

独蒜兰中 1 个新的苄酯苷类化合物及抗炎活性

周泽琴^{1,2}, 李汉芬^{1,2}, 胡江苗^{1*}

1. 中国科学院昆明植物研究所 植物化学与天然药物重点实验室, 云南 昆明 650201

2. 中国科学院大学, 北京 100049

摘要: 目的 研究独蒜兰 *Pleione bulbocodioides* 假鳞茎的主要化学成分及抗炎活性。方法 通过 LC-MS 分析主要成分; 使用硅胶柱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱、制备薄层色谱、半制备液相色谱等分离技术进行分离纯化, 通过波谱技术并结合文献对化合物进行结构鉴定; 采用脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的 RAW264.7 小鼠单核巨噬细胞体外炎症模型进行抗炎活性评价。结果 分离得到 20 个化合物, 分别鉴定为对羟基苄基乙醚 (1)、对羟基苯甲醛 (2)、4-(甲氧基甲基) 苯 1,2-二醇 (3)、3,4-二羟基苯甲醛 (4)、对羟基苯乙醇 (5)、反式阿魏酸 (6)、山药素 III (7)、3,3'-二羟基-5-甲氧基-2,6-二(对羟基苄基)联苄 (8)、3',5'-二羟基-3-甲氧基-2-(对羟基苄基)联苄 (9)、3,3'-二羟基-5-甲氧基-2-(对羟基苄基)联苄 (10)、bletistrin D (11)、4-烯丙基-2,6-二甲氧基苄基葡萄糖苷 (12)、1-*O*-(4-羟甲基苯氧基)-2-*O*-反式肉桂酰- β -*D*-葡萄糖苷 (13)、1-*O*-(4-羟甲基苯氧基)-6-*O*-反式肉桂酰- β -*D*-葡萄糖苷 (14)、militarine (15)、bletistroside D (16)、天麻素 (17)、1-[4'-*O*-(β -*D*-吡喃葡萄糖基)苄基]-2-*O*-(β -*D*-吡喃葡萄糖基)-4-{4''-*O*-(3'''-*O*-反式阿魏酰基)- β -*D*-吡喃葡萄糖基}苄基}-(2*R*)-2-异丁基琥珀酸酯 (18)、bletistroside C (19) 和 dactylorhin A (20)。对化合物 7、8、15、16、18~20 进行了抗炎活性筛选, 化合物 7、15、20 在 50 μ mol/L 时对 NO 的抑制率达到 42.5%、23.1% 和 23.6%。结论 化合物 18 为新化合物, 命名为白及琥珀酯苷 M (bletistroside M), 化合物 8、11~14、16 和 19 均是首次从该植物中分离得到; LC-MS 显示独蒜兰的主要化学成分是山药素 III (7)、militarine (15) 和 dactylorhin A (20)。此外, 化合物 7 对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞炎症反应的抑制作用最好。

关键词: 独蒜兰; 抗炎活性; 2-异丁基苹果酸葡萄糖氧基苄酯苷; 山药素 III; 白及琥珀酯苷 M

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)01-0016-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.01.003

A new glucosyloxybenzyl derivative from *Pleione bulbocodioides* and anti-inflammatory activity

ZHOU Zeqin^{1,2}, LI Hanfen^{1,2}, HU Jiangmiao¹

1. Key Laboratory of Phytochemistry and Natural Medicines, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Science, Kunming 650201, China

2. University of Chinese Academy of Science, Beijing 100049, China

Abstract: Objective To study the main chemical constituents of *Pleione bulbocodioides* and the anti-inflammatory activities. **Methods** The main compounds were analyzed by LC-MS; Silica gel column, Sephadex LH-20 gel column chromatography, preparative thin-layer chromatography and semi-preparative liquid chromatography were used to isolate and purify these compounds. The structures of the isolated compounds were identified by spectroscopy (MS and NMR) methods; All the isolates were tested for the anti-inflammatory activities using the lipopolysaccharide (LPS)-activated of RAW264.7 cells. **Results** A total of 20 compounds were isolated and identified as *p*-hydroxybenzyl ethyl ether (1), *p*-hydroxybenzaldehyde (2), 4-(methoxymethyl)benzene-1,2-diol (3), 3,4-dihydroxybenzaldehyde (4), *p*-hydroxybenzyl alcohol (5), (*E*)-ferulic acid (6), batatasin III (7), 3,3'-dihydroxy-5-methoxy-2,6-bis(*p*-hydroxybenzyl)bibenzy (8), 3',5'-dihydroxy-3-methoxy-2-(*p*-hydroxybenzyl)bibenzy (9), 3,3'-dihydroxy-5-methoxy-2-(*p*-hydroxybenzyl)bibenzy (10), bleistrin D (11), 4-allyl-2,6-dimethoxyphenyl glucoside (12), 1-*O*-(4-hydroxymethylphenoxy)-2-*O*-*trans*-cinnamoyl- β -*D*-glucoside (13), 1-*O*-(4-hydroxymethylphenoxy)-6-*O*-*trans*-cinnamoyl- β -*D*-glucoside (14), militarine (15),

收稿日期: 2024-10-14

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (32170407)

作者简介: 周泽琴, 女, 硕士研究生, 研究方向为植物化学与植物资源。E-mail: zhouzeqin@mail.kib.ac.cn

*通信作者: 胡江苗, 男, 研究员, 博士生导师, 从事药物化学研究。E-mail: hujiangmiao@mail.kib.ac.cn

bletistroside D (16), gastrodin (17), 1-[4'-O-(β -D-glucopyranosyloxy) benzyl]-2-O-(β -D-glucopyranosyloxy)-4-{4''-O-[(3'''-O-(E)-feruloyl)- β -D-glucopyranosyloxy] benzyl}-(2R)-2-isobutylsuccinate (18), bletistroside C (19) and dactylorhin A (20). Compounds 7, 8, 15, 16, 18—20 are screened for anti-inflammatory activity. Compounds 7, 15 and 20 showed 42.5 %, 23.1 % and 23.6 % inhibition of NO at 50 μ mol/L. **Conclusion** Compound 18 is identified as a novel compound and named bletistroside M; Compounds 8, 11—14, 16 and 19 are obtained from this plant for the first time; LC-MS showed that the main chemical constituents were batatasin III (7), militarine (15) and dactylorhin A (20). In addition, compound 7 showed the best anti-inflammatory effects.

Key words: *Pleione bulbocodioides* (Franch.) Rolfe; anti-inflammatory activity; glucosyloxybenzyl 2-isobutylmalates; batatasin III; bletistroside M

独蒜兰 *Pleione bulbocodioides* (Franch.) Rolfe 为兰科 (Orchidaceae) 独蒜兰属 *Pleione* D. Don 植物。《中国药典》将独蒜兰、云南独蒜兰、杜鹃兰的干燥假鳞茎作为中药山慈菇的来源, 传统用于清热解毒、化痰、疖、痈、脓痰、蛇虫咬伤、腹部肿块等^[1]。独蒜兰的植物化学研究发现含有丰富的联苄类、菲类和葡萄糖氧基苄基琥珀酸酯类化合物^[2]。除此之外还有少量的黄酮、木脂素和简单酚类等成分。现代药理学研究表明, 独蒜兰的次生代谢产物具有抗肿瘤、抗氧化、抗炎、保肝、抗菌和神经保护等活性^[3]。此外, 以山慈菇为主的中药方剂主要应用于呼吸系统、泌尿系统、消化系统和内分泌代谢系统疾病的治疗。《中国药典》2020 年版只限于原植物品种、药材性状和简单的理化鉴别, 并没有对山慈菇药材的质量检测标准和含量测定提供明确的规定。为了给山慈菇原料药材质量控制体系提供科学依据, 本实验采用 LC-MS 对独蒜兰假鳞茎 95%乙醇提取物进行主要成分分析, 并对主成分进行分离鉴定, 共分离得到 20 个化合物, 分别鉴定为对羟基苄基乙醚 (*p*-hydroxybenzyl ethyl ether, 1)、对羟基苯甲醛 (*p*-hydroxybenzaldehyde, 2)、4-(甲氧基甲基)苯 1,2-二醇 [4-(methoxymethyl)benzene-1,2-diol, 3]、3,4-二羟基苯甲醛 (3,4-dihydroxybenzaldehyde, 4)、对羟基苯乙醇 (*p*-hydroxybenzyl alcohol, 5)、反式阿魏酸 [(*E*)-ferulic acid, 6]、山药素 III (batatasin III, 7)、3,3'-二羟基-5-甲氧基-2,6-二(对羟基苄基)联苄 [3,3'-dihydroxy-5-methoxy-2,6-bis(*p*-hydroxybenzyl) bibenzyl, 8]、3',5'-二羟基-3-甲氧基-2-(对羟基苄基)联苄 [3',5'-dihydroxy-3-methoxy-2-(*p*-hydroxybenzyl) bibenzyl, 9]、3,3'-二羟基-5-甲氧基-2-(对羟基苄基)联苄 [3,3'-dihydroxy-5-methoxy-2-(*p*-hydroxybenzyl) bibenzyl, 10]、bletistrin D (11)、4-烯丙基-2,6-二甲氧基苄基葡萄糖苷 (4-allyl-2,6-dimethoxyphenyl glucoside, 12)、1-O-(4-羟甲基苯氧基)-2-O-反式肉桂酰- β -D-葡萄糖苷 [1-O-(4-hydroxymethylphenoxy)-

2-O-*trans*-cinnamoyl- β -D-glucoside, 13]、1-O-(4-羟甲基苯氧基)-6-O-反式肉桂酰- β -D-葡萄糖苷 [1-O-(4-hydroxymethylphenoxy)-6-O-*trans*-cinnamoyl- β -D-glucoside, 14]、militarine (15)、bletistroside D (16)、天麻素 (gastrodin, 17)、1-[4'-O- β -D-吡喃葡萄糖基]苄基]-2-O-(β -D-吡喃葡萄糖基)-4-{4''-O-[(3'''-O-反式阿魏酰基)- β -D-吡喃葡萄糖基]苄基}-(2R)-2-异丁基琥珀酸酯 (1-[4'-O-(β -D-glucopyranosyloxy) benzyl]-2-O-(β -D-glucopyranosyloxy)-4-{4''-O-[(3'''-O-(*E*)-feruloyl)- β -D-glucopyranosyloxy] benzyl}-(2R)-2-isobutylsuccinate, 18)、bletistroside C (19) 和 dactylorhin A (20)。其中化合物 18 为新化合物, 命名为白及琥珀酯苷 M (bletistroside M); 且化合物 8、11~14、16 和 19 均是首次从该植物中分离得到。同时对化合物 7、8、15、16、18~20 进行了抗炎活性筛选, 主要成分山药素 III (7)、militarine (15) 和 dactylorhin A (20) 对 NO 的生成具有抑制作用, 具有较好的抗炎活性。以上研究对独蒜兰的进一步开发利用、完善山慈菇的质量控制体系提供了理论依据。

1 仪器与材料

Avance III 500 MHz 核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司); 旋转蒸发仪 (德国 Heidolph 公司); Autopol VI 旋光仪 (德国鲁道夫公司); Agilent UPLC/Q-TOF 液质联用仪 (美国 Agilent 公司); Shimadzu UV2401PC 型紫外可见分光光度计 (日本 Shimadzu 公司); NICOLET IS10Thermo 中红外光谱仪 (赛默飞世尔公司); Agilent1100 液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); Zorbax SB-C₁₈ 半制备色谱柱 (250 mm $\times$ 9.4 mm, 5 μ m, 美国 Agilent 公司); 硅胶板 GF₂₅₄ (青岛康业鑫药用硅胶干燥剂有限公司); 200~300 目柱色谱硅胶 (青岛康业鑫药用硅胶干燥剂有限公司); Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (GE Healthcare BioSciences AB 公司)。小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 购自中科院上海细胞库, DMEM 培养基和

胎牛血清购自 VivaCell 公司。Griess Reagent、LPS 及对照药物总 NOS 抑制剂 (N^G -monomethyl-L-arginine, monoacetate salt, L-NMMA, 批号 0000192702) 购自 Sigma 公司。分析纯甲醇、乙腈、无水乙醇 (GENERAL-REAGENT 公司), 工业级甲醇、醋酸乙酯、石油醚、甲醇 (云南利妍科技有限公司), 工业级丙酮、氯仿 (昆明仟程翔商贸有限公司)。

独蒜兰假鳞茎购自云南昭通芸生农业科技发展有限公司, 经中国科学院昆明植物研究所张伟副研究员鉴定为兰科独蒜兰属植物独蒜兰 *P. bulbocodioides* (Franch.) Rolfe。

2 方法

2.1 色谱与质谱条件

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 BP-C₁₈ Plus (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈 (A)-水 (B); 梯度洗脱条件: 0~60 min, 10%~100% A; 进样体积 5 μL ; 检测波长 224 nm; 体积流量 0.8 mL/min; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.1.2 质谱条件 质量检测器设定为 ESI 负离子模式。干燥气温度 350 $^{\circ}\text{C}$; 干燥气流量 8 L/min; 雾化器压力 206.84 kPa; 毛细管电压 3 500 V; 碎裂电压 -175 V; 锥孔电压: -65 V; 相对分子质量扫描范围 m/z 50~1 700。

2.2 提取与分离

独蒜兰假鳞茎鲜品 18 kg 破碎后每次用 20 L 95%乙醇热浸 (30 $^{\circ}\text{C}$) 提取 3 次, 每次提取 3 h。将提取液滤过、合并、减压浓缩后, 依次用等体积石油醚、醋酸乙酯和正丁醇萃取, 得到石油醚浸膏 32 g、醋酸乙酯浸膏 50 g、正丁醇浸膏 100 g。

醋酸乙酯浸膏 (50 g) 经正相硅胶柱色谱 (氯仿-甲醇 90:1~1:1) 梯度洗脱、TLC 检测合并相同组分, 得到 7 个组分: A (1 g)、B (6 g)、C (8 g)、D (2 g)、E (4 g)、F (4 g)、G (9 g)。组分 B (6 g) 以石油醚-醋酸乙酯 (10:1~0:1) 为流动相进行正相硅胶柱色谱分离, 得到化合物 **1** (B11, 77 mg), 亚组分 B 17 (60 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (氯仿-甲醇 1:1) 分离得到化合物 **2** (5 mg)。组分 C (8 g) 通过 MCI 柱色谱 (30%甲醇-100%甲醇) 得到 11 个亚组分 (C1~C11)。亚组分 C2 (1.5 g) 部分通过反复重结晶得到化合物 **5** (1 g)。亚组分 C3 (157 mg) 经过 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (氯仿-甲醇 1:1) 分离得到化合物 **3** (3 mg) 和 **4** (2.3 mg)。亚组分 C6 (1.3 g) 经过反复重结晶

得到化合物 **6** (300 mg)。亚组分 C9 (1.2 g) 经过 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (甲醇) 分离得到化合物 **7** (741.6 mg)。组分 E (4 g) 通过 MCI 柱色谱 (30%~100%甲醇) 得到 3 个亚组分 (E1~E3)。E2 (1.7 g) 经过半制备 HPLC (60%甲醇) 分离纯化得到化合物 **9** (11 mg, t_{R} =26.1 min) 和 **10** (8 mg, t_{R} =28.8 min)。组分 F (4 g) 经过 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (氯仿-甲醇 1:1) 分离得到 3 个亚组分 (F1~F3)。亚组分 F2 (2.9 g) 经硅胶柱色谱 (氯仿-甲醇 20:1) 分离得到化合物 **8** (2 g)。组分 G (9 g) 通过 MCI 柱色谱 (30%~100%甲醇) 得到 5 个亚组分 (G1~G5)。亚组分 G1 (222 mg) 经过半制备 HPLC (60%甲醇) 分离纯化得到化合物 **12** (4 mg, t_{R} =10.1 min)。亚组分 G2 (353 mg) 通过 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (甲醇)、制备硅胶板 (氯仿-甲醇 15:1) 以及重结晶得到化合物 **13** (4 mg) 和 **14** (7 mg)。亚组分 G4 (200 mg) 通过 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (甲醇)、制备硅胶板 (氯仿-甲醇 15:1) 得到化合物 **11** (21 mg)。

正丁醇部分 (100 g) 经硅胶柱色谱 (氯仿-甲醇-水 10:1:0.1~1:1:0.1) 梯度洗脱, TLC 检测合并相同组分, 得到 5 个组分: A (4.7 g)、B (13 g)、C (11.2 g)、D (3.6 g)、E (13.7 g)。组分 B (13 g) 部分经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (甲醇) 分离得到 7 个亚组分 (B1~B7)。亚组分 B2 (2 g) 经过 RP-8 柱, 梯度洗脱 (20%~100%甲醇) 得到化合物 **16** (1.1 g)。亚组分 B3 (9 g) 经过硅胶柱色谱 (氯仿-甲醇 12:1)、RP-8 柱梯度洗脱 (20%~100%甲醇)、制备硅胶板 (氯仿-甲醇 10:1) 得到化合物 **17** (22 mg)。组分 C (11.2 g) 经过 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (95%甲醇) 分离得到 6 个亚组分 (C1~C6)。亚组分 C3 (4.6 g) 经过 RP-8 柱梯度洗脱 (20%~100%甲醇) 得到化合物 **15** (3.4 g)。亚组分 C4 (4.7 g) 部分经过 RP-8 柱梯度洗脱 (20%甲醇/水-100%甲醇)、硅胶柱色谱 (氯仿-甲醇-醋酸乙酯 7:2:1) 得到化合物 **18** (10 mg) 和 **19** (44 mg)。组分 E (13.7 g) 经过 RP-8 梯度洗脱 (10%~100%甲醇) 得到化合物 **20** (7 g)。

2.3 化合物 18 的酸水解和衍生化

按照文献方法^[4], 称取 3 mg 化合物 **18** 溶解于 0.5 mL 甲醇, 加入 1 mL 的 2 mol/L 的三氟乙酸, 90 $^{\circ}\text{C}$ 水解 2 h, 醋酸乙酯萃取 3 次, 合并水层部分, 浓缩蒸干。将化合物 **18** 的酸水解产物、2 mg *D*-葡

葡萄糖和 2 mg *L*-葡萄糖分别溶于含有 5 mg *L*-半胱氨酸甲酯的 1 mL 的吡啶溶液中, 于 60 °C 反应 1 h, 再加入 1 mL 三甲基硅基咪唑在相同温度下反应 1 h。反应完毕后进行 GC 分析。

2.4 活性测试

采用 LPS 刺激小鼠巨噬细胞 RAW264.7, 检测待测化合物对 NO 释放量的影响。实验设置模型组 (1 μg/mL LPS)、阳性药物组 (1 μg/mL LPS+50 μmol/L *L*-NMMA) 和样品组 (1 μg/mL LPS+50 μmol/L 待测化合物), 以总 NOS 抑制剂 *L*-NMMA (50 μmol/L) 为阳性对照。细胞过夜培养后取培养基检测 NO 生成, 在 570 nm 处测定吸光度 (*A*) 值。在剩余培养基中加入 MTS 进行细胞存活率检测, 排除化合物对细胞的毒性影响。

$$\text{NO 生成抑制率} = (A_{\text{模型}} - A_{\text{样品}}) / A_{\text{模型}}$$

3 结果

3.1 UPLC-Q-TOF-MS 色谱图的采集及主要化学成分鉴定

在负离子模式下采集粗样的色谱图, 见图 1。结合粗样的 HPLC 图, 峰 1、2、3 是独蒜兰的主要化学成分, t_R 分别为 15.1、19.2 和 29.6 min, 负离子模式下分别给出准分子离子峰 m/z 887.321 5 [$M-H$]⁻、 m/z 725.267 5 [$M-H$]⁻ 和 m/z 243.103 1 [$M-H$]⁻, 初步鉴定峰 1 为化合物 20, 峰 2 为化合物 15, 峰 3 为化合物 7。

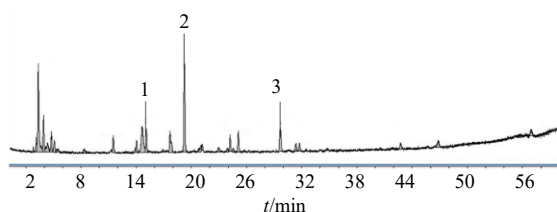


图 1 负离子模式下的总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatogram in negative ion mode

3.2 结构鉴定

化合物 18: 白色胶状物。负离子 ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z 1063 [$M-H$]⁻, 由高分辨质谱 (–) HR-ESI-MS (m/z 1063.365 7 [$M-H$]⁻, 计算值 1063.366 4), 推断分子式为 $C_{50}H_{64}O_{25}$, 不饱和度为 19。其 IR (KBr) 显示含有羟基 (3 424 cm^{-1}), 酯羰基 (1 728 cm^{-1}), 芳香环 (1 630、1 513 cm^{-1})。[α]_D²⁵ –15.91 (c 0.132, MeOH); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 222 (+5.5); ECD (MeOH) $\lambda_{\max}$ ($\Delta\epsilon$) 219 (+8.3) nm。分

析 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 谱图, δ_H 0.90 (3H, d, J = 6.3 Hz, H-7), 0.81 (3H, d, J = 6.3 Hz, H-8), 1.77 (2H, m, H-5b, 6), 1.68 (1H, m, H-5a), 提示有 1 个异丁基存在; δ_H 7.29 (4H, d, J = 8.7 Hz, H-2', 6', 2'', 6''), 7.09 (4H, d, J = 8.7 Hz, H-3', 5', 3'', 5''), 5.11 (1H, d, J = 11.9 Hz, H-7'b), 5.04 (1H, d, J = 11.9 Hz, H-7'a), 5.03 (1H, d, J = 11.9 Hz, H-7'b), 4.93 (1H, d, J = 11.9 Hz, H-7'a) 提示有 2 个对羟基苄基存在; δ_H 7.21 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-Cin-2), 7.09 (1H, dd, J = 2.1, 8.5 Hz, H-Cin-6), 6.83 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-Cin-5) 和 δ_H 7.69 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-Cin-7), 6.46 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-Cin-8) 则提示有 3,4-二取代的反式桂皮酰基存在。进一步分析 NMR 数据, δ_H 4.93 (1H, d, J = 7.3 Hz, H-1'''), δ_C 102.2; δ_H 5.05 (1H, d, J = 7.9 Hz, H-1'''), δ_C 102.2; δ_H 4.84 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-1'''), δ_C 100.1, 提示有 3 个糖单元存在。在 ¹³C-NMR 中, 3 个糖单元的特征 (表 1) 与吡喃葡萄糖基的特征一致^[5], 且葡萄糖端基质子 H-1''', H-1''', H-1'''' 的偶合常数分别为 7.3, 7.9, 7.8 Hz, 可知 3 个葡萄糖 (Glc''', Glc'', Glc''') 均以 β 键和苷元连接^[6]。化合物 18 酸水解产物的三甲基硅基咪唑衍生物经过 GC 分析 t_R = 18.770 min (衍生化的 *D*-glc, t_R = 18.774 min; *L*-glc, t_R = 19.425 min) 确定化合物中所有的葡萄糖均为 *D* 型。通过分析 HMBC 图谱 (图 2): H-5a 和 5b 与 C-1, 2 相关, H-3 和 C-1, 2, 4 相关可推断出异丁基苹果酸单元; H-1'''' 与 C-2 相关, 可以推测出 Glc'''' 与 C-2 相连。综合分析核磁图谱, H-1''' 和 C-4', H-1'''' 和 C-4'' 之间的 HMBC 相关表明存在 4'-*O*-(β -*D*-吡喃葡萄糖基)苄基和 4''-*O*-(β -*D*-吡喃葡萄糖基)苄基单元; H-7' 和 C-1, H-7'' 和 C-4 的 HMBC 相关表明这 2 个 4-*O*-(β -*D*-吡喃葡萄糖基)苄基单元分别在 C-1 和 C-4 处酯化。H-3'''' 和 C-Cin-9 之间的 HMBC 相关表明反式桂皮酰氧基与 Glc'''' 相连; -OCH₃ (δ_H 3.88, 3H, s) 和 C-Cin-3 (δ_C 149.4) 的远程 HMBC 相关以及 -OCH₃ 和 H-Cin-2 (δ_H 7.21) 的 ROESY 相关表明甲氧基位于 C-Cin-3, 剩下的羟基则位于 C-Cin-4。基于以上推导, 可知化合物 18 是 bletistroside D 的类似物, 其区别在于反式桂皮酰基的 3、4 位上分别有甲氧基和羟基取代。为了进一步确定化合物 18 的绝对构型, 对该化合物进行碱水解, 由于样品量有限没有得到 2-isobutylmalate acid。通过查阅文献可知目前文献报道的异丁基苹果酸酯类化合物中 C-2 的绝对构型均为 *R*^[6-7], 因此从生源合成途径推测该化

表 1 化合物 18 的 ^1H - 和 ^{13}C -NMR 数据 (500/125 MHz, CD_3OD)
Table 1 ^1H - and ^{13}C -NMR(500/125 MHz, CD_3OD) date of compound 18

碳位	δ_{H}	δ_{C}	碳位	δ_{H}	δ_{C}
1		174.9	6'''a	3.70 (dd, $J = 12.1, 5.5$ Hz)	62.5
2		81.5	6'''b	3.88 (dd, $J = 12.1, 2.2$ Hz)	
3a	3.03 (d, $J = 17.9$ Hz)	43.6	1''''	5.05 (d, $J = 7.9$ Hz)	102.2
3b	3.19 (d, $J = 17.9$ Hz)		2''''	3.69 (overlapped)	73.3
4		172.0	3''''	5.18 (t, $J = 9.4$ Hz)	78.8
5a	1.68 (m)	49.9	4''''	3.67 (overlapped)	69.6
5b	1.77 (overlapped)		5''''	3.58 (overlapped)	78.0
6	1.77 (overlapped)	24.9	6''''a	3.75 (dd, $J = 12.1, 5.3$ Hz)	62.2
7	0.90 (d, $J = 6.3$ Hz)	24.7	6''''b	3.91 (dd, $J = 12.1, 2.2$ Hz)	
8	0.81 (d, $J = 6.3$ Hz)	24.2	1'''''	4.84 (d, $J = 7.8$ Hz)	100.0
1'		130.6	2'''''	3.20 (overlapped)	75.5
2',6'	7.29 (d, $J = 8.7$ Hz)	131.5	3'''''	3.30 (overlapped)	78.3
3',5'	7.09 (d, $J = 8.7$ Hz)	117.9	4'''''	3.30 (overlapped)	70.9
4'		159.2	5'''''	2.93 (overlapped)	77.9
7'a	5.04 (d, $J = 11.9$ Hz)	68.3	6'''''a	3.56 (overlapped)	62.3
7'b	5.11 (d, $J = 11.9$ Hz)		6'''''b	3.56 (overlapped)	
1''		131.0	Cin-1		127.8
2'',6''	7.29 (d, $J = 8.7$ Hz)	131.4	Cin-2	7.21 (d, $J = 2.1$ Hz)	111.8
3'',5''	7.09 (d, $J = 8.7$ Hz)	117.9	Cin-3		149.4
4''		159.2	Cin-4		150.6
7''a	4.93 (d, $J = 11.9$ Hz)	67.4	Cin-5	6.83 (d, $J = 8.5$ Hz)	116.5
7''b	5.03 (d, $J = 11.9$ Hz)		Cin-6	7.09 (dd, $J = 8.5, 2.1$ Hz)	124.1
1'''	4.93 (d, $J = 7.3$ Hz)	102.2	Cin-7	7.69 (d, $J = 15.9$ Hz)	147.0
2'''	3.47 (overlapped)	74.9	Cin-8	6.46 (d, $J = 15.9$ Hz)	115.8
3'''	3.47 (overlapped)	78.1	Cin-9		169.1
4'''	3.40 (overlapped)	71.3	Cin-OCH ₃	3.88 (s)	56.1
5'''	3.47 (overlapped)	77.6			

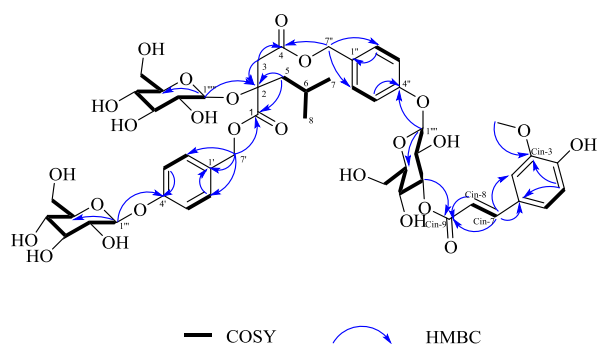


图 2 化合物 18 的 ^1H - ^1H COSY 相关和关键的 HMBC 相关
Fig. 2 ^1H - ^1H COSY correlations and key HMBC correlations of compound 18

化合物的 C-2 绝对构型亦为 *R*。上述分析结果表明化合物 18 的结构为 1-[4'-*O*-(β -*D*-吡喃葡萄糖基)苄基]-2-*O*-(β -*D*-吡喃葡萄糖基)-4-{4''-*O*-(3'''-*O*-反式阿魏

酰基)- β -*D*-吡喃葡萄糖基]苄基}-(2*R*)-2-异丁基琥珀酸酯, 经检索为 1 个新化合物, 命名为白及琥珀酯苷 M。

化合物 1: 黄色油状物; ESI-MS m/z : 153 [$\text{M} + \text{H}$]⁺; $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_2$; ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.17 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2, 6), 6.74 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3, 5), 4.43 (2H, s, H-7), 3.54 (2H, q, $J = 7.0$ Hz, H-8), 1.23 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, H-9); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 155.6 (C-4), 129.9 (C-1), 129.7 (C-2, 6), 115.4 (C-3, 5), 72.5 (C-7), 65.6 (C-8), 15.1 (C-9)。以上数据与文献报道基本一致^[8], 故鉴定化合物 1 为对羟基苄基乙醚。

化合物 2: 白色粉末; ESI-MS m/z : 123 [$\text{M} + \text{H}$]⁺; $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2$; ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 9.75 (1H, s, H-7), 7.76 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2, 6), 6.90 (2H, d, $J =$

8.6 Hz, H-3, 5); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 192.8 (C-7), 165.2 (C-4), 133.4 (C-2, 6), 130.3 (C-1), 116.9 (C-3, 5)。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **2** 为对羟基苯甲醛。

化合物 **3**: 棕色粉末; ESI-MS m/z : 155 $[\text{M}+\text{H}]^+$; $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_3$; ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 6.84 (1H, s, H-3), 6.80 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-6), 6.75 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-5), 4.35 (2H, s, H-7), 3.38 (3H, s, 7-OCH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 143.9 (C-4), 143.8 (C-3), 130.5 (C-1), 121.2 (C-6), 115.5 (C-5), 115.2 (C-2), 74.7 (C-7), 57.9 (7-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **3** 为 4-(甲氧基甲基)苯 1,2-二醇。

化合物 **4**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 139 $[\text{M}+\text{H}]^+$; $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$; ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 9.67 (1H, s, H-7), 7.30 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2), 7.28 (1H, dd, $J=8.0, 2.0$ Hz, H-6), 6.80 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-5); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 193.1 (C-7), 153.8 (C-4), 147.2 (C-3), 130.8 (C-1), 126.4 (C-6), 116.2 (C-5), 115.3 (C-2)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **4** 为 3,4-二羟基苯甲醛。

化合物 **5**: 白色结晶 (甲醇); ESI-MS m/z : 125 $[\text{M}+\text{H}]^+$; $\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_2$; ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.17 (2H, d, $J=8.0$ Hz, H-2, 6), 6.76 (2H, d, $J=8.0$ Hz, H-3, 5), 4.47 (2H, s, H-7); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 157.8 (C-4), 133.5 (C-1), 129.9 (C-2, 6), 116.1 (C-3, 5), 65.1 (C-7)。以上化合物与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **5** 为对羟基苯甲醇。

化合物 **6**: 白色针状结晶 (甲醇); ESI-MS m/z : 195 $[\text{M}+\text{H}]^+$; $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$; ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.58 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-7), 7.17 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H-2), 7.06 (1H, dd, $J=8.1, 1.8$ Hz, H-6), 6.80 (1H, d, $J=8.1$ Hz, H-5), 6.30 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-8), 3.89 (3H, s, 3-OCH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 171.1 (C-9), 150.5 (C-3), 149.4 (C-4), 146.9 (C-7), 127.8 (C-1), 124.0 (C-6), 116.5 (C-5), 116.0 (C-2), 111.7 (C-8), 56.4 (3-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **6** 为反式阿魏酸。

化合物 **7**: 红色油状物; ESI-MS m/z : 243 $[\text{M}-\text{H}]^-$; $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_3$; ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.05 (1H, t, $J=7.7$ Hz, H-5'), 6.65 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-6'), 6.62 (1H, s, H-2'), 6.59 (1H, dd, $J=8.0, 2.5$ Hz, H-4'),

6.23 (1H, d, $J=1.9$ Hz, H-2), 6.21 (1H, d, $J=1.9$ Hz, H-6), 6.18 (1H, t, $J=1.9$ Hz, H-4), 3.69 (3H, s, 3-OCH₃), 2.76 (4H, m, H- α , β); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 162.2 (C-3), 159.4 (C-5), 158.3 (C-3'), 145.5 (C-1), 144.7 (C-1'), 130.3 (C-5'), 120.8 (C-6), 116.3 (C-4'), 113.8 (C-2'), 109.0 (C-2), 106.5 (C-6), 99.9 (C-4), 55.5 (3-OCH₃), 39.2 (C- α), 38.9 (C- β)。以上数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 **7** 为山药素 III。

化合物 **8**: 红色油状物; EI-MS m/z : 456 $[\text{M}]^+$; $\text{C}_{29}\text{H}_{28}\text{O}_5$; ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.00 (1H, t, $J=7.8$ Hz, H-5'), 6.92 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-2'', 6''), 6.85 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-2'', 6''), 6.62 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-3'', 5''), 6.61 (4H, d, $J=8.5$ Hz, H-3'', 5''), 6.55 (1H, brd, $J=2.0$ Hz, H-2'), 6.49 (1H, brs, H-4), 6.45 (2H, d, $J=7.8$ Hz, H-4', 6'), 3.93 (2H, s, H-7''), 3.89 (2H, s, H-7'''), 3.75 (3H, s, 5-OCH₃), 2.67 (2H, m, H- α), 2.27 (2H, m, H- β); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 158.4 (C-5), 158.3 (C-3), 156.0 (C-3'), 155.9 (C-4'), 155.9 (C-4'''), 145.2 (C-1'), 142.7 (C-1), 134.4 (C-1'), 134.3 (C-1'''), 130.3 (C-5'), 130.1 (C-2'', 6''), 129.9 (C-2'', 6''), 120.5 (C-6'), 120.3 (C-2), 119.5 (C-6), 115.9 (C-4'), 115.9 (C-3'', 5''), 115.9 (C-3''', 5'''), 113.7 (C-2'), 98.0 (C-4), 55.9 (5-OCH₃), 37.7 (C- β), 33.3 (C- α), 31.2 (C-7'''), 31.1 (C-7'')。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 **8** 为 3,3'-二羟基-5-甲氧基-2,6-二(对羟基苄基)联苯。

化合物 **9**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 351 $[\text{M}+\text{H}]^+$; $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_4$; ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.03 (1H, t, $J=8.0$ Hz, H-5'), 6.87 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-2'', 6''), 6.63 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-3'', 5''), 6.58 (1H, brd, $J=2.1$ Hz, H-2'), 6.54 (2H, brd, $J=8.0$ Hz, H-4', 6'), 6.34 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-4), 6.28 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-6), 3.84 (2H, s, H-7''), 3.74 (3H, s, 3-OCH₃), 2.70 (2H, dd, $J=10.6, 5.8$ Hz, H- α), 2.55 (2H, dd, $J=10.6, 5.8$ Hz, H- β); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 160.2 (C-3), 158.3 (C-3'), 157.5 (C-5), 155.9 (C-4'), 144.9 (C-1'), 143.7 (C-1), 134.2 (C-1'), 130.2 (C-5'), 129.9 (C-2'', 6''), 120.7 (C-6'), 119.9 (C-2), 116.2 (C-4'), 115.9 (C-3'', 5''), 113.7 (C-2'), 109.3 (C-6), 97.9 (C-4), 55.9 (3-OCH₃), 38.6 (C- β), 36.5 (C- α), 30.5 (C-7'')。以上数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 **9** 为 3',5'-二羟基-3-甲氧基-2-(对羟基苄基)联苯。

化合物 **10**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 351 $[M+H]^+$; $C_{22}H_{22}O_4$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.03 (1H, t, $J=8.0$ Hz, H-5'), 6.94 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-2'', 6''), 6.65 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-3'', 5''), 6.58 (1H, brd, $J=2.0$ Hz, H-2'), 6.54 (2H, brd, $J=8.0$ Hz, H-4', 6'), 6.31 (1H, d, $J=2.5$ Hz, H-4), 6.24 (1H, d, $J=2.5$ Hz, H-6), 3.87 (2H, s, H-7''), 3.70 (3H, s, 5-OCH₃), 2.72 (2H, dd, $J=9.7, 6.7$ Hz, H- α), 2.54 (2H, dd, $J=9.7, 6.7$ Hz, H- β); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 159.9 (C-5), 158.3 (C-3'), 157.5 (C-3), 156.0 (C-4''), 144.0 (C-1'), 143.9 (C-1), 134.3 (C-1''), 130.2 (C-5'), 130.1 (C-2'', 6''), 120.8 (C-6'), 119.7 (C-2), 116.3 (C-4'), 115.9 (C-3'', 5''), 113.7 (C-2'), 107.3 (C-6), 100.2 (C-4), 55.9 (5-OCH₃), 38.5 (C- β), 36.6 (C- α), 30.7 (C-7''). 以上数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 **10** 为 3,3'-二羟基-5-甲氧基-2-(对羟基苄基)联苄。

化合物 **11**: 棕色粉末; ESI-MS m/z : 471 $[M-H]^-$; $C_{29}H_{28}O_6$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.06 (1H, t, $J=8.0$ Hz, H-5'), 6.86 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-2'', 6''), 6.79 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-2''', 6'''), 6.65 (2H, m, H-4', 6'), 6.61 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-3'', 5''), 6.59 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-3''', 5'''), 6.57 (1H, m, H-2'), 6.47 (1H, s, H-4), 4.54 (1H, t, $J=6.8$ Hz, H-1a), 3.92 (1H, d, $J=15.0$ Hz, H-7''a), 3.88 (1H, d, $J=15.0$ Hz, H-7'''a), 3.72 (3H, s, -OCH₃), 3.60 (2H, m, H-7''b, 7'''b), 2.97 (1H, dd, $J=13.7, 6.5$ Hz, H-1a_A), 2.75 (1H, dd, $J=13.7, 6.5$ Hz, H-1a_B); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 158.2 (C-5, 3'), 155.9 (C-4''), 155.9 (C-4'''), 155.7 (C-3), 147.9 (C-1'), 139.2 (C-1), 134.3 (C-1''), 134.2 (C-1'''), 130.0 (C-5'), 129.9 (C-2'', 6''), 129.8 (C-2''', 6'''), 121.6 (C-6), 120.7 (C-2), 118.4 (C-2'), 115.8 (C-3'', 5''), 115.8 (C-3''', 5'''), 115.1 (C-4'), 113.8 (C-6'), 98.6 (C-4), 75.8 (C-1a'), 55.9 (5-OCH₃), 40.6 (C-1a), 31.0 (C-7''), 30.9 (C-7'''). 以上数据与文献报道基本一致^[17], 故鉴定化合物 **11** 为 bletistrin D。

化合物 **12**: 白色粉末; FAB-MS m/z : 379 $[M+Na]^+$; $C_{17}H_{24}O_8$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.53 (2H, s, H-3, 5), 5.96 (1H, m, H-8), 5.08 (2H, m, H-9), 3.34 (2H, d, $J=6.9$ Hz, H-7), 3.83 (6H, s, -OCH₃), 4.82 (1H, d, $J=7.5$ Hz, glu-H-1'), 3.79 (1H, dd, $J=12.0, 2.4$ Hz, glu-H-6'a), 3.67 (1H, dd, $J=12.0, 5.3$ Hz, glu-H-6'b), 3.48 (1H, m, glu-H-3'), 3.42 (2H, m, glu-H-2', 4'), 3.21 (1H, m, glu-H-5'); ^{13}C -NMR (125 MHz,

CD_3OD) δ : 154.2 (C-2, 6), 138.7 (C-8), 138.4 (C-1), 134.7 (C-4), 116.2 (C-9), 107.5 (C-3, 5), 56.9 (-OCH₃), 41.4 (C-7), 105.6 (glu-C-1'), 78.3 (glu-C-3'), 77.8 (glu-C-5'), 75.7 (glu-C-2'), 71.3 (glu-C-4'), 62.6 (glu-C-6')。以上数据与文献报道基本一致^[18], 故鉴定化合物 **12** 为 4-烯丙基-2,6-二甲氧基苯基葡萄糖苷。

化合物 **13**: 白色羽状结晶 (丙酮); ESI-MS m/z : 439 $[M+Na]^+$; $C_{22}H_{24}O_8$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.77 (1H, d, $J=16.0$ Hz, H-7''), 7.63 (2H, dd, $J=7.5, 3.0$ Hz, H-2'', 6''), 7.42 (3H, m, H-3''~5''), 7.29 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-3', 5'), 7.10 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-2', 6'), 6.58 (1H, d, $J=16.0$ Hz, H-8''), 4.99 (2H, m, H-1, 2), 4.55 (2H, s, H-7'), 3.76 (1H, d, $J=12.0$ Hz, H-6b), 3.72 (1H, m, H-3), 3.68 (1H, d, $J=12.0$ Hz, H-6a), 3.58 (2H, m, H-4, 5); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 167.9 (C-9''), 158.4 (C-1'), 147.0 (C-7''), 136.8 (C-4), 135.7 (C-1''), 131.7 (C-4''), 130.8 (C-3'', 5''), 129.4 (C-2'', 6''), 129.3 (C-3', 5'), 118.6 (C-8''), 117.7 (C-2', 6'), 102.4 (C-1), 76.2 (C-5), 75.7 (C-3), 75.0 (C-2), 72.5 (C-4), 64.8 (C-7'), 62.2 (C-6)。以上数据与文献报道基本一致^[19], 故鉴定化合物 **13** 为 1-*O*-(4-羟甲基苯氧基)-2-*O*-反式肉桂酰- β -*D*-葡萄糖苷。

化合物 **14**: 白色羽状结晶 (丙酮); ESI-MS m/z : 439 $[M+Na]^+$; $C_{22}H_{24}O_8$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.69 (1H, d, $J=16.1$ Hz, H-7''), 7.60 (2H, dd, $J=7.5, 3.0$ Hz, H-2'', 6''), 7.42 (3H, m, H-3''~5''), 7.20 (2H, d, $J=8.6$ Hz, H-3', 5'), 7.04 (2H, d, $J=8.6$ Hz, H-2', 6'), 6.54 (1H, d, $J=16.1$ Hz, H-8''), 4.89 (1H, d, $J=7.7$ Hz, H-1), 4.55 (1H, dd, $J=11.9, 2.3$ Hz, H-6b), 4.42 (2H, s, H-7'), 4.37 (1H, dd, $J=11.9, 7.0$ Hz, H-6a), 3.72 (1H, m, H-5), 3.48 (2H, m, H-2, 3), 3.41 (1H, m, H-4); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 168.4 (C-9''), 158.3 (C-1'), 146.6 (C-7''), 136.7 (C-4'), 135.8 (C-1''), 131.7 (C-4''), 130.1 (C-3'', 5''), 129.5 (C-2'', 6''), 129.3 (C-3', 5'), 118.7 (C-8''), 117.7 (C-2', 6'), 102.3 (C-1), 77.9 (C-3), 75.5 (C-5), 74.9 (C-2), 71.9 (C-4), 64.9 (C-7'), 64.8 (C-6)。以上数据与文献报道基本一致^[19], 故鉴定化合物 **14** 为 1-*O*-(4-羟甲基苯氧基)-6-*O*-反式肉桂酰- β -*D*-葡萄糖苷。

化合物 **15**: 白色粉末; FAB-MS m/z : 749 $[M+Na]^+$; $C_{34}H_{46}O_{17}$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.27 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-2', 6'), 7.23 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-2''', 6'''), 7.07 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-3', 5'), 7.05 (2H, d,

$J = 8.7$ Hz, H-3''', 5'''), 4.99 (4H, s, H-7', 7'''), 4.89 (2H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1'', 1'''), 3.88 (2H, dd, $J = 12.1, 2.3$ Hz, H-6''b, 6''''b), 3.70 (2H, dd, $J = 12.1, 5.3$ Hz, H-6''a, 6''''a), 3.47 (4H, m, H-3'', 5'', 3''', 5'''), 3.43 (2H, m, H-2'', 2'''), 3.41 (2H, m, H-4'', 4'''), 2.93 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-3b), 2.64 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-3a), 1.72 (1H, m, H-6), 1.65 (1H, dd, $J = 14.1, 6.3$ Hz, H-5b), 1.57 (1H, dd, $J = 14.1, 6.3$ Hz, H-5a), 0.92 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-8), 0.79 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-7); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 176.0 (C-1), 171.7 (C-4), 159.2 (C-4'), 159.1 (C-4''), 131.2 (C-2', 6'), 131.2 (C-1'), 131.1 (C-2''' 6'''), 130.8 (C-1'''), 117.8 (C-3', 5', 3'', 5''), 102.3 (C-1'', 1'''), 78.1 (C-5'), 78.1 (C-5'''), 77.9 (C-3'', 3'''), 76.6 (C-2), 74.9 (C-2'', 2'''), 71.3 (C-4'', 4'''), 67.9 (C-7'), 67.2 (C-7'''), 62.5 (C-6'', 6'''), 49.1 (C-5), 46.2 (C-3), 25.0 (C-8), 24.7 (C-7), 23.9 (C-6)。以上数据与文献报道基本一致^[20], 故鉴定化合物 **15** 为 *militarine*。

化合物 **16**: 白色胶状物; ESI-MS m/z : 1 041 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; $\text{C}_{49}\text{H}_{62}\text{O}_{23}$; ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.77 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, Cin-H-7), 7.63 (2H, dd, $J = 7.1, 2.5$ Hz, Cin-H-2, 6), 7.42 (3H, m, Cin-H-3~5), 7.29 (4H, d, $J = 8.7$ Hz, H-2', 6', 2'', 6''), 7.10 (4H, d, $J = 8.7$ Hz, H-3', 5', 3'', 5''), 6.63 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, Cin-H-8), 5.19 (1H, t, $J = 9.4$ Hz, H-3'''), 5.11 (1H, d, $J = 11.9$ Hz, H-7b), 5.03 (3H, m, H-7'a, 7''b, 1'''), 4.93 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1'''), 4.91 (1H, d, $J = 11.9$ Hz, H-7''a), 4.84 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'''''), 3.90 (2H, dd, $J = 12.0, 2.4$ Hz, H-6''b, 6''''b), 3.75 (2H, m, H-6''a, 6''''a), 3.68 (2H, m, H-2''', 4'''), 3.58 (3H, m, H-5''', 6''''a, 6''''b), 3.49 (3H, m, H-2''', 3''', 5'''), 3.40 (1H, m, H-4'''), 3.34 (1H, m, H-4'''''), 3.28 (1H, m, H-3'''''), 3.20 (2H, m, H-2''''', 3b), 3.03 (1H, d, $J = 17.7$ Hz, H-3a), 2.94 (1H, m, H-5'''''), 1.78 (2H, m, H-5b, 6), 1.68 (1H, m, H-5a), 0.90 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, H-7), 0.81 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-8); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 174.9 (C-1), 171.9 (C-4), 168.4 (Cin-C-9), 159.3 (C-4'), 159.2 (C-4''), 146.5 (Cin-C-7), 135.9 (Cin-C-1), 131.5 (C-2'', 6''), 131.4 (C-2', 6'), 131.0 (C-1'), 130.7 (C-1'), 130.1 (Cin-C-3, 5), 129.4 (Cin-C-4), 129.3 (Cin-C-2, 6), 119.2 (Cin-C-8), 117.9 (C-3', 5'), 117.9 (C-3'', 5''), 102.2 (C-1'''), 102.2 (C-1'''''), 100.1 (C-1'''''), 81.5 (C-2), 79.0 (C-3'''), 78.3 (C-3'''''), 78.1 (C-5'''), 77.9 (C-

5'''), 77.9 (C-3'''), 77.6 (C-5'''''), 75.5 (C-2'''''), 74.9 (C-2'''), 73.3 (C-2'''''), 71.4 (C-4'''), 70.9 (C-4'''''), 69.5 (C-4'''''), 68.3 (C-7'), 67.4 (C-7''), 62.5 (C-6'''), 62.3 (C-6'''''), 62.2 (C-6'''''), 49.3 (C-5), 43.6 (C-3), 24.9 (C-6), 24.7 (C-7), 24.2 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[4], 故鉴定化合物 **16** 为 *bletistroside D*。

化合物 **17**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 309 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_7$; ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.28 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3, 5), 7.08 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2, 6), 4.90 (1H, s, H-1'), 4.54 (2H, s, H-7), 3.89 (1H, dd, $J = 12.0, 2.1$ Hz, H-6'b), 3.70 (1H, dd, $J = 12.0, 5.3$ Hz, H-6'a), 3.46 (2H, m, H-3', 5'), 3.43 (1H, dd, $J = 5.3, 2.1$ Hz, H-4'), 3.40 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-2'); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 158.5 (C-1), 136.6 (C-4), 129.4 (C-3, 5), 117.7 (C-2, 6), 102.4 (C-1'), 78.1 (C-3'), 77.9 (C-5'), 74.9 (C-2'), 71.4 (C-4'), 64.8 (C-7), 62.5 (C-6')。以上数据与文献报道基本一致^[21], 故鉴定化合物 **17** 为天麻素。

化合物 **19**: 白色胶状物; ESI-MS m/z : 1 041 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; $\text{C}_{49}\text{H}_{62}\text{O}_{23}$; ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.68 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, Cin-H-7), 7.60 (2H, dd, $J = 6.6, 3.2$ Hz, Cin-H-2, 6), 7.43 (3H, m, Cin-H-3, 4, 5), 7.21 (4H, d, $J = 8.7$ Hz, H-2', 6', 2'', 6''), 7.05 (4H, d, $J = 8.7$ Hz, H-3', 5', 3'', 5''), 6.53 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, Cin-H-8), 5.00 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-7''b), 4.96 (2H, d, $J = 12.0$ Hz, H-7'a, 7'b), 4.93 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'''), 4.90 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'''), 4.83 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-7''a), 4.82 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'''''), 4.55 (1H, dd, $J = 11.8, 2.3$ Hz, H-6''b), 4.37 (1H, dd, $J = 11.8, 7.1$ Hz, H-6''a), 3.89 (1H, dd, $J = 12.1, 2.3$ Hz, H-6''''b), 3.73 (1H, m, H-5'''), 3.70 (1H, dd, $J = 12.1, 5.5$ Hz, H-6''''a), 3.54 (2H, m, H-6'''''), 3.49 (1H, m, H-2'''), 3.49 (1H, m, H-3'''), 3.48 (1H, m, H-2'''''), 3.47 (1H, m, H-3'''''), 3.47 (1H, m, H-5'''''), 3.41 (1H, m, H-4'''), 3.40 (1H, m, H-4'''''), 3.29 (2H, m, H-3''''', 4'''''), 3.18 (1H, m, H-2'''''), 3.13 (1H, d, $J = 17.9$ Hz, H-3b), 2.93 (1H, d, $J = 17.9$ Hz, H-3a), 2.90 (1H, m, H-5'''''), 1.75 (1H, m, H-6), 1.70 (1H, dd, $J = 13.9, 5.8$ Hz, H-5b), 1.59 (1H, dd, $J = 13.9, 5.8$ Hz, H-5a), 0.87 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-7), 0.77 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-8); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 174.9 (C-1), 171.9 (C-4), 168.3 (Cin-C-9), 159.2 (C-4'), 159.1 (C-4'), 146.6 (Cin-C-7), 135.7 (Cin-C-1), 131.7 (Cin-C-4), 131.5 (C-2'', 6''), 131.3 (C-2', 6'),

131.0 (C-1'), 130.6 (C-1'), 130.2 (Cin-C-3, 5), 129.4 (Cin-C-2, 6), 118.7 (Cin-C-8), 117.9 (C-3'', 5''), 117.9 (C-3', 5'), 102.2 (C-1'''), 102.1 (C-1'''), 100.1 (C-1''''), 81.4 (C-2), 78.4 (C-3''''), 78.1 (C-3'''), 77.9 (C-3'''), 77.8 (C-5'''), 77.6 (C-5''''), 75.5 (C-5'''), 75.5 (C-2''''), 74.9 (C-2'''), 74.8 (C-2''''), 71.9 (C-4'''), 71.4 (C-4''''), 70.9 (C-4''''), 68.1 (C-7'), 67.3 (C-7''), 64.9 (C-6'''), 62.5 (C-6''''), 62.3 (C-6''''), 49.9 (C-5), 43.6 (C-3), 24.9 (C-6), 24.7 (C-7), 24.2 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[4], 故鉴定化合物 **19** 为 bletistroside C。

化合物 **20**: 白色粉末; FAB-MS m/z : 911 $[M+Na]^+$; $C_{40}H_{56}O_{22}$; 1H -NMR (500 MHz, Pyridine- d_5) δ : 7.43 (4H, m, H-2', 6', 2'', 6''), 7.40~7.34 (4H, m, H-3', 5', 3'', 5''), 5.68~5.61 (3H, m, H-1''', 1''', 1'''), 5.36 (1H, d, $J=12.0$ Hz, H-7'a), 5.28 (2H, d, $J=12.0$ Hz, H-7'b, 7''a), 5.17 (1H, d, $J=12.0$ Hz, H-7''b), 4.55 (2H, m, H-6''''a, 6''''a), 4.44~4.25 (12H, m, Glc-H), 4.14 (2H, m, H-5''', 5'''), 4.05 (1H, t, $J=8.0$ Hz, H-2''), 3.80 (1H, m, H-5'''), 3.49 (1H, d, $J=17.7$ Hz, H-3b), 3.30 (1H, d, $J=17.7$ Hz, H-3a), 2.01 (1H, m, H-6), 1.91 (2H, m, H-5), 0.93 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H-8), 0.85 (3H, d, $J=7.6$ Hz, H-7); ^{13}C -NMR (125 MHz, Pyridine- d_5) δ : 174.0 (C-1), 171.5 (C-4), 159.2 (C-4'), 159.1 (C-4''), 131.1 (C-2', 6'), 131.1 (C-2'', 6''), 130.2 (C-1'), 129.9 (C-1'), 117.4 (C-3', 5'), 117.4 (C-3'', 5''), 102.6 (C-1''''), 102.5 (C-1''''), 100.7 (C-1'''), 80.9 (C-2), 79.3 (C-5''', 5'''), 79.2 (C-3'''), 78.9 (C-3''', 3'''), 78.6 (C-5'''), 76.2 (C-2'''), 75.4 (C-2''', 2'''), 71.7 (C-4'''), 71.6 (C-4'''), 71.6 (C-4'''), 67.8 (C-7'), 67.1 (C-7''), 63.0 (C-6'''), 62.7 (C-6'''), 62.7 (C-6'''), 48.3 (C-5), 43.2 (C-3), 25.0 (C-6), 24.5 (C-7), 24.4 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[20], 故鉴定化合物 **20** 为 dactylorhin A。

3.3 抗炎活性筛选结果

本实验对得率较高的化合物 **7**、**8**、**15**、**16**、**18**~**20** 进行了体外抗炎活性初筛, 结果 (表 2) 显示 50 $\mu\text{mol/L}$ 下化合物 **7**、**15** 和 **20** 均具有一定的 NO 生成抑制作用, 表现出一定的体外抗炎活性, 其中化合物 **7** 抗炎活性最好。

4 讨论

本实验通过 LC-MS 分析了独蒜兰假鳞茎 95% 乙醇提取物的主要成分, 并从中分离得到 20 个化合物, 其中联苄类化合物 5 个、葡萄糖氧基琥珀酸苄酯苷类化合物 5 个、酚类化合物 10 个。化合物

表 2 化合物对 NO 生成抑制率

Table 2 Inhibition rate of compounds on NO production

样品	浓度/ $(\mu\text{mol L}^{-1})$	NO 生成抑制率/%
L-NMMA	50	56.84 $\pm$ 0.98
7	50	42.48 $\pm$ 3.48
8	50	98.60 $\pm$ 0.88 (有细胞毒性)
	12.5	27.38 $\pm$ 3.54
16	50	7.12 $\pm$ 1.23
15	50	23.13 $\pm$ 1.38
18	50	17.43 $\pm$ 0.69
19	50	6.40 $\pm$ 0.62
20	50	23.62 $\pm$ 0.69

18 为新化合物, 化合物 **8**、**11**~**14**、**16** 和 **19** 均是首次从该植物中分离得到。另外, 本实验对得率较高的 7 个化合物 (**7**、**8**、**15**、**16**、**18**~**20**) 进行了体外抗炎活性评估, 通过检测化合物抑制 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞 NO 释放水平进行抗炎活性评估, 以 L-NMMA 为阳性药对照组。结果显示, 在浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$ 时, 化合物 **7** 具有最优的 NO 生成抑制作用; 化合物 **8** 在 50 $\mu\text{mol/L}$ 时具有细胞毒性, 在 12.5 $\mu\text{mol/L}$ 时表现出一定的体外抗炎作用。本实验进一步阐明了独蒜兰的化学成分, 为其药用价值的研究提供了基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Liu J Y, He C, Tang Y, *et al.* A review of *Cremastra appendiculata* (D. Don) Makino as a traditional herbal medicine and its main components [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 279: 114357.
- [2] Wu X Q, Li W, Chen J X, *et al.* Chemical constituents and biological activity profiles on *Pleione* (Orchidaceae) [J]. *Molecules*, 2019, 24(17): 3195.
- [3] 司函瑞, 司雨, 焦玉凤, 等. 山慈菇化学成分及其药理作用研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22(5): 151-155.
- [4] Zhou M, Yuan F, Ruan H L, *et al.* HPLC-PDA-Guided isolation of glucosyloxybenzyl 2-isobutylmalates from the pseudobulbs of *Bletilla striata* with neuroprotective and antimicrobial activities [J]. *Phytochemistry*, 2022, 201: 113287.
- [5] Huang S Y, Shi J G, Yang J S, *et al.* Two new tartrate derivative glucosides from *Coeloglossum viride* (L.) Hartm. var. *bracteatum* (Willd.) Richter [J]. *Chin Chem Lett*, 2003(8): 814-817.

- [6] Han S W, Wang C, Cui B S, *et al.* Hepatoprotective activity of glucosyloxybenzyl succinate derivatives from the pseudobulbs of *Pleione bulbocodioides* [J]. *Phytochemistry*, 2019, 157: 71-81.
- [7] Dong H L, Liang H Q, Wang C L, *et al.* Shancigusins E-I, five new glucosides from the tubers of *Pleione yunnanensis* [J]. *Magn Reson Chem*, 2013, 51(6): 371-377.
- [8] Zhou J, Pu X Y, Yang Y B. Nine phenolic compounds of fresh *Gastrodia elata* Blume [J]. *A Mthly J Sci*, 1982(2): 179-181.
- [9] 周洁, 王雨曦, 魏玉莲, 等. 高山猴头菌的化学成分及抑制 α -葡萄糖苷酶活性研究 [J]. 中草药, 2024, 55(16): 5407-5417.
- [10] Wu H H, Tian L, Chen G, *et al.* Six compounds from marine fungus Y26-02 [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2009, 11(8): 748-751.
- [11] 兰钧, 杨丽琼, 旺杰次仁, 等. 藏药臭蚤草酚类化学成分的研究 [J]. 中国药物化学杂志, 2024, 34: 203-209.
- [12] 闻程志, 沈梦霞, 李才静, 等. 昭通彝良天麻化学成分及其降糖活性研究 [J]. 中药材, 2024, 47: 357-364.
- [13] 贾云鹏, 杨晓军, 王超, 等. 北柴胡根部的化学成分研究 [J]. 中草药, 2024, 55(2): 402-408.
- [14] 胡军, 郭洁, 晏和贵, 等. 岩生石仙桃醋酸乙酯部位化学成分研究 [J]. 中草药, 2018, 49(18): 4226-4230.
- [15] Matsuda H, Morikawa T, Xie H H, *et al.* Antiallergic phenanthrenes and stilbenes from the tubers of *Gymnadenia conopsea* [J]. *Planta Med*, 2004, 70(9): 847-855.
- [16] 张金超, 申勇, 朱国元, 等. 杜鹃兰 *Cremastra appendiculata* 化学成分研究 [J]. 河北师范大学学报: 自然科学版, 2007, 27(3): 262-264.
- [17] Jiang S, Wan K, Lou H Y, *et al.* Antibacterial bibenzyl derivatives from the tubers of *Bletilla striata* [J]. *Phytochemistry*, 2019, 162: 216-223.
- [18] Yang M C, Lee K H, Kim K H, *et al.* Lignan and terpene constituents from the aerial parts of *Saussurea pulchella* [J]. *Arch Pharm Res*, 2007, 30(9): 1067-1074.
- [19] Wang Z W, Li Y, Liu D H, *et al.* Four new phenolic constituents from the rhizomes of *Gastrodia elata* Blume [J]. *Nat Prod Res*, 2019, 33(8): 1140-1146.
- [20] 黄胜阳, 石建功, 杨永春, 等. 长苞凹舌兰化学成分研究 [J]. 药学报, 2002, 37(3): 199-203.
- [21] 司函瑞, 陈小玲, 付东兴, 等. 山慈菇的化学成分研究 [J]. 特产研究, 2021, 43: 136-140.

[责任编辑 王文倩]