

野鸦椿根抑制肝脂堆积活性部位及其化学成分研究

田珂, 李燕慈, 龙慧, 张少君, 李路军*

湖北大学 中药生物技术湖北省重点实验室, 生物资源绿色转化湖北省协同创新中心, 湖北 武汉 430062

摘要: 目的 研究野鸦椿 *Euscaphis japonica* 根抑制肝脂堆积活性部位及其化学成分。方法 萃取法制备不同极性部位, 以油酸诱导的 HepG2 细胞脂堆积模型、油红 O 染色观察细胞内脂滴的堆积, 并检测细胞内三酰甘油 (TG) 的量筛选抑制肝脂堆积活性部位, 并采用硅胶、Sephadex LH-20、HPLC 等多种色谱技术对活性部位进行分离纯化, 根据理化性质和波谱数据鉴定化合物结构。结果 石油醚部位能显著抑制油酸诱导的 HepG2 细胞内脂滴的堆积并降低 TG 的量, 从中分离得到 9 个化合物, 分别鉴定为 3 β ,19-二羟基-24-反式-阿魏酰基-熊果烷-12-烯-28-酸 (1)、 β -谷甾醇 (2)、7-羟基-2-辛烯-5-内酯 (3)、3,3'-二甲氧基-鞣花酸 (4)、香草醛 (5)、5-羰基-四氢呋喃-3-甲酸乙酯 (6)、没食子酸 (7)、3,3'-二甲氧基-鞣花酸-4-(5"-乙酰基)- α -L-阿拉伯糖苷 (8)、佛手柑内酯 (9)。结论 石油醚部位为野鸦椿根抑制肝脂堆积活性部位, 化合物 1、6、8 和 9 为首次从该属植物中分离得到。

关键词: 野鸦椿; 脂堆积; 活性部位; 3 β ,19-二羟基-24-反式-阿魏酰基-熊果烷-12-烯-28-酸; 5-羰基-四氢呋喃-3-甲酸乙酯

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)08-1519-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.08.007

Chemical constituents from active fraction in roots of *Euscaphis japonica* with inhibitory activity of hepatic triglyceride accumulation

TIAN Ke, LI Yan-ci, LONG Hui, ZHANG Shao-jun, LI Lu-jun

Hubei Key Laboratory of Bio-Technology of Traditional Chinese Medicine, Hubei University, Hubei Collaborative Innovation Center for Green Transformation of Bio-Resources, Wuhan 430062, China

Abstract: Objective To screen the active fraction of *Euscaphis japonica* roots with inhibitory activity on hepatic lipid accumulation and investigate its chemical constituents. **Methods** Different polar fractions were prepared by extraction with organic solvents, oil Red O staining and triglyceride content assay were used to determine inhibitory activity of different polar fraction on oleic acid induced triglyceride accumulation on HepG2 cells, and the constituents of active fraction were isolated and purified by various chromatography techniques such as column chromatography on silica gel, Sephadex LH-20, and HPLC, and their structures were identified by physicochemical properties and spectral data. **Results** The petroleum ether fraction exhibited significantly inhibitory activity on oleic acid induced triglyceride accumulation on HepG2 cells. Nine compounds were isolated and identified as 3 β ,19-dihydroxy-24-*trans*-ferulyloxyurs-12-en-28-oic acid (1), β -sitosterol (2), 7-hydroxy-2-octen-5-olide (3), 3,3'-dimethoxy-ellagic acid (4), vanillin (5), ethyl-5-oxo-tetrahydro-3-furancarboxylate (6), gallic acid (7), 3,3'-di-*O*-methylellagic acid 4-(5"-acetyl)- α -L-arabinofuranoside (8), and bergapten (9). **Conclusion** The petroleum ether fraction is main active fraction. The compounds 1, 6, 8, and 9 are obtained from genus *Euscaphis* Sieb. et Zucc. for the first time.

Key words: *Euscaphis japonica* (Thunb.) Dippel; triglyceride accumulation; active fraction; 3 β ,19-dihydroxy-24-*trans*-ferulyloxyurs-12-en-28-oic acid; ethyl-5-oxo-tetrahydro-3-furancarboxylate

野鸦椿属 *Euscaphis* Sieb. et Zucc. 植物在我国仅有 2 种, 野鸦椿 *E. japonica* (Thunb.) Dippel 和福建野鸦椿 *E. fukienensi* Hsu。野鸦椿别名鸡眼睛, 是

一种落叶小乔木或灌木, 分布于我国的南方地区及日本和韩国, 具有较高的观赏和药用价值, 它的果实、根、花、叶都可药用, 分别具有温中理气、消

收稿日期: 2016-11-07

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81560703); 湖北省自然科学基金项目 (2016CFB508)

作者简介: 田珂 (1993—), 女, 硕士研究生, 研究方向为天然产物活性成分研究。

*通信作者 李路军 (1974—), 男, 副教授, 硕士研究生导师。Tel: (027)88663882 E-mail: lilujunhuda@163.com

肿止痛、祛风除湿、健脾调营等功效^[1-2]。现代药理学研究报道野鸦椿甲醇提取物具有明显的抗炎^[3]、抗肝纤维化^[4]和抑制脂堆积作用^[5]，从其地上部分分离得到多个黄酮苷^[6]、三萜^[7-8]、内酯类^[9]、鞣质类^[10]化合物。本实验首次对野鸦椿根抑制肝脂堆积活性部位进行了筛选，以油酸诱导的 HepG2 细胞脂堆积模型，油红 O 染色观察细胞内脂滴的堆积，三酰甘油 (TG) 试剂盒测定细胞内 TG 的量以筛选抑制脂堆积活性部位，并采用硅胶、凝胶等多种色谱技术对活性部位进行分离纯化，继分离得到 1 个具有抑制肝脂堆积活性的新六环三萜酸类化合物^[11]后，又分离得到 9 个化合物，通过波谱数据并结合文献分别鉴定为 3 β ,19-二羟基-24-反式-阿魏酰基-熊果烷-12-烯-28-酸 (3 β ,19-dihydroxy-24-*trans*-ferulyoxyurs-12-en-28-oic acid, 1)、 β -谷甾醇 (β -sitosterol, 2)、7-羟基-2-辛烯-5-内酯 (7-hydroxy-2-octen-5-olide, 3)、3,3'-二甲氧基鞣花酸 (3,3'-dimethoxy-ellagic acid, 4)、香草醛 (vanillin, 5)、5-羰基-四氢呋喃-3-甲酸乙酯 (ethyl-5-oxo-tetrahydro-3-furancarboxylate, 6)、没食子酸 (gallic acid, 7)、3,3'-二甲氧基-鞣花酸-4-(5"-乙酰基)- α -L-阿拉伯糖苷 [3,3'-di-*O*-methylellagic acid 4-(5"-acetyl)- α -L-arabinofuranoside, 8]、佛手柑内酯 (bergapten, 9)。其中，化合物 1、6、8 和 9 为首次从该属植物中分离得到。

1 仪器与材料

Varian INOVA 600 型核磁共振仪 (美国 Varian 公司，内标为 TMS)；WNMR400 型核磁共振仪 (武汉中科开物技术有限公司)；X-6 显微熔点测定仪 (北京泰克仪器有限公司)；EZ Purifier MPLC (苏州利穗科技有限公司)；Knauer smartline 型半制备 HPLC (德国诺尔公司)；Agilent 1100 分析型 HPLC (美国安捷伦科技有限公司)；YMC-Pack ODS-A 系列色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m, 1 mL/min; 250 mm $\times$ 9.4 mm, 5 μ m, 3 mL/min, 日本维美希)；ZF-6 型三用紫外线分析仪 (上海嘉鹏科技有限公司)；旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂)；HEAR Cell CO₂ 培养箱 (德国 Heraeus 公司)；XDS-1B 倒置相差显微镜 (北京佳源兴业科技有限公司)；BIO-RAD iMARK TM 酶标仪 (Bio-Rad 公司)；5415R 台式低温高速离心机 (Eppendorf 公司)。

Sephadex LH-20 (GE Healthcare Bio-sciences AB, 瑞典)，薄层色谱用硅胶 GF₂₅₄、柱色谱用硅胶 (100~200、200~300 目) 均购自青岛海洋化工厂；

二甲基亚砜 (分析纯) 购自天津市富宇精细化工有限公司；水为屈臣氏蒸馏水；色谱纯甲醇和乙腈 (TEDIA 公司)；噻唑蓝 (MTT) 和 DMSO 购自美国 Sigma 公司；DMEM 培养基和胎牛血清 (FBS) 购自美国 Gibco 公司；胰蛋白酶 (吉诺生物技术有限公司)；TG 测定试剂盒 E1013 (北京普利莱有限公司)。

HepG2 细胞由武汉大学病毒学国家重点实验室惠赠。实验所用野鸦椿根样品采于湖南省冷水江市和青镇，经中国科学院华南植物园宁祖林博士鉴定为省沽油科野鸦椿属植物野鸦椿 *Euscaphis japonica* (Thunb.) Dippel 的干燥根，标本 (2012092005) 存放于湖北大学生命科学学院中药生物技术省重点实验室。

2 抑制脂堆积活性部位筛选

2.1 药材提取与分离部位制备

取野鸦椿干燥根 40 kg，适当粉碎后用 90% 乙醇回流提取 3 次，每次 2 h，合并提取液，减压回收溶剂至无醇味，得浸膏 1 177 g；将总浸膏悬浮于水中，依次用石油醚、醋酸乙酯和正丁醇萃取，减压回收溶剂，得石油醚部位 (298 g)、醋酸乙酯部位 (533 g)、正丁醇部位 (205 g)。

2.2 MTT 实验

取对数生长期的 HepG2 细胞均匀接种于 96 孔板中，置于含 10% FBS、1% 双抗 (青霉素+链霉素) 的 DMEM 培养基中，于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 细胞培养箱中孵育 24 h，分别加入不同质量浓度 (0、1、10、25、50、100 μ g/mL) 的石油醚部位、醋酸乙酯部位、正丁醇部位处理 48 h 后，弃去上清液，每孔加入 180 μ L DMEM 培养基和 20 μ L (0.5 mg/mL) MTT 继续孵育 4 h，吸弃培养液，每孔加入 150 μ L 的 DMSO，微量混合振荡器振荡 10 min 后，酶标仪 570 nm 处测各孔吸光度 (*A*) 值。与空白对照组相比，质量浓度不大于 50 μ g/mL 给药组细胞存活率无显著差异 ($P>0.05$)，表明所有测试极性部位在质量浓度低于 50 μ g/mL 时无明显细胞毒性，因此在随后的细胞实验中样品质量浓度均不超过 50 μ g/mL。

2.3 油红 O 实验

取边长 2 cm 的盖玻片于 70% 乙醇中浸泡 1~2 h 后，烘干放入 6 孔板中。取适宜密度的 HepG2 细胞悬液接种于 6 孔板中，使其均匀分布，用 10% 胎牛血清 DMEM 培养液，37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h；待细胞贴壁后更换培养液，空白组加入

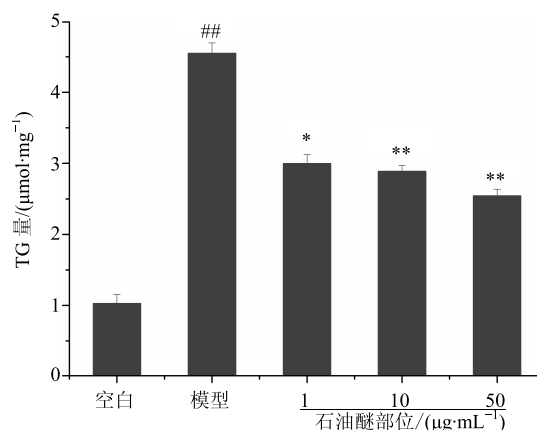
新鲜培养液 2 mL, 模型组、给药组分别加入含有油酸钠 (0.5 mmol/L) 的培养液 2 mL, 继续培养 24 h 后, 更换培养液, 空白组和模型组加入含有 DMSO (浓度与其他实验组保持一致) 的培养液, 给药组分别加入含有不同极性部位培养液 (1、10、50 $\mu\text{g/mL}$), 培养 24 h 后。将盖玻片从 6 孔板中取出, 用 PBS 缓冲液清洗细胞 3 次, 4% 多聚甲醛溶液固定 10 min; 吸弃多聚甲醛溶液, 用 PBS 缓冲液洗去残留液体, 60% 异丙醇润洗 10 s; 加入油红 O 染色液染色 10 min; 吸弃染色液, 60% 异丙醇漂洗去多余染液, PBS 清洗 3 次; 倒置显微镜观察各组细胞内红色脂滴形成情况。与空白组相比, 模型组中 HepG2 细胞内的红色脂滴明显增多, 说明油酸能促进 HepG2 细胞内的脂堆积; 与模型组相比, 石油醚部位高剂量给药组中 HepG2 细胞内的红色脂滴明显减少, 而醋酸乙酯、正丁醇部位给药组均没有明显的变化, 表明石油醚部位能抑制油酸诱导的 HepG2 细胞内的脂滴堆积。

2.4 TG 的测定

取适宜密度的 HepG2 细胞悬液均匀接种于 6 孔板里, 用 10% 胎牛血清 DMEM 培养液, 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 培养箱中培养 24 h; 待细胞贴壁后更换培养液, 空白组加入新鲜培养液 2 mL, 模型组、给药组加入含有油酸钠 (0.5 mmol/L) 的培养液 2 mL, 继续培养 24 h 后, 更换培养液, 空白组和对照组加入含有 DMSO (浓度与其他实验组保持一致) 的培养液, 药物组分别加入含有不同浓度石油醚部位的培养液, 培养 24 h。加入胰酶消化, 离心收集细胞, 每组加入 100 μL 的裂解液, 70 $^{\circ}\text{C}$ 加热 10 min, 室温 2 000 r/min 离心 5 min, 取上清液用 TG 测定试剂盒测定 TG 的量。实验结果见图 1, 与对照组比较, 石油醚部位能显著降低油酸诱导的 HepG2 细胞内 TG 的量 ($P < 0.05$ 、0.01)。

3 活性部位化学成分分离

取石油醚部位经硅胶柱色谱, 石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱, TLC 检测合并类似部分, 得到 13 个组分 Fr. 1~13。Fr. 4 经过硅胶柱色谱 (石油醚-醋酸乙酯 50:1) 洗脱, 所得流分再经制备 HPLC (甲醇-水 70:30) 到化合物 1 (8.0 mg); Fr. 5 经反复重结晶得到化合物 2 (10.0 mg); Fr. 7 经过硅胶柱色谱用二氯甲烷-甲醇 (10:1) 洗脱后重结晶得到化合物 3 (34.0 mg); Fr. 8 通过制备 HPLC (甲醇-水 60:40) 得化合物 4 (42.0 mg)、5 (7.8 mg) 和



与空白组比较: ## $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$
$P < 0.01$ vs blank group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

图 1 石油醚部位对油酸诱导 HepG2 细胞 TG 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 1 Effect of petroleum ether fraction on triglyceride level induced by oleic acid on HepG2 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

化合物 6 (5.2 mg); Fr. 9 经过反复 MPLC (二氯甲烷-甲醇 85:15、75:25) 得化合物 7 (6.0 mg) 和 8 (14.0 mg); Fr. 10 经过 MPLC (二氯甲烷-甲醇 10:1) 和 RP-HPLC (甲醇-水 65:35) 得化合物 9 (20.1 mg)。

4 结构鉴定

化合物 1: 白色无定形粉末, mp 195~197 $^{\circ}\text{C}$ 。
 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 9.65 (1H, brs, 4'-OH), 7.53 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-3'), 7.28 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2''), 7.07 (1H, dd, $J = 1.8, 8.2$ Hz, H-6''), 6.79 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5''), 6.45 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-2'), 5.15 (1H, t, $J = 2.9$ Hz, H-12), 4.52 (1H, d, $J = 5.3$ Hz, 3-OH), 4.02 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-24 α), 3.93 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-24 β), 3.81 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.68 (1H, brs, 19-OH), 2.43 (1H, dt, $J = 4.2, 12.8$ Hz, H-3), 2.35 (1H, brs, H-18), 1.21 (3H, s, H-27), 1.05 (3H, s, H-29), 0.90 (3H, s, H-25), 0.83 (1H, d, $J = 6.7$ Hz, H-30), 0.70 (3H, s, H-26), 0.67 (3H, s, H-23); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 38.1 (C-1), 26.5 (C-2), 70.3 (C-3), 41.6 (C-4), 47.5 (C-5), 18.0 (C-6), 32.4 (C-7), 39.5 (C-8), 47.0 (C-9), 36.4 (C-10), 23.2 (C-11), 126.9 (C-12), 138.7 (C-13), 41.0 (C-14), 28.1 (C-15), 25.2 (C-16), 47.0 (C-17), 53.3 (C-18), 71.7 (C-19), 41.5 (C-20), 26.0 (C-21), 37.3 (C-22), 12.5 (C-23), 65.2 (C-24), 15.6 (C-25), 16.7 (C-26), 23.8 (C-27), 179.1 (C-28), 26.5 (C-29),

16.4 (C-30), 166.5 (C-1'), 114.8 (C-2'), 144.8 (C-3'), 125.6 (C-1''), 111.0 (C-2''), 148.0 (C-3''), 149.4 (C-4''), 115.6 (C-5''), 123.2 (C-6''), 55.8 (3'-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 **1** 为 3β,19-二羟基-24-反式-阿魏酰基-熊果烷-12-烯-28-酸。

化合物 **2**: 无色针状结晶(氯仿), mp 137~139 °C。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 5.35 (1H, brs, *J* = 5.2 Hz, H-6), 3.53 (1H, m, H-3), 1.01 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-21), 0.86 (3H, t, *J* = 7.6 Hz, H-29), 0.84 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-26), 0.82 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-27), 0.68 (3H, s, H-18); 氢谱数据与文献报道一致^[13]; 与 β-谷甾醇对照品共薄层, R_f 值及显色行为完全一致, 且混合熔点不下降, 故鉴定化合物 **2** 为 β-谷甾醇。

化合物 **3**: 白色油状物, 易溶于氯仿, 难溶于丙酮、甲醇。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 6.91 (1H, m, H-3), 6.02 (1H, d, *J* = 9.1 Hz, H-2), 4.64 (1H, m, H-5), 4.07 (1H, m, H-7), 2.41 (2H, m, H-4), 2.02 (1H, dt, *J* = 6.6, 14.3 Hz, H-6α), 1.77 (1H, dt, *J* = 4.4, 14.3 Hz, H-6β), 1.26 (3H, d, *J* = 6.2 Hz, H-8); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 164.2 (C-1), 145.4 (C-2), 121.1 (C-3), 77.1 (C-4), 65.1 (C-5), 43.6 (C-6), 29.4 (C-7), 23.6 (C-8)。以上数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 **3** 为 7-羟基-2-辛烯-5-内酯。

化合物 **4**: 白色粉末。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.50 (2H, s, H-5, 5'), 4.07 (6H, s, 2-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 158.6 (C-7, 7'), 152.5 (C-4, 4'), 141.3 (C-2, 2'), 140.4 (C-3, 3'), 112.2 (C-5, 5'), 111.6 (C-1, 1', 6, 6'), 61.0 (2-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 **4** 为 3,3'-二甲氧基-鞣花酸。

化合物 **5**: 白色针状结晶(醋酸乙酯), mp 81~84 °C。¹H-NMR (400 MHz, C₅D₅N) δ: 10.02 (1H, s, CHO), 7.65 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, H-2), 7.58 (1H, dd, *J* = 1.5, 8.0 Hz, H-6), 7.27 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-2), 3.62 (3H, s, 3-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, C₅D₅N) δ: 130.1 (C-1), 111.2 (C-2), 149.7 (C-3), 155.3 (C-4), 117.0 (C-5), 127.7 (C-6), 191.2 (-CHO), 56.1 (-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 **5** 为香草醛。

化合物 **6**: 白色无定形粉末,¹H-NMR (400 MHz, C₅D₅N) δ: 4.57 (1H, dd, *J* = 5.9, 9.1 Hz, H-2), 4.53 (1H, dd, *J* = 8.2, 9.1 Hz, H-2), 4.13 (2H, q, *J* = 7.1 Hz,

OCH₂CH₃), 3.58 (1H, m, H-3), 3.04 (1H, *J* = 6.4, 17.6 Hz, H-4), 2.91 (1H, dd, *J* = 9.6, 17.6 Hz, H-4), 1.10 (3H, t, *J* = 7.1 Hz, OCH₂CH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, C₅D₅N) δ: 70.0 (C-2), 40.8 (C-3), 31.6 (C-4), 176.4 (C-5), 172.6 (C-6), 62.0 (C-OCH₂-), 14.5 (C-CH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 **6** 为 5-羰基-四氢呋喃-3-甲酸乙酯。

化合物 **7**: 白色针状结晶(甲醇), mp 218~220 °C。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 6.95 (2H, s, H-2, 6); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 167.5 (-CHO), 145.4 (C-3, 5), 138.0 (C-4), 120.5 (C-1), 108.7 (C-2, 6)。以上数据与文献报道基本一致^[17], 故鉴定化合物 **7** 为没食子酸。

化合物 **8**: 白色无定形粉末,¹H-NMR (600 MHz, C₅D₅N) δ: 8.39 (1H, s, H-5), 8.16 (1H, s, H-5'), 6.46 (1H, d, *J* = 1.2 Hz, H-1''), 5.29 (1H, dd, *J* = 1.3, 3.8 Hz, H-2''), 4.98 (1H, dt, *J* = 3.2, 6.7 Hz, H-4''), 4.83 (1H, dd, *J* = 4.4, 6.5 Hz, H-3''), 4.81 (1H, dd, *J* = 3.1, 11.6 Hz, H-5''), 4.66 (1H, dd, *J* = 6.8, 11.9 Hz, H-5''), 4.28 (3H, s, 8-OCH₃), 4.27 (3H, s, 8'-OCH₃), 1.95 (3H, s, H-Ac); ¹³C-NMR (150 MHz, C₅D₅N) δ: 115.6 (C-1), 142.1 (C-2), 144.0 (C-3), 152.2 (C-4), 114.2 (C-5), 113.4 (C-6), 160.1 (C-7), 62.6 (C-8), 112.4 (C-1'), 143.0 (C-2'), 142.4 (C-3'), 155.2 (C-4'), 113.7 (C-5'), 114.6 (C-6'), 159.9 (C-7'), 62.1 (C-8'), 109.7 (C-1''), 84.1 (C-2''), 79.4 (C-3''), 84.4 (C-4''), 65.6 (C-5''), 171.6 (O = C-C), 21.3 (C-C = O)。以上数据与文献报道一致^[18], 故鉴定化合物 **8** 为 3,3'-二甲氧基-鞣花酸-4-(5''-乙酰基)-α-*L*-阿拉伯糖苷。

化合物 **9**: 白色晶体(氯仿)。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.16 (1H, d, *J* = 9.8 Hz, H-4), 7.59 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-2'), 7.14 (1H, s, H-8), 7.02 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-3'), 6.28 (1H, d, *J* = 9.8 Hz, H-3), 4.27 (3H, s, 5-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 161.4 (C-2), 158.5 (C-7), 152.9 (C-9), 149.7 (C-5), 144.9 (C-2'), 139.4 (C-4), 112.8 (C-6), 112.7 (C-3), 106.6 (C-10), 105.2 (C-3'), 93.6 (C-8), 59.9 (5-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[19], 故鉴定化合物 **9** 为佛手柑内酯。

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 (第四十六卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1981.
- [2] 葛玉珍. 野鸦椿资源及其利用 [J]. 中国野生植物资源,

- 2004, 23(5): 24-25.
- [3] Lee M K, Jeon H Y, Lee K Y, *et al.* Inhibitory constituents of *Euscaphis japonica* on lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in BV2 microglia [J]. *Planta Med*, 2007, 73(8): 782-786.
- [4] Lee M K, Lee K Y, Jeon H Y, *et al.* Antifibrotic activity of triterpenoids from the aerial parts of *Euscaphis japonica* on hepatic stellate cells [J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2009, 24(6): 1276-1279.
- [5] Kim K H, Choi S H, Lee T S, *et al.* Selective LXR alpha inhibitory effects observed in plant extracts of MEH184 (*Parthenocissua tricuspidata*) and MEH185 (*Euscaphis japonica*) [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 349(2): 513-518.
- [6] Nariyuki I. Flavonol glucosides of *Euscaphis japonica* [J]. *Phytochemistry*, 1971, 10(12): 3332-3333.
- [7] Cheng J J, Zhang L J, Cheng H L, *et al.* Cytotoxic hexacyclic triterpene acids from *Euscaphis japonica* [J]. *J Nat Prod*, 2010, 73(10): 1655-1658.
- [8] Zhang L J, Cheng J J, Liao C C, *et al.* Triterpene acids from *Euscaphis japonica* and assessment of their cytotoxic and anti-NO activities [J]. *Planta Med*, 2012, 78(14): 1584-1590.
- [9] 董 枚, 广田满. 野鸭椿的植物化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2002, 14(4): 34-36.
- [10] Maeda H, Matsuo Y, Tanaka T, *et al.* Euscaphinin, a new ellagitannin dimer from *Euscaphis japonica* (Thunb.) Kanitz [J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2009, 57(4): 421-423.
- [11] Li Y C, Tian K, Sun L J, *et al.* A new hexacyclic triterpene acid from the roots of *Euscaphis japonica* and its inhibitory activity on triglyceride accumulation [J]. *Fitoterapia*, 2016, 109(1): 261-265.
- [12] Duh C Y, Pezzuto J M, Kinghorn A D, *et al.* Plant anticancer agents XLIV. Cytotoxic constituents from *Stizophyllum riparium* [J]. *J Nat Prod*, 1987, 50(1): 63-74.
- [13] 李路军, 杜 鹏, 张 鹏, 等. 榕叶冬青叶的化学成分研究 [J]. 中草药, 2013, 44(5): 519-523.
- [14] 王 莉, 喻明明, 迟宇前, 等. 蒿状大戟化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(20): 3969-3973.
- [15] 冯生光, 覃耿垚, 刘红霞, 等. 姜黄素降解产物的分离鉴定及姜黄素的稳定性考察 [J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(5): 361-365.
- [16] Comini A, Forzato C, Nitti P, *et al.* Chemoenzymatic synthesis of enantioenriched 5-oxo-tetrahydro-3-furancarboxylic acid derivatives [J]. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2004, 15(4): 617-625.
- [17] Chai X, Du L F, Yang J, *et al.* Simultaneous determination of eight constituents in fruits of *Rubus chingii* by UPLC [J]. *Chin Herb Med*, 2016, 8(3): 280-285.
- [18] Tanaka N, Tanaka T, Fujioka T, *et al.* An ellagic compound and iridoids from *Cornus capitata* root cultures [J]. *Phytochemistry*, 2001, 57(8): 1287-1291.
- [19] 徐文龙, 陈东林, 王建忠. 伊犁贝母鳞茎中非生物碱化学成分的研究 [J]. 中成药, 2014, 36(9): 1895-1897.