{18}H_{23}NO$, ESI-MS m/z : 292.16 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.19 (1H, dd, $J = 14.9, 10.8$ Hz, H-3), 6.21 (1H, dd, $J = 15.3, 10.8$ Hz, H-4), 6.18~6.02 (2H, m, H-5, 13), 5.80 (1H, d, $J = 15.0$ Hz, H-2), 5.49 (1H, d, $J = 10.5$ Hz, H-12), 3.16 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H-2'), 2.46 (2H, d, $J = 6.5$ Hz, H-6), 2.40 (2H, dt, $J = 7.8, 4.4$ Hz, H-7), 1.90 (3H, dd, $J = 6.9, 1.7$ Hz, H-14), 1.60 (1H, s, H-3'), 0.94 (3H, d, $J = 2.6$ Hz, H-4'), 0.93 (3H, d, $J = 2.6$ Hz, H-5'); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 166.1 (C-1), 142.6 (C-13), 140.6 (C-3), 139.5 (C-5), 129.7 (C-4), 123.1 (C-2), 109.2 (C-12), 83.3 (C-8), 78.4 (C-11),

72.5 (C-10), 66.0 (C-9), 47.0 (C-2'), 31.6 (C-6), 28.7 (C-3'), 20.2 (C-4', 5'), 19.5 (C-7), 16.5 (C-14)。以上波谱数据与文献报道数据一致^[14]，故鉴定化合物 **11** 为 tetradeca-2*E*,4*E*,12*Z*-trien-8,10-diynoic acid isobutylamide。

化合物 **12**: 黄色油状物。分子式为 $C_{18}H_{30}O_2$, ESI-MS m/z : 277.15 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.51~5.27 (6H, m, H-9, 10, 12, 13, 15, 16), 2.80 (4H, t, $J = 6.2$ Hz, H-11, 14), 2.34 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-2), 2.06 (4H, p, $J = 7.4$ Hz, H-8, 17), 1.62 (2H, q, $J = 7.3$ Hz, H-3), 1.42~1.20 (8H, m, H-4, 5, 6, 7), 0.97 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, H-18); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 179.8 (C-1), 132.0 (C-16), 130.3 (C-9), 128.3 (C-12), 128.3 (C-13), 127.8 (C-10), 127.2 (C-15), 34.0 (C-2), 29.6 (C-7), 29.2 (C-6), 29.1 (C-5), 29.1 (C-4), 27.2 (C-8), 25.7 (C-11), 25.6 (C-14), 24.7 (C-3), 20.6 (C-17), 14.3 (C-18)。以上波谱数据与文献报道数据一致^[15]，故鉴定化合物 **12** 为 α -亚麻酸。

5 活性评价

采用荧光素酶报告基因检测化合物 **1**~**12** 对 Nrf2 的激活作用^[16-17]。将 293T 细胞接种于 96 孔板，待细胞密度为 70% 左右时，每孔转染 100 ng 含有抗氧化反应原件的荧光素酶质粒，24 h 后加入化合物 **1**~**12** (10 $\mu\text{mol/L}$)，以完全培养液作为空白组，特丁基对苯二酚 (TBHQ, 浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$) 作为阳性药，孵育 24 h。弃上清，每孔加入 100 μL 裂解液，充分裂解后，取 30 μL 裂解液至新的 96 孔白板中，随后避光加入荧光素酶底物，多功能酶标仪检测各孔化学发光值。

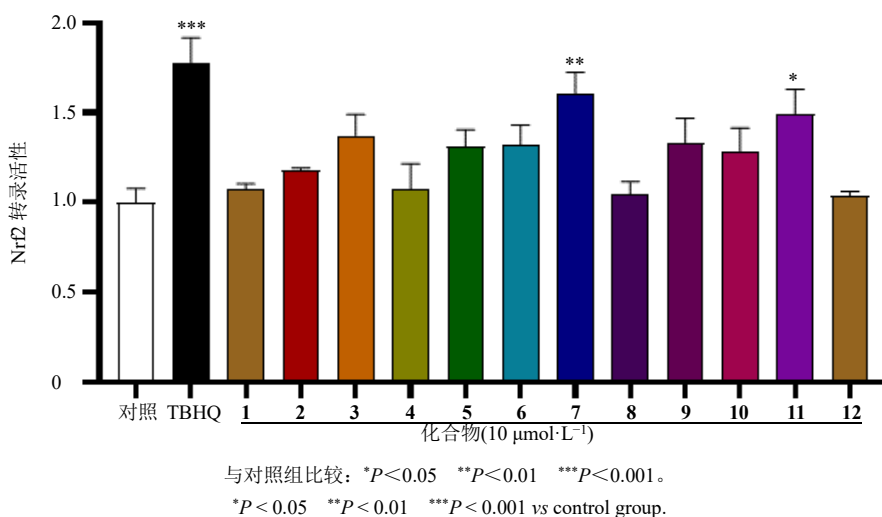


图 4 化合物 **1**~**12** 对 Nrf2 转录活性的评价

Fig. 4 Evaluation of activation of Nrf2 by compounds **1**–**12**

结果(图4)显示,化合物7和11显著激活Nrf2,提示其具有潜在的抗氧化活性。

6 讨论

本研究通过对野菊花95%乙醇提取物进行分离和鉴定,得到12个单体化合物,其中化合物1为新化合物,化合物3、12为菊科中首次分离得到。另外,化合物7和11在10 $\mu\text{mol/L}$ 浓度时能够激活Nrf2,具有潜在的抗氧化活性,其抗氧化作用有待深入研究。本研究丰富了野菊花的次生代谢产物和生物活性,为野菊花的进一步开发利用提供了参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 328.
- [2] Kim I H, Lee T K, Cho J H, *et al.* Pre-treatment with *Chrysanthemum indicum* Linné extract protects pyramidal neurons from transient cerebral ischemia via increasing antioxidants in the gerbil hippocampal CA1 region [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(1): 133-142.
- [3] Dai J, Wu Y, Chen S W, *et al.* Sugar compositional determination of polysaccharides from *Dunaliella salina* by modified RP-HPLC method of precolumn derivatization with 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone [J]. *Carbohydr Polym*, 2010, 82(3): 629-635.
- [4] Ishikawa T, Segi Y, Kitajima J. Water-soluble constituents of ajowan [J]. *Chem Pharm Bull*, 2001, 49(7): 840-844.
- [5] Jayasinghe L, Mallika Kumarihamy B M, Jayarathna K H, *et al.* Antifungal constituents of the stem bark of *Bridelia retusa* [J]. *Phytochemistry*, 2003, 62(4): 637-641.
- [6] Wang W S, Lan X C, Wu H B, *et al.* Lignans from the flower buds of *Magnolia liliflora* Desr [J]. *Planta Med*, 2012, 78(2): 141-147.
- [7] Beck M A, Häberlein H. Flavonol glycosides from *Eschscholtzia californica* [J]. *Phytochemistry*, 1999, 50(2): 329-332.
- [8] Zhou L G, Li D, Wang J G, *et al.* Antibacterial phenolic compounds from the spines of *Gleditsia sinensis* Lam [J]. *Nat Prod Res*, 2007, 21(4): 283-291.
- [9] 邓斌, 侯兵乔, 聂承冬, 等. 卷柏中黄酮类化学成分的分
离与鉴定 [J]. 中国药物化学杂志, 2022, 32(4): 300-304.
- [10] Zater H, Huet J, Fontaine V, *et al.* Chemical constituents, cytotoxic, antifungal and antimicrobial properties of *Centaurea diluta* Ait. subsp. *algeriensis* (Coss. & Dur.) Maire [J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2016, 9(6): 554-561.
- [11] Wang X G, Wei X Y, Tian Y Q, *et al.* Antifungal flavonoids from *Ficus sarmentosa* var. *henryi* (King) Corner [J]. *Agr Sci China*, 2009, 9(5): 690-694.
- [12] 李旺盛, 高天润, 章海燕, 等. 西瑁岛软珊瑚 *Dendronephthya* sp. 的化学成分和生物活性研究 [J]. 中国海洋药物, 2022, 41(2): 7-13.
- [13] Althaus J B, Malyszek C, Kaiser M, *et al.* Alkamides from *Anacyclus pyrethrum* L. and their *in vitro* antiprotozoal activity [J]. *Molecules*, 2017, 22(5): 796.
- [14] 石静亚, 李孟, 曾梦楠, 等. 怀菊花茎叶中一个新聚炔类化合物 [J]. 药学报, 2021, 56(1): 283-288.
- [15] 张秋梅, 孙增玉. 白花蛇舌草化学成分研究 [J]. 中药材, 2014, 37(12): 2216-2218.
- [16] Zhao Y N, Gao G, Ma J L, *et al.* Two new sesquiterpenes from the rhizomes of *Atractylodes macrocephala* and their biological activities [J]. *Nat Prod Res*, 2022, 36(5): 1230-1235.
- [17] Gao G, Xie Z, Li E W, *et al.* Dehydroabiatic acid improves nonalcoholic fatty liver disease through activating the Keap1/Nrf2-ARE signaling pathway to reduce ferroptosis [J]. *Nat Med*, 2021, 75(3): 540-552.

[责任编辑 王文倩]