

鹿茸草水提取物中的单萜苷类成分

刘琛¹, 朱承根¹, 徐成博¹, 穆滨², 郭庆兰^{1*}, 石建功^{1*}

- (1. 中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 北京 100050;
2. 哈尔滨市康隆药业有限责任公司, 黑龙江 哈尔滨 150025)

摘要: 通过大孔吸附树脂、MCI树脂、Sephadex LH-20和HW-40C柱色谱, 结合制备薄层色谱、反相HPLC和Flash等色谱分离技术, 从鹿茸草水煎煮提取物中分离得到11个单萜苷类化合物。借助波谱数据解析、酸或酶水解以及电子圆二色谱(ECD)和NMR计算综合分析, 确定了它们的结构(1~11), 包括6个新结构化合物, 分别命名为鹿茸草苷A~D(1~4)、G和H(7和8)。通过9-羟基芳樟醇3-O-β-D-葡萄糖苷(5)、(6Z)-9-羟基芳樟醇-3-O-β-D-葡萄糖苷(6)和kankanoside D₁(9)的文献报道数据与本实验数据比较, 首次确证了6和9的绝对构型。另外两个化合物分别鉴定为8-羟基香叶醇1-O-β-D-葡萄糖苷(10)和8-羟基香叶醇8-O-β-D-葡萄糖苷(11)。

关键词: 玄参科; 鹿茸草; 水提取物; 单萜葡萄糖苷; 鹿茸草苷

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2022)08-2405-11

Monoterpene glucosides from an aqueous extract of *Monochasma savatieri*

LIU Chen¹, ZHU Cheng-gen¹, XU Cheng-bo¹, MU Bin², GUO Qing-lan^{1*}, SHI Jian-gong^{1*}

- (1. Key Laboratory of Bioactive Substance and Function of Natural Medicines, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China;
2. Harbin Kanglong Pharmaceutical Co., Ltd., Harbin 150025, China)

Abstract: Eleven monoterpene glucosides were isolated from a water decoction of *Monochasma savatieri* by column chromatography over macroporous adsorbent resin, MCI resin, Sephadex LH-20, and HW-40C, combined with preparative TLC, reversed phase HPLC, and flash column chromatographic techniques. Their structures were elucidated by comprehensive analysis of spectroscopic data, along with acidic and enzymatic hydrolysis as well as electronic circular dichroism (ECD) and NMR calculations, including six new compounds (1-4, 7 and 8), named monochasides A-D, G and H, respectively. Comparing the reported data of 9-hydroxylinoloyl 3-O-β-D-glucoside (5), (6Z)-9-hydroxylinoloyl 3-O-β-D-glucoside (6), and kankanoside D₁ (9) with those obtained in this study, the absolute configurations of 6 and 9 were proved for the first time. Other two compounds were identified as 8-hydroxygeraniol 1-O-β-D-glucopyranoside (10) and 8-hydroxygeraniol 8-O-β-D-glucopyranoside (11), respectively.

Key words: Scrophulariaceae; *Monochasma savatieri*; aqueous extract; monoterpene glucosides; monochasides

鹿茸草为玄参科 (Scrophulariaceae) 鹿茸草属

(*Monochasma*) 植物棉毛鹿茸草 (*Monochasma savatieri* Franch.) 的干燥全草, 主要分布在浙江、江苏、福建及江西等地, 全草入药, 具有清热解毒、凉血止血、祛湿止痛等功效^[1]。由鹿茸草、白花蛇舌草、鸭跖草制成的中成药炎宁糖浆, 用于治疗上呼吸道感染、扁桃体炎、尿路感染、急性菌痢和肠炎等疾病^[2]。然而, 关于鹿茸草化学成分的研究相对较少, 到目前为止从其丙酮、水或

收稿日期: 2022-06-12; 修回日期: 2022-06-18.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81630094).

*通讯作者 Tel: 86-10-83154789, E-mail: guonina@imm.ac.cn;

Tel: 86-10-63025166, Fax: 86-10-63017757,

E-mail: shijg@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2022-0757

乙醇提取物中, 仅报道了包括苯乙醇苷、环烯醚萜苷、黄酮和有机酸等结构类型的 30 余个化合物^[3-6]。作为对中草药化学成分及其药理活性多样性系统研究的内容之一^[7-14], 结合鹿茸草及其制剂以水煎煮使用的实际情况^[15], 作者对鹿茸草水提物的化学成分进行了研究, 重点从微量成分入手, 为阐明鹿茸草水提物化学成分的多样性特点和进一步深入研究奠定基础。本文报道 11 个单萜苷类成分 (**1**~**11**) 的分离纯化和结构鉴定 (图 1)。其中, **1**~**4**、**7** 和 **8** 为新结构化合物, **6** 和 **9** 的苷元绝对构型为首次确定。

结果和讨论

化合物 **1** 为无色胶状物, $[\alpha]_D^{20} -19.8$ (c 0.10, CH₃OH)。红外光谱显示其分子结构中存在羟基 (3 396 cm⁻¹) 和羰基 (1 741 cm⁻¹)。根据 (+)-HR-ESI-MS m/z 397.183 2 [M+Na]⁺ (C₁₈H₃₀O₈Na 计算值, 397.183 3) 和 NMR 谱数据 (表 1), 确定其分子组成为 C₁₈H₃₀O₈, 不饱和度为 4。在甲醇-*d*₄ 中, 该化合物的 ¹H NMR 谱显示可归属于 1 个三取代乙烯基 [δ_H 5.32 (1H, dt, $J = 7.2, 1.2$ Hz, H-6)]; 1 个乙烯基 [δ_H 5.86 (1H, dd, $J = 17.4, 10.8$ Hz, H-2), 5.20 (1H, dd, $J = 17.4, 1.8$ Hz, H-1a), 5.15 (1H, dd, $J = 10.8, 1.8$ Hz, H-1b)]; 1 个连氧亚甲基 [δ_H 3.84 (2H, s, H₂-8)]; 两个亚甲基 [δ_H 1.56 (2H, m, H₂-4), 2.04 (2H, m, H₂-5)]; 1 个与双键相连的甲基 [δ_H 1.57 (3H, s, H₃-9)]; 1 个与氧同碳的叔甲基 [δ_H 1.30 (3H, s, H₃-10)] 和 1 个典型的乙酰甲基 [δ_H 1.99 (3H, s, H₃-2'')] 的氢共振信号。此外, 还显示 1 个 β -葡萄糖基的特征氢信号 [δ_H 4.30 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 3.11 (1H, dd, $J = 9.6, 7.8$ Hz, H-2'), 3.27 (1H, dd, $J = 10.2, 9.6$ Hz, H-3'), 3.18 (1H, dd, $J = 10.2, 9.6$ Hz, H-4'), 3.31 (1H, ddd,

$J = 9.6, 6.6, 2.4$ Hz, H-5'), 4.27 (1H, dd, $J = 12.0, 2.4$ Hz, H-6'a), 4.10 (1H, dd, $J = 12.0, 6.6$ Hz, H-6'b)]。 ¹³C NMR 和 DEPT 给出以上单元对应的碳共振信号 (表 1)。根据 H₂-6' 和 C-6' 的化学位移, 推定 β -葡萄糖基单元的 6'-羟基与乙酰基形成酯; 同时, 根据上述可归属于苷元的 NMR 数据, 结合分子组成和不饱和度, 推测 **1** 的苷元为一个开链单萜-二烯-二醇。通过 2D NMR 谱数据解析, 对 **1** 的结构进行了进一步确定。首先, 通过 HSQC 谱数据分析, 对 NMR 谱中氢和连氢的碳共振信号进行了准确归属 (表 1)。在 ¹H-¹H COSY 谱中, 除显示 β -葡萄糖基的氢依次偶合相关的交叉峰外 (图 2), 交叉峰 H₂-1/H-2 和 H₂-4/H₂-5/H-6 及其化学位移, 表明 **1** 的结构中存在 1 个乙烯基和 1 个三取代双键的次甲基 (CH-6) 与两个亚甲基 (H₂-5 和 H₂-4) 依次连接的结构单元。在 **1** 的 HMBC 谱中, H₃-9 与 C-6、C-7 和 C-8 的交叉峰, 结合它们的化学位移, 表明三取代双键的季碳 C-7 同时与 1 个甲基和 1 个羟甲基连接。同时, 依据 H₃-10 与 C-2、C-3 和 C-4 的 HMBC 交叉峰, 结合它们的化学位移, 确定连氧的季碳 C-3 与 CH-2、CH₂-4 和 CH₃-10 相连。另外, H-1' 与 C-3 的 HMBC 交叉峰证明 β -吡喃葡萄糖氧基连接在 C-3 上; H₂-6' 和 H₃-2'' 与 C-1'' 的 HMBC 交叉峰确证葡萄糖基的 6-羟基与乙酸脱水形成酯。因此, 化合物 **1** 的平面结构确定为如图 2 所示。在化合物 **1** 的 NOESY 谱中, 交叉峰 H-6/H₂-8 和 H₂-5/H₃-9 (图 3) 表明三取代双键为反式 (*E*)。化合物 **1** 用 2 mol·L⁻¹ 盐酸水解后, 从水解液中分离得到糖, 经衍生化后, 与 *D*-和 *L*-葡萄糖对照品的衍生物进行 GC 比较分析, 确定 **1** 中的葡萄糖单元具有 *D*-构型。在 **1** 的圆二色谱 (CD) 中, 显示苷元双键 π - π^* 跃迁末端吸收的 (-)-Cotton 效应, 实测 CD 谱与 **1** 的计算电子圆二色

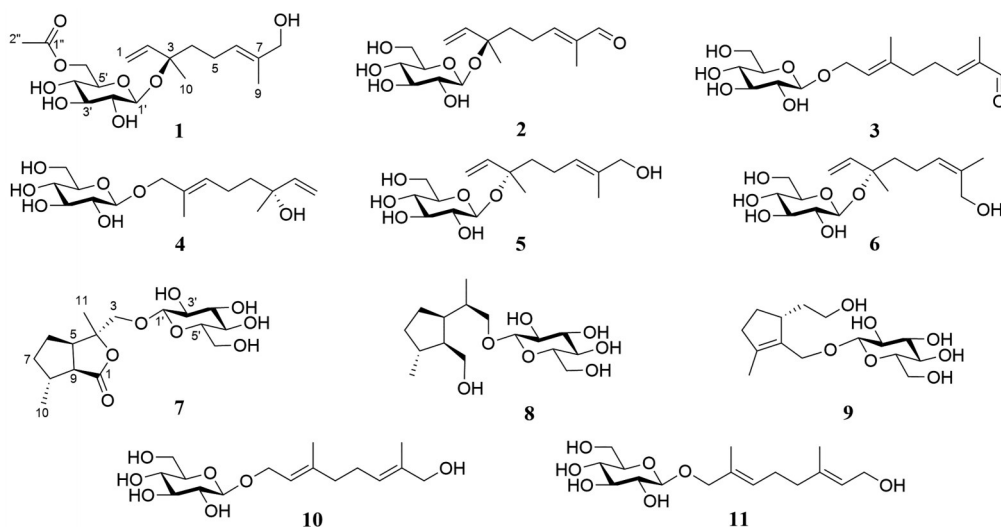


Figure 1 Structures of compounds **1**-**11**

Table 1 NMR spectroscopic data of compounds **1-3**. δ were measured in CD₃OD for **1** and **3** (references: $\delta_{\text{HCD}_{2}\text{OD}} = 3.250$ for ¹H and $\delta_{\text{CCD}_{\text{H}_{2}\text{OD}}} = 49.000$ for ¹³C) and in D₂O for **2** (references: $\delta_{\text{HDO}} = 4.800$ for ¹H and $\delta_{\text{CH}_{3}\text{OH}} = 49.50$ for ¹³C) at 600 MHz for ¹H and 150 MHz for ¹³C. Proton coupling constants (*J*) in Hz are given in parentheses. The assignments were based on ¹H-¹H COSY, HSQC, and HMBC experiments

No.	1		2		3	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1a	5.20 dd (17.4, 1.8)	115.8	5.36 dd (18.0, 1.8)	117.5	4.30 dd (12.0, 7.2)	66.2
1b	5.15 dd (10.8, 1.8)		5.34 dd (10.8, 1.8)		4.21 dd (12.0, 7.2)	
2	5.86 dd (17.4, 10.8)	144.3	5.92 brdd (18.0, 10.8)	141.8	5.39 dd (6.6, 7.2)	122.7
3		81.4		81.9		140.2
4	1.56 m	42.3	1.86 brt (7.2)	39.0	2.21 t (7.2)	38.8
5	2.04 m	23.3	2.48 brq (7.2)	24.5	2.49 q (7.2)	28.1
6	5.32 dt (7.2, 1.2)	126.9	6.80 tq (7.2, 1.2)	160.2	6.56 t (7.2)	156.1
7		135.9		139.3		140.7
8	3.84 brs	69.0	9.29 d (1.2)	200.3	9.30 brd (2.4)	197.2
9	1.57 s	13.7	1.72 s	8.9	1.67 s	9.1
10	1.30 s	23.3	1.43 s	22.5	1.67 s	16.4
1'	4.30 d (7.8)	99.5	4.56 d (7.8)	97.9	4.21 d (7.8)	102.8
2'	3.11 dd (9.6, 7.8)	75.2	3.25 dd (9.6, 7.8)	73.9	3.11 dd (9.0, 7.8)	75.1
3'	3.27 dd (10.2, 9.6)	78.1	3.47 dd (10.2, 9.6)	76.5	3.27 t (9.0)	78.2
4'	3.18 dd (10.2, 9.6)	71.9	3.36 dd (10.2, 9.6)	70.5	3.21 t (9.0)	71.7
5'	3.31 ddd (9.6, 6.6, 2.4)	74.9	3.41 m	76.3	3.17 m	78.1
6'a	4.27 dd (12.0, 2.4)	65.0	3.88 dd (12.0, 2.4)	61.5	3.81 dd (12.0, 1.8)	62.8
6'b	4.10 dd (12.0, 6.6)		3.68 dd (12.0, 6.0)		3.60 dd (12.0, 5.4)	
1''		172.7				
2''	1.99 s	20.8				

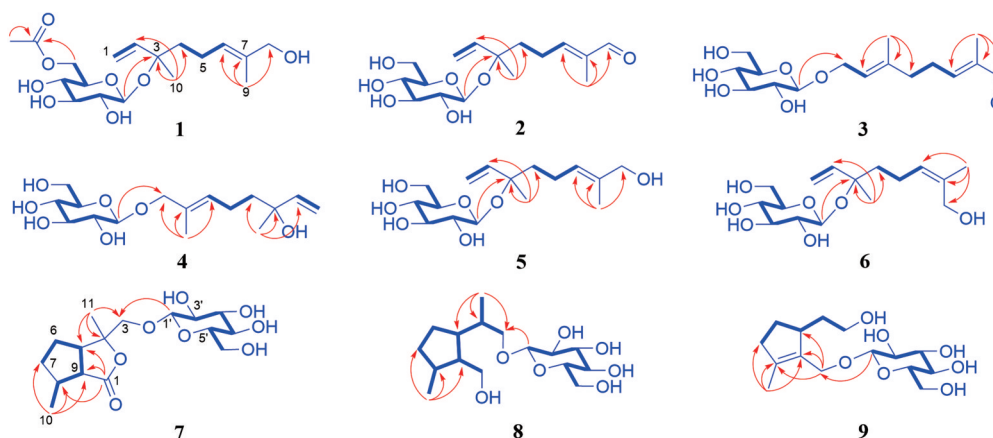


Figure 2 The ¹H-¹H COSY (thick lines) and key HMBC (arrows) correlations of compounds **1-9**

(ECD) 谱曲线能够很好吻合 (图4), 据此确定 **1** 具有 *R* 构型。因此, 化合物 **1** 的结构得到确定, 命名为鹿茸草苷 A (monochaside A)。

化合物 **2** 为无色胶状物, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -10.5$ (*c* 0.15, CH₃OH), 红外光谱显示羟基 (3 365 cm⁻¹) 和共轭羰基 (1 681 cm⁻¹) 的特征吸收峰。由 (+)-HR-ESI-MS *m/z* 353.156 8 [M+Na]⁺ 确定其分子式为 C₁₆H₂₆O₇。化合物 **2** 与 **1** 的 NMR 谱数据相似, 进一步比较发现二者结构的主要区别是 **2** 的 1 个共轭醛基 [δ_{H} 9.29 (1H, d, *J* = 1.2 Hz, H-8) 和 δ_{C} 200.3 (C-8)] 替代了 **1** 的羟甲基, 同时 **2** 的 β -葡萄糖基上无乙酰化取代。因此, 初步推断 **2** 为 **1** 的苷元 8-羟基氧化为醛且葡萄糖基上去乙酰化的衍

生物, 并得到 **2** 的 2D NMR 数据分析以及酶水解实验的确认。尤其是, 在 **2** 的 HMBC 谱中, H₃-9 与 C-6、C-7 和 C-8 的交叉峰 (图2), 结合它们的化学位移, 确认结构中存在 7-甲基-6-烯-8-醛共轭单元; 同时, H-1' 与 C-3 的交叉峰, 确认 β -D-吡喃葡萄糖氧基位移苷元的 C-3 上。另外, 在 **2** 的 NOESY 谱中, 交叉峰 H-6/H-8 (图3) 确认共轭烯醛为反式 (*E*)。同样, 采用实验 CD 与计算 ECD 比较 (图5) 的方法确定 **2** 拥有 3*R* 构型。因此, 化合物 **2** 的结构得以确定, 命名为鹿茸草苷 B (monochaside B)。

化合物 **3** 为无色胶状物, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -14.9$ (*c* 0.09, CH₃OH)。通过 IR、(+)-HR-ESI-MS 和 NMR 波谱数据

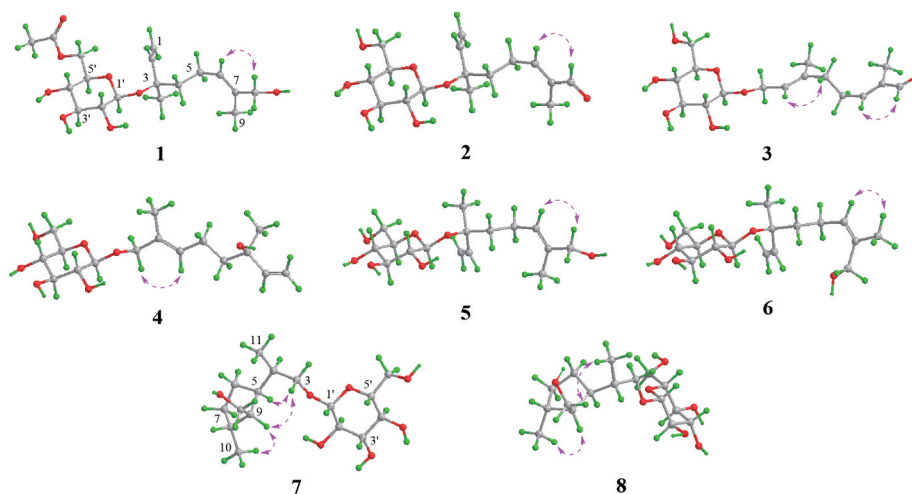


Figure 3 The NOESY correlations (pink double arrows) of compounds 1–8

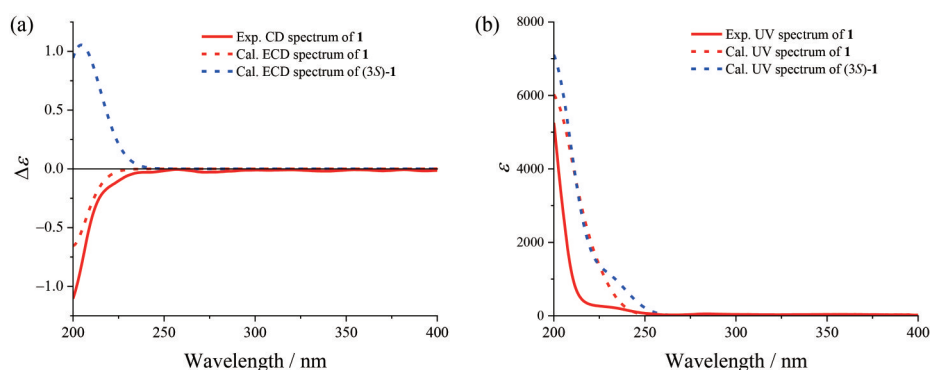


Figure 4 (a) The overlaid experimental CD (red line) of **1** and calculated ECD spectra of **1** (red dash) and (3*S*)-**1** (blue dash). (b) The overlaid experimental UV of **1** and calculated UV spectra of **1** (red dash) and (3*S*)-**1** (blue dash). (Blue-shifted by 16.5 nm)

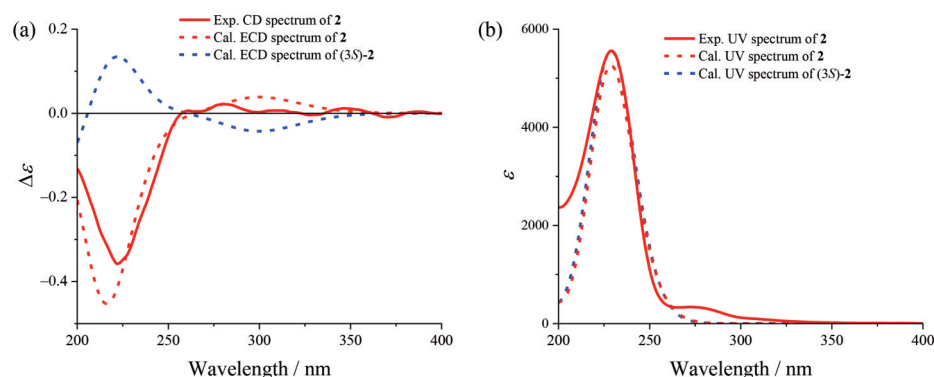


Figure 5 (a) The overlaid experimental CD (red line) of **2** and calculated ECD spectra of **2** (red dash) and (3*S*)-**2** (blue dash). (b) The overlaid experimental UV of **2** and calculated UV spectra of **2** (red dash) and (3*S*)-**2** (blue dash). (Blue-shifted by 7.5 nm)

分析, 推定**3**为**2**的同分异构体。比较二者的NMR数据(表1)显示**3**的1个三取代双键 [δ_{H} 5.39 (1H, dd, $J = 6.6, 7.2$ Hz, H-2), δ_{C} 122.7 (C-2) 和 140.2 (C-3)] 替代了**2**的乙烯基; 同时,**3**的1个连氧亚甲基 [δ_{H} 4.30 (1H, dd, $J = 12.6, 6.6$ Hz, H-1a) 和 4.21 (1H, dd, $J = 12.6, 7.2$ Hz, H-1b) 及 δ_{C} 66.2 (C-1)] 替代了**2**的连氧季碳。由此推

断**3**是**2**的1- β -D-吡喃葡萄糖氧基-2-烯异构体, 并进一步得到**3**的2D NMR谱数据解析的证实; 特别是得到 ^1H - ^1H COSY谱交叉峰H₂-1/H-2和HMBC谱交叉峰H₃-10/C-2、C-3和C-4及H-1'/C-1(图2)的确定。根据**3**的NOESY谱中NOE交叉峰H-2/H-4和H-6/H-8(图3), 确定其结构中的两个三取代双键均为反式(*E*)。用

蜗牛酶水解**3**后,从水解物中分离得到糖,经衍生化后的GC分析,确证为D-葡萄糖。因此,化合物**3**的结构确定为如图1所示,命名为鹿茸草苷C (monochaside C)。

化合物**4**为无色胶状物, $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 为-8.2 (c 0.21, CH₃OH)。经包括2D NMR的波谱数据(表2、图2和实验部分)分析,确定其平面结构与文献^[16-19]报道的betulalbuside A相同。尽管文献^[16,19]中通过酶水解和衍生物制备确定了betulalbuside A的结构,然而文献中先后报道betulalbuside A经酶水解得到苷元的比旋光数据 $\{[\alpha]_{\text{D}}^{20} -1.5$ (c 0.1, CH₃OH)^[16]; $[\alpha]_{\text{D}}^{23} +7.59$ (c 0.76, CH₃OH)^[19] 相反。化合物**4**经酶水解后,得到苷元**4a**和糖。其中,糖与D-和L-葡萄糖对照品分别衍生化后,经GC分析比较,确证为 β -D-吡喃葡萄糖;苷元**4a**在CD₃OD中的¹H NMR数据与文献^[19]报道betulalbuside A的苷元在相同溶剂中的一致,**4a**的 $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 为-8.33 (c 0.01, CH₃OH),与(+)-(*S*)-tobacodiol的相反,而与(-)-(*R*)-芳樟醇氧化产物的一致^[20,21]。据此,确定**4**具有*R*构型,并得到计算NMR和DP4+概率分析(表3)的支持。尽管文献^[16-19]报道从不同植物中分离得到具有相同平面结构的betulalbuside A,但较早的文献^[16-18]中均未确定苷元的构型,而随后文献^[19]中报道betulalbuside A的苷

元为*S*。特别需要指出,最初文献^[16]报道betulalbuside A的苷化和羟基化位置以及糖单元端基碳(C-8、C-3和C-1')的化学位移分别为 δ_{C} 67.2、75.2和99.1,而随后文献^[16,17]中均为 δ_{C} 76.0、73.8和102.7,先后差异显著,超出溶剂效应和实验误差范围。因此,认为早期文献^[16]与后期文献^[17-19]报道的并非同一化合物,为了避免与苷元构型确定为*S*的betulalbuside A混淆,此处将化合物**4**命名为鹿茸草苷D (monochaside D)。

化合物**5**和**6**均为无色胶状物, $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 分别为-26.9 (c 0.17, CH₃OH)和-24.2 (c 0.13, CH₃OH)。通过IR、(+)-HR-ESI-MS及1D和2D NMR谱数据分析,确定它们的平面结构分别与文献报道9-羟基芳樟醇3-*O*- β -D-葡萄糖苷(9-hydroxylinaloyl glucoside, **5**)^[22]和(6*Z*)-9-羟基芳樟醇3-*O*- β -D-葡萄糖苷[(6*Z*)-9-hydroxylinaloyl glucoside, **6**]^[22,23]的相同。但文献中未明确它们的绝对构型,且相应化合物在氘代吡啶(C₅D₅N)^[22]或氘代甲醇(CD₃OD)^[23]中的NMR数据,与**5**或**6**在D₂O中的(表4)差异较大。例如,**5**和**6**的C-1和C-3与文献^[23]报道化合物在CD₃OD中的相差为 $\Delta\delta$ +3.6和+2.5,而C-6相差分别为+2.4和+1.9。进一步在CD₃OD中测得**5**和**6**的NMR数据与文献^[23]报道化合物的基本一致,差别可归属于实验偏差或定标导致的整体位移。化合物**5**

Table 2 NMR spectroscopic data of compounds **4-6**. δ were measured in D₂O at 600 MHz for ¹H and 150 MHz for ¹³C (references $\delta_{\text{HDO}} = 4.800$ for ¹H and $\delta_{\text{CH}_3\text{OH}} = 49.50$ for ¹³C). Proton coupling constants (*J*) in Hz are given in parentheses. The assignments were based on ¹H-¹H COSY, HSQC, and HMBC experiments

No.	4		5		6	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1a	5.22 dd (17.4, 1.2)	112.6	5.33 dd (10.8, 1.2)	117.2	5.32 dd (10.8, 1.2)	117.2
1b	5.14 dd (10.8, 1.2)		5.31 dd (17.4, 1.2)		5.30 dd (17.4, 1.2)	
2	6.00 dd (17.4, 10.8)	144.7	5.91 brdd (17.4, 10.8)	142.1	5.89 ddd (17.4, 10.8, 1.8)	142.1
3		74.4		82.3		82.2
4	1.64 t (7.2)	41.4	1.69 t (7.2)	40.5	1.66 t (7.2)	41.1
5	2.11 m	22.8	2.09 m	22.6	2.09 m	22.5
6	5.91 t (7.2)	131.5	5.46 t (7.2)	127.6	5.41 t (7.2)	129.5
7		131.7		135.0		134.5
8a	4.25 d (12.0)	76.1	3.97 s	68.3	4.10 s	60.7
8b	4.15 d (12.0)		3.97 s		4.10 s	
9	1.69 s	13.8	1.65 s	13.6	1.75 s	21.1
10	1.32 s	26.6	1.41 s	22.4	1.39 s	22.4
1'	4.44 d (7.8)	100.8	4.54 d (7.8)	97.9	4.53 d (7.8)	97.9
2'	3.30 dd (9.0, 7.8)	73.7	3.24 dd (9.0, 7.8)	73.9	3.23 dd (9.0, 7.8)	73.9
3'	3.48 t (9.0)	76.5	3.47 t (9.0)	76.5	3.46 t (9.0)	76.5
4'	3.40 dd (9.6, 9.0)	70.3	3.36 dd (9.6, 9.0)	70.5	3.35 t (9.0)	70.5
5'	3.42 m	76.5	3.40 m	76.2	3.40 m	76.2
6'a	3.90 dd (12.6, 1.8)	61.3	3.88 dd (12.0, 2.4)	61.5	3.87 dd (12.6, 1.8)	61.5
6'b	3.74 dd (12.6, 6.0)		3.69 dd (12.0, 6.0)		3.68 dd (12.6, 6.6)	

Table 3 DP4+ analysis of the measured and calculated NMR data of **4**, **8**, and their stereoisomers

Parameter	4	(3 <i>S</i>)- 4	8	(4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,8 <i>R</i> ,9 <i>S</i>)- 8	(4 <i>R</i> ,5 <i>R</i> ,8 <i>S</i> ,9 <i>R</i>)- 8	(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,8 <i>S</i> ,9 <i>R</i>)- 8
DP4+ (H data)	100.00%	00.00%	100.00%	00.00%	0.00%	0.00%
DP4+ (C data)	94.09%	5.91%	79.50%	0.04%	0.01%	20.46%
DP4+ (all data)	100.00%	00.00%	100.00%	00.00%	0.00%	0.00%

和 **6** 经酶水解后, 得到各自的苷元 **5a** 和 **6a** 及糖。经 ^1H NMR 谱和比旋光值 $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 测定, 并与 *D*-葡萄糖对照品的数据比较, 确证均为 β -*D*-吡喃葡萄糖。另外, **5a** 在 CD_3OD 和 **6a** 在 CD_3Cl 中的 ^1H NMR 数据, 分别与文献报道 9-羟基芳樟醇^[22]和 (6*Z*)-9-羟基芳樟醇^[23]在相应溶剂中的数据一致。同时, **5a** 和 **6a** 的 $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 分别为 +15.8 (*c* 0.02, CH_3OH) 和 +14.3 (*c* 0.03, CH_3OH), 均与 (+)-(*S*)-tobacodiol^[20]的一致。据此, 确证 **5a** 和 **6a** 均具有 *S* 构型。因此, 化合物 **5** 和 **6** 的结构得以确定。需要指出, 文献^[22,24]报道 9-羟基芳樟醇 3-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 (9-hydroxylinaloyl glucoside) 水解得到苷元的比旋光值 $[\alpha]_{\text{D}}^{24}$ 为 +20.0 (*c* 0.05, CH_3OH)^[22] 和 +16.0 (*c* 0.40, CH_3OH)^[24], 且在文献^[24]中明确指出苷元具有 3*S*, 6*E* 构型。然而, 报道 (6*Z*)-9-羟基芳樟醇 3-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 [(6*Z*)-9-hydroxylinaloyl glucoside] 的文献^[23]中, 尽管通过酶水解得到了苷元, 但是在未能提供比旋光等能证明其构型的情况下, 给出了与化合物 **6** 相同的结构。鉴于植物中存在不同构型的芳樟醇衍生物^[20,21], 为了简化名称和便于区分, 此处将化合物 **5** 和 **6** 分别取俗名为鹿茸草苷 E 和 F (monochasides E 和 F)。

化合物 **7** 为无色胶状物, $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -11.6 (*c* 0.09, CH_3OH)。红外光谱显示其分子结构中存在羟基 ($3\ 374\ \text{cm}^{-1}$) 和羰基 ($1\ 744\ \text{cm}^{-1}$)。由 (+)-HR-ESI-MS *m/z* 369.151 6 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_8\text{Na}$ 计算值, 369.152 0) 和 NMR 谱数据 (表 4), 确定其分子组成为 $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_8$, 不

饱和度为 4。在 D_2O 中, **7** 的 NMR 谱数据显示其结构中除含有 1 个 β -*D*-吡喃葡萄糖氧基单元外, 还存在两个甲基 (分别与季碳和次甲基连接)、3 个亚甲基 (一个连氧 δ_{C} 76.9)、3 个次甲基、1 个连氧的季碳 (δ_{C} 88.8) 和 1 个酯羰基 (δ_{C} 185.5)。由此, 初步推断 **7** 为一个单环单萜苷, 进一步通过 2D NMR 数据分析对其结构进行了确定。根据 ^1H - ^1H COSY 谱交叉峰 H-5/ H_2 -6/ H_2 -7、H-8/ H_2 -9/ H_2 -5 和 H-8/ H_3 -10 (图 2), 以及 HMBC 交叉峰 C-1/ H_2 -5、H-8 和 H-9 以及 H_3 -10/C-7、C-8 和 C-9, 并结合它们的化学位移, 确定 **7** 的苷元结构中存在一个 5-取代的 8-甲基环戊烷 9-甲酰基单元。同时, 通过 HMBC 交叉峰信号 H_3 -11/C-3、C-4 和 C-5 以及它们的化学位移, 推定连氧亚甲基 CH_2 -3 和甲基 CH_3 -11 均通过季碳 C-4 与环戊烷单元的 CH-5 连接。另外, 根据 HMBC 交叉峰 H-1'/C-3 确定 β -葡萄糖氧基连接在 C-3 上。最后, 根据 **7** 的分子式需要, 结合 C-4 的化学位移, 推定甲酰基 C-1 与季碳 C-4 之间通过氧原子连接形成内酯环。因此, 化合物 **7** 的平面结构确定为如图 2 所示。在 **7** 的 NOESY 谱中, 可观测到交叉峰 H-3b/ H_2 -5、H-3b/ H_2 -9 和 H-9/ H_3 -10, 由此确定 **7** 的相对构型如图 3 所示。化合物 **7** 用蜗牛酶水解后, 从水解液中分离得到苷元 **7a** 和糖。其中, 糖经衍生化后, 通过与对照品 *D*-和 *L*-葡萄糖衍生物的 GC 比较, 确定 **7** 中的 β -吡喃葡萄糖基单元具有 *D*-构型。在 **7** 和 **7a** 的 CD 中, 显示苷元内酯 π - π^* 跃迁的 (-)-Cotton 效应, 经与计算 ECD 谱比较 (图 6), 确定了 **7**

Table 4 NMR spectroscopic data of compounds **7-9**. δ were measured in D_2O for **7** at 600 MHz for ^1H and 150 MHz for ^{13}C and for **8** and **9** at 500 MHz for ^1H and 125 MHz for ^{13}C (references $\delta_{\text{HDO}} = 4.800$ for ^1H and $\delta_{\text{CH}_3\text{OH}} = 49.50$ for ^{13}C). Proton coupling constants (*J*) in Hz are given in parentheses. The assignments were based on ^1H - ^1H COSY, HSQC, and HMBC experiments

No.	7		8		9	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1a		185.5	3.57 dd (11.5, 4.5)	65.5	4.48 dd (11.5)	64.7
1b			3.42 dd (11.5, 3.0)		4.20 dd (11.5)	
3a	4.00 d (11.4)	76.9	3.95 dd (10.0, 4.5)	75.4	3.63 m	61.1
3b	3.71 d (11.4)		3.36 dd (10.0, 6.0)		3.59 m	
4a		88.8	1.75 m	38.1	1.92 m	36.2
4b					1.34 m	
5	2.93 q (9.6)	46.6	1.55 m	44.4	2.77 m	43.6
6a	1.86 m	28.0	1.62 m	28.5	1.99 m	28.7
6b	1.67 m		1.42 m		1.43 m	
7a	1.86 m	35.4	1.64 m	33.8	2.33 m	37.2
7b	1.28 m		1.20 m		2.40 m	
8	2.23 m	39.8	1.75 m	37.5		142.5
9	3.04 dd (9.6, 4.8)	55.1	1.40 m	51.9		133.1
10	1.13 d (6.6)	20.5	0.94 d (6.5)	20.4	1.70 s	14.0
11	1.40 s	18.5	0.96 d (6.5)	16.0		
1'	4.44 d (7.8)	103.4	4.39 d (7.5)	103.7	4.41 d (8.0)	101.9
2'	3.28 dd (9.6, 7.8)	73.7	3.22 dd (9.5, 7.5)	73.9	3.21 dd (9.5, 8.0)	73.8
3'	3.48 dd (9.6, 9.0)	76.4	3.43 dd (9.5, 9.0)	76.5	3.43 dd (9.5, 9.0)	76.6
4'	3.38 t (9.0)	70.3	3.35 t (9.0)	70.3	3.35 t (9.0)	70.3
5'	3.45 m	76.6	3.38 m	76.4	3.38 m	76.5
6'a	3.92 dd (12.0, 2.4)	61.4	3.87 dd (12.5, 2.0)	61.4	3.88 dd (12.5, 2.0)	61.4
6'b	3.72 dd (12.0, 6.0)		3.68 dd (12.5, 6.0)		3.69 dd (12.5, 6.6)	

的绝对构型。因此, 化合物 **7** 的结构得以确定, 命名为鹿茸草苷 G (monochaside G)。

化合物 **8** 为无色胶状物, $[\alpha]_D^{20}$ -12.6 (c 0.11, CH₃OH)。红外光谱显示由羟基 (3 364 cm⁻¹) 的特征吸收峰。由 (+)-HR-ESI-MS m/z 357.188 4 [M+Na]⁺ (C₁₆H₃₀O₇Na 计算值, 357.188 4) 和 NMR 谱数据 (表 4), 确定其分子组成为 C₁₆H₃₀O₇, 不饱和度为 2。比较 **8** 与 **7** 的 ¹³C NMR 谱数据 (表 4), 发现 **8** 的一个羟甲基 [δ_c 65.5 (C-1)] 和次甲基 [δ_c 38.1 (C-4)] 分别替代了 **7** 的内酯羰基和连氧季碳; 进一步比较二者的 ¹H NMR 谱数据发现, **8** 的仲甲基 [δ_H 0.96, d, J = 7.8 Hz (C-11)] 取代了 **7** 的叔甲基。根据以上差异, 推定 **8** 是 **7** 内酯环被还原开裂且脱除一个氧原子的衍生物。该推断得到 **8** 的 2D NMR 数据分析的确证 (图 2)。特别是根据 **8** 的 HMBC 谱中交叉峰 H₃-11/C-3、C-4 和 C-5 以及 H-1'/C-3, 结合它们的化学位移, 确证 β -吡喃葡萄糖氧基连接在 C-3 上。另外, 根据 **8** 的 NOESY 交叉峰 H₂-1/H₃-11 和 H-9/H₃-10 确定其相对构型如图 3 所示。用前述同样的酶水解、衍生化和 GC 比较, 确证 **8** 中的 β -吡喃葡萄糖基为 *D*-构型。然而, **8** 的 CD 未显示明显 (-)-Cotton 效应, 且因酶水解后未能得到苷元, 故根据与 **7** 的潜在生源联系, 初步推测 **8** 和 **7** 的母核具有相同的绝对构型, 并得到计算 NMR 和 DP4+ 概率分析 (表 3) 的支持。因此, 化合物 **8** 的结构得以初步确定, 命名为鹿茸草苷 H (monochaside H)。

化合物 **9** 为无色胶状物, $[\alpha]_D^{20}$ -31.1 (c 0.46, CH₃OH)。红外光谱显示有羟基 (3 357 cm⁻¹) 的特征吸收峰。由 (+)-HRESIMS m/z 341.156 7 [M+Na]⁺ (C₁₅H₂₆O₇Na 计算值, 341.157 1) 和 NMR 谱数据 (表 4), 确定其分子组成为 C₁₅H₂₆O₇, 不饱和度为 3。经 **9** 在 D₂O 中的 1D 和 2D NMR 数据分析, 确证其与文献^[25]报道 kankanoside D₁ 具有相同的平面结构。尽管文献中描

述通过酶水解得到了苷元并通过其波谱数据确定为 *R*-rotundiol, 但是未提供与苷元构型相关的 $[\alpha]_D^{20}$ 值或 CD 数据。因此, 认为 kankanoside D₁ 的构型确定缺乏证据。另外, **9** 在 D₂O 中的碳谱数据与文献^[25]报道 kankanoside D₁ 在 CD₃OD 中的差别显著, 例如 C-8、C-9 和 C-1' 的差异分别为 $\Delta\delta$ +2.9、-2.5 和 -1.8。进一步测得 **9** 在 CD₃OD 中的 NMR 数据与文献^[25]报道 kankanoside D₁ 的完全一致。由于文献^[25]报道 kankanoside D₁ 的 $[\alpha]_D^{20}$ -21.2 (c 0.60, CH₃OH) 与 **9** 的存在相对较大的差异, 因此对 **9** 进行了酶水解, 从水解液中分离得到苷元 **9a** 和糖。其中, 苷元的 $[\alpha]_D^{20}$ 为 -14.3 (c 0.02, CH₃OH), 与文献^[26]报道 *R*-rotundiol 的一致; 糖的 ¹H NMR 和 $[\alpha]_D^{20}$ 均与 *D*-葡萄糖对照品的一致。化合物 **9** 的 CD 谱显示 π - π^* 跃迁末端吸收的 (-)-Cotton 效应, 与计算 ECD 谱吻合良好 (图 7)。因此, 化合物 **9** 即 kankanoside D₁ 的结构得以确证。

通过包括 2D NMR 等波谱数据解析, 并与文献报道相关化合物的数据比较, 另外两个已知化合物的结构分别鉴定为 8-羟基香叶醇 1-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 (8-hydroxygeraniol 1-*O*- β -*D*-glucoside, **10**)^[27] 和 8-羟基香叶醇 8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 (8-hydroxygeraniol 8-*O*- β -*D*-glucoside, **11**)^[28]。由于文献中报道它们在 CD₃OD 和 C₅D₅N 中 NMR 数据与本实验在 D₂O 中测得数据之间存在比较明显的溶剂效应差异, 故在表 5 中列出了本实验的 NMR 数据。

以上研究结果证明, 鹿茸草中存在数目众多、且结构未曾发现的单萜苷类化学成分, 增添了鹿茸草及同属植物化学成分的结构多样性。尤其是, 新结构化合物 **1**~**4**、**7** 和 **8** 的发现, 增加了单萜苷类天然产物的结构多样性。尽管 **6**^[23] 和 **9**^[25] 的分子结构曾有报道, 然而文献中未能提供可证明它们构型的实验数据, 本研究首次阐明了它们的绝对构型。另外, 由于这些单萜苷

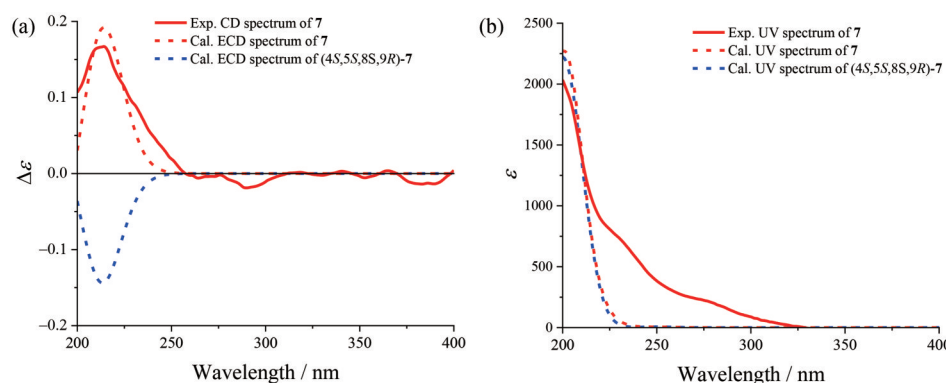


Figure 6 (a) The overlaid experimental CD (red line) of **7** and calculated ECD spectra of **7** (red dash) and its stereoisomer with the enantiomeric aglycone (blue dash). (b) The overlaid experimental UV of **7** and calculated UV spectra of **7** (red dash) and its stereoisomer with the enantiomeric aglycone (blue dash). (Blue-shifted by 5.0 nm)

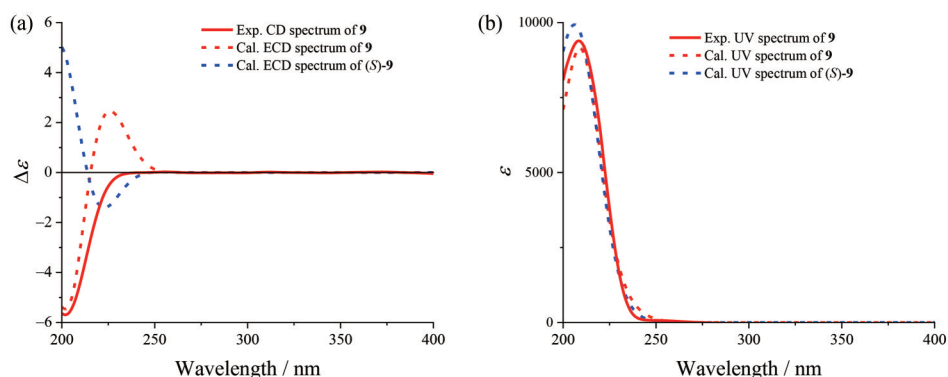


Figure 7 (a) The overlaid experimental CD (red line) of **9** and calculated ECD spectra of **9** (red dash) and its stereoisomer with the enantiomeric aglycone (blue dash). (b) The overlaid experimental UV of **9** and calculated UV spectra of **9** (red dash) and its stereoisomer with the enantiomeric aglycone (blue dash). (Red-shifted by 4.0 nm)

Table 5 NMR spectroscopic data of compounds **10** and **11**. δ were measured in D_2O at 500 MHz for 1H and 125 MHz for ^{13}C (references $\delta_{HDO} = 4.800$ for 1H and $\delta_{CH_3OH} = 49.50$ for ^{13}C). Proton coupling constants (J) in Hz are given in parentheses. The assignments were based on 1H - 1H COSY, HSQC, and HMBC experiments

No.	10		11	
	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C
1	4.31 d (7.5)	66.1	4.09 d (7.0)	58.5
2	5.36 t (7.5)	119.3	5.38 t (7.0)	122.6
3		144.7		141.8
4	2.12 t (7.5)	39.1	2.10 t (7.0)	38.9
5	2.20 dt (7.0, 7.5)	25.8	2.21 quint (7.0)	26.0
6	5.41 t (7.0)	127.2	5.51 t (7.0)	131.5
7		135.2		131.7
8a	3.94 s	68.3	4.19 d (11.5)	76.0
8b			4.10 d (11.5)	
9	1.62 s	13.6	1.65 s	13.9
10	1.68 s	16.1	1.66 s	15.9
1'	4.42 d (8.0)	100.9	4.38 d (8.0)	100.6
2'	3.23 dd (9.0, 8.0)	73.7	3.24 dd (9.0, 8.0)	73.7
3'	3.43 t (9.0)	76.6	3.42 t (9.0)	76.5
4'	3.35 t (9.0)	70.3	3.34 t (9.0)	70.3
5'	3.36 m	76.7	3.35 m	76.5
6'a	3.88 dd (12.5, 2.0)	61.4	3.87 dd (12.5, 1.0)	61.4
6'b	3.69 dd (12.5, 5.0)		3.68 dd (12.5, 5.0)	

类化合物在鹿茸草水提取物中以微量形式存在, 分离得到的样品量有限, 因此未能进行活性筛选评价, 相关工作有待通过分离富集或合成获得足够样品后进一步探究。

实验部分

AUTOPOL V 型旋光测定仪 (美国 Rudolph 公司), Nicolet impact 5700 型傅立叶变换红外光谱仪 (美国 Thermo Electron Corporation 公司), JASCO V-650 型紫外光谱仪 (日本 JASCO 公司), JASCO J-815 型 CD 测定仪 (日本 JASCO 公司), SYS-600 及 Inova-500 核磁共振仪 (美国 Varian 公司, 以溶剂峰信号或甲醇定标为参

照), Q Exactive Focus 型质谱仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司), SSI-1500 型高效液相色谱仪 (美国科学系统公司), Sephadex LH-20 (瑞典 Amersham Pharmacia 公司), Toyopearl HW-40C 凝胶树脂 (日本 TOSOH 公司), AQ-C18 反相色谱柱 (日本 Daisogel 公司), PFP 反相色谱柱 (日本 Daisogel 公司), 柱色谱硅胶 (200~300 目) 及薄层色谱用硅胶 GF₂₅₄ (青岛海洋化工厂)。所有试剂若无特别说明, 均购自北京化工厂, 级别为分析纯或色谱纯。

鹿茸草 (全草) 由哈尔滨市康隆药业有限责任公司提供, 标本现存于哈尔滨市康隆药业有限责任公司。

1 提取与分离

将干燥的 *Monochasma savatieri* 全草 (47 kg) 粉碎并用水煎煮 30 min (3×300 L)。将水提取物减压浓缩, 然后经 HP-20 大孔树脂柱色谱分离, 依次用水、50% 乙醇和 95% 乙醇洗脱, 得到相应的馏分 A~C。减压浓缩后, 50% 乙醇洗脱部分 (1 700 g) 经 MCI 分离, 依次用水、30% 乙醇、50% 乙醇和 95% 乙醇洗脱, 得到 B1~B4。B2 (550 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱进行分离, 以乙醇和水为流动相, 梯度洗脱, 合并成分相同馏分并回收溶剂后得到 B2-1~B2-19, 其中 B2-6 (52.6 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱进行分离, 乙醇-水梯度洗脱, 薄层色谱检测, 合并相同组分后, 得到亚组分 B2-6a~B2-6p。B2-6i (4.71 g) 用 Toyopearl HW-40C 凝胶柱色谱 (水) 分离, 得到 B2-6i-1~B2-6i-10。在 Toyopearl HW-40C 凝胶柱色谱上以水为洗脱溶剂分离 B2-6i-4 (2.03 g) 得到 B2-6i-4-1~B2-6i-4-5, 其中 B2-6i-4-2 (330 mg) 及 B2-6i-4-3 (320 mg) 分别经 Flash 柱色谱 (乙酸乙酯-乙醇-水 1:0:0~0:0:1) 分离, 得到组分 B2-6i-4-2-1~B2-6i-4-2-13 及 B2-6i-4-3-1~B2-6i-4-3-10。将 B2-6i-4-2-7~B2-6i-4-2-11 及 B2-6i-4-3-4~B2-

6i-4-3-8 合并为 B2-6i-4-2-7 (232 mg), 采用制备薄层色谱 (二氯甲烷-甲醇 5:1) 分离, 得到 B2-6i-4-2-7A~B2-6i-4-2-7H, 其中, B2-6i-4-2-7F (23 mg) 经反相半制备型 HPLC (PFP 柱, 35% 甲醇, 2.0 mL·min⁻¹) 纯化, 得到化合物 **9** ($t_R = 27.2$ min, 4.6 mg); B2-6i-4-2-7E (36 mg) 经反相半制备型 HPLC (PFP 柱, 35% 甲醇, 2.0 mL·min⁻¹) 纯化, 得到化合物 **5** ($t_R = 33.2$ min, 1.7 mg) 和 **6** ($t_R = 41.7$ min, 1.3 mg)。

通过 Flash 柱色谱进一步分离 B2-6i-4-4 (1.20 g) 和 B2-6i-5 (820 mg), 分别经 Flash 柱色谱 (乙酸乙酯-乙醇-水 1:0:0~0:0:1) 分离, 得到 B2-6i-4-4-1~B2-6i-4-4-29 和 B2-6i-5-1~B2-6i-5-28。根据薄层色谱检测, 合并 B2-6i-4-4-13 和 B2-6i-5-12 为组分 B2-6i-4-4-13 (94 mg), 并经制备薄层色谱 (乙酸乙酯-乙醇-水 15:2:1) 制备得到亚组分 B2-6i-4-4-13A~B2-6i-4-4-13F。其中, B2-6i-4-4-13F (22 mg) 经反相半制备型 HPLC (AQ C18 柱, 40% 甲醇, 2.0 mL·min⁻¹) 纯化, 得到化合物 **2** ($t_R = 50.2$ min, 1.5 mg)。B2-6i-6 (1.12 g) 经 Flash 柱色谱 (乙酸乙酯-乙醇-水 1:0:0~0:0:1) 分离, 得到亚组分 B2-6i-6-1~B2-6i-6-13。B2-6i-6-6 (28 mg) 经反相半制备型 HPLC (AQ C18 柱, 48% 甲醇, 2.0 mL·min⁻¹) 分离, 得到化合物 **1** ($t_R = 30.6$ min, 1.1 mg)。B2-6i-6-9 (139 mg) 经 Flash 柱色谱进行分离, 以甲醇和水为溶剂, 梯度洗脱, 得到 B2-6i-6-9A~B2-6i-6-9C, 其中 B2-6i-6-9A (42 mg) 通过反相半制备 HPLC (PFP 柱, 40% 甲醇, 2.0 mL·min⁻¹) 纯化, 得到化合物 **3** ($t_R = 38.2$ min, 1.5 mg)。将 B2-6i-4-4-17、B2-6i-4-4-18、B2-6i-5-18~20、B2-6i-6-18、B2-6i-6-19 合并为 B2-6i-6-18 (324 mg), 经 Flash 柱色谱分离, 二氯甲烷-甲醇 (5:1) 洗脱, 得到 B2-6i-6-18A~B2-6i-6-18C。其中 B2-6i-6-18B (227 mg) 通过制备薄层色谱 (二氯甲烷-甲醇 5:1) 制备得到亚组分 B2-6i-6-18B-1~B2-6i-6-18B-3。B2-6i-6-18B-1 (83 mg) 经反相半制备 HPLC (PFP 柱, 40% 甲醇, 2.0 mL·min⁻¹) 分离, 得到化合物 **7** ($t_R = 26.3$ min, 1.15 mg)。将 B2-6i-4-4-16、B2-6i-5-17、B2-6i-6-15 合并为 B2-6i-6-15 (332 mg), 经 Flash 柱色谱分离, 二氯甲烷-甲醇 (5:1) 洗脱, 得到 B2-6i-6-15A~B2-6i-6-15D。其中 B2-6i-6-15D (280 mg) 通过制备薄层色谱 (乙酸乙酯-乙醇-水 12:2:1) 制备得到亚组分 B2-6i-6-15D-1~B2-6i-6-15D-6。B2-6i-6-15D-4 (83 mg) 经反相半制备 HPLC (AQ C18 柱, 35% 甲醇, 2.0 mL·min⁻¹) 分离, 得到化合物 **4** ($t_R = 41.9$ min, 5.39 mg)、化合物 **8** ($t_R = 54.9$ min, 1.12 mg)、**10** ($t_R = 53.2$ min, 1.12 mg) 和 **11** ($t_R = 56.7$ min, 1.09 mg)。

2 结构鉴定

化合物 **1**: 无色胶状物; $[\alpha]_D^{20} -19.8$ (c 0.10, CH₃OH);

UV (CH₃OH) λ_{max} (log ϵ) 202 (3.73), 282 (2.50, sh) nm; CD (MeOH): 200 ($\Delta\epsilon$ -1.10) nm; IR ν_{max} 3 362, 2 957, 2 921, 2 851, 1 741, 1 677, 1 596, 1 463, 1 412, 1 377, 1 260, 1 078, 1 038, 925, 701 cm⁻¹; ¹H NMR (CD₃OD, 600 MHz)、¹³C NMR (CD₃OD, 150 MHz) 数据见表 1。 (+)-HR-ESI-MS m/z 397.183 2 [M+Na]⁺ (C₁₈H₃₀O₈Na 计算值, 397.183 3)。

化合物 **2**: 无色胶状物; $[\alpha]_D^{20} -10.5$ (c 0.15, CH₃OH); UV (CH₃OH) λ_{max} (log ϵ) 202 (3.42), 221 (3.59) nm; CD (MeOH): 222 ($\Delta\epsilon$ -0.36) nm; IR ν_{max} 3 365, 2 957, 2 924, 2 877, 2 854, 1 681, 1 637, 1 413, 1 377, 1 260, 1 204, 1 157, 1 076, 1 038, 929, 878, 801 cm⁻¹; ¹H NMR (D₂O, 600 MHz)、¹³C NMR (D₂O, 150 MHz) 数据见表 1。 (+)-HR-ESI-MS m/z 353.156 8 [M+Na]⁺ (C₁₆H₂₆O₇Na 计算值, 353.157 1)。

化合物 **3**: 无色胶状物; $[\alpha]_D^{20} -14.9$ (c 0.09, CH₃OH); UV (CH₃OH) λ_{max} (log ϵ) 202 (3.58), 229 (3.67) nm; IR ν_{max} 3 380, 2 924, 1 678, 1 415, 1 379, 1 260, 1 157, 1 077, 1 041 cm⁻¹; ¹H NMR (CD₃OD, 600 MHz)、¹³C NMR (CD₃OD, 150 MHz) 数据见表 1; (+)-HR-ESI-MS m/z 331.175 1 [M+H]⁺ (C₁₆H₂₇O₇ 计算值, 331.175 1)。

化合物 **4**: 无色胶状物; $[\alpha]_D^{20} -8.2$ (c 0.21, CH₃OH); UV (CH₃OH) λ_{max} (log ϵ) 203 (3.23) nm; IR ν_{max} 3 378, 2 971, 2 921, 2 872, 1 674, 1 647, 1 454, 1 413, 1 369, 1 318, 1 262, 1 201, 1 159, 1 098, 1 077, 1 042, 914 cm⁻¹; ¹H NMR (D₂O, 600 MHz)、¹³C NMR (D₂O, 150 MHz) 数据见表 2; (+)-HR-ESI-MS m/z 355.171 4 [M+Na]⁺ (C₁₆H₂₈O₇Na 计算值, 355.172 7)。

化合物 **5**: 无色胶状物; $[\alpha]_D^{20} -26.9$ (c 0.17, CH₃OH); UV (CH₃OH) λ_{max} (log ϵ) 203 (3.37), 233 (2.56), 283 (2.37) nm; CD (MeOH): 223 ($\Delta\epsilon$ +0.07), 285 ($\Delta\epsilon$ -0.13) nm; IR ν_{max} 3 367, 2 980, 2 919, 2 873, 1 643, 1 413, 1 377, 1 153, 1 076, 1 037, 1 015, 930 cm⁻¹; ¹H NMR (D₂O, 600 MHz)、¹³C NMR (D₂O, 150 MHz) 数据见表 2; (+)-HR-ESI-MS m/z 355.172 2 [M+Na]⁺ (C₁₆H₂₈O₇Na 计算值, 355.172 7)。

化合物 **6**: 无色胶状物; $[\alpha]_D^{20} -24.2$ (c 0.13, CH₃OH); UV (CH₃OH) λ_{max} (log ϵ) 203 (3.45) nm; CD (MeOH): 200 ($\Delta\epsilon$ -1.52), 243 ($\Delta\epsilon$ +0.29) nm; IR ν_{max} 3 365, 2 969, 2 929, 2 875, 1 702, 1 641, 1 569, 1 454, 1 413, 1 376, 1 260, 1 154, 1 077, 1 037, 1 016, 926, 874 cm⁻¹; ¹H NMR (D₂O, 600 MHz)、¹³C NMR (D₂O, 150 MHz) 数据见表 2; (+)-HR-ESI-MS m/z 355.172 3 [M+Na]⁺ (C₁₆H₂₈O₇Na 计算值, 355.172 7)。

化合物 **7**: 无色胶状物; $[\alpha]_D^{20} -11.6$ (c 0.09, CH₃OH);

UV (CH₃OH) λ_{\max} (log ϵ) 203 (3.35), 229 (2.98), 278 (2.45) nm; CD (MeOH): 214 ($\Delta\epsilon$ -0.17) nm; IR ν_{\max} 3 374, 2 957, 2 925, 2 871, 1 743, 1 672, 1 592, 1 455, 1 416, 1 382, 1 305, 1 252, 1 163, 1 078, 887 cm⁻¹; ¹H NMR (D₂O, 600 MHz)、¹³C NMR (D₂O, 150 MHz) 数据见表 4; (+)-HR-ESI-MS m/z 369.151 6 [M+Na]⁺ (C₁₆H₂₆O₈Na 计算值, 369.152 0)。

化合物 8: 无色胶状物; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -12.6 (c 0.11, CH₃OH); IR ν_{\max} 3 364, 2 954, 2 926, 2 870, 1 679, 1 591, 1 462, 1 417, 1 378, 1 260, 1 203, 1 167, 1 078, 1 029, 801 cm⁻¹; ¹H NMR (D₂O, 500 MHz)、¹³C NMR (D₂O, 125 MHz) 数据见表 4; (+)-HR-ESI-MS m/z 357.188 4 [M+Na]⁺ (C₁₆H₃₀O₇Na 计算值, 357.188 4)。

化合物 9: 白色粉末; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -31.1 (c 0.46, CH₃OH); UV (CH₃OH) λ_{\max} (log ϵ) 199 (4.02) nm; CD (MeOH): 202 ($\Delta\epsilon$ -5.69) nm; IR ν_{\max} 3 357, 2 921, 2 883, 1 571, 1 438, 1 413, 1 381, 1 338, 1 161, 1 078, 1 044, 1 025 cm⁻¹; ¹H NMR (D₂O, 500 MHz)、¹³C NMR (D₂O, 125 MHz) 数据见表 4; (+)-HR-ESI-MS m/z 341.156 7 [M+Na]⁺ (C₁₅H₂₆O₇Na 计算值, 341.157 1)。

化合物 10: 无色胶状物; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -16.1 (c 0.11, CH₃OH); UV (CH₃OH) λ_{\max} (log ϵ) 204 (4.12) nm; IR ν_{\max} 3 374, 2 914, 2 875, 1 670, 1 444, 1 382, 1 157, 1 077, 1 041, 1 021, 897 cm⁻¹; ¹H NMR (D₂O, 500 MHz)、¹³C NMR (D₂O, 125 MHz) 数据见表 5; (+)-HR-ESI-MS m/z 355.171 9 [M+Na]⁺ (C₁₆H₂₈O₇Na 计算值, 355.172 7)。

化合物 11: 无色胶状物; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -21.1 (c 0.11, CH₃OH); UV (CH₃OH) λ_{\max} (log ϵ) 203 (4.08) nm; IR ν_{\max} 3 360, 2 921, 2 881, 1 676, 1 434, 1 389, 1 364, 1 203, 1 186, 1 134, 1 077, 1 020 cm⁻¹; ¹H NMR (D₂O, 500 MHz)、¹³C NMR (D₂O, 125 MHz) 数据见表 5; (+)-HR-ESI-MS m/z 355.171 9 [M+Na]⁺ (C₁₆H₂₈O₇Na 计算值, 355.172 7)。

3 化合物 1~9 的水解

化合物 1 (约 1.0 mg) 与 2 mol·L⁻¹ 三氟乙酸水溶液 (1.0 mL) 在 90 °C 下加热水解 3 h。减压蒸干溶剂后将反应物溶解在 1 mL 水中, 用等体积乙酸乙酯萃取 3 次, 浓缩水层得到化合物 1 的糖部分。化合物 2~9 各取约 1.0 mg, 溶于 1 mL 水中, 加入 2.0 mg 蜗牛酶, 于 38 °C 下水浴加热 24 h。加入 1 mL 甲醇终止反应, 并通过 Sephadex LH-20 (甲醇-水 1:1) 分离, 得到各自的苷元和糖。将 1~9 各自水解得到的糖与对照品 (*D*-甘露糖、*D*-半乳糖和 *D*-葡萄糖) 共薄层对比, 展开剂为正丙醇-水-氨水 (60:30:2.4), 结果显示均与 *D*-葡萄糖对照品的 R_f 值一致。另外, 将 1~4、7 和 8 分别水解得到的糖以及 *D*-型和 *L*-型葡萄糖对照品 (各 1 mg), 分别溶解

在无水吡啶 (0.6 mL) 中, 加入 2.0 mg *L*-半胱氨酸甲酯盐酸盐, 加热到 60 °C, 持续 1 h。将反应混合物蒸干至无吡啶味, 加入 0.5 mL *N*-三甲基硅咪唑, 并加热至 60 °C 持续 1 h。将反应混合物加入 2 mL 水中, 并用等体积正己烷萃取 3 次, 合并萃取液浓缩得到糖的噻唑三甲基硅醚化衍生物。用 1 mL 正己烷溶解后, 进行气相色谱分析。分析条件: FID 检测器温度 300 °C, 起始温度 200 °C, 以 10 °C·min⁻¹ 的速率程序升温至 280 °C, 并且维持 35 min; 载气: N₂。结果显示 1~4、7 和 8 水解得到糖的衍生物的保留时间均与 *D*-葡萄糖一致。测得 5、6 和 9 水解得到糖的 $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 分别为 +39.2 (c 0.07, CH₃OH)、+32.3 (c 0.03, CH₃OH)、+36.5 (c 0.05, CH₃OH), 并测得它们的 ¹H NMR 谱均与 *D*-葡萄糖对照品的一致。

4 ECD、UV 和 NMR 谱计算

应用 Gaussian 16 软件的 GMMX 模块, 在 MMFF94 分子力场中采用蒙特卡洛方式对化合物的构象进行搜索, 得到相对能量小于 3.0 kcal·mol⁻¹ 的优势构象。应用 Gaussian 16 程序、密度泛函算法和 CPCM 模型 (conductor-like polarizable continuum model) 模拟溶剂效应, 在 B3LYP/6-31+G(d,p) 水平上, 对搜索获得的构象进一步优化得到优化构象及其玻尔兹曼分布。在 B3LYP/6-311+G(d,p) 水平上, 计算 Gibbs 自由能在 3.0 kcal·mol⁻¹ 以内的优化构象的各激发态能量、振子强度和转子强度。根据优化构象的玻尔兹曼分布概率, 通过加权平均化, 拟合得到理论计算的 ECD 和 UV 谱图 ($\sigma = 0.30$ eV)。在 MPW1PW91/6-311+G(d,p) 水平上, 用 GIAO 算法^[29,30] 计算 Gibbs 自由能在 3.0 kcal·mol⁻¹ 以内的优化构象的 NMR, 再通过加权平均化, 拟合得到理论计算的 ¹H 和 ¹³C NMR 数据, 再经 DP4+ 概率分析, 进行确证。

作者贡献: 石建功负责实验设计、数据分析, 以及文章的修改及定稿; 郭庆兰负责计算化学、数据分析及文章的修改; 刘琛负责化学实验实施及文章初稿的撰写; 朱承根和徐成博辅助开展化学实验; 穆滨负责药材的收集及鉴定。

利益冲突: 作者声明无利益冲突。

References

- [1] Jiangsu New Medical College. Dictionary of Chinese Crude Drugs (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific Technologic Publisher, 1975: 2242.
- [2] Zheng W, Tan XQ, Guo LJ, et al. Chemical constituents from *Monochasma savatieri* [J]. Chin J Nat Med, 2012, 10: 102-104.
- [3] Yahara S, Nohara T, Kohda H, et al. Study on the constituents of *Monochasma savatieri* Franch. ex Maxim [J]. Yakugaku Zasshi, 1986, 106: 725-728.

- [4] Li M, Shi MF, Liu YL, et al. Phenylethanoid glycosides from *Monochasma savatieri* and their anticomplement activity through the classical pathway [J]. *Planta Med*, 2012, 78: 1381-1386.
- [5] Liang CM, Yang B. Chemical constituents of *Monochasma Savatieri* [J]. *Guangdong Chem Ind (广东化工)*, 2020, 47: 6, 15.
- [6] Su ZH, Yang B. Chemical constituents from the waxy substance of *Monochasma Savatieri* Franch [J]. *Guangdong Chem Ind (广东化工)*, 2020, 47: 272, 274.
- [7] Chen Y, Xu C, Lei X, et al. Phthalide-derived oxaspiroangelioic acids A - C with an unprecedented carbon skeleton from an aqueous extract of the *Angelica sinensis* root head [J]. *Chin Chem Lett*, 2021, 32: 3257-3260.
- [8] Chen Y, Guo Q, Xu C, et al. (+)-/(-)-Angelignaninane, a pair of neolignan enantiomers with an unprecedented carbon skeleton from an aqueous extract of the *Angelica sinensis* root head [J]. *Chin Chem Lett*, 2021, 32: 1657-1659.
- [9] Liu H, Wu Y, Guo Q, et al. Aconapelsulfonines A and B, seco C₂₀-diterpenoid alkaloids deriving via Criegee rearrangements of napelline skeleton from *Aconitum carmichaelii* [J]. *Chin Chem Lett*, 2021, 32: 33-36.
- [10] Li RF, Zhu CG, Xu CB, et al. Minor alkaloids from an aqueous extract of the hook-bearing stem of *Uncaria rhynchophylla* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2021, 23: 513-526.
- [11] Liu H, Shao S, Xia H, et al. Denudatine-type diterpenoid alkaloids from an aqueous extract of the lateral root of *Aconitum carmichaelii* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2021, 23: 615-626.
- [12] Li RF, Guo QL, Zhu CG, et al. Minor triterpenes from an aqueous extract of the hook-bearing stem of *Uncaria rhynchophylla* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2021, 23: 307-317.
- [13] Wang Y, Zhang M, Zhou X, et al. Insight into medicinal chemistry behind traditional Chinese medicines: *p*-hydroxybenzyl alcohol derived dimers and trimers from *Gastrodia elata* [J]. *Nat Prod Bioprospect*, 2021, 11: 31-50.
- [14] Song LL, Wang Y, Li RF, et al. Megastigmanes from an aqueous extract of *Uncaria rhynchophylla* [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2022, 57: 1832-1839.
- [15] Mu B, Liu LH. Yanning liquid preparation and preparation method thereof: CN, 201110302145.3 [P]. 2013-09-04.
- [16] Tschesche R, Ciper F, Breitmaier E. Monoterpenoid glucosides from the leaves of *Betula alba* and the fruits of *Chnomeles japonica* [J]. *Chem Ber*, 1977, 110: 3111-3117.
- [17] Calis I, Yürüker A, Rüeegger H, et al. A new acyclic monoterpene glycoside from *Viburnum orientale* [J]. *Helv Chim Acta*, 1993, 76: 2563-2569.
- [18] Calis I, Yürüker A, Rüeegger H, et al. Lantanoside, a monocyclic C₁₀ iridoid glucoside from *Viburnum lantana* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 38: 163-165.
- [19] Morikawa H, Kasai R, Otsuka H, et al. Terpenic and phenolic glycosides from leaves of *Breynia officinalis* Hemsl. [J]. *Chem Pharm Bull*, 2004, 52: 1086-1090.
- [20] Behr D, Wahlberg I, Nishida T, et al. Tobacco chemistry. 45. (2*E*,6*S*)-2,6-Dimethyl-2,7-octadiene-1,6-diol, a new monoterpene from Greek tobacco [J]. *Acta Chem Scand B*, 1978, 32: 228-234.
- [21] Barner R, Hubscher J. Stereochemical correlations between (2*R*,4'*R*,8'*R*)- α -tocopherol, (2*S*,26)-dihydroxycholecalciferol, (-)-(1*S*,5*R*)-frontalin and (-)-(*R*)-linalol [J]. *Helv Chim Acta*, 1983, 66: 880-890.
- [22] Uchiyama T, Miyase T, Ueno A, et al. Terpenic glycosides from *Pluchea indica* [J]. *Phytochemistry*, 1989, 28: 3369-3372.
- [23] Kim MA, Yang H, Kim MJ, et al. A new stereoisomeric monoterpene glycoside from *Clematis heracleifolia* leaves [J]. *Nat Prod Sci*, 2016, 22: 107-110.
- [24] Ishikawa T, Kondo K, Kitajima J. Water-soluble constituents of coriander [J]. *Chem Pharm Bull*, 2003, 51: 32-39.
- [25] Boakye-Yiadom M, Han LF, Li W, et al. Chemical constituents from stems of *Cistanches deserticola* [J]. *Chin Herb Med*, 2016, 8: 293-296.
- [26] Watanabe K, Takada Y, Matsudo N, et al. Rotundial, a new natural mosquito repellent from the leaves of *Vitex rotundifolia* [J]. *Biosci Biotech Biochem*, 1995, 59: 1979-1980.
- [27] Daloz D, Pasteels JM. Isolation of 8-hydroxygeraniol-8-*O*- β -D-glucoside, a probable intermediate in biosynthesis of iridoid monoterpenes, from defensive secretions of *Plagioder versicolor* and *Gastrophysa viridula* (Coleoptera: Chrysomelidae) [J]. *J Chem Ecol*, 1994, 20: 2089-2097.
- [28] Kabayashi H, Komatsu J. Study on constituents of *Cistanchis herba*. I. [J]. *Yakugaku Zasshi*, 1983, 103: 508-511.
- [29] Helgaker T, Jørgensen P. An electronic Hamiltonian for origin independent calculations of magnetic properties [J]. *J Chem Phys*, 1991, 95: 2595-2601.
- [30] Lodewyk MW, Siebert MR, Tantillo DJ, et al. Computational prediction of ¹H and ¹³C chemical shifts: a useful tool for natural product, mechanistic, and synthetic organic chemistry [J]. *Chem Rev*, 2012, 112: 1839-1862.