

## 藏药臭蒿的化学成分及其抗肝损伤活性研究

邹雪艳<sup>1</sup>, 吴 晶<sup>1</sup>, 陈 思<sup>1</sup>, 次旦多吉<sup>2</sup>, 达娃卓玛<sup>2</sup>, 任 刚<sup>1\*</sup>

1. 江西中医药大学 中药资源与民族药研究中心, 江西 南昌 330004

2. 西藏自治区食品药品检验研究院 中药(藏药)质量控制重点实验室, 西藏 拉萨 850000

**摘 要:** **目的** 研究菊科植物臭蒿 *Artemisia hedinii* 地上部分的化学成分及其抗肝损伤活性。**方法** 采用 D101 型大孔吸附树脂、Sephadex LH-20 凝胶、MCI CHP20P 树脂、ODS 反相硅胶以及半制备 HPLC 等柱色谱技术进行分离纯化, 根据理化性质和 NMR、MS 波谱数据鉴定化合物结构, 采用利福平诱导人肝癌 HepG2 细胞肝损伤模型评价单体化合物的抗肝损伤活性。**结果** 从臭蒿中分离得到了 21 个化合物, 分别鉴定为 brickellin (1)、芹菜素 (2)、chrysosplenoid I (3)、木犀草素-5-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷 (4)、木犀草素-7-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷 (5)、高车前苷 (6)、5,2',5'-三羟基-3,7,4'-三甲氧基黄酮-2'-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷 (7)、木犀草素 (8)、槲皮素-3-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷 (9)、11,12-二羟基桉叶烷-4-烯-3-酮 (10)、(7*R*,9*S*,10*S*)-9-乙酰氧基桉叶烷-3,5,11(13)-三烯-12-酸 (11)、9 $\beta$ -乙酰氧基-4,5-脱氢-4(15)-二氢广木香酸 (12)、artetourneforin B (13)、9-氧代-6 $\alpha$ ,7 $\alpha$ (*H*)-桉叶烷-4,11(13)-二烯-12,6-内酯 (14)、3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ -二羟基-4,4,9,14-四甲基-(9 $\beta$ ,10 $\alpha$ )-19-去甲孕甾-5-烯-11,20-二酮 (15)、4,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸甲酯 (16)、3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸甲酯 (17)、(*E*)-茛蒿素 (18)、(*Z*)-茛蒿素 (19)、(7*S*,8*R*)-二氢脱氢二松柏醇 (20)、3,3',4,4'-四羟基- $\delta$ -苯并二氢吡喃酸乙酯 (21)。所有化合物的抗肝损伤活性评价结果表明, 化合物 2、4、5、9~11、13、20 可显著降低利福平诱导的 HepG2 细胞的丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)/天冬氨酸转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST) 的水平 ( $P < 0.05$ , 0.01)。**结论** 化合物 1、3、7、10、13、15、20 为首次从菊科植物中分离得到, 化合物 4 为首次从蒿属中分离得到, 化合物 2、5、6、8、9、14、16~19 为首次从臭蒿中分离得到。化合物 2、4、5、9~11、13、20 具有抗肝损伤潜力。

**关键词:** 藏药; 臭蒿; 肝保护活性; 11,12-二羟基桉叶烷-4-烯-3-酮; (7*R*,9*S*,10*S*)-9-乙酰氧基桉叶烷-3,5,11(13)-三烯-12-酸; (7*S*,8*R*)-二氢脱氢二松柏醇

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2025)22-8082-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.22.003

## Chemical constituents of Tibetan medicine *Artemisia hedinii* and its anti-hepatic injury activity

ZOU Xueyan<sup>1</sup>, WU Jing<sup>1</sup>, CHEN Si<sup>1</sup>, CIDAN Duoji<sup>2</sup>, DAWA Zhuoma<sup>2</sup>, REN Gang<sup>1</sup>

1. Research Center of Natural Resources of Chinese Medicinal Materials and Ethnic Medicine, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

2. NMPA Key Laboratory of Quality Evaluation Research in Traditional Chinese Medicine (Tibetan Medicine), Tibet Food and Drug Inspection and Research Institute, Lasa 850000, China

**Abstract: Objective** To investigate the chemical constituents of the aerial parts of *Artemisia hedinii* (Asteraceae) and their anti-hepatotoxic activity. **Methods** Column chromatography techniques, including D101 macroporous adsorption resin, Sephadex LH-20 gel, MCI CHP20P resin, ODS reversed-phase silica gel, and semi-preparative HPLC, were employed to isolate compounds from *A. hedinii*. The structures of compounds were identified by physicochemical properties and spectroscopic data (NMR/MS). The anti-hepatotoxic activity of the isolates was evaluated using a rifampicin-induced hepatotoxicity model in HepG2 cells. **Results** A total of 21 compounds were isolated and identified as follows: brickellin (1), apigenin (2), chrysosplenoid I (3), luteolin-5-*O*- $\beta$ -D-glucoside (4), luteolin-7-*O*- $\beta$ -D-glucoside (5), homoplantagin (6), 5,2',5'-trihydroxy-3,7,4'-trimethoxyflavone-2'-*O*- $\beta$ -D-glucoside (7), luteolin

收稿日期: 2025-08-17

基金项目: 国家重点研发计划资助 (2019YFC1712300); 江西中医药大学校级科技创新团队发展计划 (CXTD22002)

作者简介: 邹雪艳, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药化学。Tel: (0791)87119062 E-mail: 3244189970@qq.com

\*通信作者: 任 刚, 男, 教授, 从事中药与民族药药效物质基础研究。Tel: (0791)87119060 E-mail: 20091005@jxutcm.edu.cn

(8), quercetin-3-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside (9), 11,12-dihydroxyeudesm-4-en-3-one (10), (7*R*,9*S*,10*S*)-9-acetoxyeudesm-3,5,11(13)-trien-12-oic acid (11), 9 $\beta$ -acetoxo-4,5-dehydro-4(15)-dihydrocosric acid (12), artetourneforin B (13), 9-oxo-6 $\alpha$ ,7 $\alpha$ (*H*)-eudesm-4,11(13)-dien-12,6-olide (14), 3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-4,4,9,14-tetramethyl-(9 $\beta$ ,10 $\alpha$ )-19-norpregn-5-ene-11,20-dione (15), methyl 4,5-di-*O*-caffeoyl-quinate (16), methyl 3,5-*O*-dicaffeoylquinate (17), (*E*)-tonghaosu (18), (*Z*)-tonghaosu (19), (7*S*,8*R*)-dihydrodehydrodico-niferyl alcohol (20), and ethyl 3,3',4,4'-tetrahydroxy- $\delta$ -truxinate (21). The anti-hepatotoxic activity evaluation of all compounds demonstrated that compounds 2, 4, 5, 9—11, 13, and 20 significantly reduced rifampicin-induced alanine aminotransferase (ALT)/ aspartate aminotransferase (AST) levels in HepG2 cells ( $P < 0.05, 0.01$ ). **Conclusion** Seven compounds (1, 3, 7, 10, 13, 15, and 20) were isolated for the first time from Asteraceae plants. Compound 4 was first reported from the genus *Artemisia*. Ten compounds (2, 5, 6, 8, 9, 14, 16—19) were identified for the first time from the title plant. Compounds 2, 4, 5, 9—11, 13, and 20 exhibit potential anti-hepatotoxic activity.

**Key words:** Tibetan medicine; *Artemisia hedinii* Ostenf. et Pauls.; hepato-protective activity; 11,12-dihydroxyeudesm-4-en-3-one; (7*R*,9*S*,10*S*)-9-acetoxyeudesm-3,5,11(13)-trien-12-oic acid; (7*S*,8*R*)-dihydrodehydrodico-niferyl alcohol

臭蒿 *Artemisia hedinii* Ostenf. et Pauls. 为菊科蒿属 *Artemisia* L. 一年生草本, 广泛分布于我国西北和西部的高山荒漠地带, 是青海和西藏地区最常见的植物之一<sup>[1]</sup>。臭蒿为藏医习用药材 (藏名为桑子那布), 《中国民族药志》记载其有清热凉血、退黄、消炎的功能, 主治“赤巴”病, 急性黄疸性肝炎, 胆囊炎等<sup>[2]</sup>, 在藏药中占有重要地位。目前, 国内外关于臭蒿化学成分及药理活性的研究报道较少。前人研究表明, 倍半萜类衍生物是臭蒿的主要化学成分, 其中部分成分具有抗炎、抗菌活性<sup>[3-4]</sup>。为验证藏药臭蒿的传统药用功效, 合理开发利用该植物资源, 本实验对其化学成分及其抗肝损伤活性进行了研究, 从中分离得到了 21 个化合物 (图 1), 分别鉴定为 brickellin (1)、芹菜素 (apigenin, 2)、chrysosplenoside I (3)、木犀草素-5-*O*- $\beta$ -*D*-葡萄糖苷 (luteolin-5-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside, 4)、木犀草素-7-*O*- $\beta$ -*D*-葡萄糖苷 (luteolin-7-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside, 5)、高车前苷 (homoplantagin, 6)、5,2',5'-三羟基-3,7,4'-三甲氧基黄酮-2'-*O*- $\beta$ -*D*-葡萄糖苷 (5,2',5'-trihydroxy-3,7,4'-trimethoxyflavone-2'-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside, 7)、木犀草素 (luteolin, 8)、槲皮素-3-*O*- $\beta$ -*D*-葡萄糖苷 (quercetin-3-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside, 9)、11,12-二羟基桉叶烷-4-烯-3-酮 (11,12-dihydroxyeudesm-4-en-3-one, 10)、(7*R*,9*S*,10*S*)-9-乙酰氧基桉叶烷-3,5,11(13)-三烯-12-酸 [(7*R*,9*S*,10*S*)-9-acetoxyeudesm-3,5,11(13)-trien-12-oic acid, 11]、9 $\beta$ -乙酰氧基-4,5-脱氢-4(15)-二氢广木香酸 [9 $\beta$ -acetoxo-4,5-dehydro-4(15)-dihydrocosric acid, 12]、artetourneforin B (13)、9-氧代-6 $\alpha$ ,7 $\alpha$ (*H*)-桉叶烷-4,11(13)-二烯-12,6-内酯 (9-Oxo-6 $\alpha$ ,7 $\alpha$ (*H*)-eudesm-4,11(13)-dien-12,6-olide, 14)、3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ -二羟基-4,4,9,14-四甲基-(9 $\beta$ ,10 $\alpha$ )-19-去甲孕

甾-5-烯-11,20-二酮 [(9 $\beta$ ,10 $\alpha$ )-19-norpregn-5-ene-11,20-dione, 15]、4,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸甲酯 (methyl 4,5-di-*O*-caffeoyl-quinate, 16)、3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸甲酯 (methyl 3,5-*O*-dicaffeoylquinate, 17)、(*E*)-蒿蒿素 [(*E*)-tonghaosu, 18]、(*Z*)-蒿蒿素 [(*Z*)-tonghaosu, 19]、(7*S*,8*R*)-二氢脱氢二松柏醇 [(7*S*,8*R*)-dihydrodehydrodico-niferyl alcohol, 20]、3,3',4,4'-四羟基- $\delta$ -苯并二氢吡喃酸乙酯 (3,3',4,4'-tetrahydroxy- $\delta$ -truxinate, 21)。化合物 1、3、7、10、13、15、20 均为首次从菊科植物中分离得到, 化合物 4 为首次从蒿属中分离得到, 化合物 2、5、6、8、9、14、16~19 均为首次从臭蒿中分离得到。化合物 2、4、5、9~11、13、20 表现了潜在的抗肝损伤活性。

## 1 仪器与材料

AV-600 核磁共振仪 (德国 Bruker 公司), TripleTOF5600+ 高分辨飞行时间质谱联用仪 (美国 AB SCIEX 公司), LC-20 AT 型 HPLC 仪 (日本岛津公司), LC-3050N 型半制备高效液相色谱系统 (北京创新通恒科技有限公司), AV-600 核磁共振仪 (德国 Bruker 公司), R-210 旋转蒸发仪 (瑞士 BUCHI 公司), DE-100 g 型万能粉碎机 (浙江红景天工贸有限公司), D-101 型大孔吸附树脂 (三菱化学株式会社), BT25S 型电子分析天平, Sephadex LH-20 (瑞士 Amer-sham Pharmacia 公司), Luna C<sub>8</sub> 柱 (250 mm×10 mm, 5  $\mu$ m, 美国菲罗门公司), 人肝癌 HepG2 细胞 (北京鼎国昌盛生物科技有限公司), 水飞蓟宾 (Solarbio 公司, 批号 SS8540), 天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 试剂盒 (批号 20241010, 南京建成生物工程研究所), 丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)

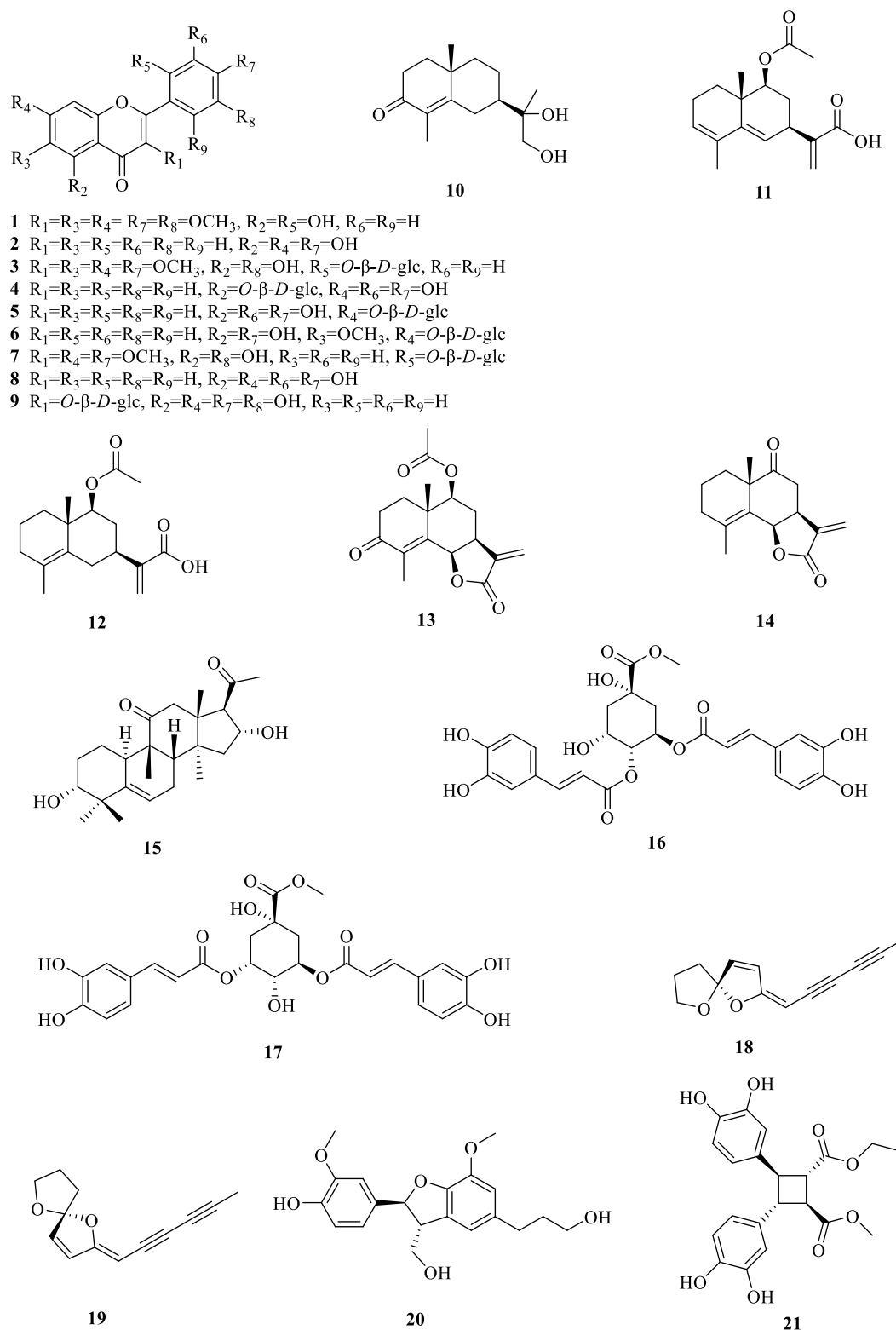


图 1 臭蒿中分离得到的 21 个化合物的结构

Fig. 1 Structures of 21 compounds isolated from *A. hedinii*

试剂盒（批号 20241010，南京建成生物工程研究所），色谱级甲醇、乙腈（美国天地有限公司）；其他所用溶剂均为分析纯（西陇化工股份有限公司）。

臭蒿药材于 2022 年 8 月采集于西藏拉萨市，经江西中医药大学中药资源与民族药研究中心慕泽泾副教授鉴定为菊科蒿属植物臭蒿 *A. hedinii*

Ostenf. et Pauls. 的干燥地上部分。凭证标本(编号 XZ20210801)存放于江西中医药大学中药资源与民族药研究中心。

## 2 提取与分离

取臭蒿干燥全草 2.0 kg, 适度粉碎, 加入 10 L 70%乙醇, 在 80 °C 下回流提取 3 次, 每次 2 h。提取液减压浓缩得浸膏 452.7 g。浸膏(450.0 g)加适量水混悬, 依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇和水萃取, 得到石油醚部位 54.4 g、醋酸乙酯部位 105.3 g、正丁醇部位 76.8 g。醋酸乙酯部位(105.3 g)经 D101 大孔吸附树脂柱色谱, 乙醇-水(0:100→95:5)梯度洗脱得到 10 个流分(Fr. H0~H9)。Fr. H2(18.6 g)经 ODS 反相硅胶柱色谱, 甲醇-水(10:90→100:0)梯度洗脱得 12 个流分(Fr. H2O1~H2O12)。Fr. H2O2(9.9 g)上 MCI 柱色谱, 甲醇-水(10:90→100:0)梯度洗脱得 8 个流分(Fr. H2O2M1~H2O2M8)。H2O2M2(110.0 mg)经半制备型高效液相色谱(PHPLC, 12%乙腈)制备得化合物 9(105.0 mg)。H2O2M4(2.2 g)经 PHPLC(28%乙腈)得化合物 17(14.9 mg)。H2O2M5(1.3 g)经 sephadex LH-20 凝胶柱色谱, 甲醇洗脱得 9 个流分(Fr. H2O2M5L1~H2O2M5L9)。H2O2M5L5(214.5 mg)经 PHPLC(24%乙腈)制备得化合物 21(5.4 mg); H2O2M5L6(644.0 mg)经 PHPLC(24%乙腈)制备得化合物 16(327.8 mg)。Fr. H2O5(2.1 g)经 MCI 柱色谱, 甲醇-水(10:90→100:0)梯度洗脱得 7 个流分(Fr. H2O5M1~H2O5M7)。H2O5M2(185.5 mg)经 PHPLC(18%乙腈)制备得化合物 5(6.2 mg); H2O5M4(933.1 mg)经 sephadex LH-20 凝胶柱色谱, 甲醇洗脱得 7 个流分(Fr. H2O5M4L1~H2O5M4L7)。H2O5M4L4(149.6 mg)经 PHPLC(20%乙腈)制备得化合物 3(19.9 mg)和 20(6.2 mg); H2O5M4L6(182.3 mg)经 PHPLC(20%乙腈)制备得化合物 6(3.8 mg)。Fr. H2O6(1.2 g)采用与 Fr. H2O5 相似的过程得到化合物 13(3.7 mg)、14(11.2 mg)、4(3.5 mg)、10(3.8 mg)和 7(5.7 mg)。Fr. H2O10(0.3 g)经 sephadex LH-20 凝胶柱, 甲醇洗脱得 7 个流分(Fr. H2O10L1~H2O10L7)。H2O10L3(98.1 mg)经 PHPLC(45%乙腈)制备得化合物 15(3.2 mg); H2O10L4(37.3 mg)经 PHPLC(40%乙腈)制备得化合物 1(7.7 mg); H2O10L7(28.5 mg)经 PHPLC(27%乙腈)制备得化合物 2(5.8 mg)。Fr. H5(22.7 g)经 ODS

反相色谱柱, 甲醇-水(10:90→100:0)梯度洗脱得 5 个流分(Fr. H5O1~H5O5); H5O2(6.7 g)经 PHPLC(30%乙腈)制备得化合物 8(11.2 mg); H5O4(1.9 g)经 PHPLC(60%乙腈)制备得化合物 11(8.1 mg)和化合物 12(10.5 mg)。石油醚部位浸膏(40.0 g)经 MCI 柱色谱, 甲醇-水(10:90→100:0)梯度洗脱得 7 个流分(Fr. CHPM1~CHPM7)。CHPM4(10.1 g)上硅胶柱色谱, 石油醚:醋酸乙酯(20:1→1:1)梯度洗脱得 5 个流分(Fr. CHPM4S1~CHPM4S5)。CHPM4S1(5.7 g)经 sephadex LH-20 凝胶柱色谱, 甲醇洗脱得 4 个流分(Fr. CHPM4S1L1~CHPM4S1L4)。CHPM4S1L3(1.6 g)经 PHPLC(50%乙腈)制备得化合物 18(233.2 mg)和化合物 19(109.7 mg)。

## 3 结构鉴定

化合物 1: 黄色无定型粉末(氯仿), 10%硫酸乙醇溶液显色为浅黄色。HR-ESI-MS  $m/z$ : 405.116 8  $[M+H]^+$ , 理论值  $m/z$ : 405.118 0, 分子式  $C_{20}H_{20}O_9$ , 不饱和度为 11。 $^1H$ -NMR(600 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 12.37(1H, s, 5-OH), 7.88(1H, s, 2'-OH), 7.011(1H, s, H-6'), 6.63(1H, s, H-3'), 6.51(1H, s, H-8), 3.97(3H, s, 7-OMe), 3.94(6H, s, 4',5'-OMe), 3.93(3H, s, 6-OMe), 3.88(3H, s, 3-OMe);  $^{13}C$ -NMR(150 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 156.1(C-2), 136.7(C-3), 177.6(C-4), 153.0(C-5,9), 132.7(C-6), 159.2(C-7), 90.8(C-8), 106.5(C-10), 108.8(C-1'), 151.4(C-2'), 111.1(C-3'), 154.1(C-4'), 143.8(C-5'), 103.1(C-6'), 62.3, 61.0, 56.8, 56.5, 56.2(3, 6, 4', 5', 7-OMe)。上述数据与文献报道一致<sup>[5]</sup>, 故鉴定化合物 1 为 brickellin。

化合物 2: 黄色无定型粉末(甲醇), 10%硫酸乙醇溶液显色为浅黄色。HR-ESI-MS  $m/z$ : 271.059 1  $[M+H]^+$ , 理论值  $m/z$ : 271.060 0, 分子式  $C_{15}H_{10}O_5$ , 不饱和度为 11。 $^1H$ -NMR(600 MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$ : 12.95(1H, s, 5-OH), 7.92(2H, d,  $J=8.8$  Hz, H-2', 6'), 6.93(2H, d,  $J=8.8$  Hz, H-3',5'), 6.77(1H, s, H-3), 6.47(1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-8), 6.18(1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-6);  $^{13}C$ -NMR(150 MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$ : 163.7(C-2), 102.7(C-3), 181.7(C-4), 161.2(C-5), 98.9(C-6), 161.4(C-7), 94.0(C-8), 157.3(C-9), 103.5(C-10), 121.1(C-1'), 128.4(C-2',6'), 115.9(C-3',5')。上述数据与文献报道一致<sup>[6]</sup>, 故鉴定化合物 2 为芹菜素。

化合物 3: 黄色无定型粉末(甲醇), 喷 10%硫酸乙醇溶液显色为黄色。HR-ESI-MS  $m/z$ : 553.157 0

$[M+H]^+$ , 理论值  $m/z$ : 553.155 1, 分子式  $C_{25}H_{28}O_{14}$ , 不饱和度为 12。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 7.06 (1H, s, H-3'), 6.93 (1H, s, H-6'), 6.64 (1H, s, H-8), 4.87 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz, H-1''), 3.93 (3H, s, 7-OMe), 3.92 (3H, s, 4'-OMe), 3.82 (3H, s, 6-OMe), 3.69 (3H, s, 3-OMe), 3.41~3.90 (6H, m, H-2''~6'');  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 158.6 (C-2), 140.7 (C-3), 180.2 (C-4), 153.4 (C-5), 133.2 (C-6), 160.5 (C-7), 92.4 (C-8), 154.6 (C-9), 107.7 (C-10), 113.5 (C-1'), 150.7 (C-2'), 103.0 (C-3'), 152.0 (C-4'), 142.8 (C-5'), 117.0 (C-6'), 104.0 (C-1''), 74.8 (C-2''), 78.5 (C-3''), 71.6 (C-4''), 78.2 (C-5''), 62.8 (C-6''), 61.3 (3-OMe), 61.1 (6-OMe), 57.0 (7-OMe), 56.6 (4'-OMe)。上述数据与文献报道一致<sup>[7]</sup>, 故鉴定化合物 3 为 chrysosplenoside I。

化合物 4: 黄色无定型粉末 (甲醇), 10% 硫酸乙醇溶液显色为黄色。HR-ESI-MS  $m/z$ : 449.107 1  $[M+H]^+$ , 理论值  $m/z$ : 449.107 8, 分子式  $C_{21}H_{20}O_{11}$ , 不饱和度为 12。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 7.45~7.35 (2H, m, H-2', 6'), 6.90 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-5'), 6.83 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-8), 6.71 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-6), 6.55 (1H, s, H-3), 4.84 (1H, s, H-1''), 3.95 (1H, dd,  $J = 12.0, 2.0$  Hz, H-6''a), 3.75 (1H, dd,  $J = 12.0, 5.0$  Hz, H-6''b), 3.60 (1H, m, H-3''), 3.50~3.44 (3H, m, H-2'', 4'', 5'');  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 164.9 (C-2), 104.7 (C-3), 180.4 (C-4), 160.1 (C-5), 105.0 (C-6), 164.4 (C-7), 99.2 (C-8), 160.7 (C-9), 109.3 (C-10), 123.5 (C-1'), 114.0 (C-2'), 147.0 (C-3'), 150.8 (C-4'), 116.8 (C-5'), 120.1 (C-6'), 109.3 (C-1''), 74.7 (C-2''), 78.6 (C-3''), 71.2 (C-4''), 74.7 (C-5''), 62.5 (C-6'')。上述数据与文献报道一致<sup>[8]</sup>, 故鉴定化合物 4 为木犀草素-5-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷。

化合物 5: 黄色无定型粉末 (甲醇), 喷 10% 硫酸乙醇溶液显色为黄色。HR-ESI-MS  $m/z$ : 449.107 1  $[M+H]^+$ , 理论值  $m/z$ : 449.107 8, 分子式为  $C_{21}H_{20}O_{11}$ , 不饱和度为 12。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$ : 12.99 (1H, s, 5-OH), 7.40 (1H, dd,  $J = 8.4, 2.3$  Hz, H-6'), 7.42 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-2'), 6.90 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5'), 6.78 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-8), 6.59 (1H, s, H-3), 6.49 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-6), 5.06 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz, H-1''), 3.18~3.71 (6H, m, H-2''~6'');  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$ : 164.8 (C-2), 104.2 (C-3), 184.0 (C-4), 162.9 (C-5), 101.1 (C-6), 166.8 (C-7), 96.1 (C-8), 158.9 (C-9), 107.1 (C-10),

123.5 (C-1'), 114.3 (C-2'), 147.1 (C-3'), 151.2 (C-4'), 116.8 (C-5'), 120.5 (C-6'), 101.6 (C-1''), 74.7 (C-2''), 78.4 (C-3''), 71.3 (C-4''), 77.8 (C-5''), 62.5 (C-6'')。上述数据与文献报道一致<sup>[9]</sup>, 故确定其为木犀草素-7-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷。

化合物 6: 黄色无定型粉末 (甲醇), 喷 10% 硫酸乙醇溶液显色为黄色。HR-ESI-MS  $m/z$ : 463.123 7  $[M+H]^+$ , 理论值  $m/z$ : 463.123 4, 分子式为  $C_{22}H_{22}O_{11}$ , 不饱和度为 12。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 7.90 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-2', 6'), 6.95 (1H, s, H-8), 6.93 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-3', 5'), 6.66 (1H, s, H-3), 5.13 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz, H-1''), 3.40~3.73 (6H, m, 2''~6''), 3.89 (3H, s, 6-OMe);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 123.0 (C-1'), 129.6 (C-2', 6'), 117.0 (C-3', 5'), 162.9 (C-4'), 101.9 (C-1''), 74.8 (C-2''), 78.5 (C-3''), 71.3 (C-4''), 78.0 (C-5''), 62.5 (C-6''), 61.5 (6-OMe)。上述数据与文献报道一致<sup>[10]</sup>, 故确定其为高车前苷。

化合物 7: 黄色无定型粉末 (甲醇), 喷 10% 硫酸乙醇溶液显色为黄色。HR-ESI-MS  $m/z$ : 523.143 8  $[M+H]^+$ , 理论值  $m/z$ : 523.144 6, 分子式为  $C_{24}H_{26}O_{13}$ , 不饱和度为 12。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$ : 6.99 (1H, s, H-3'), 6.84 (1H, s, H-6'), 6.60 (1H, s, H-8), 6.37 (1H, s, H-6), 4.79 (1H, d,  $J = 7.9$  Hz, H-1''), 3.83 (6H, s, 7, 4'-OMe), 3.71 (3H, s, 3-OMe), 3.43~3.40 (2H, m, H-6''), 3.23~3.19 (2H, m, H-2'', 4''), 3.11~3.07 (2H, m, H-1'', 3'');  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$ : 156.4 (C-2), 139.3 (C-3), 178.3 (C-4), 161.0 (C-5), 97.6 (C-6), 164.9 (C-7), 92.4 (C-8), 157.0 (C-9), 105.9 (C-10), 111.2 (C-1'), 148.9 (C-2'), 101.8 (C-3'), 150.3 (C-4'), 140.9 (C-5'), 115.9 (C-6'), 102.1 (C-1''), 73.1 (C-2''), 77.3 (C-3''), 70.1 (C-4''), 76.7 (C-5''), 61.0 (C-6''), 60.0 (3-OMe), 56.0 (7-OMe), 55.6 (4'-OMe)。上述数据与文献报道一致<sup>[11]</sup>, 故鉴定化合物 7 为 5,2',5'-三羟基-3,7,4'-三甲氧基黄酮-2'-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷。

化合物 8: 黄色无定型粉末 (甲醇), 10% 硫酸乙醇溶液显色为浅黄色。HR-ESI-MS  $m/z$ : 287.054 5  $[M+H]^+$ , 理论值  $m/z$ : 287.055 0, 分子式为  $C_{15}H_{10}O_6$ , 不饱和度为 11。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 7.37~7.36 (2H, m, H-3, 6'), 6.90 (1H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-5'), 6.52 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-8), 6.42 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-2'), 6.20 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-

6);  $^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 166.3 (C-2), 103.8 (C-3), 183.8 (C-4), 159.4 (C-5), 100.1 (C-6), 166.0 (C-7), 95.0 (C-8), 163.2 (C-9), 105.3 (C-10), 123.7 (C-1'), 114.1 (C-2'), 147.0 (C-3'), 151.0 (C-4'), 116.8 (C-5'), 120.3 (C-6')。上述数据与文献报道基本一致<sup>[12]</sup>, 故鉴定化合物 **8** 为木犀草素。

化合物 **9**: 黄色无定型粉 (甲醇), 喷 10% 硫酸乙醇溶液显色为黄褐色。HR-ESI-MS  $m/z$ : 465.101 8  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 理论值  $m/z$ : 465.102 7, 分子式为  $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$ , 不饱和度为 12。 $^1\text{H}$ -NMR (600 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 12.62 (1H, s, 5-OH), 7.59 (1H, dd,  $J = 8.0, 2.0$  Hz, H-6'), 7.57 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-2'), 6.85 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-5'), 6.40 (1H, s, H-8), 6.20 (1H, s, H-6), 5.46 (1H, d,  $J = 7.4$  Hz, H-1''), 3.05~3.35 (6H, m, H-2''~6'');  $^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 156.4 (C-2), 133.6 (C-3), 177.7 (C-4), 161.5 (C-5), 98.9 (C-6), 164.4 (C-7), 93.7 (C-8), 156.6 (C-9), 104.2 (C-10), 121.8 (C-1'), 115.4 (C-2'), 145.0 (C-3'), 148.6 (C-4'), 116.4 (C-5'), 121.4 (C-6'), 101.1 (C-1''), 74.3 (C-2''), 77.7 (C-3''), 70.1 (C-4''), 76.7 (C-5''), 61.2 (C-6'')。上述数据与文献报道一致<sup>[13]</sup>, 故鉴定化合物 **9** 为槲皮素-3-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷。

化合物 **10**: 黄色无定型粉末 (氯仿), 喷 10% 硫酸乙醇溶液显色为黄褐色。HR-ESI-MS  $m/z$ : 253.179 9  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 理论值  $m/z$ : 253.179 8, 分子式为  $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_3$ , 不饱和度为 4。 $^1\text{H}$ -NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.51 (1H, d,  $J = 11.1$  Hz, H-12 $\alpha$ ), 3.48 (1H, d,  $J = 11.1$  Hz, H-12 $\beta$ ), 2.83 (1H, dd,  $J = 12.3, 2.8$  Hz, H-6 $\alpha$ ), 2.56 (1H, m, H-2 $\beta$ ), 2.33 (1H, m, H-2 $\alpha$ ), 2.03 (1H, dd,  $J = 12.3, 1.6$  Hz, H-6 $\beta$ ), 1.79~1.74 (2H, m, H-1 $\alpha$ , 1 $\beta$ ), 1.76 (3H, s, Me-15), 1.73 (1H, m, H-9 $\alpha$ ), 1.67 (1H, m, H-7), 1.39 (1H, m, H-9 $\beta$ ), 1.27 (1H, m, H-8 $\alpha$ ), 1.24 (3H, s, Me-13), 1.17 (3H, s, Me-14), 1.14 (1H, m, H-8 $\beta$ );  $^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 38.4 (C-1), 34.6 (C-2), 201.6 (C-3), 129.5 (C-4), 166.4 (C-5), 29.9 (C-6), 46.4 (C-7), 22.6 (C-8), 43.2 (C-9), 37.2 (C-10), 75.0 (C-11), 68.8 (C-12), 21.6 (C-13), 22.6 (C-14), 10.9 (C-15)。上述数据与文献报道一致<sup>[14]</sup>, 故鉴定化合物 **10** 为 11,12-二羟基桉叶烷-4-烯-3-酮。

化合物 **11**: 黄色油状液体 (氯仿), 10% 硫酸乙醇溶液显色为黄色。HR-ESI-MS  $m/z$ : 291.159 1  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 理论值  $m/z$ : 291.159 0, 分子式为  $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_4$ , 不饱和度为 7。 $^1\text{H}$ -NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.35

(1H, brs, H-13 $\alpha$ ), 5.71 (1H, brs, H-13 $\beta$ ), 5.59 (1H, d,  $J = 3.6$  Hz, H-3), 5.38 (1H, d,  $J = 1.7$  Hz, H-6), 4.88 (1H, dd,  $J = 12.3, 3.6$  Hz, H-9), 3.62 (1H, m, H-7), 2.22 (2H, m, H-2 $\alpha$ , 8 $\alpha$ ), 2.11 (1H, m, H-2 $\beta$ ), 2.06 (3H, s, Me-OAc), 1.80 (3H, s, Me-15), 1.67 (2H, m, H-1 $\beta$ , 8 $\beta$ ), 1.32 (1H, m, H-1 $\alpha$ ), 1.04 (3H, s, Me-14);  $^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 32.6 (C-1), 22.4 (C-2), 125.5 (C-3), 130.5 (C-4), 141.7 (C-5), 121.0 (C-6), 37.5 (C-7), 30.5 (C-8), 77.9 (C-9), 36.7 (C-10), 143.9 (C-11), 171.0 (C-12), 126.8 (C-13), 18.2 (C-14), 20.6 (C-15), 170.9 (O=C-OAc), 21.4 (Me-OAc)。上述数据与文献报道一致<sup>[3]</sup>, 故鉴定化合物 **11** 为 (7*R*,9*S*,10*S*)-9-乙酰氧基桉叶烷-3,5,11(13)-三烯-12-酸。

化合物 **12**: 黄色油状液体 (甲醇), 10% 硫酸乙醇溶液显色为黄色。HR-ESI-MS  $m/z$ : 293.174 3  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 理论值  $m/z$ : 293.174 7, 分子式为  $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_4$ , 不饱和度为 6。 $^1\text{H}$ -NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 6.20 (1H, s, H-13 $\alpha$ ), 5.62 (1H, s, H-13 $\beta$ ), 4.63 (1H, dd,  $J = 11.6, 4.5$  Hz, H-9), 2.69 (1H, m, H-6 $\alpha$ ), 2.45 (1H, tt,  $J = 12.6, 3.1$  Hz, H-7), 2.03 (3H, s, Me-OAc), 1.94 (1H, m, H-3 $\alpha$ ), 1.92 (1H, m, H-3 $\beta$ ), 1.86~1.76 (2H, m, H-2 $\alpha$ , 2 $\beta$ ), 1.72 (1H, m, H-6 $\beta$ ), 1.65 (3H, s, Me-15), 1.63~1.56 (2H, m, H-1 $\alpha$ , 8 $\beta$ ), 1.52 (1H, m, H-8 $\alpha$ ), 1.33 (1H, m, H-1 $\beta$ ), 1.11 (3H, s, Me-14);  $^{13}\text{C}$ -NMR (151 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 31.8 (C-1), 19.6 (C-2), 33.8 (C-3), 129.7 (C-4), 133.2 (C-5), 33.4 (C-6), 38.6 (C-7), 36.9 (C-8), 81.5 (C-9), 40.2 (C-10), 145.8 (C-11), 170.0 (C-12), 123.8 (C-13), 19.6 (C-14), 20.0 (C-15), 172.4 (O=C-OAc), 21.2 (Me-OAc)。上述数据与文献报道基本一致<sup>[15]</sup>, 故鉴定化合物 **12** 为 9 $\beta$ -乙酰氧基-4,5-脱氢-4(15)-二氢广木香酸。

化合物 **13**: 黄色油状液体 (氯仿), 喷 10% 硫酸乙醇溶液显色为黄色。HR-ESI-MS  $m/z$ : 305.137 8  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 理论值  $m/z$ : 305.138 3, 分子式为  $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_5$ , 不饱和度为 8。 $^1\text{H}$ -NMR (600 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 6.06 (1H, d,  $J = 1.3$  Hz, H-13 $\alpha$ ), 5.86 (1H, d,  $J = 1.3$  Hz, H-13 $\beta$ ), 5.46 (1H, d,  $J = 6.3$  Hz, H-6), 4.70 (1H, dd,  $J = 11.0, 3.4$  Hz, H-9), 3.34 (1H, m, H-7), 2.68 (1H, ddd,  $J = 17.9, 14.6, 5.5$  Hz, H-2 $\alpha$ ), 2.51 (1H, m, H-2 $\beta$ ), 2.07 (1H, m, H-8 $\beta$ ), 2.02 (3H, s, O=C-OAc), 1.97 (1H, m, H-1 $\alpha$ ), 1.85 (1H, m, H-1 $\beta$ ), 1.83 (1H, m, H-8 $\alpha$ ), 1.82 (3H, s, Me-15), 1.18 (3H, s, Me-14);  $^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 33.0 (C-1),

32.9 (C-2), 197.7 (C-3), 150.1 (C-4), 137.2 (C-5), 73.8 (C-6), 37.9 (C-7), 28.8 (C-8), 75.1 (C-9), 37.4 (C-10), 140.3 (C-11), 169.8 (C-12), 121.7 (C-13), 17.6 (C-14), 11.0 (C-15), 169.4 (O=C-OAc), 21.0 (Me-OAc)。上述数据与文献报道一致<sup>[16]</sup>, 故鉴定化合物 **13** 为 artetourneforin B。

化合物 **14**: 无色细小结晶 (氯仿), 10% 硫酸乙醇溶液显色为黄色。HR-ESI-MS  $m/z$ : 247.121 8  $[M+H]^+$ , 理论值  $m/z$ : 247.122 4, 分子式为  $C_{15}H_{18}O_3$ , 不饱和度为 7。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 6.37 (1H, d,  $J = 2.9$  Hz, H-13 $\alpha$ ), 5.77 (1H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-6), 5.68 (1H, d,  $J = 2.9$  Hz, H-13 $\beta$ ), 3.67 (1H, m, H-7), 2.77 (1H, dd,  $J = 14.0, 7.3$  Hz, H-8 $\alpha$ ), 2.44 (1H, dd,  $J = 14.0, 2.9$  Hz, H-8 $\beta$ ), 2.13 (2H, m, H-3), 1.80 (2H, m, H-2), 1.60 (1H, m, H-1 $\alpha$ ), 1.50 (1H, m, H-1 $\beta$ ), 1.88 (3H, s, Me-15), 1.19 (3H, s, Me-14);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 34.3 (C-1), 18.0 (C-2), 32.6 (C-3), 128.4 (C-4), 140.2 (C-5), 75.3 (C-6), 37.6 (C-7), 41.0 (C-8), 213.5 (C-9), 47.4 (C-10), 138.0 (C-11), 169.7 (C-12), 124.3 (C-13), 24.9 (C-14), 19.8 (C-15)。上述数据与文献报道一致<sup>[17]</sup>, 故鉴定化合物 **14** 为 9-氧代-6 $\alpha$ ,7 $\alpha$ (H)-桉叶烷-4,11(13)-二烯-12,6-内酯。

化合物 **15**: 白色无定型粉末 (氯仿), 喷 10% 硫酸乙醇溶液显色为黄褐色。HR-ESI-MS  $m/z$ : 389.268 2  $[M+H]^+$ , 理论值  $m/z$ : 389.268 6, 分子式为  $C_{24}H_{36}O_4$ , 不饱和度为 7。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 5.71 (1H, brd,  $J = 6.1$  Hz, H-6), 4.94 (1H, ddd,  $J = 8.3, 6.5, 1.6$  Hz, H-16), 3.26 (2H, dd,  $J = 14.2, 1.0$  Hz, H-12 $\alpha$ ), 3.23 (1H, dd,  $J = 12.0, 4.4$  Hz, H-3), 3.15 (1H, d,  $J = 6.5$  Hz, H-17), 2.43 (1H, d,  $J = 14.2$  Hz, H-12 $\beta$ ), 2.26~2.20 (3H, m, H-7 $\alpha$ , 7 $\beta$ , 10), 2.15 (3H, s, Me-21), 1.95~1.64 (7H, m, H-1 $\alpha$ , 1 $\beta$ , 2 $\alpha$ , 2 $\beta$ , 8, 15 $\alpha$ , 15 $\beta$ ), 1.31 (3H, s, Me-28), 1.17 (3H, s, Me-29), 1.06 (3H, s, Me-30), 0.95 (3H, s, Me-19), 0.65 (3H, s, Me-18);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 25.1 (C-1), 30.6 (C-2), 76.7 (C-3), 42.4 (C-4), 142.0 (C-5), 118.4 (C-6), 24.1 (C-7), 43.1 (C-8), 48.8 (C-9), 35.5 (C-10), 212.2 (C-11), 47.3 (C-12), 49.3 (C-13), 50.2 (C-14), 45.1 (C-15), 71.9 (C-16), 67.7 (C-17), 19.9 (C-18), 20.3 (C-19), 208.4 (C-20), 31.6 (C-21), 24.6 (C-22), 19.4 (C-23), 20.3 (C-24)。上述数据与文献报道一致<sup>[18]</sup>, 故鉴定化合物 **15** 为 3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ -二羟基-4,4,9,14-四甲基-(9 $\beta$ ,10 $\alpha$ )-19-去甲孕甾-5-烯-11,20-二酮。

化合物 **16**: 黄色无定型粉末 (甲醇), 10% 硫酸乙醇溶液显色为黄色。HR-ESI-MS  $m/z$ : 531.150 5  $[M+H]^+$ , 理论值  $m/z$ : 531.149 7, 分子式为  $C_{26}H_{26}O_{12}$ , 不饱和度为 14。 $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 7.56 (1H, d,  $J = 15.8$  Hz, H-7''), 7.47 (1H, d,  $J = 15.8$  Hz, H-7'), 7.01 (2H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-2', 2''), 6.87 (2H, m, H-6', 6''), 6.75 (2H, m, H-5', 5''), 6.25 (1H, d,  $J = 15.8$  Hz, H-8'), 6.14 (1H, d,  $J = 15.8$  Hz, H-8''), 5.57 (1H, m, H-5), 5.13 (1H, m, H-4), 4.35 (1H, m, H-3), 3.65 (3H, s,  $COOCH_3$ ), 2.25~2.07 (4H, m, H-2, 6);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 75.8 (C-1), 38.0 (C-2), 68.8 (C-3), 74.7 (C-4), 69.5 (C-5), 38.6 (C-6), 53.1 (C-7), 175.0 (C-8), 123.1 (4-caffeoyl C-1'), 115.2 (4-caffeoyl C-2'), 146.4 (4-caffeoyl C-3'), 147.6 (4-caffeoyl C-4'), 116.5 (4-caffeoyl C-5'), 127.6 (4-caffeoyl C-6'), 149.3 (4-caffeoyl C-7'), 114.5 (4-caffeoyl C-8'), 168.0 (4-caffeoyl C-9'), 123.0 (5-caffeoyl C-1''), 115.1 (5-caffeoyl C-2''), 146.3 (5-caffeoyl C-3''), 147.5 (5-caffeoyl C-4''), 116.4 (5-caffeoyl C-5''), 127.4 (5-caffeoyl C-6''), 149.2 (5-caffeoyl C-7''), 114.4 (5-caffeoyl C-8''), 168.4 (5-caffeoyl C-9'')。上述数据与文献报道一致<sup>[19]</sup>, 故鉴定化合物 **16** 为 4,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸甲酯。

化合物 **17**: 黄色无定型粉末 (甲醇), 10% 硫酸乙醇溶液显色为黄色。HR-ESI-MS  $m/z$ : 531.150 5  $[M+H]^+$ , 理论值  $m/z$ : 531.149 7, 分子式为  $C_{26}H_{26}O_{12}$ , 不饱和度为 14。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$ : 7.49 (1H, d,  $J = 15.9$  Hz, H-7''), 7.43 (1H, d,  $J = 15.8$  Hz, H-7'), 7.06~7.04 (2H, m, H-2', 2''), 7.01~6.99 (2H, brd,  $J = 8.2$  Hz, H-6', 6''), 6.79~6.76 (2H, m, H-5', 5''), 6.26 (1H, d,  $J = 15.8$  Hz, H-8'), 6.14 (1H, d,  $J = 15.9$  Hz, H-8''), 5.18 (1H, m, H-3), 5.09 (1H, m, H-5), 3.86 (1H, m, H-4), 3.60 (3H, s,  $OCH_3$ ), 2.22~2.20 (2H, brd,  $J = 12.3$  Hz, H-2a, 6a), 2.02~1.98 (2H, m, H-2b, 6b);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$ : 72.4 (C-1), 48.5 (C-2), 63.0 (C-3), 70.9 (C-4), 69.9 (C-5), 34.4 (C-6), 173.7 (C-7), 52.0 ( $-OCH_3$ ), 125.6 (3-caffeoyl C-1'), 114.8 (3-caffeoyl C-2'), 145.6 (3-caffeoyl C-3'), 148.5 (3-caffeoyl C-4'), 115.9 (3-caffeoyl C-5'), 121.4 (3-caffeoyl C-6'), 145.4 (3-caffeoyl C-7'), 114.6 (3-caffeoyl C-8'), 166.0 (3-caffeoyl C-9'), 5-caffeoyl 125.3 (5-caffeoyl C-1'), 114.7 (5-caffeoyl C-2'), 145.5 (5-caffeoyl C-3'), 148.2

(5-caffeoyl C-4'), 115.8 (5-caffeoyl C-5'), 121.2 (5-caffeoyl C-6'), 145.0 (5-caffeoyl C-7'), 113.7 (5-caffeoyl C-8'), 165.3 (5-caffeoyl C-9')。上述数据与文献报道一致<sup>[20]</sup>, 故鉴定化合物 **17** 为 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸甲酯。

化合物 **18**: 黄色无定型粉末 (氯仿), 喷 10% 硫酸乙醇溶液显色为黄褐色。HR-ESI-MS  $m/z$ : 201.090 8  $[M+H]^+$ , 理论值  $m/z$ : 201.091 0, 分子式为  $C_{13}H_{12}O_2$ , 不饱和度为 8。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 6.68 (1H, d,  $J = 5.7$  Hz, H-8), 6.20 (1H, dd,  $J = 5.7, 1.6$  Hz, H-9), 4.91 (1H, brs, H-6), 4.17 (1H, ddd,  $J = 8.3, 8.0, 3.8$  Hz, H-13a), 3.99 (1H, ddd,  $J = 8.3, 8.0, 8.0$  Hz, H-13b), 2.24 (1H, m, H-12a), 2.19 (1H, m, H-11a), 2.05 (2H, m, H-12b, 11b), 1.97 (3H, d,  $J = 1.2$  Hz, H-1);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 4.8 (C-1), 80.0 (C-2), 65.1 (C-3), 76.4 (C-4), 71.6 (C-5), 80.0 (C-6), 169.0 (C-7), 126.0 (C-8), 135.9 (C-9), 121.0 (C-10), 35.6 (C-11), 24.6 (C-12), 69.8 (C-13)。上述数据与文献报道一致<sup>[21]</sup>, 故鉴定化合物 **18** 为 (*E*)-茛蒿素。

化合物 **19**: 黄色无定型粉末 (氯仿), 喷 10% 硫酸乙醇溶液显色为黄褐色。HR-ESI-MS  $m/z$ : 201.090 8  $[M+H]^+$ , 理论值  $m/z$ : 201.091 0, 分子式为  $C_{13}H_{12}O_2$ , 不饱和度为 8。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 6.23 (1H, d,  $J = 5.7$  Hz, H-8), 6.15 (1H, d,  $J = 5.7$  Hz, H-9), 4.59 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-6), 4.21 (1H, ddd,  $J = 8.3, 8.0, 3.6$  Hz, H-13a), 4.00 (1H, ddd,  $J = 8.3, 8.0, 8.0$  Hz, H-13b), 2.35 (1H, m, H-12a), 2.26 (1H, m, H-11a), 2.10 (2H, m, H-12b, 11b), 1.98 (3H, d,  $J = 1.2$  Hz, H-1);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 4.9 (C-1), 80.8 (C-2), 65.3 (C-3), 79.0 (C-4), 70.9 (C-5), 78.9 (C-6), 167.3 (C-7), 127.6 (C-8), 135.4 (C-9), 121.2 (C-10), 35.7 (C-11), 24.6 (C-12), 69.8 (C-13)。上述数据与文献报道一致<sup>[21]</sup>, 故鉴定化合物 **19** 为 (*Z*)-茛蒿素。

化合物 **20**: 黄色无定型粉末 (甲醇), 10% 硫酸乙醇溶液显色为黄褐色。HR-ESI-MS  $m/z$ : 361.164 0  $[M+H]^+$ , 理论值  $m/z$ : 361.164 5, 分子式为  $C_{20}H_{24}O_6$ , 不饱和度为 9。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 6.95 (1H, d,  $J = 1.9$  Hz, H-2'), 6.82 (1H, dd,  $J = 8.1, 1.9$  Hz, H-6'), 6.77 (1H, d,  $J = 8.1$  Hz, H-5'), 6.73 (2H, s, H-2, 6), 5.49 (1H, d,  $J = 6.3$  Hz, H-7'), 3.85 (3H, s, 3-OMe), 3.83 (1H, dd,  $J = 11.0, 5.8$  Hz, H-9'b), 3.75 (1H, dd,  $J = 11.0, 7.2$  Hz, H-9'a), 3.81 (3H, s, 3'-

OMe), 3.57 (2H, t,  $J = 6.3$  Hz, H-9), 3.47 (1H, m, H-8'), 2.62 (2H, t,  $J = 7.5$  Hz, H-7), 1.83~1.81 (2H, m, H-8);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 129.9 (C-1), 114.1 (C-2), 145.2 (C-3), 147.5 (C-4), 136.9 (C-5), 117.9 (C-6), 32.9 (C-7), 35.8 (C-8), 62.2 (C-9), 134.8 (C-1'), 110.5 (C-2'), 147.5 (C-3'), 149.1 (C-4'), 116.1 (C-5'), 119.7 (C-6'), 89.0 (C-7'), 55.5 (C-8'), 65.0 (C-9'), 56.4 (3-OMe), 56.7 (3'-OMe)。上述数据与文献报道一致<sup>[22]</sup>, 故鉴定化合物 **20** 为二氢脱氢二松柏醇。

化合物 **21**: 黄色油状液体 (甲醇), 10% 硫酸乙醇溶液显色为黄色。HR-ESI-MS  $m/z$ : 403.137 9  $[M+H]^+$ , 理论值  $m/z$ : 403.138 7, 分子式为  $C_{21}H_{22}O_8$ , 不饱和度为 11。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 6.72~6.68 (4H, m, H-2, 5, 2', 5'), 6.60~6.57 (2H, m, H-6, 6'), 4.18 (2H, q,  $J = 7.1$  Hz,  $CH_2-OEt$ ), 3.72 (3H, s, 9-OMe), 3.39 (2H, t,  $J = 8.5$  Hz, H-7, 7'), 3.27 (2H, t,  $J = 8.5$  Hz, H-8, 8'), 1.25 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz, Me-OEt);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 134.2 (C-1, 1'), 114.9 (C-2, 2'), 146.4 (C-3, 3'), 145.5 (C-4, 4'), 116.4 (C-5, 5'), 119.2 (C-6, 6'), 45.9 (C-7, 7'), 46.3 (C-8, 8'), 174.8 (C-9), 174.3 (C-9'), 62.1 ( $CH_2-OEt$ ), 14.5 (Me-OEt), 52.6 (9'-OMe)。上述数据与文献报道一致<sup>[23]</sup>, 故鉴定化合物 **21** 为 3,3',4,4'-四羟基- $\delta$ -苯并二氢吡喃酸乙酯。

#### 4 抗肝损伤活性评价

以 CCK-8 法检测化合物 **1**~**21** 和水飞蓟宾 (阳性药) 对 HepG2 的细胞毒性, 以确定抗肝损伤活性评价的安全给药剂量。培养于完全培养基的 HepG2 细胞生长到对数生长期时, 以  $1.6 \times 10^5$  个/mL 的密度接种到 96 孔板上, 每孔 100  $\mu$ L, 设对照组和药物组, 每组设 3 个复孔。各组细胞于 5%  $CO_2$  浓度, 37  $^{\circ}C$  的恒温培养箱中培养 24 h。待细胞完全贴壁且融合度达到 30%~40% 时, 药物组分别加入不同浓度 (1.25、2.5、5  $\mu$ mol/L) 的含药培养基 (待测药物以 DMSO 为溶剂配制成 100 mmol/L 的母液, 以完全培养基稀释成目标浓度, 其中 DMSO 终浓度 < 0.1%)。继续在恒温培养箱中培养 24 h 后, 弃去上清液, 每孔加入含 10% CCK-8 的完全培养基 100  $\mu$ L, 置恒温培养箱中继续培养。1 h 后取出, 使用酶标仪测定各孔在 450 nm 波长下的吸光度 ( $A$ ) 值, 按照公式计算细胞存活率。结果表明, 当给药浓度为 2.5  $\mu$ mol/L, 各药物组细胞的存活率达到 90% 以上, 从而确定抗肝损伤活性试验的安全给药剂量为

2.5 μmol/L。

细胞存活率 =  $A_{\text{药物}}/A_{\text{对照}}$

以利福平诱导的 HepG2 细胞损伤模型评价化合物 1~21 的抗肝损伤活性<sup>[24]</sup>。HepG2 细胞损伤利福平作用时间和浓度进行了优化，最终选用 1 mmol/L 的利福平诱导 HepG2 12 h。将对数生长期的 HepG2 细胞以  $1.6 \times 10^5$  个/mL 的密度接种到 96 孔板中，每孔 100 μL，设对照组、模型组、阳性组

(水飞蓟宾)和药物组，每组设 3 个复孔。置于细胞培养箱培养 24 h 后，弃上清，向对照组和模型组中加入完全培养基，向阳性药组和药物组加入含有相应药物的培养基。继续培养 24 h 后，向模型组、阳性药组和药物组加入利福平溶液(终浓度为 1 mmol/L)。继续培养 12 h 后，收集上层培养液，4 ℃ 下以 12 000 r/min 离心 10 min，得上清液。根据试剂盒的操作指南，对上清液中 ALT 和 AST 的活力值，结果见表 1。

表 1 化合物 1~21 对利福平诱导的 HepG2 细胞释放 ALT、AST 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 1 Effects of compounds 1—21 on ALT and AST released from rifampicin-induced HepG2 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

| 组别   | ALT/(U·L <sup>-1</sup> ) | AST/(U·L <sup>-1</sup> )  | 组别 | ALT/(U·L <sup>-1</sup> ) | AST/(U·L <sup>-1</sup> ) |
|------|--------------------------|---------------------------|----|--------------------------|--------------------------|
| 对照   | 4.66±0.01                | 150.34±0.03               | 10 | 14.68±0.01*              | 345.18±0.01              |
| 模型   | 28.61±0.11 <sup>##</sup> | 344.49±0.02 <sup>##</sup> | 11 | 16.35±0.01*              | 349.21±0.01              |
| 水飞蓟宾 | 23.78±0.04               | 275.11±0.01               | 12 | 19.93±0.01               | 353.90±0.01              |
| 1    | 17.67±0.01               | 315.34±0.04               | 13 | 16.58±0.01*              | 354.81±0.01              |
| 2    | 16.05±0.01*              | 357.88±0.01               | 14 | 18.07±0.01               | 366.05±0.02              |
| 3    | 19.01±0.01               | 362.20±0.01               | 15 | 17.93±0.01               | 331.51±0.01              |
| 4    | 9.02±0.04**              | 283.82±0.04*              | 16 | 19.69±0.02               | 349.31±0.01              |
| 5    | 13.20±0.01**             | 320.72±0.01               | 17 | 18.69±0.01               | 362.03±0.03              |
| 6    | 19.68±0.01               | 357.98±0.01               | 18 | 19.45±0.01               | 351.87±0.01              |
| 7    | 21.23±0.01               | 337.76±0.01               | 19 | 17.66±0.01               | 315.39±0.01              |
| 8    | 20.80±0.01               | 342.59±0.01               | 20 | 17.11±0.01*              | 360.09±0.01              |
| 9    | 6.56±0.05**              | 283.43±0.05*              | 21 | 18.58±0.01               | 362.36±0.01              |

与对照组比较：<sup>##</sup> $P < 0.01$ ；与模型组比较：\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ 。

<sup>##</sup> $P < 0.01$  vs control group; \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs model group.

化合物 2、4、5、9~11、13、20 可显著降低利福平诱导的 HepG2 细胞的 ALT/AST 的水平( $P < 0.05, 0.01$ )，其余化合物未表现出明显的活性。

## 5 讨论

本实验对菊科蒿属植物臭蒿地上部分的化学成分进行了较系统研究，从中分离鉴定了 21 个化合物，包括 9 个黄酮类化合物(1~9)，6 个萜类化合物(10~15)，2 个苯丙素类化合物(16、17)，2 个聚炔类化合物(18、19)，2 个木脂素类化合物(20、21)。值得注意的是，化合物 21 为 1 个含乙酯基的木脂素类衍生物。为考证该化合物是否为提取过程产生的人工产物，对原药材进行了甲醇回流提取，并通过 LC-MS 分析了该提取物。结果显示，甲醇回流提取物中未检测到化合物 21，这表明化合物 21 为人工产物。所分离化合物中，化合物 1、3、7、10、13、15、20 为首次从菊科植物中分离得到，化合物 4 为首次从蒿属中分离得到，化合物 2、5、6、8、9、14、16~19 为首次从臭蒿中分离得到。

对所分离的化合物进行了细胞水平的抗肝损伤活性评价，结果表明 2、4、5、9~11、13、20 等 8 个化合物在 2.5 μmol/L 条件下对利福平诱导的 HepG2 细胞损伤具有不同程度的缓解作用。其中，化合物 4、5、9 表现了相对较好的抗肝损伤潜力。从结构上来看，这 3 个活性化合物均为含有 5,7-二羟基取代 A 环和 3',4'-二羟基取代 B 环结构特征的黄酮苷/黄酮醇苷，体现了抗肝损伤活性黄酮类化合物在 A 环和 B 环发生氧化的结构特点。此外，还可发现抗肝损伤活性强弱与葡萄糖基取代基的位置有关，如具有 C-3 糖基的化合物(9)的活性强于携带 C-5 或 C-7 糖基化合物(4 和 5)。然而，本研究由于获得的化学实体量较小，无法采用整体动物实验进行活性评价，后期将聚焦臭蒿中的丰量成分进行动物模型水平的抗肝损伤活性验证。本研究拓展了对臭蒿抗肝损伤药用价值的认识，为臭蒿药效物质的系统阐释及该植物资源的深入开发利用提供了基础数据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第七十六卷, 第二分册) [M]. 北京: 科学出版社, 1991: 65.
- [2] 任瑶瑶, 江南屏, 刘睿颖, 等. 藏药臭蒿及其近缘种药材的 ITS2 DNA 条形码鉴别 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(7): 1395-1400.
- [3] Wang X, Peng X, Tang C P, *et al.* Anti-inflammatory eudesmane sesquiterpenoids from *Artemisia hedinii* [J]. *J Nat Prod*, 2021, 84(5): 1626-1637.
- [4] You C, Yu J, Qin G J, *et al.* Homogenate extraction of dihydroartemisinin from *Artemisia hedinii* and its antifungal activity [J]. *J AOAC Int*, 2021, 104(4): 1206-1212.
- [5] Iinuma M, Roberts M F, Matlin S A, *et al.* Synthesis and revised structure of the flavone brickellin [J]. *Phytochemistry*, 1985, 24(6): 1367-1368.
- [6] Ghosal S, Jaiswal D K. Chemical constituents of Gentianaceae XXVIII: Flavonoids of *enicostemma hyssopifolium* (Willd.) verd [J]. *J Pharm Sci*, 1980, 69(1): 53-56.
- [7] Cai Z Y, Li W Y, Jiang W, *et al.* Protective effect of the ethyl acetate fraction of Qinghai-Tibet Plateau medicinal plant *Chrysosplenium axillare* Maxim. against ANIT-induced cholestatic liver injury in mice [J]. *Phytomed Plus*, 2021, 1(3): 100076.
- [8] 陈海永, 周长新, 楼宜嘉, 等. 四方蒿化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(20): 1589-1591.
- [9] Shabana M, Gonaïd M, Salama M M, *et al.* Phenylalkylamine alkaloids from *Stapelia hirsuta* L [J]. *Nat Prod Res*, 2006, 20(8): 710-714.
- [10] Garayev E, Di Giorgio C, Herbette G, *et al.* Bioassay-guided isolation and UHPLC-DAD-ESI-MS/MS quantification of potential anti-inflammatory phenolic compounds from flowers of *Inula montana* L [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 226: 176-184.
- [11] 蔡紫嫣. 藏药裸茎金腰抗 IC 型肝损伤的物质基础及活性成分的作用机制研究 [D]. 南昌: 江西中医药大学, 2020.
- [12] Zhou L X, Dind Y. Studies on chemical constituents of *Ligustrum obtusifolium* sieb. et zucc [J]. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 2000, 25(9): 541-543.
- [13] Krasnov E A, Raldugin V A, Shilova I V, *et al.* Phenolic compounds from *Filipendula ulmaria* [J]. *Chem Nat Compd*, 2006, 42(2): 148-151.
- [14] Ryu B, Kim H M, Lee J S, *et al.* Sesquiterpenes from rhizomes of *Cyperus rotundus* with cytotoxic activities on human cancer cells *in vitro* [J]. *Helv Chim Acta*, 2015, 98(10): 1372-1380.
- [15] Guerreiro E, Pestchanker M J, Del Vitto L, *et al.* Sesquiterpenes and flavonoids from *Tessaria* species [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29(3): 877-879.
- [16] Wu X F, Turak A, Aisa H A. Sesquiterpenes from the aerial parts of *Artemisia tournefortiana* [J]. *Phytochem Lett*, 2022, 49: 182-186.
- [17] Talzhanov N A, Rodichev M A, Raldugin V A, *et al.* Tournefortin, a novel eudesmanolide from *Artemisia tournefortiana* [J]. *Chem Nat Compd*, 2007, 43(5): 555-557.
- [18] Achenbach H, Horn K, Dominguez X A, *et al.* Cucurbitanes and cucurbitane-type glycosides from *Ibervillea sonora* [J]. *Phytochemistry*, 1993, 33(2): 437-445.
- [19] Nugroho A, Lee K R, Alam M B, *et al.* Isolation and quantitative analysis of peroxynitrite scavengers from *Artemisia princeps* var. *orientalis* [J]. *Arch Pharm Res*, 2010, 33(5): 703-708.
- [20] 王美娇, 王金兰, 王丹, 等. 柳蒿化学成分研究(II) [J]. 中草药, 2019, 50(22): 5411-5418.
- [21] Zhang F Z, Ishiuchi K, Sugiyama A, *et al.* B-ring-Homotonghaosu, isolated from *Chrysanthemum morifolium Capitulum*, acts as a peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  agonist [J]. *J Nat Med*, 2019, 73(3): 497-503.
- [22] Fang J M, Lee C K, Cheng Y S. Lignans from leaves of *Juniperus chinensis* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(10): 3659-3661.
- [23] Fu L, Pei D, Yu M, *et al.* New phenolic acids from the whole herb of *Elephantopus scaber* Linn. and their anti-inflammatory activity [J]. *Nat Prod Res*, 2021, 35(21): 3667-3674.
- [24] Zhang W P, Chen L H, Feng H, *et al.* Rifampicin-induced injury in HepG2 cells is alleviated by TUDCA via increasing bile acid transporters expression and enhancing the Nrf2-mediated adaptive response [J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 112: 24-35.

[责任编辑 王文倩]